

GDAŃSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY
KLINIKA PNEUMONOLOGII

Bartłomiej Rękawiecki

ROZPRAWA DOKTORSKA

ANALIZA PORÓWNAWCZA POLIMORFIZMU
GENÓW *FCGR* W SARKOIDOZIE
I GRUŻLICY PŁUC

Promotor: prof. dr hab. n. med. Anna Dubaniewicz

GDAŃSK 2022

Składam serdeczne podziękowania
Promotorowi niniejszej rozprawy doktorskiej,
Pani Profesor Annie Dubaniewicz,
za życzliwość, motywację, pomoc oraz ogrom czasu poświęconego na przygotowanie tej pracy

Pragnę również serdecznie podziękować
Panu dr hab. Krzysztofowi Rębale
za udzielenie zgody na wykonywanie badań laboratoryjnych w Katedrze i Zakładzie Medycyny Sądowej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego oraz za praktyczną pomoc w przeprowadzaniu badań laboratoryjnych

Swe podziękowania kieruję również do pacjentów, którzy zgodzili się wziąć udział w badaniu

Mojej Rodzinie

SPIS TREŚCI

1. WSTĘP	13
1.1. RYS HISTORYCZNY SARKOIDOZY	13
1.2. RYS HISTORYCZNY GRUŻLICY	14
1.3. DEFINICJA SARKOIDOZY	16
1.4. DEFINICJA GRUŻLICY	17
1.5. EPIDEMIOLOGIA SARKOIDOZY	17
1.6. EPIDEMIOLOGIA GRUŻLICY	18
1.7. OBJAWY KLINICZNE, DIAGNOSTYKA I LECZENIE SARKOIDOZY	20
1.7.1. Objawy kliniczne sarkoidozy	21
1.7.2. Diagnostyka sarkoidozy	23
1.7.3. Leczenie sarkoidozy	25
1.8. OBJAWY KLINICZNE, DIAGNOSTYKA I LECZENIE GRUŻLICY PŁUC	26
1.8.1. Objawy kliniczne gruźlicy płuc	26
1.8.2. Diagnostyka gruźlicy płuc	27
1.8.3. Leczenie gruźlicy płuc	31
1.8.4. Szczepienie BCG	31
1.9. ETIOPATOGENEZA SARKOIDOZY I GRUŻLICY	32
1.9.1. Etiopatogeneza sarkoidozy	32
1.9.2. Etiopatogeneza gruźlicy	34
1.9.3. Czynniki genetyczne rozwoju sarkoidozy i gruźlicy	36
1.9.4. Geny kodujące antygeny układu HLA mogące predysponować do rozwoju sarkoidozy i gruźlicy	37
1.9.5. Wpływ polimorficznych genów spoza układu HLA na rozwój, przebieg oraz postacie sarkoidozy i gruźlicy	42
1.10. CZYNNIKI ŚRODOWISKOWE BIORĄCE I MOGĄCE BRAĆ UDZIAŁ W ROZWOJU SARKOIDOZY I GRUŻLICY	48
1.10.1. Czynniki nieinfekcyjne mogące wpływać na rozwój sarkoidozy	48
1.10.2. Czynniki infekcyjne mogące wpływać na rozwój sarkoidozy	48
1.10.3. Czynniki środowiskowe w etiopatogenezie gruźlicy	50
1.10.4. Sarkoidoza i gruźlica jako stadia tej samej wieloetapowej choroby-hipotezy	52
1.11. RECEPTORY Fcγ	53
1.11.1. Budowa, funkcja i ekspresja receptorów Fcγ	53
1.11.2. Polimorfizm genów <i>FCGR</i>	54
1.11.3. Receptory Fcγ a sarkoidoza	56
1.11.4. Receptory Fcγ a gruźlica	57
1.11.5. Polimorfizm genu <i>FCGR3A</i> w sarkoidozie i gruźlicy płuc	58
2. CELE PRACY	59
3. MATERIAŁ BADAWCZY	60

3.1.	GRUPY BADANE	60
3.1.1.	Grupa chorych na sarkoidozę płuc	61
3.1.2.	Grupa chorych na gruźlicę płuc	62
3.1.3.	Grupa kontrolna	62
4.	METODY	62
4.1.	WYKAZ ODCZYNNIKÓW CHEMICZNYCH UŻYWANYCH W BADANIACH	62
4.2.	IZOLACJA DNA	66
4.3.	ŁAŃCUCHOWA REAKCJA POLIMERAZY WYKONYWANA W CELU OKREŚLENIA WYSTĘPOWANIA WARIANTÓW POLIMORFICZNYCH BADANYCH GENÓW <i>FCGR</i>	67
4.3.1.	Metoda PCR-SSP z użyciem starterów specyficznych do sekwencji polimorficznego genu <i>FCGR2A</i>	68
4.3.1.1.	Metoda PCR-SSP z użyciem starterów specyficznych do sekwencji allelu 131H (519A) genu <i>FCGR2A</i>	68
4.3.1.2.	Metoda PCR-SSP z użyciem starterów specyficznych do sekwencji allelu 131R (519G) genu <i>FCGR2A</i>	69
4.3.2.	Metoda PCR w czasie rzeczywistym (RT-PCR) genu <i>FCGR2B</i>	70
4.3.3.	Metoda PCR-SSP z użyciem starterów specyficznych do sekwencji polimorficznego genu <i>FCGR2C</i>	71
4.3.3.1.	Metoda PCR-SSP z użyciem starterów specyficznych do sekwencji allelu 57Q (202C) genu <i>FCGR2C</i>	71
4.3.3.2.	Metoda PCR-SSP z użyciem starterów specyficznych do sekwencji allelu 57X (202T) genu <i>FCGR2C</i>	72
4.3.4.	Metoda PCR-SSP z użyciem starterów specyficznych do sekwencji polimorficznego genu <i>FCGR3A</i>	73
4.3.4.1.	Metoda PCR-SSP z użyciem starterów specyficznych do sekwencji allelu 158F (559T) genu <i>FCGR3A</i>	73
4.3.4.2.	Metoda PCR-SSP z użyciem starterów specyficznych do sekwencji allelu 158V (559G) genu <i>FCGR3A</i>	74
4.3.5.	Metoda PCR-SSP z użyciem starterów specyficznych do sekwencji polimorficznego genu <i>FCGR3B</i>	75
4.4.	ROZDZIAŁ PRODUKTÓW AMPLIFIKACJI	76
4.5.	BARWIENIE PRODUKTÓW AMPLIFIKACJI DNA AZOTANEM (V) SREBRA (I)	77
4.6.	ŁAŃCUCHOWA REAKCJA POLIMERAZY W CZASIE RZECZYWISTYM (RT-PCR) WYKONYWANA W CELU OKREŚLENIA LICZBY KOPII BADANYCH GENÓW <i>FCGR</i>	77
4.7.	LICZBA KOPII GENÓW <i>FCGR</i>	78
4.8.	ANALIZA STATYSTYCZNA	79
5.	WYNIKI	81

5.1.	ANALIZA PRAWIDŁOWEGO DOBRANIA BADANYCH GRUP POD WZGLĘDEM WIEKU I PŁCI	81
5.2.	CZĘSTOŚĆ WYSTĘPOWANIA POSZCZEGÓLNYCH ALLELI I GENOTYPÓW GENU <i>FCGR2A</i> W BADANYCH GRUPACH	81
5.2.1.	Porównanie częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu <i>FCGR2A</i> pomiędzy wszystkimi pacjentami chorymi na sarkoidozę, gruźlicę a osobami zdrowymi	83
5.2.2.	Porównanie częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu <i>FCGR2A</i> pomiędzy pacjentami w różnych stadiach sarkoidozy a osobami zdrowymi	84
5.2.3.	Porównanie częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu <i>FCGR2A</i> pomiędzy pacjentami w różnych stadiach sarkoidozy płucnej.....	86
5.2.4.	Porównanie częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu <i>FCGR2A</i> pomiędzy pacjentami w różnych stadiach sarkoidozy a chorymi na gruźlicę płuc	87
5.3.	CZĘSTOŚĆ WYSTĘPOWANIA POSZCZEGÓLNYCH ALLELI I GENOTYPÓW GENU <i>FCGR2B</i> W BADANYCH GRUPACH	89
5.3.1.	Porównanie częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu <i>FCGR2B</i> pomiędzy wszystkimi pacjentami chorymi na sarkoidozę, gruźlicę a osobami zdrowymi	91
5.3.2.	Porównanie częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu <i>FCGR2B</i> pomiędzy pacjentami w różnych stadiach sarkoidozy a osobami zdrowymi	92
5.3.3.	Porównanie częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu <i>FCGR2B</i> pomiędzy pacjentami w różnych stadiach sarkoidozy płucnej.....	92
5.3.4.	Porównanie częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu <i>FCGR2B</i> pomiędzy pacjentami w różnych stadiach sarkoidozy płucnej a chorymi na gruźlicę płuc	92
5.4.	CZĘSTOŚĆ WYSTĘPOWANIA POSZCZEGÓLNYCH ALLELI I GENOTYPÓW GENU <i>FCGR2C</i> W BADANYCH GRUPACH.....	92
5.4.1.	Porównanie częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu <i>FCGR2C</i> pomiędzy wszystkimi pacjentami chorymi na sarkoidozę, gruźlicę i osobami zdrowymi	94
5.4.2.	Porównanie częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu <i>FCGR2C</i> pomiędzy pacjentami w różnych stadiach sarkoidozy a osobami zdrowymi	96
5.4.3.	Porównanie częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu <i>FCGR2C</i> pomiędzy pacjentami w różnych stadiach sarkoidozy płucnej.....	98
5.4.4.	Porównanie częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu <i>FCGR2C</i> pomiędzy pacjentami w różnych stadiach sarkoidozy a chorymi na gruźlicę płuc	100

5.5.	CZĘSTOŚĆ WYSTĘPOWANIA POSZCZEGÓLNYCH ALLELI I GENOTYPÓW GENU <i>FCGR3A</i> W BADANYCH GRUPACH	102
5.5.1.	Porównanie częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu <i>FCGR3A</i> pomiędzy wszystkimi pacjentami chorymi na sarkoidozę, gruźlicę i osobami zdrowymi	104
5.5.2.	Porównanie częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu <i>FCGR3A</i> pomiędzy pacjentami w różnych stadiach sarkoidozy a osobami zdrowymi	106
5.5.3.	Porównanie częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu <i>FCGR3A</i> pomiędzy pacjentami w różnych stadiach sarkoidozy płucnej.....	107
5.5.4.	Porównanie częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu <i>FCGR3A</i> pomiędzy pacjentami w różnych stadiach sarkoidozy a chorymi na gruźlicę płuc	108
5.6.	CZĘSTOŚĆ WYSTĘPOWANIA POSZCZEGÓLNYCH ALLELI I GENOTYPÓW GENU <i>FCGR3B</i> W BADANYCH GRUPACH	110
5.6.1.	Porównanie częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu <i>FCGR3B</i> pomiędzy wszystkimi pacjentami chorymi na sarkoidozę, gruźlicę i osobami zdrowymi	112
5.6.2.	Porównanie częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu <i>FCGR3B</i> pomiędzy pacjentami w różnych stadiach sarkoidozy a osobami zdrowymi	114
5.6.3.	Porównanie częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu <i>FCGR3B</i> pomiędzy pacjentami w różnych stadiach sarkoidozy płucnej.....	115
5.6.4.	Porównanie częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu <i>FCGR3B</i> pomiędzy pacjentami w różnych stadiach sarkoidozy a chorymi na gruźlicę płuc	117
5.7.	PORÓWNANIE CZĘSTOŚCI LICZBY KOPII GENÓW <i>FCGR2A</i> , <i>FCGR2B</i> , <i>FCGR2C</i> , <i>FCGR3A</i> , <i>FCGR3B</i> POMIĘDZY OSOBAMI CHORYMI NA SARKOIDOZĘ, GRUŹLICĘ A OSOBAMI ZDROWYMI.....	119
6.	DYSKUSJA	122
6.1.	PORÓWNANIE CZĘSTOŚCI POSZCZEGÓLNYCH ALLELI I GENOTYPÓW GENU <i>FCGR2A</i> U CHORYCH Z SARKOIDOZĄ, GRUŹLICĄ I U OSÓB ZDROWYCH.....	122
6.2.	PORÓWNANIE CZĘSTOŚCI POSZCZEGÓLNYCH ALLELI I GENOTYPÓW GENU <i>FCGR2B</i> U CHORYCH Z SARKOIDOZĄ, GRUŹLICĄ I U OSÓB ZDROWYCH.....	125
6.3.	PORÓWNANIE CZĘSTOŚCI POSZCZEGÓLNYCH ALLELI I GENOTYPÓW GENU <i>FCGR2C</i> U CHORYCH Z SARKOIDOZĄ, GRUŹLICĄ I U OSÓB ZDROWYCH.....	127

6.4.	PORÓWNANIE CZĘSTOŚCI POSZCZEGÓLNYCH ALLELI I GENOTYPÓW GENU <i>FCGR3A</i> U CHORYCH Z SARKOIDOZĄ, GRUŻLICĄ I U OSÓB ZDROWYCH.....	131
6.5.	PORÓWNANIE CZĘSTOŚCI POSZCZEGÓLNYCH ALLELI I GENOTYPÓW GENU <i>FCGR3B</i> U CHORYCH Z SARKOIDOZĄ, GRUŻLICĄ I U OSÓB ZDROWYCH.....	136
6.6.	PORÓWNANIE CZĘSTOŚCI WYSTĘPOWANIA LICZBY KOPII POSZCZEGÓLNYCH GENÓW <i>FCGR</i> U CHORYCH NA SARKOIDOZĘ, GRUŻLICĘ ORAZ OSÓB ZDROWYCH	140
6.7.	PODSUMOWANIE.....	142
7.	WNIOSKI.....	150
8.	PIŚMIENNICTWO	151
9.	STRESZCZENIE.....	173
10.	SUMMARY	176
11.	SPIS TABEL.....	179
12.	SPIS RYCIN	180

INDEKS UŻYWANYCH SKRÓTÓW

¹⁸ FDG-PET-TK/MRI	<i>F-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography with computed tomography or magnetic resonance imaging /</i> pozytonowa tomografia emisyjna z użyciem 18-fluorodeoksyglukozy połączona z tomografią komputerową lub rezonansem magnetycznym
ACE	<i>angiotensin-converting enzyme /</i> enzym konwertujący angiotensynę
ADCC	<i>antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity /</i> zależna od przeciwciał cytotoksyczność komórkowa
Ag	<i>antigen /</i> antygen
ANCA	<i>anti-neutrophil cytoplasmic antibodies /</i> przeciwciała przeciw cytoplazmie neutrofilów
APC	<i>antigen-presenting cell /</i> komórka prezentująca antygen
ATS	<i>American Thoracic Society /</i> Amerykańskie Stowarzyszenie Chorób Płuc
BAL	<i>bronchoalveolar lavage /</i> płukanie oskrzelowo-pęcherzykowe
BALF	<i>bronchoalveolar lavage fluid /</i> płyn z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego
BBS	<i>Besnier-Boeck-Schaumann disease /</i> choroba Besniera-Boeck-Schaumanna
BCG	<i>Bacillus Calmette-Guérin /</i> szczep <i>Bacillus Calmette-Guerin</i>
BCR	<i>B cell receptor /</i> receptor komórek B
BMI	<i>Body Mass Index /</i> indeks masy ciała
Breg	<i>regulatory B cells /</i> limfocyty B regulatorowe
BTLN2	<i>butyrophilin-Like Molecule /</i> białko butyrofilino-podobne 2
CCR	<i>chemokine C-C motif-receptors /</i> receptor chemokin typu C-C
CFP-10	<i>ESAT-6-like protein esxB /</i> białko esxB podobne do ESAT-6
CI _s	<i>confidence intervals /</i> przedziały ufności
CMV	<i>cytomegalovirus /</i> cytomegalowirus
CR	<i>complement receptor /</i> receptor dla składników układu dopełniacza
CTFR	<i>cystic fibrosis transmembrane conductance regulator /</i> błonowy regulator przewodnictwa
DAMPs	<i>tissue damage-associated molecular patterns /</i> struktury molekularne związane z uszkodzeniem komórki
DNA	<i>deoxyribonucleic acid /</i> kwas deoksyrybonukleinowy
dNTP	<i>nucleoside triphosphate /</i> trifosforany trinukleozydów
EBV	<i>Ebstein-Barr virus /</i> wirus Ebstein-Barr
ECDC	<i>European Centre for Disease Prevention and Control /</i> Europejskie Centrum ds. Zapobiegania i Kontroli Chorób
EDTA	<i>ethylenediaminetetraacetic acid /</i> kwas etylenodiamino-tetraoctowy

ERS	<i>European Respiratory Society</i> / Europejskie Stowarzyszenie Chorób Płuc
ESAT-6	<i>6 kDa early secretory antigenic target</i> / wcześnie wydzielany antygen targetowy 6kDa
FcγR	<i>receptors for the Fc portion of IgG</i> / receptory dla fragmentu Fc immunoglobuliny G
GBS	<i>Guillain-Barré syndrome</i> / zespół Guillaina-Barrego
GCA	<i>giant cell arteritis</i> / olbrzymiokomórkowym zapaleniu tętnic
GKS	<i>glucocorticoids</i> / Glikokortykosteroidy
GPA	<i>granulomatosis with polyangiitis</i> / ziarniniakowatość z zapaleniem naczyń
GWAS	<i>Genome-wide association study</i> / badania asocjacyjne całego genomu
HCV	<i>hepatitis C virus</i> / wirus zapalenia wątroby typu C
hGH	<i>human Growth Hormone</i> / ludzki hormon wzrostu
HIV	<i>human immunodeficiency virus</i> / ludzki wirus niedoboru odporności
HLA	<i>human leukocyte antigens</i> / antygeny głównego układu zgodności tkankowej
HHV	<i>Human Herpesvirus</i> / ludzki herpeswirus
hsp	<i>heat shock proteins</i> / białka szoku termicznego
ICAM-1	<i>intercellular adhesion molecule 1</i> / międzykomórkowa molekula adhezyjna-1
IFN-γ	<i>interferon gamma</i> / interferon gamma
IgG	<i>immunoglobulin G</i> / immunoglobulina G
IGRA	<i>Interferon Gamma Release Assays</i> / test wydzielania interferonu gamma
IL	<i>interleukin</i> / interleukina
IPF	<i>idiopathic pulmonary fibrosis</i> / idiopatyczne włóknienie płuc
ITAM	<i>immunoreceptor tyrosine-based activation motif</i> / sekwencja receptora przewodząca sygnały aktywujące
ITIM	<i>immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif</i> / sekwencja receptora przewodząca sygnały hamujące
ITP	<i>idiopathic thrombocytopenic purpura</i> / samoistna plamica małopłytkowa
kat G	<i>Mycobacterium tuberculosis catalase-peroxidase</i> / katalazo-peroksydaza <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
KI	<i>immune complex</i> / kompleks immunologiczny
MPA	<i>microscopic polyangiitis</i> / mikroskopowe zapalenie naczyń
MRI	<i>magnetic resonance imaging</i> / rezonans magnetyczny
mRNA	<i>messenger ribonucleic acid</i> / informacyjny kwas rybonukleinowy
Mtb	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> / prątek gruźlicy
NET	<i>neutrophil extracellular trap</i> / zewnątrzkomórkowa sieć neutrofilów
NF-κB	<i>nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells</i> / jądrowy czynnik lekkiego łańcucha kappa wzmacniający aktywowane komórki B

NK	<i>natural killer cell</i> / komórki <i>natural killer</i>
NO	<i>nitric oxide</i> / tlenek azotu (II)
NOD	<i>nucleotide-binding oligomerization domain</i> / domena oligomeryzacyjna wiążąca nukleotydy
NSG	<i>necrotizing sarcoid granulomatosis</i> / serowaciejące ziarniniaki sarkoidalne
OR	<i>odds ratio</i> / iloraz szans
OT	<i>tuberculin sensitivity test</i> / odczyn tuberkulinowy
PCR	polymerase chain reaction / reakcja łańcuchowa polimerazy
PAMPs	<i>pathogen associated molecular patterns</i> / wzorce molekularne związane z patogenami
PCR	<i>polymerase chain reaction</i> / łańcuchowa reakcja polimerazy
PCR-SSP	<i>polymerase chain reaction with single specific primer</i> / łańcuchowa reakcja polimerazy z użyciem starterów o sekwencji specyficznej do poszczególnych alleli genu
PRR	<i>pattern recognition receptors</i> / receptory rozpoznające wzorce molekularne
pz	<i>base pair</i> / pary zasad
RAGE	<i>receptor for advanced glycation end products</i> / receptor końcowych produktów zaawansowanej glikacji
RNA	<i>ribonucleic acid</i> / kwas rybonukleionowy
rpm	<i>rounds per minute</i> / obroty na minutę
RTG	<i>X-ray image</i> / zdjęcie rentgenowskie
RZS	<i>rheumatoid arthritis</i> / reumatoidalne zapalenie stawów
RT-PCR	<i>real-time polymerase chain reaction</i> / reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym
SA	<i>sarcoidosis</i> / sarkoidoza
SAA	<i>serum amyloid A</i> / surowiczy amyloid A
SAP	<i>serum amyloid P</i> / surowiczy amyloid P
SD	<i>standard deviation</i> / odchylenie standardowe
SLC11A1	uprzednio NRAMP1, <i>natural resistance-associated macrophage protein</i> / białko naturalnej odpowiedzi związanej z makrofagami 1
SM	<i>multiple sclerosis</i> / stwardnienie rozsiane
SNP	<i>single nucleotide polymorphism</i> / polimorfizm typu pojedynczego nukleotydu
spp.	<i>species</i> / grupa czynników zakaźnych tego samego rodzaju
TB	<i>tuberculosis</i> / gruźlica
TCR	<i>T cell receptor</i> / receptor komórek T
TGF	<i>transforming growth factor</i> / transformujący czynnik wzrostu
TK	<i>computed tomography</i> / tomografia komputerowa
TKWR	<i>high-resolution computed tomography</i> / tomografia komputerowa wysokiej rozdzielczości
TLR	<i>Toll-like receptor</i> / receptor Toll-podobny
TNF α	<i>tumor necrosis factor alpha</i> / czynnik martwicy nowotworu alfa
Treg	<i>regulatory T cells</i> / limfocyty T regulatorowe
TRU	<i>systemic lupus erythematosus</i> / toczeń rumieniowaty układowy

USG	<i>ultrasonography</i> / ultrasonografia
USA	<i>United States of America</i> / Stany Zjednoczone Ameryki
UV	<i>ultraviolet</i> / promieniowanie nadfioletowe
WASOG	<i>World Association of Sarcoidosis and other Granulomatous Diseases</i> / Światowe Towarzystwo Sarkoidozy i Innych Chorób Ziarniniakowych
WHO	<i>World Health Organization</i> / Światowa Organizacja Zdrowia
VDR	<i>Vitamin D receptor</i> / receptor witaminy D
VEGF	<i>vascular endothelial growth factor</i> / czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego

1. WSTĘP

1.1. RYS HISTORYCZNY SARKOIDOZY

Pierwsza wzmianka o sarkoidozie (SA) ukazała się w 1877 roku, a jej autorem był londyński lekarz Hutchinson. Opisał on przypadek 58-letniego pacjenta z powiększającymi się, niebolesnymi zmianami skórnymi rąk, które nazwał *livid papillary psoriasis* [1]. W 1889 r. Besnier [2] zaprezentował chorego ze zmianami obrzękowymi nosa, uszu oraz palców rąk. Z powodu różnic w obrazie klinicznym w porównaniu do chorego opisanego przez Hutchinsona objawy te uznał za odrębną jednostkę chorobową i opisał jako *lupus pernio*. W 1892 r. Tennerson [3] po raz pierwszy przedstawił obraz mikroskopowy opisywanych powyżej zmian skórných, ich głównymi składowymi okazały się ziarniniaki nieserowaciejące zbudowane z komórek epiteloidalnych (nabłonkowatych) oraz olbrzymich (Langhansa). Natomiast w 1899 r. Boeck [4] przeprowadził badanie histopatologiczne zmian skórných pochodzących od osób, u których część posiadała również zmiany w płucach, spojówkach, kościach, węzłach chłonnych, śledzionie oraz w błonie śluzowej jamy nosowej. Podobnie jak Tennerson udokumentował on obecność w tych zmianach ziarniniaków nieserowaciejących, które zbudowane były z komórek nabłonkowatych i olbrzymich. Te ostatnie zostały opisane przez Boeck jako komórki typu „mięsakowatego” ze względu na ich morfologiczne podobieństwo do komórek mięsaka. Z powodu łagodnego przebiegu choroby Boeck nazwał ją „sarkoidem” (mięsak z łac. *sarcoma*).

W 1915 r. Bittorf i Kuznitsky [3] pierwsi opisali pacjenta z limfadenopatią węnek płucnych, który posiadał również zmiany skórne oraz guzki podskórne. W badaniu histopatologicznym zmiany skórne zbudowane były także z komórek nabłonkowatych oraz olbrzymich. Badacze niesłusznie uznali jednak, że powiększenie węzłów chłonnych węnek płucnych jest spowodowane inną jednostką chorobową.

W trakcie badań prowadzonych w latach 1914-1922 szwedzki lekarz Schaumann wysunął hipotezę mówiącą o tym, że zmiany skórne oraz narządowe u pacjentów z rozpoznaniem sarkoidem skórnym są powodowane przez tą samą, łagodnie przebiegającą jednostką chorobową. Chorobę tą nazwał *lymphogranulomasis benigne*, odróżniając ją w ten sposób od limfadenopatii powodowanej przez złośliwego chłoniaka Hodgkina [3].

W 1937 r. Pautrier na spotkaniu Towarzystwa Lekarzy Paryskich użył po raz pierwszy nazwy „choroba Besniera-Boeck-Schaumanna” (BBS) w odniesieniu do choroby, w której głównym elementem histopatologicznym tworzącym zmiany chorobowe

były komórki epitelioidalne i olbrzymie formujące nieserowaciejące ziarniaki [3]. Z tą nazwą sarkoidozy lekarze mogą spotkać się w praktyce klinicznej do dnia dzisiejszego.

W 1941 r. Löfgren pierwszy wykonał biopsję i przeanalizował budowę histopatologiczną rumienia guzowego oraz powiązał jego występowanie z powiększonymi węzłami chłonnymi wnek płucnych oraz śródpiersia, klasyfikując tę postać choroby jako jedną z form ostrej sarkoidozy [3].

W latach 1936-1945 Kveim w swoich badaniach nad sarkoidozą zauważył, że śródskórne wszczepienie materiału tkankowego z sarkoidalnego węzła chłonnego powoduje powstanie skórny ziarniak sarkoidalny u osób chorych na sarkoidozę [3]. Procedura ta, spopularyzowana przez Siltzbacha i nazwana testem Kveima-Siltzbacha, miała pomóc w różnicowaniu sarkoidozy od gruźlicy. Obecnie test ten nie jest powszechnie stosowany z powodu problemów z jego walidacją oraz ryzykiem przeniesienia ewentualnego czynnika infekcyjnego na osobę badaną [5].

W 1958 r. Wurm zaproponował stopniowanie sarkoidozy na podstawie obrazu radiologicznego klatki piersiowej. Po pewnych modyfikacjach Scaddinga w 1961 r. jest ono stosowane do dnia dzisiejszego [6].

Krokiem milowym w diagnostyce nie tylko sarkoidozy, ale i innych chorób płuc, było zastosowanie przez Ikedę włókien optycznych w bronchoskopii [7]. Dzięki użyciu tej metody znacznie zwiększyła się specyficzność rozpoznawania sarkoidozy. Ponadto w 1981 roku pojawiły się pierwsze publikacje dotyczące obrazu cytologicznego płynu z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego (*bronchoalveolar lavage fluid*, BALF) w chorobach śródmiąższowych płuc, w tym w sarkoidozie [8,9].

1st International Conference on Sarcoidosis - pierwsza międzynarodowa konferencja dotycząca sarkoidozy, odbyła się w Londynie w 1958 r. [10,11]. Obecnie największe światowe konferencje dotyczące sarkoidozy i innych chorób ziarniniakowych odbywają się pod egidą *World Association of Sarcoidosis and other Granulomatous Diseases* (WASOG).

1.2. RYS HISTORYCZNY GRUŻLICY

Pierwsze dowody na istnienie gruźlicy (TB) datowane są na około 8000 lat p.n.e. i są to szczątki ludzkie zawierające zmiany typowe dla gruźlicy kręgosłupa (choroba Potta). Wzmiankę o przewlekłej chorobie płuc, prawdopodobnie gruźlicy, można także znaleźć w najstarszym znanym ludzkości dokumencie pisanym- kodeksie Hammurabiego [12].

Pierwszym, który opisał gruźlicę w tkankach zwierząt był Hipokrates (460-370 p.n.e.). W swoich dziełach nazywał je *phymata*. Analogiczne zmiany tkankowe nie zostały w tym czasie opisane u ludzi, ponieważ w starożytnej Grecji nie dokonywano sekcji zwłok na ludziach. Hipokrates opisał w swych dziełach również *phthisis*, czyli rozpowszechnioną w ówczesnych czasach przewlekłą chorobę płuc, często kończącą się śmiercią. Znaczący historyk medycyny nie mają wątpliwości, że tą chorobą była właśnie gruźlica [12]. Rzymski lekarz Galen (131-201 r.n.e.) uznał gruźlicę za chorobę zakaźną. Przestrzegał przed bliskimi kontaktami z chorymi na *phthisis* przypuszczając, że może przenosić się między ludźmi [12].

Rozwój wiedzy o *phthisis* nastąpił w XVII wieku, kiedy zaczęto wykonywać sekcje zwłok na ludziach. Dzieło Wesaliusza *De humani corporis fabrica* zgłębiało wiedzę o anatomii prawidłowej człowieka, natomiast inni badacze w tym Sylvius de la Boë, starali się poszerzać wiedzę o anatomii patologicznej. To właśnie ten ostatni pierwszy uznał gruźlicę występującą w płucach i innych tkankach jako zmiany typowe dla tej jednostki chorobowej, ponieważ występowały u wszystkich chorych na *phthisis*. Także on pierwszy zauważył i opisał progresję zmian gruźliczycy do jam i ropni [12]. W 1720 r. brytyjski lekarz Benjamin Marten wysunął podejrzenie, że *phthisis* może być powodowana przez drobne organizmy żywe, które dostają się do ciała ludzkiego poprzez kontakt z osobą chorą [12].

W 1840 r. Henle wprowadził do nauki trzy kryteria konieczne, aby chorobę nazwać infekcyjną: czynnik sprawczy musi zostać znaleziony w każdym przypadku danej choroby, nie może on występować w innej jednostce chorobowej i jego podanie zawsze musi powodować rozwój tej samej jednostki chorobowej. W 1843 r. Klencke jako pierwszy potwierdził trzeci postulat Henlego w gruźlicy. Podawał on dożylnie ekstrakt tkankowy pochodzący z gruźlicy zdrowym zwierzętom laboratoryjnym. W trakcie sekcji zwłok w tkankach zakażonych zwierząt odnajdywał liczne zmiany gruźliczycy charakterystyczne dla *phthisis*. Także Villemin podawał krew lub płwocinę zakażonych *phthisis* królików laboratoryjnych innym zwierzętom, co wywoływało u nich pełnię objawów charakterystycznych dla gruźlicy [12].

Potwierdzenia infekcyjnej przyczyny gruźlicy, a zarazem pierwszego postulatu Henlego, dokonał Robert Koch. Dzięki specjalnym barwieniom preparatów tkankowych z gruźlicą gruźliczymi uwidocznił on pod mikroskopem optycznym bakterie, które nazwał *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb). Co ciekawe, przed Kochem bakterie te opisał Paul Clemens von Baumgarten, jednak jego praca ukazała się kilka tygodni po publikacji Kocha [12]. Dalsze badania Kocha pozwoliły mu stworzyć glicerynową mieszaninę składającą

się z martwych Mtb, nazwaną później tuberkuliną. Początkowo mieszanina ta była stosowana przez Kocha głównie w celach terapeutycznych, których jak się niebawem okazało nie posiadała, a później jedynie w diagnostycznych. Ostatecznie w 1905 r. Robert Koch został uhonorowany Nagrodą Nobla w dziedzinie medycyny za badania nad gruźlicą [12].

Przełomem w diagnostyce sarkoidozy i gruźlicy było odkrycie możliwości obrazowania ciała ludzkiego za pomocą promieni X przez Roentgena w 1895 r. Możliwości płynące z analizy zdjęć RTG, a następnie rozwój tej metody skanowania ludzkiego ciała za pomocą tomografii komputerowej, stanowią do dnia dzisiejszego jedną z metod diagnostycznych u pacjentów z podejrzeniem sarkoidozy i gruźlicy płuc oraz na ich kontrolę u osób zdiagnozowanych i leczonych [12].

Dane epidemiologiczne, wytyczne dotyczące diagnostyki, leczenia oraz prewencji gruźlicy są corocznie publikowane w Raporcie Światowej Organizacji Zdrowia (WHO), ostatni z nich pochodzi z października 2021 roku i nosi nazwę *Global Tuberculosis Report 2021* [13].

1.3. DEFINICJA SARKOIDOZY

Definicja sarkoidozy pochodzi z 1999 roku i została ustalona przez *American Thoracic Society (ATS)*, *European Respiratory Society (ERS)* i *World Association of Sarcoidosis and Other Granulomatous Disorders (WASOG)* [3,10,11]:

„Sarkoidoza jest wielonarządową chorobą o nieznannej etiologii. Najczęściej występuje u młodych dorosłych oraz u osób w średnim wieku pod postacią obustronnej wędkowej limfadenopatii, z zajęciem tkanki płucnej, oczu oraz skóry. Wątroba, śledziona, węzły chłonne, ślinianki, serce, układ nerwowy, mięśnie, kości oraz inne narządy mogą być również zajęte.

Diagnoza stawiana jest na podstawie korelacji obrazu kliniczno-radiologicznego choroby z histopatologicznym potwierdzeniem obecności nieserowaciejących ziarniaków składających się z komórek nabłonkowatych w materiale biopsyjnym pochodzącym ze zmian chorobowych. Niezbędne jest wykluczenie innego procesu chorobowego mogącego powodować powstawanie ziarniaków oraz odczynu sarkoidalnego.

Często występującymi objawami immunologicznymi są: (1) obniżona skórna reakcja nadwrażliwości typu IV (anergia obwodowa) oraz (2) wzmożenie immunologicznej odpowiedzi komórkowej z udziałem limfocytów Th1 w narządach zajętych przez proces chorobowy. Dodatkowo, może występować zwiększenie ilości krążących we krwi obwodowej immunokompleksów oraz zwiększona aktywność limfocytów B.

Przebieg choroby różni się w zależności od postaci sarkoidozy oraz od ilości zajętych narządów. Ostra postać sarkoidozy pod postacią rumienia guzowatego, obustronnej węzkowej limfadenopatii i zapalenia stawów, często jest jednostką samoograniczającą się. Z kolei postać przewlekła, zwłaszcza z zajęciem tkanek pozapłucnych, może prowadzić do włóknienia i dysfunkcji zajętych narządów”.

1.4. DEFINICJA GRUŻLICY

Gruźlica jest chorobą zakaźną powodowaną przez prątki gruźlicy, bakterie z grupy *Mycobacterium tuberculosis complex* [14].

1.5. EPIDEMIOLOGIA SARKOIDOZY

Zapadalność na sarkoidozę różni się w poszczególnych rejonach świata. Dokładna jej ocena jest trudna ze względu na brak swoistych testów diagnostycznych, różnorodność objawów klinicznych, często bezobjawowy przebieg czy samoistną remisję.

Sarkoidoza występuje najczęściej u ludzi młodych, poniżej 40 roku życia, może wystąpić także u dzieci, jak i osób powyżej 80 roku życia. Analizy epidemiologiczne wskazują na nieznacznie większą częstość jej występowania u kobiet [15,16]. W krajach Skandynawskich oraz w Japonii występuje drugi szczyt zachorowań u kobiet po 50 r.ż. i prawdopodobnie jest związany ze wzrostem estrogenów w terapii hormonozastępczej powodujących m. in. zwiększenie ekspresji antygenów układu zgodności tkankowej [10]. W jednym z amerykańskich badań odnotowano zapadalność na sarkoidozę wynoszącą 107/100 tys. os. w grupie Afroamerykańskich kobiet między 30 a 39 rokiem życia, co sprawia że prawdopodobnie ta grupa wiekowo-etniczna posiada największe ryzyko rozwoju tej choroby [17,18]. Także ogólna zapadalność na SA jest większa u Afroamerykanów (35,5/100 tys. os.), niż u osób rasy kaukaskiej (10,9/100 tys. os.) [10].

Wykazano również geograficzne różnice w częstości występowania sarkoidozy [19–25]. W Europie sarkoidoza zdecydowanie częściej występuje w rejonach północnych, niż południowych [25]. Również w Japonii największą zachorowalność notuje się w północnych regionach tego kraju [21,22]. Sarkoidoza w Stanach Zjednoczonych Ameryki (USA) najczęściej występuje we wschodnich i środkowych częściach kraju. Sarkoidoza najrzadziej występuje w rejonie Morza Śródziemnego, Arabii Saudyjskiej, krajach Ameryki Południowej i Azji (Korea Południowa, południowa Japonia, Indie). Zachorowalność na sarkoidozę wynosi dla przykładu odpowiednio: w Szwecji 11,5/100 tys. os. [21], w Finlandii

11,4/100 tys. os. [22], w Hiszpanii 1,36/100 tys. os. [23], a w Korei Południowej 0,85/100 tys. os. [24].

W Polsce w 1976 r. zapadalność na SA wynosiła około 10/100 tys. osób [26]. Natomiast w latach 2008-2015, w Pierwszym Narodowym Szpitalnym Rejestrze pierwszorazowych hospitalizacji odnotowano 23 097 chorych z powodu SA na terenie Polski, co daje szacunkową roczną zapadalność rzędu 7,5/100 tys. osób. W badaniu tym sarkoidoza częściej występowała u mężczyzn (54,7%) i mieszkańców obszarów miejskich (65%), a najczęściej zajęтым przez sarkoidozę organem były płuca (57,9% chorych) [27].

Analizy epidemiologiczne wskazują na sezonowość rozwoju SA. Największą ilość nowych zachorowań odnotowywana jest zimą i wczesną wiosną [10].

Sarkoidoza wykazuje duże zróżnicowanie przebiegu klinicznego w poszczególnych regionach świata i grupach etnicznych. Wiele badań wskazuje, że Afroamerykanie posiadają większe ryzyko rozwoju przewlekłych i bardziej zaawansowanych postaci choroby, podczas gdy u rasy kaukaskiej występuje predylekcja do postaci bezobjawowej i samoograniczającej się [10].

W Afryce i Azji stosunkowo częściej występuje sarkoidoza skóry, zwłaszcza jej destrukcyjna postać (toczeń odmrozinowy), natomiast w Japonii najczęstszą postacią jest sarkoidoza serca i narządu wzroku, podczas gdy w Europie i USA dominuje zajęcie układu oddechowego [10,28–30]. Z powodu tych różnic najczęstszą przyczyną zgonów u osób chorych na SA są w Japonii arytmie i niewydolność serca, natomiast w USA oraz Europie, w tym w Polsce, niewydolność oddechowa [31].

Śmiertelność dla populacji światowej osób chorych na sarkoidozę wynosi od 1% do 5% [10]. Natomiast we wspomnianym wcześniej pierwszym badaniu epidemiologicznym opartym na Narodowym Szpitalnym Rejestrze Chorych w Polsce w czasie hospitalizacji zmarło 0,3% chorych na sarkoidozę [27].

1.6. EPIDEMIOLOGIA GRUŻLICY

Gruźlica rozprzestrzenia się najczęściej drogą oddechową przez inhalację drobnych kropelek zawiesiny zawierającej prątki gruźlicy wykrztuszane przez osobę zakażoną. Istnieje także droga pokarmowa i wertykalna zakażenia [13].

Szacuje się, że około 1,7 miliarda osób żyjących na Ziemi, czyli około 25% światowej populacji, jest zakażona prątkiem gruźlicy, który bytuje u większości ludzi w tak zwanej formie latentnej (uśpionej) [13]. Jedynie u około 5-15% zakażonych (85-255 milionów ludzi) rozwinię

się aktywna postać gruźlicy [32]. Najczęstszą postacią TB na świecie jest gruźlica płuc [13].

Według raportu Światowej Organizacji Zdrowia z 2021 r. dotyczącego gruźlicy pozostaje ona nadal jedną z 10 najczęstszych przyczyn zgonów na świecie [13]. W 2020 r. na TB zmarło około 1,3 miliona osób niezakażonych oraz 214 tysięcy osób zakażonych także wirusem HIV na całym świecie. Szacuje się, że na gruźlicę w tym też roku zachorowało około 10 milionów osób (56% mężczyzn, 33% kobiet, 11% dzieci). Najwięcej zgłaszanych przypadków nowych zachorowań na TB notuje się w Indiach, gdzie stwierdzono 26% całkowitej liczby zgłoszeń [13].

Najnowsze dane dotyczące zachorowań na gruźlicę w Polsce pochodzą z Raportu opublikowanego przez Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie w 2021 roku [33]. W roku 2020 do Krajowego Rejestru Zachorowań na Gruźlicę, prowadzonego przez w/w Instytut, zostało zgłoszonych 3388 nowych przypadków gruźlicy (2506 mężczyzn, 882 kobiet), o 1993 mniej niż w 2019 roku. Wśród nich 86 nowych zachorowań odnotowano u osób do 19 roku życia. Najczęstszą postacią gruźlicy w Polsce w 2020 roku była gruźlica płuc, stanowiąca 95,5% wszystkich zachorowań. Zapadalność na gruźlicę wszystkich postaci wynosiła w Polsce 8,8/100 tys. osób i była niemal trzykrotnie większa u mężczyzn, niż u kobiet. Największy współczynnik zapadalności na gruźlicę występował u osób w grupie wiekowej 45-64 lat i wynosił 15,0/100 tys. os. Zapadalność na TB w Polsce dość znacznie różni się między poszczególnymi regionami wynosząc od 13,3/100 tys. mieszkańców w woj. lubelskim do 5,5/100 tys. w woj. podlaskim. W województwie pomorskim zapadalność na gruźlicę w 2020 roku wynosiła 7,7/100 tys. os. i była niższa niż w 2019 roku (12,0/100 tys. os.). Zapadalność na gruźlicę jest w Polsce niższa niż średnia zapadalność w krajach należących do Unii Europejskiej (odpowiednio 8,8/100 tys. os. vs. 9,6/100 tys. os.). Ponadto w Polsce odnotowuje się również mniejszą niż w Unii Europejskiej liczbę zachorowań wśród dzieci, odsetek koinfekcji wirusem HIV oraz liczbę przypadków wielolekoopornej TB [34].

Według danych Głównego Urzędu Statystycznego w 2019 roku na gruźlicę zmarło w Polsce 456 osób. Szczepionką przeciw TB (*Bacillus Calmette-Guerin*, BCG) zaszczepiono w 2020 roku w Polsce 91,1% ogółu wszystkich zdrowo urodzonych noworodków.

1.7. OBJAWY KLINICZNE, DIAGNOSTYKA I LECZENIE SARKOIDOZY

Rozpoznanie sarkoidozy opiera się na podstawie łączności obrazu klinicznego, radiologicznego i najważniejszego badania- histopatologicznego. Konieczne jest wykonanie biopsji ze zmienionego chorobowo narządu i uwidocznienie w nim ziarniaków nieserowaciejących, zbudowanych z komórek nabłonkowych oraz olbrzymich. Niezbędne jest wykluczenie wszystkich innych możliwych przyczyn rozwoju ziarniaków, przede wszystkim gruźlicy (Tab. 1.) [35].

Tabela 1. Przyczyny powstawania ziarniaków [11,36]

Infekcyjne	
Bakterie	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Mycobacterium tuberculosis complex</i> • <i>Propionibacterium</i> spp. • <i>Brucella</i> spp. • <i>Mycoplasma pneumoniae</i> • <i>Chlamydia trachomatis</i> (serotypy L1, L2, L3) • <i>Francisella tularensis</i> • <i>Treponema (pallidum, pertenue carateum)</i>
Grzyby	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Aspergillus</i> spp. • <i>Histoplasma capsulatum</i> • <i>Coccidioides</i> spp. • <i>Blastomyces dermatitidis</i> • pleśniakowce
Wirusy	<ul style="list-style-type: none"> • cytomegalowirus (CMV) • <i>Ebstein-Barr</i> (EBV) • <i>Herpes zoster 8</i> (HHV-8) • wirus ludzkiej białaczki
Pasożyty	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Pneumocystis jiroveci</i> • <i>Echinococcus granulosus</i> • <i>Leishmania</i> spp. • <i>Toxoplasma gondii</i> • <i>Acanthamoeba</i> spp.
Ekspozycja zawodowa i środowiskowa	
Immunologiczne	<ul style="list-style-type: none"> • eozynofilowa ziarniakowatość z zapaleniem naczyń (zespół Churg i Strauss) • ziarniakowatość z zapaleniem naczyń • limfocytowe śródmiąższowe zapalenie płuc • choroba Leśniowskiego-Crohna • reumatoidalne zapalenie stawów
Nowotworowe	<ul style="list-style-type: none"> • chłoniaki (Hodgkin i non-Hodgkin) • histiocytoza z komórek Langerhansa • nasieniaki

	<ul style="list-style-type: none"> • mięsaki • radio- i chemioterapia
Alergiczne zapalenie pęcherzyków płucnych	<ul style="list-style-type: none"> • płuco farmera • płuco hodowców gołębi • przemysł drzewny
Czynniki chemiczne/leki/ciała obce	<ul style="list-style-type: none"> • silikon • krzemionka • talk • węglan wapnia lub szczawian wapnia • metale (np. beryl, tytan, cyrkon, aluminium, złoto) • wata szklana • węglowodory i węglowodany (np. skrobia) • szwy chirurgiczne

1.7.1. Objawy kliniczne sarkoidozy

W USA oraz krajach europejskich, w tym w Polsce, sarkoidoza najczęściej występuje w płucach, węzłach chłonnych wnek płucnych oraz śródpiersia, wątrobie, śledzionie i skórze, niemniej jednak zmiany ziarniniakowe mogą występować w każdym narządzie, w tym w narządach ważnych dla życia (Tabela 2.).

Sarkoidoza ma najczęściej przebieg bezobjawowy (50-80% przypadków). Postaci ostrej może towarzyszyć zespół Löfgrena (rumień guzowaty, limfadenopatia wnekowa/śródpiersiowa, zapalenie stawów), podwyższona temperatura ciała, napadowy lub ciągły kaszel, bóle mięśniowe, osłabienie, poty nocne, utrata ciężaru ciała i/lub objawy uszkodzenia zajętych narządów. Ostrej postaci sarkoidozy występuje u 50-80% chorych, podczas gdy przewlekła postać sarkoidozy rozwija się po 2 latach trwania tej choroby u 20-40% pacjentów i może wywoływać włóknienie zajętych narządów z utratą ich funkcji [10,11,37,38].

Tabela 2. Postacie sarkoidozy

Zajęty narząd/ zespół objawów	Częstość występowania SA (%)	Postaci/objawy
Układ oddechowy [39]	>90	Zmiany w mięszu płucnym, limfadenopatia węzkowa i/lub śródpiersiowa
Zespół przewlekłego zmęczenia [40,41]	50-80	Kryteria Amerykańskiego Centrum Kontroli i Zapobiegania Chorób [42]
Skóra [43]	~15	Grudki, guzki, sarkoidoza w bliźnie, blaszki, toczeń odmrozinowy (<i>lupus pernio</i>)
Limfadenopatia obwodowa [10,44]	10-20	Najczęściej powiększenie węzłów chłonnych nad- i podobojczykowych, jamy brzusznej, pachwinowych oraz pachowych
Narząd wzroku [45,46]	10-30 (Japonia ~70)	Zapalenie błony naczyniowej oka, siatkówki, guzki siatkówki/spojówki, powiększenie gruczołów łzowych
Wątroba [47]	20	Często bezobjawowe, 20-30% nieprawidłowe testy wątrobowe, hepatomegalia, rzadko niewydolność wątrobowa, przewlekła cholestaza wewnątrzwątrobowa, nadciśnienie wrotne
Śledziona [44]	~10	Splenomegalia, rzadko ból lewego podżebrza, pancytopenia, bardzo rzadko pęknięcie śledziony
Serce [48]	20-25	Często bezobjawowe, bloki przedsionkowo-komorowe lub wewnątrzkomorowe, tachykardia, migotanie przedsionków, przewlekła niewydolność serca, zapalenie osierdzia, nagła śmierć sercowa
Układ nerwowy [49]	5-15	Porażenie nerwów twarzowych, zapalenie nerwu wzrokowego, zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, moczówka prosta, niedobory hormonów części gruczołowej przysadki mózgowej, drgawki, zaburzenia poznawcze, wodogłowie, objawy psychiatryczne, zaburzenia rdzeniowe, polineuropatie, neuropatia małych włókien nerwowych
Nerki [50]	0,5-2	Rzadko postać objawowa, może wystąpić podwyższone stężenie kreatyniny z hiperkalcemią, nefrokalcynoza, kamica nerkowa

Zapalenie przyusznic [10]	4	Symetryczny obrzęk przyusznic, zespół Heerforda (gdy występuje z zapaleniem rogówki, tęczówki, ciała rzęskowego, gorączką, porażeniem n. VII)
Jama nosowa [44]	0,5-6	Niedrożność nosa, krwawienie z nosa, strupy, anosmia
Krtań [44]	0,5-1	Chrypka, stridor, dysfagia
Kości [51]	<5	Często bezobjawowe, najczęściej zajęte są kości stóp i rąk
Mięśnie szkieletowe [51]	1	Oslabienie proksymalnych mięśni kończyn, zanik mięśni, bóle mięśniowe, wewnątrzmięśniowe guzki
Układ rozrodczy [10,44]	1	Każdy narząd może być zajęty
Układ pokarmowy [10]	1	Najczęściej bezobjawowe, może być zajęty każdy odcinek układu pokarmowego

1.7.2. Diagnostyka sarkoidozy

U około 90% chorych na sarkoidozę płucną występują zmiany w RTG klatki piersiowej. Najczęściej stwierdza się limfadenopatię wnękową/śródpiersiową, obecną u ponad 75% chorych [39,52]. Na podstawie obrazu RTG klatki piersiowej chorych na SA klasyfikuje się do jednej z pięciu faz sarkoidozy płucnej (0-IV) [6]. Z powodu dużej różnorodności w prezentacji klinicznej oraz aktywności choroby próbuje się ją zastępować tzw. kliniczną klasyfikacją aktywności choroby (*sarcoid clinical activity classification*). Ten sposób rozpoznawania danej postaci sarkoidozy ma pomóc klinicyście w podejmowaniu decyzji o włączeniu leczenia immunosupresyjnego oraz o czasie jego trwania [10,53,54].

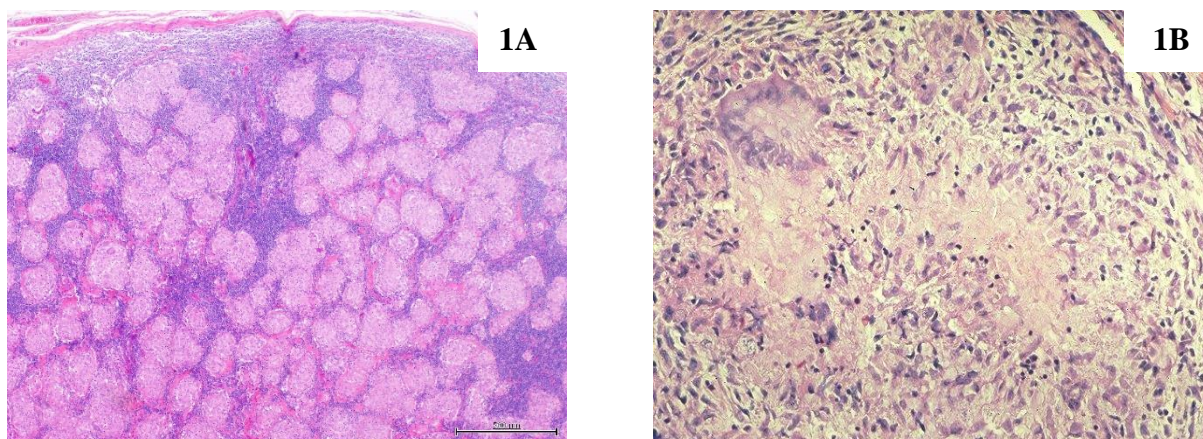
Dokładniejszą od RTG techniką obrazową stosowaną do oceny stopnia zaawansowania i aktywności choroby jest tomografia komputerowa wysokiej rozdzielczości (TKWR) z/lub bez użycia środka kontrastowego. Ta metoda pozwala na bardzo dokładne zobrazowanie zmian w mięszu płucnym oraz ewentualnej limfadenopatii śródpiersiowej i wnękowej, niewidocznej na zdjęciach RTG klatki piersiowej u części chorych na sarkoidozę płucną. Zarówno tomografia komputerowa jak i ultrasonografia (USG) są bardzo użytecznymi metodami w diagnostyce pozapłucnych postaci SA, np. zmian sarkoidalnych w wątrobie, śledzionie, węzłach chłonnych jamy brzusznej, czy w sarkoidozie ślinianek i gruczołów łzowych [10,11]. Z kolei rezonans magnetyczny (MRI) z podaniem gadolinowego środka kontrastowego jest przydatny w diagnostyce zajęcia serca oraz ośrodkowego układu nerwowego przez proces chorobowy [55–57]. W sarkoidozie serca pomocne są również

elektrokardiografia i echokardiografia, jednak są to metody dużo mniej czułe i mało specyficzne [58,59]. Najbardziej czułą metodą obrazową w diagnostyce i ocenie aktywności sarkoidozy serca wydaje się pozytonowa tomografia emisyjna połączona z tomografią komputerową lub rezonansem magnetycznym z użyciem 18-fluorodeoksyglukozy (^{18}F FDG-PET-TK/MRI) [60,61]. Mniej czuła od w/w techniki obrazowania serca jest scyntygrafia z użyciem galu czy technetu, która jest natomiast bardzo przydatna przede wszystkim w diagnostyce SA gruczołów łzowych i ślinianek [62,63].

Metodami diagnostycznymi stosowanymi w celu otrzymania materiału tkankowego są: badania endoskopowe (bronchofiberoskopia) z możliwością biopsji węzłów chłonnych (przezoskrzelowa ultrasonograficzna biopsja cienkoigłowa, biopsja aspiracyjna cienkoigłowa przezoskrzelowa) czy zmienionej chorobowo błony śluzowej oskrzela, biopsja aspiracyjna cienkoigłowa/gruboigłowa przez ścianę klatki piersiowej, mediastinoskopia, biopsja Daniela, przezprętkowa biopsja węzłów chłonnych śródpiersia pod kontrolą ultrasonografii i najbardziej obiecująca przezoskrzelowa/przezskórna kriobiopsja płuca [10,51,53].

Po pobraniu materiału tkankowego podlega on ocenie patomorfologicznej. Charakterystyczne dla sarkoidozy jest występowanie ziarniaków nieserowaciejących zbudowanych z komórek nabłonkowatych i olbrzymich w zajętych tkankach. Zespół Zurauskasa [64] udokumentował występowanie ziarniaków nieserowaciejących u 94% chorych z potwierdzoną sarkoidozą poddanych biopsji zmienionych chorobowo tkanek w czasie bronchofiberoskopii. Jednakże 6% pacjentów z potwierdzoną sarkoidozą w materiale biopsyjnym posiadała ziarniaki z martwicą (*necrotizing sarcoid granulomatosis*, NSG) (Rycina 1.).

Badanie bakteriologiczne płynu z płukania pęcherzykowo-oskrzelowego (rozmaz, hodowla, PCR) pozwala z dużym prawdopodobieństwem wykluczyć przyczynę infekcyjną choroby, natomiast analiza cytologiczna płynu z płukania pęcherzykowo-oskrzelowego umożliwia wykluczenie procesu rozrostowego oraz ułatwia różnicowanie z innymi chorobami śródmiąższowych płuc. Charakterystyczny dla sarkoidozy, pomagający różnicować ją z innymi śródmiąższowymi chorobami płuc, jest podwyższony stosunek limfocytów T $\text{CD4}^+/\text{CD8}^+ > 3,5$ w BAL oraz $\text{CD4}^+/\text{CD8}^+$ BAL/krew obwodowa > 2 , jak również obniżony stosunek $\text{CD103}^+\text{CD4}^+/\text{CD4}^+ < 0,2$ w BAL [65,66].



Rycina 1A i 1B. A: śródpiersiowy węzeł chłonny z licznymi niezlewającymi się ziarniniakami nieserowaciejącymi u pacjenta z rozpoznaną sarkoidozą (barwienie hematoksyliną i eozyną, materiał własny); **B:** śródpiersiowy węzeł chłonny z ziarniniakami z martwicą u pacjenta z rozpoznaną sarkoidozą (barwienie hematoksyliną i eozyną, materiał pochodzi ze zdjęć zamieszczonych na stronie internetowej <http://granuloma.homestead.com/sarcoidosis.html>)

W badaniach krwi obwodowej u osób chorych na SA można zaobserwować niedokrwistość i leukopenię (28-41%), eozynofilię (50%), hipergammaglobulinemię (75%) oraz hiperkalcemię (~10%) [11]. U chorych na SA może występować zwiększone stężenie enzymu konwertującego angiotensynę we krwi obwodowej. Marker ten może być przydatny w ocenie aktywności choroby oraz do monitorowania skuteczności jej leczenia, nie jest jednak specyficzny i nie może służyć do jej rozpoznania, gdyż jego podwyższone stężenie może występować m. in. w gruźlicy oraz w chorobie nowotworowej [11,67].

1.7.3. Leczenie sarkoidozy

Nieznajomość czynnika etiologicznego, często bezobjawowy przebieg i spontaniczna remisja nie pozwoliły do dnia dzisiejszego stworzyć uniwersalnego algorytmu postępowania terapeutycznego u chorych na SA. Decyzja o rozpoczęciu leczenia powinna być formowana na podstawie oceny zaawansowania choroby potwierdzonej klinicznie, radiologicznie, w testach czynnościowych płuc, jak i w zależności od rodzaju narządu zajętego proces chorobowy. Celem terapii immunosupresyjnej jest wygaszenie niekontrolowanej ziarniniakowej reakcji zapalnej w SA, która nieleczone może w 30% doprowadzić do włóknienia i upośledzenia funkcji zajętych narządów [68,69].

Glikokortykosteroidy (GKS) stanowią pierwszą linię leczenia [68-70]. W przypadku nieskuteczności, skutków ubocznych lub obecności przeciwwskazań do ich włączenia

zastosowanie znajdują leki cytostatyczne i biologiczne (w tym leki blokujące działanie TNF α , np. infliksymab), a także, mniej zasadne, leki przeciwprątkowe oraz antybiotyki [69,70]. Około 3% pacjentów z sarkoidozą płucną wymaga transplantacji płuc, a < 1% chorych z sarkoidozą serca transplantacji tego narządu [11]. Niestety u około 62% pacjentów po transplantacji zmiany ziarniniakowe zajmują przeszczepiony narząd [71].

1.8. OBJAWY KLINICZNE, DIAGNOSTYKA I LECZENIE GRUŻLICY PŁUC

Gruźlica najczęściej występuje w płucach, jednak może również występować w innych narządach (jamy opłucnowe, węzły chłonne, stawy, kości, układ moczowo-płciowy, przewód pokarmowy, ośrodkowy układ nerwowy, osierdzie, skóra, górnych dróg oddechowych, narząd wzroku) (Tab. 3) [13,72,73].

1.8.1. Objawy kliniczne gruźlicy płuc

Początek gruźlicy jest często skryty i podstępny, a objawy słabo wyrażone oraz niecharakterystyczne, a należą do nich: kaszel utrzymujący się co najmniej 3 tygodnie, bez/z odkrztuszaniem plwociny, brak apetytu, utrata ciężaru ciała, nocne poty, stany podgorączkowe, osłabienie, łatwe męczenie się, duszność i/lub ból w klatce piersiowej, krwioplucie. Szacuje się, że co najmniej 25% chorych na aktywną postać gruźlicy płuc nie ma żadnych objawów klinicznych (postać subkliniczna) [74].

Tabela 3. Postacie gruźlicy [13,72,73]

Zajęty narząd	Częstość występowania TB (%)
Płuca	>90
Z zapaleniem opłucnej	5-30
TB pozapłucna:	~10
Układ moczowo-płciowy	60-65
	17,4
Limfadenopatia obwodowa	węzły chłonne okolicy głowy i karku- 90% przypadków; najczęściej zajęte są węzły przednie i tylne szyi- 70%
Układ nerwowy	5-15
	1-4,3
Układ kostno-stawowy	TB kręgosłupa- 40–60% gruźlicy kości TB stawów biodrowych i kolanowych- 10–15% gruźlicy kości
Skóra	1-4,4
Narząd wzroku	1
Serce/osierdzie	1

1.8.2. Diagnostyka gruźlicy płuc

WHO oraz Europejskie Centrum ds. Zapobiegania i Kontroli Chorób (ECDC) wyróżniają pacjentów z gruźlicą domniemaną, gruźlicą bakteriologicznie potwierdzoną oraz gruźlicą bakteriologicznie niepotwierdzoną, zdiagnozowaną na podstawie objawów klinicznych (Tab. 4.) [14,75].

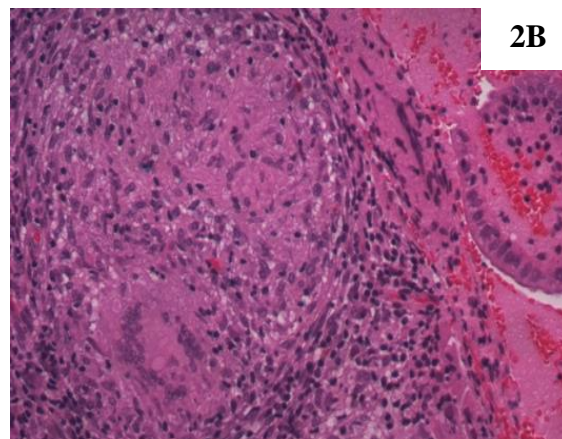
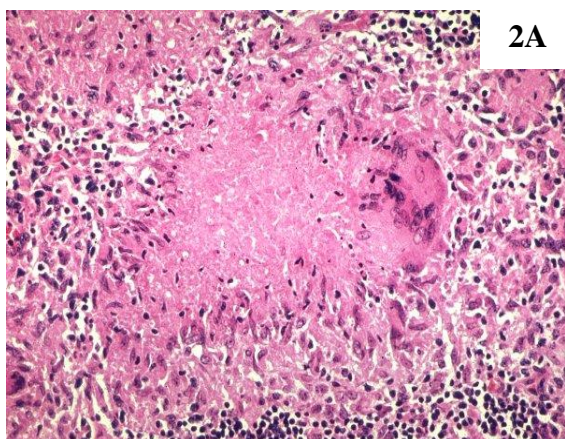
Rozpoznanie gruźlicy opiera się w głównej mierze na wykryciu obecności *Mycobacterium tuberculosis* w materiale biologicznym pobranym od pacjenta. W przypadku postaci płucnej, tym materiałem jest płwocina oraz BAL. Laboratoryjne kryteria rozpoznania gruźlicy oparte są na wynikach badań bakteriologicznych, histopatologicznych oraz molekularnych. Standardem diagnostycznym rozpoznania gruźlicy są hodowle bakteryjne wykonywane przez laboratoria referencyjne oraz rozmazy mikroskopowe płwociny. Wyniki hodowli bakteryjnych na podłożach płynnych uzyskiwane są w ciągu 6 tygodni, a na podłożach

stałych w ciągu 10 tygodni od rozpoczęcia hodowli [14,75]. Ponadto obecne zalecenia Światowej Organizacji Zdrowia rekomendują u osób dorosłych i dzieci z objawami mogącymi świadczyć o gruźlicy wykonywanie przesiewowych szybkich testów molekularnych wykrywających materiał genetyczny Mtb [14].

Do testów diagnostycznych stosowanych w celu potwierdzenia gruźlicy należy próba tuberkulinowa (OT) polegająca na śródskórnym wstrzyknięciu tuberkuliny z następowym odczytem wielkości powstałego w ciągu 72 godzin nacieku. Dodatni wynik OT jest jedynie pośrednim dowodem na infekcję Mtb i nie oznacza potwierdzenia aktywnej postaci gruźlicy, ani też zakażenia szczepem chorobotwórczym wywołującym TB, gdyż może być spowodowany odpowiedzią amnestyczną na antygeny zawarte w szczepie BCG, alergią na tuberkulinę, czy zbyt głębokim podaniem tuberkuliny [76]. Kilka tygodni po szczepieniu żywymi szczepionkami przeciwbakteryjnymi, przeciwwirusowymi, podczas immunosupresji czy w przypadku anergii obwodowej, występującej m.in. w sarkoidozie, odczyn tuberkulinowy może być fałszywie ujemny [77]. Im większa średnica nacieku po śródskórnym wstrzyknięciu tuberkuliny, tym większe prawdopodobieństwo infekcji Mtb. W Polsce za wynik dodatni w populacji ogólnej uznaje się naciek ≥ 10 mm [78,79].

Dostępne są również testy oparte na pomiarze wydzielania interferonu γ (*interferon γ release assay*, IGRA) przez limfocyty krwi obwodowej po pobudzeniu przez antygeny Mtb: ESAT-6 oraz CFP-10. Antygeny te nie występują w szczepie BCG oraz u prątków saprofitycznych, co zwiększa swoistość badania [80]. Testy te charakteryzują się większą czułością i swoistością w porównaniu do próby tuberkulinowej, stąd też ich wykonywanie zamiast i/lub z próbą tuberkulinową jest pożądane [81-82]. Należy pamiętać, że tuberkulina również zawiera antygeny ESAT-6 oraz CFP-10, co może wpływać na wynik testu IGRA, dlatego też zaleca się wykonanie testów IGRA przed OT lub w jak najkrótszym odstępie czasu po jej wykonaniu [81-82].

Badanie histopatologiczne jest pomocne w diagnostyce TB, zwłaszcza w diagnostyce różnicowej. W zmienionych chorobowo narządach najczęściej występują ziarniniaki z centralną martwicą serowaciejącą (u około 80% pacjentów), „nietypowe” dla gruźlicy ziarniniaki bez martwicy (nieserowaciejące) są stwierdzane u około 20% pacjentów chorych na gruźlicę poddanych biopsji [64] (Rycina 2.).



Rycina 2A i 2B. A: śródpiersiowy węzeł chłonny z ziarniniakiem serowaciejącym u pacjenta z rozpoznaną gruźlicą (barwienie hematoksyliną i eozyną); **B:** śródpiersiowy węzeł chłonny z ziarniniakami nieserowaciejącymi u pacjenta z rozpoznaną gruźlicą (barwienie hematoksyliną i eozyną). Materiały pochodzą ze strony internetowej <http://granuloma.homestead.com/sarcoidosis.html>

Według Globalnego Raportu WHO dotyczącego gruźlicy w 2020 r. jedynie 59% przypadków gruźlicy płucnej na świecie zostało potwierdzonych bakteriologicznie [13]. W Polsce w 2020 r. bakteriologiczne potwierdzenie TB uzyskało 2655 chorych (78% wszystkich rozpoznanych przypadków tej choroby) [34]. Z tego powodu ważną rolę w rozpoznawaniu gruźlicy płuc odgrywają badania obrazowe z użyciem promieni rentgenowskich (RTG, TKWR). Zdjęcia rentgenowskie klatki piersiowej są badaniem mało czułym i mało specyficznym, jednak charakterystyczny dla gruźlicy płuc obraz może nasunąć jej podejrzenie [83]. Z kolei, z uwagi na dość charakterystyczny obraz TB w TKWR stała się ona bardzo ważnym badaniem w diagnostyce bakteriologicznie ujemnej gruźlicy płuc [84].

W RTG i TKWR najczęściej stwierdza się jedno- lub obustronne zacienienia (nacieki), zwykle zlokalizowane w szczytowo-tylnych segmentach płatów górnych lub w szczytowych segmentach płatów dolnych. U 30% chorych, głównie u osób starszych i z zaburzeniami odporności, mogą powstawać również izolowane zmiany w dolnych polach płuc. U około 95% chorych z aktywną gruźlicą widoczne są guzki centralnej części zrazika płucnego układające się w obraz „pączkującego drzewa” (*tree-in-bud*). W naciekach często dochodzi do rozpadu, które widoczne są na radiogramie czy w TK jako przejaśnienia, jamy. Otorbione nacieki mogą doprowadzać także do powstawania guza w obrazie radiologicznym, gruźliczaka. Często w obrębie tych zmian mogą występować zwapnienia. Naciekowi mogą towarzyszyć zmiany gruboplamiste lub wielopostaciowe wskutek rozsiewu TB. Natomiast krwiopochodne rozprzestrzenienie się gruźlicy przyjmuje charakter prosówki,

drobnoplamistych rozsianych równomiernie w obu płucach zmian. U około 25% chorych na TB płucną występuje jednostronny płyn w opłucnej. Przebieg TB zwykle jest przewlekły, z okresami zaostrzeń i remisji, podczas której dochodzi do włóknienia zmian. Powoduje to bardzo często powstawanie obrazu zmian włóknisto-guzkowych w szczytach płuc lub obejmujących cały płat czy nawet płuco, z pociąganiem śródpiersia na stronę chorą. W miarę postępu choroby dochodzić może do rozwoju gruźlicy włóknisto–jamistej, a nawet do marskości płuc [85-87].

Tabela 4. Kryteria rozpoznania gruźlicy wg WHO i ECDC [14,75]

Postać gruźlicy	Wyniki
Gruźlica domniemana	<ul style="list-style-type: none"> objawy sugerujące gruźlicę (wymienione w podrozdziale 1.8.1.)
Gruźlica bakteriologicznie potwierdzona	<ul style="list-style-type: none"> wyhodowanie szczepu prątka gruźlicy lub dodatni wynik badania bakterioskopowego lub wykrycie DNA/RNA Mtb lub stwierdzenie ziarniniaków w badaniu histopatologicznym i wykrycie DNA/RNA Mtb
Gruźlica bakteriologicznie niepotwierdzona, zdiagnozowana na podstawie objawów klinicznych	<ul style="list-style-type: none"> brak stwierdzenia prątków gruźlicy w hodowli, ujemny wynik testu bakterioskopowego, brak DNA/RNA Mtb w materiale biologicznym, brak poprawy po leczeniu szerokospektralnymi antybiotykami (unikając fluorochinolonów) oraz dodatni wynik próby tuberkulinowej/testu IGRA* lub obecność zmian podejrzanych o gruźlicę w materiale biologicznym (np. ziarniniaki serowacujące) lub typowy obraz zmian w badaniach obrazowych (RTG/TK klatki piersiowej, kręgosłupa)

* testy wydzielania interferonu gamma (*Interferon Gamma Release Assays*, IGRA)

1.8.3. Leczenie gruźlicy płuc

Wczesne wykrycie i skuteczne leczenie chorych na gruźlicę ogranicza rozprzestrzenianie zakażeń. Leczenie chorych na TB musi być dwuetapowe i składa się z: co najmniej dwumiesięcznej intensywnej terapii przeciwprątkowej oraz co najmniej czteromiesięcznego leczenia antybakteryjnego. W skład intensywnej terapii przeciwprątkowej wchodzi ryfampicyna, izoniazyd, pirazynamid oraz etambutol, a leczenia wyjąławiającego ryfampicyna i izoniazyd [76,88,89].

U chorych z ostrą niewydolnością oddechową w przebiegu prosówki, z serowatym zapaleniem płuc lub ostrym rozsiewem gruźlicy zaleca się również stosowanie prednizonu przez okres 4-8 tygodni i stopniowe włączanie leków przeciwgruźliczych [76,88,89].

1.8.4. Szczepienie BCG

Na początku XX wieku Calmette i Guerin wyizolowali szczep *Mycobacterium bovis* niezdolny do tworzenia zmian patologicznych w tkankach zwierząt (*Bacillus Calmette-Guérin*, BCG). Szczep ten został użyty do wyprodukowania szczepionki chroniącej przed gruźlicą. Pierwsze szczepienia były przeprowadzane w Paryżu od 1921 roku, początkowo u dzieci szczególnie zagrożonych zakażeniem, z czasem metoda ta rozpowszechniła się w Europie oraz na całym świecie [12].

WHO oraz Międzynarodowa Unia do Walki z Gruźlicą i Chorobami Płuc rekomendują wykonywanie szczepień BCG w krajach o wysokim współczynniku rocznego ryzyka zakażenia gruźlicą [90].

Pierwsze szczepienia BCG w Polsce odbyły się w 1955 roku i są stosowane do dnia dzisiejszego. Szczepienie BCG w Polsce wykonuje się w ciągu 24 godzin od narodzin, jeśli nie stwierdza się przeciwwskazań. Głównymi przeciwwskazaniami do szczepienia są: niedobory odporności (w tym wrodzone zakażenie wirusem HIV), masa urodzeniowa < 2000 g, poważne wady rozwojowe, zakażenia wrodzone, stany gorączkowe, zmiany skórne, nowotwory złośliwe [76].

Szczepienie BCG nie zapobiega zakażeniu prątkiem gruźlicy, ale istotnie zmniejsza liczbę zachorowań o ciężkim przebiegu, szczególnie u dzieci. Rewakcynacja szczepionką BCG nie jest obecnie zalecana [76].

1.9. ETIOPATOGENEZA SARKOIDOZY I GRUŻLICY

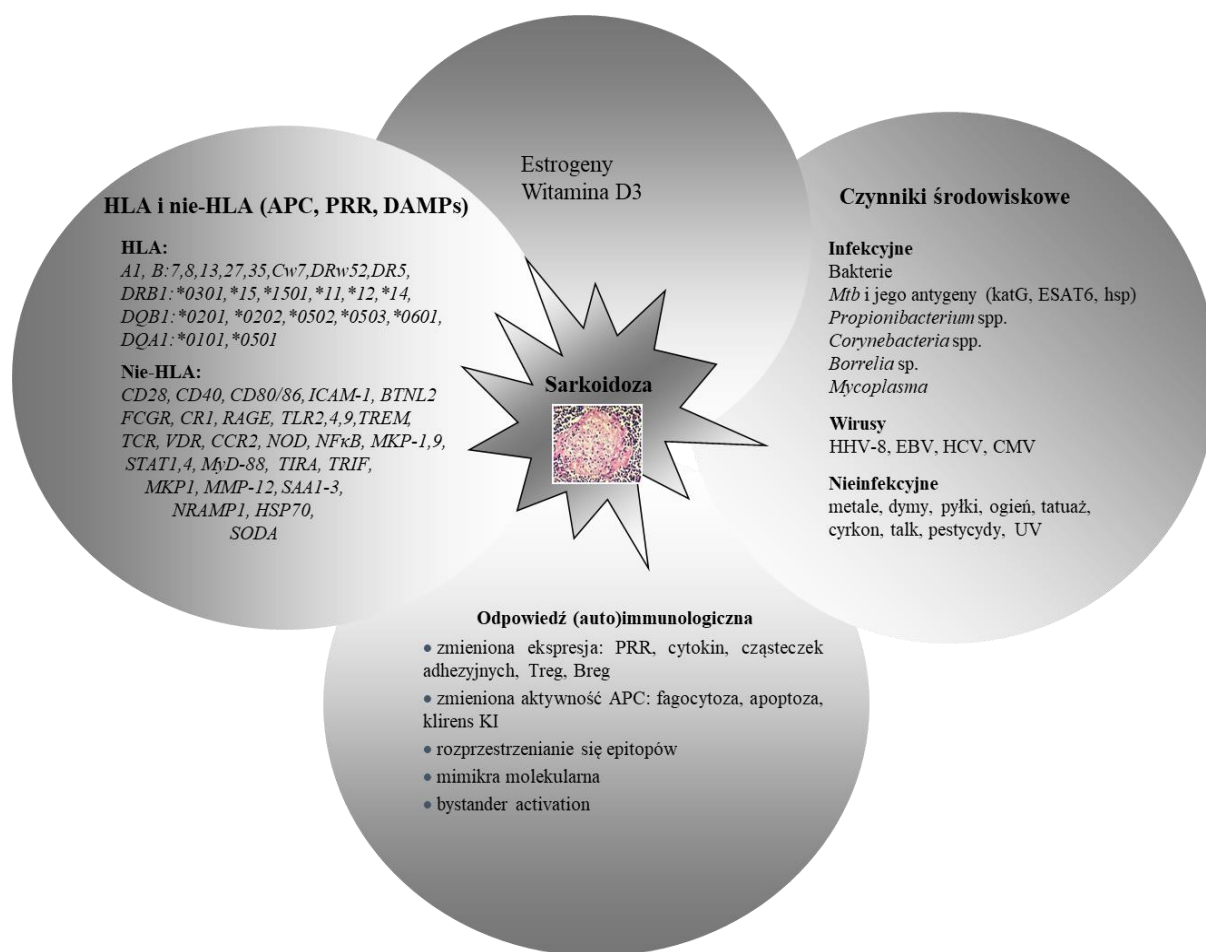
Polimorfizmy genów należących do układu zgodności tkankowej (*human leukocyte antigens*, HLA) oraz spoza HLA, zmieniając ekspresję i aktywność cząsteczek kostymulatorowych, receptorów zewnątrzkomórkowych/ błonowych/ wewnątrzkomórkowych, w tym receptorów rozpoznających wzorce molekularne (*pattern recognition receptors*, PRR) „*danger signals*”, elementów szlaków sygnałowych, cytokin, chemokin, enzymów, wpływają na zmianę funkcji komórek immunologicznych, które w odpowiedzi na czynniki środowiskowe mogą indukować rozwój ziarniny sarkoidalnej albo gruźliczej [31,91,92].

Do grupy „*danger signals*” należą endogenne struktury molekularne związane z uszkodzeniem komórki (*damage-associated molecular patterns*, DAMPs), np. ludzkie białka szoku termicznego (*heat shock proteins*, hsp) oraz wzorce molekularne związane z patogenami (*pathogen-associated molecular patterns*, PAMPs), np. hsp drobnoustrojów. Są one rozpoznawane przez w/w receptory PRR, do których należą także m.in. mogące łączyć się również z pentaksynami receptory dla fragmentu stałego immunoglobuliny G (FcγR), na komórkach prezentujących antygeny (APC) i mogą indukować ziarninę sarkoidalną przez różne czynniki infekcyjne, jak i nieinfekcyjne u osób z predyspozycją genetyczną [92,93].

1.9.1. Etiopatogeneza sarkoidozy

Etiopatogeneza sarkoidozy do dnia dzisiejszego nie została poznana. Uważa się, że u ludzi z predyspozycją genetyczną czynniki środowiskowe zarówno infekcyjne, jak i nieinfekcyjne mogą indukować rozwój ziarniny sarkoidalnej (Rycina 3.) [10,69,91–95].

Odnosnie infekcyjnych modeli SA: drobnoustroje o obniżonej wirulencji, np. prątek gruźlicy czy *propionibacteria*, rozpoznawane i fagocytowane przez polimorficzne PRR na APC o obniżonej apoptozie i poziomie degradującego/bakteriobójczego NO, przewlekłe bytują i wytwarzają w fagocytach nadmierne ilości ludzkich oraz drobnoustrojowych hsp, które prezentowane limfocytom CD4⁺ w kontekście HLA i limfocytom B z *bystander activation*, zmieniają ekspresję cytokin, cząsteczek kostymulatorowych, komórek Treg, apoptozę, stres oksydacyjny indukując autoagresję. Dodatkowo z powodu podobieństwa w budowie i funkcjach między ludzkimi i drobnoustrojowymi hsp, ale także pomiędzy drobnoustrojowymi hsp (np. 100 % homologia między hsp *Mycobacterium leprae* a *Mycobacterium tuberculosis* czy 70% homologia między hsp *M. tuberculosis* a *propionibacteria*) mogą one krzyżowo reagować i indukować autoimmunizację [93–95].



Rycina 3. Etiopatogeneza sarkoidozy

Odnośnie nieinfekcyjnych modeli SA: ludzkie hsp, w tym hsp16, są wydzielane podczas fagocytozy czynników nieinfekcyjnych, takich jak metale, pestycydy, talk, pyłki, barwniki z/bez metalu w tatuażu, w czasie szoku termicznego u strażaków, czy podczas naprawy przez hsp (m.in. hsp16) prekursora surowiczego amyloidu A (SAA) o nieprawidłowej budowie [31].

Czynniki infekcyjne i/lub nieinfekcyjne fagocytowane przez APC są degradowane wewnątrz komórek do epitopów, które transportowane na powierzchnię komórek prezentowane są w kontekście HLA limfocytom T i/lub limfocytom B. Powoduje to limfoproliferację i wyrzut chemokin przyciągających inne komórki zapalenia i produkcję cytokin, które będą je aktywowały, co powoduje, że w ciągu 21 dni rozwija się ziarniniak z centralnie położoną komórką APC, otoczoną pasmem komórek CD4, warstwami innych komórek immunologicznych jak: monocyty, komórki dendrytyczne, neutrofile, płytki krwi, limfocyty CD8+ oraz fibroblasty. W wyniku przetrwałej obecności antygeny i przewlekłej stymulacji cytokin makrofagi przekształcają się w komórki nabłonkowe, które pod wpływem cytokin INF- γ i IL-4 zlewają się i tworzą komórkę olbrzymią Langhansa [96].

Sarkoidoza, zwłaszcza zespół Löfgrena, spełnia wszystkie kryteria choroby z autoagresji: możliwość przeniesienia SA wraz z przeszczepianym narządem, test Kveima, modele zwierzęce z użyciem antygenów różnych bakterii, rozwój nacieków limfocytarnych w narządach dotkniętych procesem chorobowym, częste współistnienie z innymi chorobami o podłożu autoimmunologicznym, zwiększone ryzyko zachorowania na SA związane z obecnością poszczególnych alleli antygenów należących do układu HLA oraz poprawa po leczeniu immunosupresyjnym [97]. Z tego powodu sarkoidoza została umieszczona na liście chorób autoimmunologicznych oraz związanych z autoagresją Towarzystwa *American Autoimmune Related Diseases* [97,98].

1.9.2. Etiopatogeneza gruźlicy

Do zakażenia prątkiem gruźlicy dochodzi najczęściej drogą kropelkową, możliwa jest także droga pokarmowa i wertykalna [13]. U zdecydowanej większości osób zakażonych prątkiem gruźlicy wczesne (wrodzone) i późne (nabyte) elementy odpowiedzi immunologicznej zapobiegają rozwojowi aktywnej postaci choroby (gruźlica latentna) [99]. Bezpośrednio po inhalacji prątków gruźlica rozwija się jedynie u 5% osób (gruźlica pierwotna), a u kolejnych 5% w ciągu życia dochodzi do reaktywacji zakażenia latentnego (gruźlica popierwotna) [99].

Gruźlicą pierwotną określa się postać gruźlicy występującą po pierwotnej infekcji prątkiem gruźlicy. Występuje najczęściej jako zespół pierwotny, na który składa się zmiana ogniskowa w miąższu płuc oraz w okolicznych węzłach chłonnych [99]. Natomiast gruźlica popierwotna rozwija się po kilku miesiącach lub latach po przebyciu TB pierwotnej w wyniku wtórnego zakażenia organizmu lub reaktywacji ogniska pierwotnego. W układzie oddechowym przebiega najczęściej pod postacią zmian naciekowo-jamistych zajmujących szczytowe segmenty płuc [78].

Zarówno gruźlica pierwotna jak i popierwotna mogą rozwijać się także w innych tkankach i narządach np. w kręgach i innych kościach, nerkach, mózgu czy węzłach chłonnych innej okolicy ciała. Proces ten może postępować najczęściej z powstaniem martwicy serowatej albo wycofać się z pozostawieniem blizn i zwapnień [99].

Po dostaniu się prątków gruźlicy do pęcherzyków płucnych dochodzi do ich fagocytozy przez bytujące w płucach makrofagi pęcherzykowe, komórki dendrytyczne oraz napływające do miejsca zakażenia neutrofile [100]. Wewnątrz fagocytów prątki gruźlicy namnażają się blokując m. in. wiązanie się fagosomów z lizosomami oraz kierując dojrzewanie

makrofagów $M\phi$ w przeciwzapalny typ M2 [101]. Fagocytoza i wytwarzanie cytokin w pierwotnej odpowiedzi przeciw Mtb jest stymulowana przez PRR, w tym przez $Fc\gamma R$, które łączą się z pentaksynami opsonizującymi prątki gruźlicy [102]. Udokumentowano, że należący do pentaksyn surowiczy amyloid P (SAP) również kieruje dojrzewanie makrofagów $M\phi$ w przeciwzapalny typ M2, a w czasie pierwotnej odpowiedzi immunologicznej może opsonizować Mtb stymulując ich fagocytozę przy udziale receptorów $Fc\gamma$ [102]. Ponadto SAP w początkowej fazie zakażenia prowadzi do zwiększonego namnażania Mtb w makrofagach, zwłaszcza M2 [102].

Komórki APC (monocyty, makrofagi, komórki dendrytyczne) prezentują antygeny sfagocytowanych Mtb, m. in. Mtb-hsp, w kontekście HLA klasy II limfocytom $CD4+$ i w kontekście HLA klasy I limfocytom $CD8+$, stymulują je m. in. do wytwarzania cytokin prozapalnych i chemokin, które prowadzą do migracji do miejsca zapalenia kolejnych komórek odpowiedzi immunologicznej, co ma na celu stworzenie ziarniniaka i ograniczenie rozprzestrzeniania się Mtb [101]. Natomiast aktywacja limfocytów B przez antygeny prowadzi do ich dojrzewania m. in. w plazmocyty produkujące przeciwciała, w tym IgG. Wykazano, że stężenie m. in. IgG przeciwko rekombinowanemu antygenowi prątka 38kDa i lipoarabinomannanowi w BALF było wyższe u chorych na TB w porównaniu do osób zdrowych [103]. W przypadku dużej liczby prątków i/lub nadmiernej stymulacji fagocytów, w tym neutrofilów, w centrum ziarniniaka dochodzi do rozwoju martwicy serowatej. W otoczeniu martwicy skupiają się aktywowane makrofagi (komórki nabłonkowe) oraz komórki olbrzymie (Langhansa), stymulowane $IFN-\gamma$ produkowanym m. in. przez limfocyty $CD4+$ oraz aktywowane makrofagi [99].

Ponadto migrujące do miejsca zakażenia neutrofile, poza fagocytozą prątków wytwarzają także znaczne ilości bakteriobójczych reaktywnych form tlenu, prostaglandyn, proteaz, a poprzez wyrzut neutrofilowej sieci zewnątrzkomórkowej (*neutrophil extracellular trap*, NET) w procesie NETozy mogą aktywować przeciwbakteryjną odpowiedź komórkową, jak i humoralną [104]. Podczas aktywacji neutrofilów przez bakterie, lipopolisacharydy, prozapalne cytokiny oraz kompleksy immunologiczne *via* $Fc\gamma RIIa$ i $Fc\gamma RIIIb$, dochodzi do tworzenia NET- zdekondensowanego DNA, który połączony z histonami i białkami pochodzącymi z cytoplazmatycznych ziarnistości może „wyłapywać” i ograniczać rozprzestrzenianie się patogenów [104,105]. Udokumentowano, że NET powoduje uwięzienie Mtb, jednak nie prowadzi do ich zniszczenia [104], a nadmierna aktywacja neutrofilów prowadząca do powstania rozległych sieci NET i martwicy może skutkować niekontrolowaną

replikacją Mtb w ich obrębie oraz być jednym z czynników predysponujących do rozwoju i cięższego przebiegu gruźlicy [106].

Zaleganie NET w tkankach i naczyniach krwionośnych, wynikające z nieprawidłowego jej usuwania, może powodować uszkodzenie tkanek własnych [107]. Makrofagi i komórki dendrytyczne rozpoznają struktury NET jako DAMPs i prezentują je limfocytom Th, w tym Th2, z wytwarzaniem przeciwciał, w tym autoprzeciwciał w RZS, TRU czy łuszczycy [107]. W jednym z badań wykazano, że sieci NET były obecne w chorobach autoimmunizacyjnych przebiegających z powstawaniem martwicy oraz w ziarniniakach serowaciejących w gruźlicy, natomiast nie występowały w ziarniniakach sarkoidalnych bez martwicy [108].

1.9.3. Czynniki genetyczne rozwoju sarkoidozy i gruźlicy

Z uwagi na podobieństwa w obrazie klinicznym, histopatologicznym oraz radiologicznym SA i TB, w etiopatogenezie tych dwóch chorób rozważany jest udział prątka gruźlicy i jego antygenów [94,95,98,109–112]. Decydującą rolę w rozwoju danej jednostki chorobowej u osoby zakażonej Mtb wydają się mieć czynniki genetyczne.

Dobrze udokumentowane zwiększone ryzyko występowania sarkoidozy u bliźniąt w większości mono-, niż heterozygotycznych, przypadki rodzinnego występowania SA oraz rasowe różnice w częstości jej występowania wskazują na genetyczne podłoże zachorowania na SA [17,18,113,114]. Także skanowanie całego genomu (*Genome-wide association study*, GWAS) u chorych na sarkoidozę ujawniło związek polimorfizmu kilkunastu lokalizacji genomowych, w tym w obszarze kodującym białka z układu HLA, a rozwojem SA u osób rasy kaukaskiej [115] i u Afroamerykanów [116,117].

Danymi wydającymi się potwierdzać hipotezę czynnika genetycznego biorącego udział w rozwoju gruźlicy są dobrze udokumentowane przypadki osób znajdujących się w bliskim kontakcie z chorym aktywnie prątkującym, które nie uległy zakażeniu oraz prezentowały ujemny wynik OT [118], stosunkowo rzadki rozwój aktywnej postaci choroby u osób zakażonych prątkiem gruźlicy [99] oraz większe ryzyko zachorowania u bliźniąt mono-, niż heterozygotycznych [119,120]. Dwukrotnie większa zapadalność na gruźlicę u mężczyzn może świadczyć o związku między jej rozwojem a genami znajdującymi się na chromosomie X [13]. Dobrze udokumentowane są również różnice w zachorowalności na TB w różnych grupach etnicznych. Badania GWAS potwierdziły związek polimorfizmu

kilkunastu lokalizacji genomowych, w tym związanych z HLA i chromosomem X, a ryzykiem rozwoju gruźlicy [121–128].

1.9.4. Geny kodujące antygeny układu HLA mogące predysponować do rozwoju sarkoidozy i gruźlicy

Przeprowadzone badania dokumentują związek pomiędzy występowaniem poszczególnych alleli genów kodujących antygeny HLA klasy I-II, zwłaszcza klasy II, a podatnością na zachorowanie, przebieg i charakter narządowy SA oraz podatnością na zachorowanie na TB w poszczególnych grupach etnicznych (Tab. 5.) [129]. Wykazano, że kilka alleli kodujących HLA klasy I i II wpływa przeciwstawnie na ryzyko rozwoju SA i TB (Tabela 5.- zaznaczone pogrubioną czcionką).

U mieszkańców Polski północnej, w homogennej grupie naszych chorych na sarkoidozę wykazano częstsze występowanie alleli *B5*, *B8* oraz rzadsze *B13*, *B35*, *Cw4* w porównaniu do osób zdrowych. Ponadto w populacji tej wykazano u chorych na SA z zespołem Löfgrena częstsze występowanie alleli *DRB1*: *03, *11, *DQB1**02, *DQA1*: *02, *05 oraz rzadsze występowanie alleli *DRB1*: *16, *04, *08, *DQB1*: *03, *05, *DQA1*: *01, *03 w porównaniu do zdrowych ochotników. Co więcej, u chorych w stadium II SA odnotowano częstsze występowanie alleli *DRB1**15, *DQA1**01 oraz rzadsze występowanie alleli *DQB1*:*03, *05, *06, *DQA1**03 w porównaniu do grupy kontrolnej [130–133].

Natomiast w homogennej grupie mieszkańców Polski północnej naszych chorych na gruźlicę wykazano częstsze występowanie alleli *B15*, *Cw4*, *DRB1*:*16, *14, *DQB1**05, *DQA1**03 oraz rzadsze występowanie alleli *DRB1**11, *DQB1**02, *DQA1*: *02, *05 w porównaniu do osób zdrowych [130–133].

W naszej populacji pacjentów ze stadium II sarkoidozy wykazano częstszą obecność alleli *DRB1*: *04, *15 i *DQA1*: *0102, *0301 oraz rzadszą obecność alleli *DRB1*: *03, *11, *DQB1*: *02, *03, *05, *06 i *DQA1*: *0501, *0505, w stosunku do chorych w stadium I SA z zespołem Löfgrena. Ponadto wykazano, że obecność DNA *M. tuberculosis* w stadium II przewlekłej choroby związana była z występowaniem alleli *DRB1**11, *15, podczas gdy nie stwierdzono obecności DNA prątka gruźlicy w ziarninie sarkoidalnej pacjentów z *HLA-DRB1**03 i/lub *DRB1**04 w stadium I SA [130–133].

Co więcej, allele *B5*, *B8*, *DRB1**11 występowały częściej, a allele *B13*, *B15*, *Cw4*, *DRB1**16, *04, *14, *DQB1**03, *05, *DQA1**0301, *0302, *0303 rzadziej w stadiach I i II SA w porównaniu do chorych na TB. Dodatkowo allele *DQB1**02, *DQA1*: *0201, *0501

występowały częściej w stadium I SA z zespołem Löfgrena, natomiast allele *DRB1*: *15, *13 były częstsze jedynie u chorych w II stadium SA w porównaniu do chorych na TB, aczkolwiek po korekcji Benferroniego istotne statystycznie różnice między poszczególnymi allelami występowały jedynie dla alleli *DRB1*:*15, *02, *DQA1**0501 [130–133].

Należy podkreślić, że częste występowanie alleli *HLA-DRB1*: *15 i *16 związane jest ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na gruźlicę, zarówno w naszej populacji chorych na TB, jak i u pacjentów z gruźlicą w innych grupach etnicznych na świecie. Natomiast występowanie alleli *A1*, *B8*, *DRB1**03, *DQB1**0201, *DQA1**0301 i *DQA1**0501 u chorych z aktywną postacią sarkoidozy i zespołem Löfgrena jest charakterystyczne także dla wielu chorób z autoagresji [omówiono w 105].

W pionierskim badaniu [134] autorzy zwracają uwagę na rolę interakcji komórka gospodarza - patogen jako głównego czynnika modulującego ryzyko zachorowania na konkretny szczep *Mtb* w danej populacji. Analiza przeprowadzona w populacji południowoafrykańskiej wykazała korelację polimorfizmu genów HLA klasy I z zachorowalnością na TB, wywołanej różnymi szczepami prątka gruźlicy, a mianowicie: szczep *Beijing* *Mtb* występował częściej u osób z allelami *A**01, *B**08 i *C2*, natomiast rzadziej u osób z allelami *B27* i *C1*; szczep *LAM* występował z kolei częściej u osób z allelami *A**03 oraz z dwoma allelami *HLA-A* w genotypie; szczep *LCC* występował częściej u osób z allelem *B**44, natomiast rzadziej u osób z allelem *B**07; szczep *Quebec* występował częściej u nosicieli allelu *B**58.

Tabela 5. Wpływ antygenów HLA klasy I i II na ryzyko rozwoju, przebieg i postacię sarkoidozy (SA) oraz gruźlicy (TB)

Allel	Ryzyko rozwoju, przebieg oraz postacię	
	SA i/lub TB	Populacja
HLA klasy I		
A*1 [135,136]	podwyższone ryzyko rozwoju SA	czeska i włoska
	zmniejszone ryzyko rozwoju TB	hinduska
A2 [137,138]	zmniejszone ryzyko rozwoju TB przy nieobecności alleli B14 i DR4	włoska
	podwyższone ryzyko rozwoju TB	hinduska
A3-like supertypes [136]	podwyższone ryzyko rozwoju TB	hinduska

B*7 [139]	podwyższone ryzyko rozwoju SA	skandynawska
B*8 [130,135,140]	podwyższone ryzyko rozwoju SA	wiele populacji, w tym polska
B*12 [135]	zmniejszone ryzyko rozwoju SA	czeska i włoska
B14 [137]	podwyższone ryzyko rozwoju TB z obecnością allelu DR4	włoska
B15 [131]	podwyższone ryzyko rozwoju TB	polska
B18 [138]	zmniejszone ryzyko rozwoju TB	hinduska
B51(5) i Cw7 [130]	podwyższone ryzyko rozwoju SA	polska
B13, B35, B40, Cw2, Cw4 [130]	zmniejszone ryzyko rozwoju SA	polska
haplotyp B*7-A*3 u osób z allelem DRB1*15 [139]	podwyższone ryzyko rozwoju SA, podwyższone ryzyko rozwoju przewlekłej postaci SA	skandynawska
allel A*1 i/lub B*8 u osób z allelem DRB1*03 [139]	łagodniejszy przebieg SA i dobre rokowanie	skandynawska
HLA klasy II		
DR2 [141–144]	podwyższone ryzyko rozwoju TB	hinduska
DR3 [135]	podwyższone ryzyko rozwoju SA	czeska i włoska
DR4 [135,137]	zmniejszone ryzyko rozwoju SA	czeska i włoska
	podwyższone ryzyko rozwoju TB, samodzielnie i łącznie z allelem B14	włoska
DR14, DR15 [145,146]	podwyższone ryzyko rozwoju przewlekłej postaci SA	skandynawska
	podwyższone ryzyko rozwoju SA	amerykańska
DR17 [145]	podwyższone ryzyko rozwoju SA, podwyższone ryzyko rozwoju ostrej postaci SA	skandynawska
DRw6 [141]	zmniejszone ryzyko rozwoju TB	hinduska
DRB1*01 [146–148]	zmniejszone ryzyko rozwoju SA	polska, amerykańska, brytyjska,

		holenderska, japońska
DRB1*03 [148–151]	zmniejszone ryzyko rozwoju TB	wiele populacji
	podwyższone ryzyko rozwoju SA	amerykańska, holenderska
	łagodniejszy przebieg SA; podwyższone ryzyko rozwoju zespołu Löfgrena	polska, holenderska, skandynawska
	zmniejszone ryzyko rozwoju sarkoidalnego zapalenia błony naczyniowej oka	brytyjska
DRB1*04 [135,146,147,152]	zwiększone ryzyko rozwoju TB	wiele populacji
	zmniejszone ryzyko rozwoju SA	czeska, włoska, polska, amerykańska
DRB1*0401 [148]	zwiększone ryzyko rozwoju SA	japońska
DRB1*0602 [153]	podwyższone ryzyko splenomegalii u chorych na SA	japońska
DRB1*07 [151]	zmniejszone ryzyko rozwoju TB	wiele populacji
DRB1*0803 [148]	podwyższone ryzyko rozwoju SA, podwyższone ryzyko rozwoju SA zapalenia błony naczyniówkowej oka, neurosarkoidozy, sarkoidozy serca	japońska
DRB1*10 [148]	podwyższone ryzyko rozwoju SA	brytyjska
DRB1*11 [147]	zmniejszone ryzyko rozwoju SA	brytyjska, czeska, polska
DRB1*1101 [149,154,155]	podwyższone ryzyko rozwoju SA podwyższone ryzyko progresji SA ze stadium II do III	amerykańska: kaukaska i afroamerykańska, polska
	silniejsza aktywacja limfocytów T CD4+ w odpowiedzi na mykobakterialne antygeny ESAT-6 oraz katG u chorych na SA	amerykańska
DRB1*12 [146,148]	podwyższone ryzyko rozwoju SA	amerykańska, brytyjska, holenderska, japońska

DRB1*13 [156]	zmniejszone ryzyko rozwoju TB	polska
DRB1*14 [148]	podwyższone ryzyko rozwoju SA	brytyjska
	podwyższone ryzyko rozwoju z. Löfgrena	holenderska
	zmniejszone ryzyko rozwoju SA	japońska
DRB1*15 [157]	podwyższone ryzyko rozwoju TB	wiele populacji, w tym polska
<i>DRB1*1501</i> [148,155]	podwyższone ryzyko rozwoju SA	amerykańska (rasa kaukaska), brytyjska
DRB1*16 [156]	podwyższone ryzyko rozwoju TB	wiele populacji, w tym polska
DRB1*1601 [158]	podwyższone ryzyko rozwoju TB	polska
	zmniejszone ryzyko rozwoju SA	polska
DRB3*0101 [149]	podwyższone ryzyko rozwoju i progresji SA	rasa kaukaska
DQB1*02 [158,159]	zmniejszone ryzyko rozwoju TB	polska
DQB1*0201 [148,158–160]	podwyższone ryzyko zespołu Löfgrena	holenderska
	podwyższone ryzyko rozwoju SA oraz większa szansa łagodnego przebiegu SA	holenderska, brytyjska
	zmniejszone ryzyko rozwoju TB	polska
DQB1*03 [148]	podwyższone ryzyko rozwoju SA	japońska
	podwyższone ryzyko rozwoju z. Löfgrena	holenderska
DQB1*05 [158,159]	podwyższone ryzyko rozwoju TB	polska
DQB1*0501 [148]	zmniejszone ryzyko rozwoju SA	japońska
DQB1*0502 [158,159]	podwyższone ryzyko rozwoju TB	polska
DQB1*0503 [148]	podwyższone ryzyko rozwoju SA	brytyjska, holenderska
	podwyższone ryzyko rozwoju z. Löfgrena	holenderska
DQB1*0601 [161]	podwyższone ryzyko rozwoju SA serca	japońska
DQB1*0602 [148,162]	podwyższone ryzyko progresji SA	rasa afroamerykańska
	podwyższone ryzyko rozwoju z. Löfgrena	holenderska

haplotyp DRB1*04-DQB1*0301 [148,160,163]	podwyższone ryzyko rozwoju SA zapalenia błony naczyniówkowej oka	brytyjska, japońska
	podwyższone ryzyko rozwoju SA	japońska
haplotypy:		
DRB1*1601-DQB1*0502, DRB1*04-DQB1*03, DRB1*14-DQB1*05 [158]	podwyższone ryzyko rozwoju TB	polska
haplotyp DRB1*11- DQB1*03 [158]	zmniejszone ryzyko rozwoju TB	polska

Pogrubioną czcionką zaznaczono allele przeciwstawnie wpływające na ryzyko rozwoju SA i TB

1.9.5. Wpływ polimorficznych genów spoza układu HLA na rozwój, przebieg oraz postacie sarkoidozy i gruźlicy

Polimorfizm genów spoza układu HLA był również wielokrotnie badany w SA i TB (Tab. 6.).

Wśród genów spoza układu HLA mogącymi odpowiadać za predyspozycję do rozwoju SA poznane zostały polimorfizmy genów kodujących cząsteczki kostymulatorowe, jak CD28, CD40, CD80/86, adhezynę (*intercellular adhesion molecule 1*, ICAM-1), białko butyryfilino-podobne 2 (BTNL2), które indukują i wzmacniają odpowiedź (auto)immunologiczną. Ponadto badano polimorfizmy receptorów PRR, jak RAGE (ang. *receptor for advanced glycation end products*), który silniej aktywuje szlaki przenoszenia sygnału wewnątrzkomórkowego, prowadząc do pobudzenia czynnika transkrypcyjnego (*nuclear factor κB*, NF-κB) i uwalniania przez komórki wielu białek prozapalnych. Do innych genów kodujących PRR należą także polimorficzne geny dla receptorów receptor dla fragmentu C1q układu dopełniacza (*CRI*), fragmentu Fc immunoglobuliny G (*FCGRI-III*), receptorów na limfocytach T (*T cell receptor*, TCR), receptory Toll podobne (*toll like receptor*, TLR) 2, 4, 9, receptor dla witaminy D (*Vitamin D receptor*, VDR), receptor dla chemokiny (*chemokine C-C motif- receptors*, CCR) 2 na monocytach, bazofilach, limfocytach T oraz B, dla chemokin 2, 8, 16 oraz glikoproteiny TREM [31].

Ponadto wykazano, że polimorfizm białka SLC11A1 (wcześniej *natural resistance-associated macrophage protein*, NRAMPI) biorącego udział we wczesnym etapie aktywacji i różnicowania makrofagów ma także wpływ na rozwój sarkoidozy i gruźlicy. Białko SLC11A1 regulując gospodarkę kationów Fe²⁺ wpływa na wytwarzanie wolnych rodników hydroksylowych, a zaburzenie tego procesu wynikające z polimorfizmu kodującego go genu

SLC11A1 może powodować ujawnianie epitopów autoantygenów stymulując rozwój reakcji z autoagresji [164]. Białko to wpływa również na zwiększenie produkcji: TNF- α , NO, interleukiny (IL)-1 β oraz HLA klasy II, zwiększając ilość komórek odpornościowych mobilizowanych w odpowiedź immunologiczną w otoczeniu aktywowanego makrofaga, prowadzi do przewagi odpowiedzi Th1 charakterystycznej dla gruźlicy i sarkoidozy oraz innych chorób z autoagresji, np. reumatoidalnego zapalenia stawów (RZS), cukrzycy typu 1 [164–168]. W badaniach przeprowadzonych w polskiej populacji wykazano wpływ polimorfizmu allelu 3 promotora (GT) $_n$ genu *SLC11A1* na rozwój sarkoidozy i allelu 2 w/w promotora genu u pacjentów z TB [164]. Z kolei Maliarik i wsp. [168] w populacji afroamerykańskiej stwierdzili protekcyjny wpływ polimorfizmu końca 5' (CA) $_n$ genu *SLC11A1* na rozwój sarkoidozy. W innych badaniach zwiększone ryzyko rozwoju TB było związane z: polimorfizmem Asn543Asp [169–171], delecją TGTG regionu 3'UTR [170–172], polimorfizmem pojedynczego nukleotydu w intronie 4 (469+14 G/C) [173] oraz liczbą powtórzeń par (CA) w rejonie 5' genu *SLC11A1* [171,172]. Związek między zwiększonym ryzykiem rozwoju TB a polimorfizmem czterech wyżej wymienionych loci genu *SLC11A1* został również potwierdzony w dwóch metaanalizach [174,175].

Ponadto polimorfizm i liczba kopii genów *FCGR*, kodujących receptory PRR dla fragmentu Fc IgG (Fc γ RI-III), jak również genu *CR1* kodującego receptor dla fragmentu C1q układu dopełniacza uczestniczą w etiopatogenezie SA i mogą mieć wpływ na rozwój TB. Są one kluczowe dla prezentacji (auto)antygenów, fagocytozy, reakcji cytotoksycznej z udziałem przeciwciał, regulacji ekspresji cytokin i wytwarzania rodników hydroksylowych. Zorzetto i wsp. [176] wykazali zwiększone ryzyko rozwoju sarkoidozy u osób z genotypem 5507GG genu *CR1*. Z kolei Fitness i wsp. [177] wykazali większe ryzyko rozwoju gruźlicy u homozygot 1022HH i 1022QQ tego genu. Receptor ten jest jednym z białek biorących udział w fagocytozie zopsonizowanych Mtb. U osób chorych na TB polimorfizm ten powoduje prawdopodobnie upośledzenie fagocytozy Mtb, co może przyczynić się do jej rozwoju.

Otoczenie w jakim dochodzi do fagocytozy prątka również wywiera wpływ na aktywność fagocytów. W badaniach nad białkiem D surfaktantu wykazano jego hamujący wpływ na proces fagocytozy Mtb przez makrofagi pęcherzykowe [178]. Wpływ na fagocytozę prątka gruźlicy ma również białko A surfaktantu, które może powodować spadek aktywacji drogi klasycznej dopełniacza, co prowadzi do upośledzenia fagocytozy prątka opłaszczanego IgG i/lub IgM mediowanej przez CR1, również zwiększając ryzyko rozwoju gruźlicy płuc [179].

Wykazany w SA i TB polimorfizm w/w genów może wpływać na zmiany funkcji komórek, które w odpowiedzi na czynniki środowiskowe indukują odpowiedź (auto)immunologiczną, jak np. nadmierna adhezja, fagocytoza, spadek aktywności mikrobójczej/degradacyjnej, apoptotycznej, przewlekłej antygenemii i zwiększonej prezentacji (auto)antygenów limfocytom T w kontekście HLA czy komórkom B z ich zwiększoną proliferacją, produkcją prozapalnych cytokin (Tabela 6.).

Tabela 6. Wpływ polimorfizmów genów spoza układu HLA na rozwój, przebieg i postacie sarkoidozy (SA) i gruźlicy (TB)

Nazwa genu	Kodowane białko	Związek polimorfizmu genu z rozwojem SA i/lub TB
<i>HSP70-hom</i> [180]	białko szoku termicznego o masie cząsteczkowej 70 kDa	allel 2437C i genotyp 2437CC – podwyższone ryzyko rozwoju SA oraz podwyższone ryzyko rozwoju zespołu Löfgrena
<i>CRI</i> [176,177]	receptor dopełniacza typu 1	genotyp 5507GG – podwyższone ryzyko rozwoju SA homozygoty 1022HH i 1022QQ – podwyższone ryzyko rozwoju TB
<i>TLR2</i> [181–186]	receptor Toll-podobny 2	genotyp -16934AA – podwyższone ryzyko przewlekłej postaci SA genotypy: 597CC, 753AA, 753GA, 2029CT, haplotyp -16934A -15607G, insercja między -196 a -174 nukleotydem oraz allel 1350T – podwyższone ryzyko rozwoju TB; polimorfizm Arg753Gln – predyspozycja do szybszego rozwoju TB u dzieci zakażonych Mtb
<i>TLR4</i> [187,188]	receptor Toll-podobny 4	polimorfizmy Asp299Gly i Thr399Ile – podwyższone ryzyko przewlekłej postaci SA postaci 299Gly (homozygota 896GG) i 399Ile (homozygota 896TT) – podwyższone ryzyko ciężkiego przebiegu TB
<i>CCR2</i> [189,190]	receptor 2 chemokin typu C-C	allel 190A (64I) – podwyższone ryzyko rozwoju SA allel 190A (64I) i genotyp 190AA – zmniejszone ryzyko rozwoju TB; genotyp 190AA – zmniejszone ryzyko dużej ilości Mtb w płwocinie osób chorych na TB

CCR5 [191,192]	receptor 5 chemokin typu C-C	32-pz delecja w sekwencji nukleotydowej genu – podwyższone ryzyko rozwoju SA haplotyp HHD – podwyższone ryzyko rozwoju TB
SLC11A1 [164,168–175]	białko SLC11A1	polimorfizm allelu 3 promotora (GT) _n – indukcja przez czynnik infekcyjny procesu z autoagresji w SA; polimorfizm końca 5' (CA) _n genu <i>SLC11A1</i> – obniżone ryzyko rozwoju SA polimorfizm allelu 2 promotora (GT) _n – podwyższone ryzyko zachorowania na TB; polimorfizm Asn543Asp, delecja TGTG regionu 3'UTR, polimorfizm pojedynczego nukleotydu w intronie 4 (469+14 G/C) oraz liczba powtórzeń par (CA) w rejonie 5' – zwiększone ryzyko rozwoju TB
IFNG [193,194]	interferon- γ	allel +874T – podwyższona produkcja interferonu- γ i zmniejszone ryzyko rozwoju TB; genotyp +874AA – zmniejszona szansa na uzyskanie ujemnych wyników posiewów płwociny u chorych aktywnie prątkujących
IFNGR1 [195,196]	receptor 1 dla interferonu- γ	genotyp 56CC promotora tego genu – podwyższone ryzyko rozwoju gruźlicy; allel (CA) ₂₅ – podwyższone ryzyko rozwoju TB; allel (CA) ₂₆ – zmniejszone ryzyko rozwoju TB
IFNA10, IFNA17 [197]	interferon- α	allel 551G genu <i>IFNA17</i> oraz haplotyp <i>IFNA10</i> -60A / <i>IFNA17</i> -551G – podwyższone ryzyko rozwoju SA
IL-1 [198,199]	interleukina-1	genotyp -889CC – podwyższone ryzyko rozwoju SA genotyp -899TT – podwyższone ryzyko rozwoju TB
IL-2 [200]	interleukina-2	polimorfizm rs2069771, allel T – podwyższone ryzyko rozwoju SA genotyp -330TT – zmniejszone ryzyko rozwoju TB
IL-6 [201,202]	interleukina-6	allel -174C – może predysponować do IV fazy sarkoidozy płucnej allel -174C, heterozygoty -174CG, genotyp -174CC i genotypy -174CC+CG vs. GG – zmniejszone ryzyko rozwoju TB
IL-10 [203,204]	interleukina-10	genotyp -819CC oraz -592CC – podwyższone ryzyko rozwoju SA allel -1082G, genotypy -1082GG, -819TC i genotypy -819TC+TT vs. CC, allel -592A, genotyp -592AA oraz genotyp -592AA vs. AC+CC – podwyższone ryzyko rozwoju TB

<i>IL-18</i> [205,206]	interleukina-18	allel C w pozycji -607 promotora genu – podwyższone ryzyko rozwoju SA
		allel -137G – podwyższone ryzyko rozwoju TB; allel -137C - zmniejszone ryzyko rozwoju TB
<i>TNFA</i> [193,207–213]	czynnik martwicy nowotworu – α	allel <i>TNFA-308A</i> – łagodny przebieg SA, predyspozycja do rozwoju z. Löfgrena
		allel -308G – zmniejszone ryzyko rozwoju TB (populacja sycylijska); allel -308A – podwyższone ryzyko rozwoju TB (populacja chińska); allel -208A – zmniejszone ryzyko rozwoju TB (populacja chińska); genotyp – 857CT – podwyższone ryzyko rozwoju TB (populacja irańska); wyniki dwóch metaanaliz nie wykazały istotnych statystycznie różnic w częstościach występowania poszczególnych alleli i genotypów genu <i>TNFA</i> między chorymi na TB a osobami zdrowymi
<i>TNFB</i> [214]	czynnik martwicy nowotworu - β	allel <i>TNFB*1</i> – podwyższone ryzyko rozwoju przewlekłej postaci SA
<i>TGF-β1</i> [215]	transformujący czynnik wzrostu β 1	allel –509C i kodon 10T – cięższy przebieg SA
<i>TGF-β2</i> [216]	transformujący czynnik wzrostu β 2	allel 59941G – podwyższone ryzyko włóknienia płuc u chorych na SA
<i>TGF-β3</i> [216]	transformujący czynnik wzrostu β 3	allel 4875 A i 17369 C – podwyższone ryzyko włóknienia płuc u chorych na SA; allel 15101 G – obniżone ryzyko włóknienia płuc u chorych na SA
<i>CC10</i> [217]	białko Clara 10-kD	allel 38A – podwyższone ryzyko postępującej postaci SA, genotyp 38AA – niższe stężenie białka Clara 10-kD w BAL w porównaniu do genotypu 38GG i 38GA
<i>BTLN2</i> [218,219]	białko butyrofilinopodobne 2	allel A rs2076530 - podwyższone ryzyko rozwoju SA w rasie kaukaskiej
		allel G rs3763313, allel rs9268494, allel G rs9268492 – podwyższone ryzyko rozwoju TB w rasie azjatyckiej; rs2076530 nie był związany z większym/mniejszym ryzykiem zachorowania na TB
<i>RAB23</i> [220]	białko Rab23	allel A rs1040461 – podwyższone ryzyko rozwoju SA
<i>ANXA11</i> [221]	anneksyna A11	allel T rs1049550 – podwyższone ryzyko rozwoju SA

<i>NOD1</i> [222,223]	NOD1 (oligomeryzująca domena zawierająca proteinę 1 wiążącą nukleotydy)	allel 796A – podwyższone ryzyko rozwoju SA allel T rs751770147, allel T chr7:30477156 – podwyższone ryzyko TB
<i>VDR</i> [224,225]	receptor dla witaminy D	polimorfizm w miejscu cięcia enzymu BsmI w intronie 8 - podwyższone ryzyko rozwoju SA polimorfizm BsmI – zwiększone ryzyko TB
<i>CCDC88B</i> [226]	<i>coiled-coil domain</i> zawierająca białko 88B	allel C rs479777 – podwyższone ryzyko rozwoju SA
<i>OS9</i> [227]	białko OS-9	allel C rs1050045 – podwyższone ryzyko rozwoju SA
<i>NOTCH4</i> [228,229]	homolog białka notch 4	allel G rs715299 – podwyższone ryzyko rozwoju SA allel G rs2071277, allel G rs422951 – zmniejszone ryzyko rozwoju TB; haplotyp GTG składający się z odpowiednio rs2071277, rs2071285 i rs206016 – zwiększone ryzyko rozwoju TB
<i>CFTR</i> [230]	błonowy regulator przewodnictwa	mutacja R75Q – podwyższone ryzyko rozwoju SA
<i>ACE</i> [231]	enzym konwertujący angiotensynę	genotyp ID i DD – podwyższone, a genotyp II umiarkowane ryzyko rozwoju SA (I - insercja, D - delecja)
<i>VEGF</i> [232]	czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego	polimorfizm rs833060, G/T; rs833068, A/G; rs3025000, C/T – podwyższone ryzyko rozwoju ostrej postaci SA
<i>VEGFR-1</i> [232]	receptor 1 czynnika wzrostu śródbłonna naczyniowego	polimorfizm rs7337610, A/G; rs2296283, C/T – podwyższone ryzyko rozwoju SA
<i>VEGFR-2</i> [232]	receptor 2 czynnika wzrostu śródbłonna naczyniowego	polimorfizm rs7667298, A/G – podwyższone ryzyko rozwoju ostrej postaci SA; polimorfizm rs7691507, A/G; rs2125489, C/T – podwyższone ryzyko rozwoju przewlekłej postaci SA
<i>NFKBIA</i> [233]	inhibitor alfa NF-κB	allel -297T i haplotyp -881G/-826T/-297T – podwyższone ryzyko rozwoju SA; allel -827T – podwyższone ryzyko progresji SA

Pogrubioną czcionką zaznaczono geny, których różne allele wpływają na ryzyko rozwoju SA i TB

1.10. CZYNNIKI ŚRODOWISKOWE BIORĄCE I MOGĄCE BRAĆ UDZIAŁ W ROZWOJU SARKOIDOZY I GRUŻLICY

W sarkoidozie, rozważane są zarówno czynniki infekcyjne, jak i nieinfekcyjne, które u osób predysponowanych genetycznie mogą prowadzić do rozwoju nadmiernej ziarniniakowej reakcji zapalnej.

1.10.1. Czynniki nieinfekcyjne mogące wpływać na rozwój sarkoidozy

Do czynników nieinfekcyjnych mogących powodować rozwój reakcji sarkoidalnej należą związki/czynniki nieorganiczne, m.in.: beryl, złoto, tytan, cyrkon, insektycydy, pestycydy, wata szklana, sylikon, szok cieplny oraz związki organiczne: pyłki roślin, pleśnie, cząstki palonego oraz niepalonego drewna [11,234,235]. Związek między rozwojem sarkoidozy a wykonywaną pracą został zaobserwowany u rolników [234], marynarzy, strażaków, żołnierzy, pracowników fabryk metali [10,235]. Nieinfekcyjne czynniki drażniące ludzkie komórki stymulują je do produkcji i uwalniania hsp, w tym hsp16, które, z uwagi na wysoki konserwatyzm molekularny, mogą przyczyniać się do rozwoju reakcji z autoagresji [98,236]. Ludzkie hsp są również uwalniane podczas naprawy prekursora surowiczego amyloidu A (*serum amyloid A*, SAA) o nieprawidłowej budowie [94].

Z kolei palenie tytoniu w wielu badaniach, w tym prawdopodobnie najlepiej zaprojektowanym badaniu ACCESS [234], było czynnikiem zmniejszającym ryzyko rozwoju sarkoidozy [10,234]. Innym czynnikiem zmniejszającym ryzyko jej rozwoju opisywanym w badaniu ACCESS był kontakt z substancjami silnie alergizującymi (stymulującymi odpowiedź typu Th2) m.in.: kontakt z sierścią zwierzęcą, pierzem/puchem [234].

1.10.2. Czynniki infekcyjne mogące wpływać na rozwój sarkoidozy

O infekcyjnym podłożu sarkoidozy mogą świadczyć: statystycznie częstsze występowanie SA u osób mających kontakt z osobą chorą na SA, częstsze jej występowanie u współmałżonków i wśród personelu medycznego oraz jej rozwój u biorców po transplantacji narządów od osoby chorej na SA [10,11,237]. Dodatni test Kveima u 50-80% chorych w początkowej fazie choroby, z powstaniem śródskórnego ziarniniaka nieserowaciejącego, może również świadczyć o obecności czynnika infekcyjnego w SA [238]. Do patogenów mogących brać udział w rozwoju SA zalicza się m. in.: wirus Epsteina-Barr, wirusy opryszczki [239], grzyby z rodzaju *Histoplasma* sp. [240], *Cladosporiaceae* sp. [241] oraz bakterie z rodzaju *Borrelia* [242], *Corynebacterium* [243],

Nocardia [244], *Mycoplasma* [245], *Propionibacterium spp.* [246] oraz *Mycobacterium tuberculosis* [95,154]. W pierwszej metaanalizie, dotyczącej udziału czynników infekcyjnych w rozwoju SA wykazano istotne powiązania z jej rozwojem a infekcjami wywoływanymi przez: mykobakterie, *Propionibacterium acnes*, *Borrelia sp.* oraz HHV-8 [247].

Jednakże, z uwagi na podobieństwa w prezentacji klinicznej, obrazie radiologicznym i histopatologicznym, najczęściej rozważanym czynnikiem infekcyjnym mogącym odpowiadać za rozwój sarkoidozy jest *Mycobacterium tuberculosis* i jego antygeny: ESAT-6 (ang. *early secreted antigen 6 kD*), kat G, A85, SodA, CFP-10 oraz Mtb-hsp [93,154].

Udokumentowano również zwiększone ryzyko występowania SA u ludzi, którzy mieli kontakt z chorymi na TB [248,249]. Gupta i wsp. [250] w swojej metaanalizie wykazali obecność mykobakteryjnych kwasów nukleinowych u około 30% pacjentów chorych na sarkoidozę oraz mykobakteryjne DNA u 48% pacjentów z nowo rozpoznaną sarkoidozą. W badaniu Zhou i wsp. [251] wyznaczono liczbę kopii genomów Mtb z pobranych od pacjentów elementów tkankowych zatopionych w parafinowych bloczkach równą $1,14 \cdot 10^3$ jako punkt odcięcia dla różnicowania SA od TB przy użyciu reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym (*real-time polymerase chain reaction*, RT-PCR). Drake i wsp. [252] wykazali ponadto immunoreaktywność limfocytów Th1 na antygen ESAT-6 Mtb występującą istotnie częściej u chorych na SA w porównaniu do osób zdrowych. Stwierdzono również reaktywność monocytów krwi obwodowej na antygen Mtb Ag85A u 60% chorych na sarkoidozę, co było statystycznie częstsze w porównaniu do zdrowych ochotników [253].

Natomiast badania Dubaniewicz i wsp. dowiodły, że nie prątek gruźlicy a jego antygeny, białka szoku termicznego Mtb-hsp16, Mtb-hsp65 oraz Mtb-hsp70, wywołują różną odpowiedź immunologiczną u osób z odmiennym podłożem genetycznym, HLA i spoza-HLA (*SLC11A1*, *FCGR*), wywołując rozwój sarkoidozy lub gruźlicy [94–97]. Dysproporcja w rozmieszczeniu Mtb-hsp w ziarninie węzłów chłonnych i surowicy chorych na sarkoidozę, sugerowała możliwość ich obecności w kompleksach immunologicznych. Przeprowadzone badania wykazały ich podwyższony poziom oraz większą obecność białka Mtb-hsp16 niż Mtb-hsp70 i Mtb-hsp65 w precypitatach immunokompleksów we wczesnych stadiach sarkoidozy, w przeciwieństwie do zaawansowanych faz tej choroby czy u chorych na TB. Ponieważ wytwarzanie Mtb-hsp16, jednego z markerów latentnej fazy gruźlicy, zależy od poziomu tlenu azotu w fagocytach, w następnym badaniu udowodniono znaczne obniżenie poziomu metabolitów jego rozpadu w SA w porównaniu do TB, co może być przyczyną spadku

aktywności bakteriobójczej/degradującej fagocytów i spowolnienia procesu ich apoptozy z następową przewlekłą antygenemią i immunokompleksemią w sarkoidozie [95–97].

Wykazano, że Mtb-hsp stymulują limfocyty T α β i T γ δ do proliferacji i wytwarzania cytokin prozapalnych: IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12 i TNF- α oraz cytokin antyapoptotycznych: IL-10, TGF- β , a także produktów przemiany tlenu azotu [94,109]. Dowiedziono, że przewlekła obecność Mtb-hsp 16 w komórkach fagocytarnych obniża ekspresję syntazy tlenu azotu w komórkach gospodarza, zmniejszając produkcję bakteriobójczych/degradujących metabolitów przemiany tlenu azotu (NOx) oraz hamuje apoptozę jednojądrzastych fagocytów [96,110,254]. Ponadto Mtb o niskiej wirulencji po sfagocytowaniu indukują fagocyty do wytwarzania większych ilości cytokin prozapalnych niż Mtb o wysokiej wirulencji. Co więcej, zwiększona ilość hsp wytwarzanych przez komórkę zakażoną mało zjadliwym szczepem Mtb hamuje jej apoptozę [110].

Może się to przyczyniać do przewlekłej obecności prątka gruźlicy w organizmie, przewlekłej antygenemii (m. in. z udziałem Mtb-hsp), z prezentacją ich epitopów/antygenów w kontekście/bez HLA limfocytom T oraz B, z ich nadmierną proliferacją i stymulacją oraz prowadzić do powstania ziarniaków sarkoidalnych [94,96,98].

Wykazana w wyżej wymienionych badaniach obecność Mtb-hsp w węzłach chłonnych i KI u pacjentów z SA [95–97,255], w większej ilości u chorych na sarkoidozę niż u chorych z aktywną postacią gruźlicy płuc, wskazuje na odmienną odpowiedź immunologiczną na mykobakteryjne antygeny w tych jednostkach chorobowych.

1.10.3. Czynniki środowiskowe w etiopatogenezie gruźlicy

Bakteriami powodującymi TB są prątki gruźlicy (*Mycobacterium tuberculosis complex*). *Mycobacterium tuberculosis complex* to sześć szczepów patogennych dla ludzi i należą do nich: (1) *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), (2) *Mycobacterium africanum*, (3) *Mycobacterium bovis* oraz atenuowany szczep *Mycobacterium bovis* (BCG), (4) *Mycobacterium microti*, (5) *Mycobacterium canetti* oraz (6) *Mycobacterium caprae*. Bakterie te wywołują gruźlicę nie tylko u ludzi, ale również u zwierząt hodowlanych i dziko żyjących [256]. *Mycobacterium tuberculosis complex* należą do rodziny *Mycobacteriaceae* i są blisko spokrewnione z promieniowcami (*Actinomyces*) oraz maczugowcami (*Corynebacterium*) [257].

Prątek gruźlicy charakteryzuje się znacznym polimorfizmem. W badaniach nad genomem Mtb wykryto tysiące polimorfizmów typu pojedynczego nukleotydu (*single*

nucleotide polymorphism, SNP) w liczącym 4,4 miliona zasad DNA [258]. Ustalenie szczepów bardziej wirulentnych nie zostało do tej pory potwierdzone z powodu sprzecznych wyników pochodzących z różnych rejonów świata. Obecnie wydaje się, że najważniejszym czynnikiem ryzyka rozwoju gruźlicy są interakcje komórki gospodarza - patogen. Hipoteza ta pozwala wytłumaczyć wysoką infekcyjność szczepów wschodnio-azjatyckich *Mtb* w populacji azjatyckiej [259] i ich zwykłą zjadliwość po przeniesieniu na populację kanadyjską [260] oraz szwajcarską [261].

Czynniki genetyczne odpowiedzialne za wirulencję prątka gruźlicy zostały zbadane na podstawie analizy genomu atenuowanego szczepu *Mycobacterium bovis* w porównaniu do wirulentnych szczepów *Mtb* [262]. W badaniach tych odnaleziono region znacząco różniący te dwa szczepy bakteryjne, został on nazwany RD1 (*region of difference 1*). W regionie RD1 kodowane są białka biorące udział w syntezie kompleksu sekrecyjnego ESX-1 [263]. Kompleks ten umożliwia wirulentnym *Mtb* uwalnianie swych cząsteczek do cytoplazmy makrofaga po sfagocytowaniu, co ma kluczowe znaczenie dla rozwoju aktywnej postaci choroby [264]. Jednak późniejsze wykrycie jego obecności również u szczepów niewirulentnych pozwala przypuszczać, że jest on jedynie jednym z czynników, mającym wpływ na rozwój choroby [265]. Dalsze badania nad polimorfizmem genomu *Mtb* oraz odkrycie genów odpowiedzialnych za jego chorobotwórczość mogą pomóc w leczeniu chorych na gruźlicę wielolekooporną oraz w stworzeniu szczepień chroniących przed zachorowaniem na TB.

Wśród czynników predysponujących do rozwoju TB wymieniana jest koinfekcja wirusem HIV, która zwiększa ryzyko rozwoju gruźlicy około 20-krotnie [266-267], cukrzyca, marskość wątroby, niewydolność nerek [75,268] czy niskie BMI (*Body Mass Index*, indeks masy ciała) [269]. W jednym z badań wykazano natomiast, że otyłość zmniejsza ryzyko zachorowania na gruźlicę wśród obywateli Hong Kongu powyżej 65-go roku życia [270].

Wyniki metaanaliz pokazują, że do rozwoju TB przyczyniają się również zanieczyszczenia powietrza [271,272], palenie papierosów [272,273] oraz regularne spożywanie alkoholu [274]. Powodują one również cięższy przebieg choroby, zwiększają śmiertelność u chorych na TB, zwiększają ryzyko rozwoju szczepów opornych oraz wydłużają czas prątkowania.

Zwiększone ryzyko zachorowania na TB posiadają również mieszkańcy miast, zwłaszcza obszarów charakteryzujących się dużą gęstością zaludnienia [275], osoby starsze [276], imigranci z krajów o wysokiej zachorowalności na TB, szczególnie w pierwszym roku po przyjeździe do kraju o niskiej zachorowalności na TB [277]. Wśród czynników

wpływających na ryzyko zachorowania na TB wymienia się również warunki mieszkaniowe, z większym ryzykiem zakażenia i rozwoju gruźlicy u osób żyjących w pomieszczeniach słabo wentylowanych oraz o niskiej jakości powietrza [278]. Do zachorowania na TB predysponuje także niski status ekonomiczny [279].

1.10.4. Sarkoidoza i gruźlica jako stadia tej samej wieloetapowej choroby- hipotezy

Agrawal i wsp. [280] zaproponowali podzielenie kontinuum sarkoidozy i gruźlicy na poszczególne postaci kliniczno-histopatologiczne: sarkoidoza (ziarniniaki nieserowaciejące w materiale biologicznym u chorych na SA), *tuberculous-sarcoidosis* (ziarniniaki z centralną martwicą w materiale biologicznym u chorych na SA, NSG), *sarcoid-tuberculosis* (ziarniniaki nieserowaciejące w materiale biologicznym u chorych na TB – gruźlica nabłonkowa) oraz gruźlica (ziarniniaki serowaciejące w materiale biologicznym u chorych na TB).

Porównawcze badania immunogenetyczne SA i TB mogą sugerować, że osoba zakażona prątkiem gruźlicy (antygeny mykobakteryjne np. Mtb-hsp i/lub ludzkie) może rozwinąć wielofazową chorobę: autoimmunizacyjny zespół Löfgrena, przewlekłą postać SA, latentną TB albo aktywną TB w zależności od podłoża genetycznego HLA i nie-HLA oraz dodatkowych czynników środowiskowych np., immunosupresja, leki, podeszły wiek [133].

Jak opisano powyżej, wyniki badań Dubaniewicz i wsp. wykazały obecność Mtb-hsp, głównie Mtb-hsp16, w węzłach chłonnych, surowicy i immunokompleksach chorych na SA [93–95]. Autorzy badań udokumentowali również obecność przeciwciał anti-Mtb-hsp, głównie anti-Mtb-hsp70, w surowicy pacjentów chorych na SA i TB w stężeniu większym niż u osób zdrowych [95]. Immunokompleksemia z/bez Mtb-hsp, większa u chorych na sarkoidozę niż TB, może wynikać z dysfunkcji receptorów odpowiedzialnych za ich fagocytozę. Kluczowymi dla ich eliminacji są receptory dla składników układu dopełniacza: CR1, CR3, CR4 oraz receptory dla fragmentu Fc immunoglobuliny G (FcγRs): FcγRI, FcγRII, FcγRIII [281–283]. W związku z powyższym ich dysfunkcja, a co się z tym wiąże efektywna eliminacja zopsonizowanych patogenów i antygenów, spowodowana funkcjonalnym polimorfizmem kodujących je genów może przyczyniać się do zwiększenia/zmniejszenia ryzyka zachorowania na sarkoidozę i/lub gruźlicę.

1.11. RECEPTORY Fcγ

1.11.1. Budowa, funkcja i ekspresja receptorów Fcγ

Do rodziny receptorów dla fragmentu stałego immunoglobuliny G (FcγR) należą: FcγRI (CD64), FcγRII (CD32) oraz FcγRIII (CD16). U ludzi występują trzy izoformy FcγRII (FcγRIIa, FcγRIIb oraz FcγRIIc) oraz dwie izoformy FcγRIII (FcγRIIIa oraz FcγRIIIb). Receptory te kodowane są przez geny znajdujące się na ramieniu długim chromosomu 1 (1q23-24) i są to odpowiednio: *FCGR2A*, *FCGR2B*, *FCGR2C*, *FCGR3A* oraz *FCGR3B* [281,284]. Wśród receptorów Fcγ wyróżnia się receptory aktywujące (FcγRI, FcγRIIa, FcγRIIc, FcγRIIIa oraz FcγRIIIb) oraz receptor hamujący (FcγRIIb).

Poza limfocytami T Fcγ receptory ulegają ekspresji na wszystkich leukocytach i płytkach krwi, w co najmniej jednej izoformie [285]. FcγRI jest receptorem o wysokim powinowactwie i jako jedyny łączy się z monomerycznymi IgG. Jego ekspresję wykazują monocyty, makrofagi, neutrofile, eozynofile oraz komórki tuczne [285]. FcγRII i -III są receptorami o niskim powinowactwie i łączą się jedynie z IgG w formie zagregowanej w immunokompleksach (KI) lub na zopsonizowanych patogenach [281,284]. FcγRIIa ulega ekspresji na monocytach, makrofagach, neutrofilach, płytkach krwi oraz w mniejszej ilości również na eozynofilach, bazofilach i komórkach tucznych, wykazując największe powinowactwo do IgG2. Z kolei FcγRIIb ulega koekspresji z aktywującymi FcγR na wszystkich leukocytach, poza limfocytami T oraz komórkami NK. Jako jedyny receptor z rodziny FcγR jest również syntetyzowany przez limfocyty B. FcγRIIc ulega ekspresji jedynie u około 30% ludzi i jest syntetyzowany przez komórki NK, w mniejszych ilościach występuje też na monocytach, makrofagach i neutrofilach. FcγRIIIa jest również syntetyzowany przez komórki NK, a także monocyty, makrofagi, neutrofile i limfocyty Tγδ. Z kolei FcγRIIIb ulega ekspresji na neutrofilach, eozynofilach i bazofilach [285,286].

Po połączeniu zagregowanych IgG z jednym z receptorów aktywujących, poza FcγRIIIb, następuje pobudzenie komórki poprzez aktywację cytoplazmatycznej domeny ITAM (*immunoreceptor tyrosine-based activation motif*). FcγRIIIb nie posiada domeny wewnątrzkomórkowej i uważa się, że sygnały aktywacyjne przekazuje przez koekspresję z receptorem dopełniacza 3 (CR3) [287], FcγRIIa [288] lub przez błonowe wyspy lipidowe [289]. Z kolei hamujący FcγRIIb zapobiega nadmiernej aktywacji komórki poprzez aktywację cytoplazmatycznej domeny ITIM (*immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif*) [286]. Cytokiny typu Th1 (TNF-α, IL-2, IL-3, IFN-γ) zwiększają ekspresję FcγR aktywujących

[290,291], z kolei cytokiny typu Th2 (IL-4, IL-5, IL-10, IL-13) zwiększają ekspresję hamującego receptora FcγRIIb oraz zmniejszają ekspresję aktywujących receptorów Fcγ [290]. Wyjątkiem jest obniżanie ekspresji FcγRIIb na limfocytach B w odpowiedzi na IL-4 [292].

W zależności od rodzaju komórki na jakiej występują receptory Fcγ modyfikują one jej funkcjonowanie po połączeniu z zagregowanymi IgG. Aktywujące FcγRII-III występujące na fagocytach (monocytach/makrofagach, neutrofilach, komórkach dendrytycznych) po połączeniu z zagregowanymi IgG stymulują komórkę do zwiększonej aktywności fagocytarnej, zależnej od przeciwciał cytotoksyczności komórkowej (*antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity*, ADCC), produkcji cytokin i chemokin oraz stymulują produkcję wolnych rodników tlenowych [293]. Z kolei receptory aktywujące FcγRIIa, FcγRIIc, FcγRIIIa występujące na komórkach NK stymulują ADCC [294,295]. FcγRIIb jako jedyny receptor należący do rodziny FcγR ulega ekspresji na limfocytach B [285]. Po krzyżowym połączeniu KI z FcγRIIb i receptorem BCR hamuje on plazmocyty oraz wytwarzanie przez nie (auto)przeciwciał [296]. Ponadto samodzielna ekspresja FcγRIIb bez koekspresji receptorów BCR prowadzi do apoptozy komórek (pre-)B i plazmocytów po ich połączeniu z KI oraz stymuluje negatywną selekcję limfocytów (pre-)B autoreaktywnych [297]. Z drugiej strony FcγRIIb po połączeniu z KI/zopsonizowanymi IgG patogenami jest również centralnym punktem hamującym pobudzone komórki fagocytarne [286]. Wartym uwagi jest fakt braku hamujących receptorów FcγRIIb na komórkach NK oraz na zdecydowanej większości monocytów krwi obwodowej [298].

1.11.2. Polimorfizm genów *FCGR*

Geny *FCGR* cechuje polimorfizm typu pojedynczego nukleotydu (*single nucleotide polymorphism*, SNP). W zależności od jego położenia w sekwencji nukleotydowej wpływa on na powinowactwo danego receptora do wiązania ze zagregowanymi IgG bądź na aktywność transkrypcyjną danego genu.

Funkcjonalny polimorfizm genu *FCGR2A* H131R (519A>G; rs1801274) polega na występowaniu histydyny (H) lub argininy (R) w pozycji 131 sekwencji aminokwasowej. Znajduje się on w drugiej domenie zewnątrzkomórkowej receptora FcγRIIa i wpływa na jego aktywność. Allel 131H koduje receptor efektywnie wiążący się ze zagregowanymi przeciwciałami, z kolei allel 131R koduje receptor niewiążący się ze zagregowanymi IgG [299].

Polimorfizm genu *FCGR2B* I232T (695T>C; rs1050501) polega na występowaniu izoleucyny (I) lub treoniny (T) w pozycji 232 łańcucha białkowego. Allel 232T koduje receptor słabiej pozycjonujący się w obrębie błonowych wysp lipidowych, co osłabia jego funkcjonowanie i zmniejsza ilość przekazywanych przez niego sygnałów hamujących, z kolei allel 232I koduje receptor prawidłowo pozycjonujący się w obrębie błon lipidowych, co umożliwia jego prawidłowe funkcjonowanie [300]. Wykryto również funkcjonalne polimorfizmy promotora genu *FCGR2B* SNP -G386C oraz -T120A. Haplotyp -386C-120A wiąże się z większą aktywnością transkrypcyjną genu i większą ekspresją receptora FcγRIIb. Należy w tym miejscu nadmienić, że identyczny funkcjonalny polimorfizm promotora występuje w genie *FCGR2C* [301]. Z kolei SNP -G343C oraz allel -343C wiąże się z mniejszą aktywnością transkrypcyjną genu *FCGR2B* i co się z tym wiąże mniejszą ekspresją receptora FcγRIIb [302].

Polimorfizm genu *FCGR2C* X57Q (202C>T; rs10917661) występujący w pierwszej domenie zewnątrzkomórkowej wpływa na budowę receptora FcγRIIc. Obecność allelu 202T (57X) cechuje występowanie kodonu STOP w mRNA, co skutkuje syntezą skróconego łańcucha białkowego i niefunkcjonalnego receptora. Z kolei allel 202C (57Q) warunkuje powstanie w pełni funkcjonalnego receptora [284].

Polimorfizm genu *FCGR3A* V158F (559G>T; rs396991) polega na występowaniu waliny (V) lub fenyloalaniny (F) w pozycji 158 białka. Znajduje się ona w drugiej domenie zewnątrzkomórkowej receptora FcγRIIIa. Allel 158V koduje receptor wiążący zagregowane IgG1, IgG3 oraz IgG4 bardziej efektywnie, niż receptor kodowany przez allel 158F [303].

Występują trzy allele genu *FCGR3B*: HNA-1a (NA1), HNA-1b (NA2), HNA-1c (SH), które posiadają sześć SNP. Allele NA1 oraz NA2 różnią się pięcioma aminokwasami w pierwszej domenie zewnątrzkomórkowej receptora. Natomiast allel SH różni się od allelu NA2 jednym nukleotydem (C266A, rs5030738), co warunkuje obecność innego aminokwasu w pozycji 78 sekwencji białkowej (A78D). Allel NA1 koduje receptor bardziej efektywnie wiążący się z IgG1 oraz IgG3, niż receptory kodowane przez dwa pozostałe allele [284]. Przypuszcza się również, że allele NA1 oraz NA2/SH mogą różnić się interakcjami z innymi receptorami błonowymi, takimi jak β2-integryna oraz CD11b/CD18 [304]. Z kolei funkcjonalna różnica między allelami NA2 i SH nie została do tej pory poznana.

1.11.3. Receptory Fcγ a sarkoidoza

Aktywność receptorów FcγR jest modyfikowana głównie przez polimorfizm kodujących je genów. Ich wpływ na rozwój i przebieg chorób autoimmunizacyjnych udowodniono w toczeniu rumieniowatym układowym (*systemic lupus erythematosus*, TRU) [304], zapaleniach naczyń związanych z ANCA [305], reumatoidalnym zapaleniu stawów (*rheumatoid arthritis*, RZS) [306], małopłytkowości samoistnej (ITP) [307], miastonii [308], zespole Guillain-Barrego [309], stwardnieniu rozsianym (*multiple sclerosis*, SM) [310].

Wyniki jedynej dotychczas zbiorczej analizy porównawczej polimorfizmu genów *FCGR* w polskiej populacji w poszczególnych stadiach sarkoidozy wykazały w III i IV stadium SA wzrost obecności allelu 158H i homozygot 158HH genu *FCGR2A* oraz wzrost częstości występowania allelu 57Q i genotypu 57XQ *FCGR2C*, natomiast w stadium I SA wykazano podwyższoną obecność allelu 158F i genotypu 158FF genu *FCGR3A*, jak i obniżony odsetek homozygot 131HH genu *FCGR2A* oraz genotypu 57XQ genu *FCGR2C*. Ponadto w stadium II choroby stwierdzony został jedynie podwyższony odsetek allelu 158V i homozygot 158VV genu *FCGR3A*. W zakresie alleli i genotypów genów *FCGR2B* oraz *FCGR3B* nie znaleziono statystycznie istotnych różnic między chorymi na sarkoidozę oraz osobami zdrowymi [311,312]. Z kolei badania nad liczbą kopii genów *FCGR* w SA wykazały zwiększoną liczbę kopii genu *FCGR2C* między stadium IV SA a pozostałymi stadiami tej choroby oraz zdrowymi ochotnikami [313]. Jak donoszą wyniki opublikowanych badań różnice w częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów oraz liczby kopii genów kodujących receptory FcγR mogą predysponować do rozwoju poszczególnych stadiów sarkoidozy.

Poza polimorfizmem i liczbą kopii genów kodujących receptory FcγR na funkcję komórek odpornościowych wpływa również ekspresja tych receptorów. W chorobach związanych z immunokompleksem na komórkach odpornościowych wielokrotnie wykazywano zwiększony współczynnik receptorów Fcγ aktywujących do hamujących (współczynnik A/I) [286]. Podwyższony współczynnik A/I prowadzi do obniżenia liczby sygnałów potrzebnych do pobudzenia APC zwiększając ich aktywność fagocytarną, przyczynia się do zwiększonej prezentacji (auto)antygenów oraz produkcji cytokin/chemokin. Komórki APC prezentują sfagocytowane antygeny w kontekście układu HLA, a zwiększone pokłady prezentowanych antygenów/epitopów występujące przy zwiększonej aktywności fagocytarnej tych komórek mogą prowadzić do zaburzenia równowagi między tolerancją a odpowiedzią immunologiczną [294]. Podwyższony współczynnik A/I na komórkach

dendrytycznych może również przyczyniać się do upośledzenia funkcji komórek T regulatorowych prowadząc do utraty tolerancji i indukcji odpowiedzi autoimmunologicznej [286].

1.11.4. Receptory FcγR a gruźlica

Pentaksyny i przeciwciała spełniają bardzo ważną rolę w zwalczaniu czynników infekcyjnych. Zopsonizowane przez pentaksyny i/lub IgG prątki gruźlicy mogą indukować klasyczną drogę aktywacji układu dopełniacza lub po połączeniu z aktywującymi FcγR stymulować ich fagocytozę [102,105]. Komórki prezentujące antygeny Mtb mogą również przez aktywujące receptory FcγR pobudzać komórki NK oraz inne zdolne do ADCC do bezpośredniego ich niszczenia [286].

Rola polimorfizmu genów *FCGR* została m. in. udowodniona w efektywności zwalczania przez układ immunologiczny patogenów otoczkowych, jak *Streptococcus pneumoniae* oraz *Neisseria meningitidis*. Bakterie te ulegają opsonizacji IgG2, które następnie łącząc się z aktywującymi FcγR stymulują ich fagocytozę i niszczenie. Wykazano, że komórki odpornościowe osób z haplotypami 131HH *FCGR2A*, efektywnie wiążącymi się z IgG2, wykazują się większą aktywnością fagocytarną, co pomaga w zwalczaniu infekcji bakteryjnej u zakażonych osób [314,315]. Z drugiej strony nosiciele haplotypu 131RR genu *FCGR2A* byli bardziej narażeni na rozwój inwazyjnej choroby pneumokokowej [314]. Natomiast wariant 232T genu *FCGR2B*, kodujący receptor słabiej pozycjonujący się w błonie komórkowej, był w badaniach *in vitro* związany z większą aktywnością fagocytarną makrofagów w odpowiedzi na zopsonizowane przez IgG bakterie *Streptococcus pneumoniae* [300]. W jedynym dotychczas badaniu polimorfizmów genów *FCGR2A* oraz *FCGR3A* u chorych na TB w populacji marokańskiej nie wykazano istotnych statystycznie różnic obecności poszczególnych wariantów polimorficznych w/w genów między chorymi a zdrowymi [316].

W pierwotnej odpowiedzi immunologicznej zopsonizowane przez SAP Mtb mogą być fagocytowane przez FcγR, co może prowadzić do ich zwiększonego namnażania w makrofagach, zwłaszcza M2 [102]. Doniesienia naukowe podkreślają również rolę receptorów FcγR w fagocytozie zopsonizowanych przez IgG Mtb, które mogą modyfikować przebieg gruźlicy. Maglione i wsp. [317] wykazali, że u myszy pozbawionych genów aktywujących receptorów FcγR występowała większa bakteremia, a gruźlica przybierała cięższy przebieg, podczas gdy myszy pozbawione receptora FcγRIIb, hamującego odpowiedź

immunologiczną, zwalczały zakażenie *Mtb* bardziej efektywnie. Ponadto, w jedynym dotychczas badaniu liczby kopii genów *FCGR2C*, *FCGR3A*, *FCGR3B* u mieszkańców Afryki Subsaharyjskiej wykazano mniejszą liczbę kopii genu *FCGR3B* u chorych koinfekowanych TB i wirusem HIV [318].

Rodzaj i budowa receptorów zaangażowanych w fagocytozę prątka gruźlicy może wpływać na jego wewnątrzkomórkowe przetrwanie i/lub niszczenie [319-321]. Fagocytoza *Mtb* przebiegająca z udziałem $Fc\gamma R$ wyzwała wytwarzanie rodników tlenowych i cytokin prozapalnych, podczas gdy fagocytoza przy udziale CR3 utrudnia aktywację makrofaga [321].

1.11.5. Polimorfizm genu *FCGR3A* w sarkoidozie i gruźlicy płuc

W pracy doktorskiej M. Typiak wykazała występowanie w I fazie SA w porównaniu do chorych na TB większej ilości allelu 158F oraz zwiększonej liczby homozygot 158FF genu *FCGR3A*, kodujących receptory słabiej wiążące się ze zagregowanymi IgG [311]. Wyniki tego badania mogą tłumaczyć występującą u chorych w I fazie SA większą immunokompleksemię, która może prowadzić do rozwoju odpowiedzi (auto)immunologicznej i rozwoju postaci SA, a nie TB, w odpowiedzi na zakażenie *Mtb*.

2. CELE PRACY

Ze względu na podobieństwo w obrazie klinicznym, radiologicznym oraz histopatologicznym SA do TB, jednym z najczęściej rozważanych czynników infekcyjnych predysponujących do rozwoju sarkoidozy jest *Mycobacterium tuberculosis* i jego antygeny [94,95,98,109–112]. Udowodniona przez autorów [93,95,255] obecność Mtb-hsp w węzłach chłonnych, w surowicy i w krążących KI u chorych na sarkoidozę wydaje się potwierdzać tę hipotezę. Wykazano także w w/w badaniach, większą immunokompleksemię w SA niż w TB, co przy stwierdzonej wzmożonej ekspresji FcγR, odpowiedzialnych za proces usuwania KI, może świadczyć o dysfunkcji tych receptorów, spowodowaną m. in. funkcjonalnym polimorfizmem kodujących je genów [94,95,255]. Wstępne wyniki w/w badań molekularnych mogą potwierdzić taki mechanizm w SA, natomiast nie ma kompleksowych badań na temat dostępnych polimorfizmów i liczby kopii genów *FCGR* w gruźlicy. Odmienność polimorfizmów i/lub kopii tych genów w SA i TB, pozwoliłaby na znalezienie molekularnego markera różnicującego te dwie choroby, a tym samym pozwoliłaby na uniknięcie pomyłkowej diagnozy.

Dlatego celami pracy jest próba odpowiedzi na następujące pytania:

- Czy występowanie poszczególnych wariantów polimorficznych genów *FCGR2A*, *FCGR2B*, *FCGR2C*, *FCGR3A* oraz *FCGR3B* zwiększa ryzyko rozwoju sarkoidozy płuc i ma wpływ na jej przebieg w populacji mieszkańców Polski północnej?
- Czy występowanie poszczególnych wariantów polimorficznych genów *FCGR2A*, *FCGR2B*, *FCGR2C*, *FCGR3A* oraz *FCGR3B* zwiększa ryzyko rozwoju gruźlicy płuc w populacji mieszkańców Polski północnej?
- Czy istnieją różnice w częstości występowania poszczególnych wariantów polimorfizmu genów *FCGR2A*, *FCGR2B*, *FCGR2C*, *FCGR3A* oraz *FCGR3B* pomiędzy chorymi na sarkoidozę i gruźlicę płuc?
- Czy liczba kopii poszczególnych genów *FCGR* ma wpływ na zwiększone ryzyko zachorowania na sarkoidozę i gruźlicę?
- Czy istnieją różnice w liczbach kopii poszczególnych kopii genów *FCGR* u osób chorych na sarkoidozę i gruźlicę płuc?

3. MATERIAŁ BADAWCZY

3.1. GRUPY BADANE

Materiał badawczy stanowiła krew żylna obwodowa pochodząca od chorych na sarkoidozę, gruźlicę i od zdrowych ochotników. Krew była pobierana na EDTA (kwas etylenodiamino-tetraoctowy) w ilości 10 ml. Do badania włączone zostały jedynie osoby rasy kaukaskiej zamieszkujące teren Polski północnej. Dane osobnicze i kliniczne badanych grup zestawiono w Tabeli 7.

Badania zostały przeprowadzone za zgodą Niezależnej Komisji Bioetycznej do Spraw Badań Naukowych przy Gdańskim Uniwersytecie Medycznym (decyzja nr NKBBN/363/2016). Uczestnicy badania zostali powiadomieni o jego celowości oraz wyrazili na nie pisemną zgodę.

Tabela 7. Charakterystyka kliniczna chorych na sarkoidozę (SA), gruźlicę płuc (TB) oraz zdrowych ochotników (C)

	SA n=154 (%)	TB n=179 (%)	C n=148 (%)	
Wiek (lata)	Średnia ± SD	44±13	46±15	42±10
	Mediana	44	45	40
	Zakres	21-89	20-80	18-79
Płeć	Kobiety	70 (46)	75 (42)	67 (45)
	Mężczyźni	84 (54)	104 (58)	81 (55)
Pałacy	90 (58)	145 (81)	80 (54)	
Szczepienie BCG	154 (100)	179 (100)	148 (100)	
Pozytywny wynik OT	0	179 (100)	0	
Zespół Löfgrena	28 (18)	0	0	
Wznowy	0	0	0	

Objawy	Kaszel	71 (46)	161 (90)	0
	Duszność	81 (53)	45 (25)	0
	Podwyższona temperatura ciała	21 (14)	116 (65)	0
	Poty nocne	2 (<1)	90 (50)	0
	Ubytek ciężaru ciała	12 (8)	48 (27)	0

3.1.1. Grupa chorych na sarkoidozę płuc

Do badania włączono 154 niespokrewnionych chorych na sarkoidozę, znajdujących się pod opieką Poradni Chorób Płuc z terenu Trójmiasta w latach 2013-2020. Do badania włączono 38 osób w stadium I (obustronne powiększenie węzłów chłonnych wnęk płucnych i/lub śródpiersiowych, bez zmian w mięszu płucnym), 60 pacjentów w stadium II (obustronne powiększenie węzłów chłonnych wnęk płucnych i/lub śródpiersiowych oraz wczesne zmiany w mięszu płucnym), 35 osób w stadium III (zmiany wyłącznie w mięszu płucnym, węzły chłonne wnękowe i śródpiersiowe niepowiększone), 21 osób w stadium IV (zmiany włókniste/włóknisto-jamiste w mięszu płuc, węzły chłonne wnękowe i śródpiersiowe niepowiększone). Zespół Löfgrena występował u 25 osób: 13 w stadium I, 10 w stadium II oraz u 2 w stadium III. U większości pacjentów w stadium I (63%) sarkoidoza trwała poniżej dwóch lat. Z kolei u większości pacjentów w stadium II (70%) oraz u wszystkich w stadium III i IV choroba trwała więcej niż dwa lata.

Potwierdzenie rozpoznania sarkoidozy u tych chorych zostało postawione na podstawie kryteriów diagnostycznych odpowiednich dla tej jednostki chorobowej: objawy kliniczne, badania radiologiczne oraz histopatologiczne, potwierdzające obecność nieserowaciejącej ziarniny w bioptacie węzłów chłonnych, zgodnie z kryteriami towarzystw ATS/ERS/WASOG [10]. W przeprowadzonych analizach bakteriologicznych i cytologicznych płwociny oraz materiału biopsyjnego pobranych od badanych pacjentów nie wykryto prątków kwasoopornych (PCR, hodowla *M. tuberculosis*), zakażenia grzybiczego, ani komórek atypowych. Negatywny wynik próby tuberkulinowej (OT < 5 mm) był dodatkowym kryterium włączenia do badania.

3.1.2. Grupa chorych na gruźlicę płuc

Do badania włączono 179 niespokrewnionych chorych na gruźlicę płuc, przed włączeniem leczenia przeciwprątkowego, hospitalizowanych w Pomorskim Centrum Chorób Zakaźnych i Gruźlicy w Gdańsku, Szpitalu Specjalistycznym im. Floriana Ceynowy w Wejherowie oraz w Szpitalu Specjalistycznym w Prabutach.

Rozpoznanie gruźlicy postawiono w oparciu o obraz kliniczny, radiologiczny a przede wszystkim pozytywny wynik badania bakteriologicznego na obecność *Mycobacterium tuberculosis* w płwocinie (bakterioskopia i hodowla). Dodatni wynik próby tuberkulinowej (OT > 10 mm) był dodatkowym kryterium włączenia do badania.

3.1.3. Grupa kontrolna

Grupę odniesienia stanowiło 148 zdrowych, niespokrewnionych ochotników z terenu Polski Północnej, u których w wywiadzie rodzinnym nie stwierdzono sarkoidozy, gruźlicy i innych chorób autoimmunizacyjnych (Tab. 3 i 4).

4. METODY

4.1. WYKAZ ODCZYNNIKÓW CHEMICZNYCH UŻYWANYCH W BADANIACH

Odczynniki chemiczne, ich zestawy, bufory i mieszaniny używane do izolacji DNA z krwi obwodowej, analizy polimorfizmu i liczby kopii badanych genów, rozdziału elektroforetycznego produktów amplifikacji i barwienia żelów poliakrylamidowych zostały zestawione w Tabelach 8-11.

Tabela 8. Wykaz odczynników chemicznych używanych w badaniach

Nazwa odczynnika	Producent
akrylamid	Serva Electrophoresis GmbH (Heidelberg, Niemcy)
nadsiarczan amonu (APS)	Sigma-Aldrich (St. Louis, USA)
azotan (V) srebra (I)	Merck (Whitehouse Station, USA)
bibuła Whiteman 3MM	GE Healthcare Companies (Waukesha, USA)
bisakrylamid	Sigma-Aldrich (St. Louis, USA)
błękit bromofenolowy	Sigma-Aldrich (St. Louis, USA)
chlorek magnezu	Sigma-Aldrich (St. Louis, USA)
chlorek potasu	Sigma-Aldrich (St. Louis, USA)
chlorek sodu	Sigma-Aldrich (St. Louis, USA)
dimetylosulfotlenek (DMSO)	Roche (Bazylea, Szwajcaria)
alkohol etylowy 96% (etanol)	POCH S.A. (Gliwice, Polska)
formaldehyd 37%	POCH S.A. (Gliwice, Polska)
glicerol	POCH S.A. (Gliwice, Polska)
kwas azotowy (V)	POCH S.A. (Gliwice, Polska)
kwas borowy	Sigma-Aldrich (St. Louis, USA)
kwas mrówkowy	POCH S.A. (Gliwice, Polska)
kwas octowy	POCH S.A. (Gliwice, Polska)
kwas solny	POCH S.A. (Gliwice, Polska)
marker masy molekularnej Gene Ruler	Thermo Fisher Scientific Inc. (Portsmouth, USA)

oligonukleotydy	Genomed (Warszawa, Polska)
dodecylosiarczan (VI) sodu (SDS)	Sigma-Aldrich (St. Louis, USA)
N,N,N',N'-tetrametyloetylenodiamina (TEMED)	Serva Electrophoresis GmbH (Heidelberg, Niemcy)
tris(hydroksymetyleno)aminometan (Tris)	Sigma-Aldrich (St. Louis, USA)
Triton X-100	Carl Roth GmbH + Co. KG (Karlsruhe, Niemcy)
wersenian disodu	Sigma-Aldrich (St. Louis, USA)
węglan sodu	POCH S.A. (Gliwice, Polska)

Tabela 9. Zestawy odczynników chemicznych używanych w badaniach nad SNP *FCGR2B*

Nazwa zestawu	Skład zestawu	Producent
Taq DNA Polymerase	polimeraza DNA Taq (5U/μl)	
	10x Pol Buffer B (skład: 160 mM (NH ₄) ₂ SO ₄ , 500 mM Tris-HCl (pH 9,2 w 22 °C), 15 mM MgCl ₂ , stabilizatory)	EURx (Gdańsk, Polska)
Zestaw dNTP	10 mM dATP, 10 mM dCTP, 10 mM dGTP, 10 mM dTTP	
Custom TaqMan® SNP Genotyping Assaay	2x TaqManGenotyping Master Mix	
	40x Assay Mix (mieszanina starterów 2B-SNP_F, 2B-SNP_R, 2B-SNP_695TVIC, 2B-SNP 695C FAM)	Appied Biosystems (Foster City, USA)
RNAza P	TaqMan™ Copy Number Reference Assay, human RNase P	Life Technologies (Carlsbad, USA)

Tabela 10. Zestawy odczynników chemicznych używanych w badaniach nad CNV genów *FCGR*

Nazwa zestawu	Skład zestawu	Producent
Taq DNA Polymerase	polimeraza DNA Taq (5U/μl)	
	10x Pol Buffer B (skład: 160 mM (NH ₄) ₂ SO ₄ , 500 mM Tris-HCl (pH 9,2 w 22 °C), 15 mM MgCl ₂ , stabilizatory)	EURx (Gdańsk, Polska)
Zestaw dNTP	10 mM dATP, 10 mM dCTP, 10 mM dGTP, 10 mM dTTP	
Custom TaqMan® SNP Genotyping Assaay	2x TaqManGenotyping Master Mix	Appied Biosystems (Foster City, USA)
Startery specyficzne dla danego genu zaprojektowane przez firmę Life Technologies® TaqMan Copy Number Assays	Hs00103511_cn Hs00134082_cn FCGR2C_CC5IPK0 Hs00139300_cn Hs04211858_cn	Life Technologies (Carlsbad, USA)
RNAza P	TaqMan™ Copy Number Reference Assay, human RNase P	Life Technologies (Carlsbad, USA)

Tabela 11. Skład buforów i mieszanin używanych w badaniach

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

4.2. IZOLACJA DNA

Genomowe DNA było izolowane z krwi obwodowej pacjentów metodą nieczynymatyczną wg Lahiri i Nurnbergera z niewielkimi modyfikacjami [311,322]. W probówce typu Eppendorf o pojemności 1,5 ml umieszczano 500µl krwi obwodowej, 12,5 µl niejonowego detergentu Triton X-100 oraz 500 µl buforu TKM1. Zawartość probówki po umieszczeniu w niej wszystkich składników mieszano przez kilkakrotne energiczne odwrócenie, a następnie umieszczano na mieszadle hematologicznym na około 10-15 minut, aż do całkowitego rozpuszczenia w niej detergentu. Następnie mieszaninę wirowano przez 10 minut z prędkością 2200 rpm, powstały supernatant odrzucano. Otrzymany osad zawieszano w 500 µl buforu TKM1 i po raz kolejny wirowano 10 minut z prędkością 2200 rpm. Otrzymany supernatant odrzucano. Procedurę tą powtarzano do momentu uzyskania osadu barwy białej. Biały osad zawieszano następnie w 80µl buforu TKM2 i 2,5 µl 20% SDS po czym inkubowano w temperaturze 55°C przez 10 minut.

Po inkubacji do mieszaniny dodawano 30 µl 6M chlorku sodu. Zawartość probówki mieszano przez kilkakrotne energiczne odwracanie, a następnie wirowano przez 5 minut z prędkością 12000 rpm w celu otrzymania supernatantu, zawierającego DNA oraz osad.

Przygotowywano nową probówkę typu Eppendorf o pojemności 1,5 ml i umieszczano w niej 225 µl 96% etanolu. Z probówki zawierającej DNA pobierano zawierający je supernatant i umieszczano go w nowej probówce z etanolem, starą probówkę zawierającą osad odrzucano. Nową probówkę zawierającą supernatant z DNA oraz etanol mieszano przez kilkakrotne energiczne obracanie w celu precypitacji DNA, a następnie wirowano 5 minut z prędkością 12000 rpm. Po wirowaniu supernatant usuwano, a osad suszono w 30°C przez około 5-10 minut w urządzeniu Speed-Vac (Eppendorf, Hamburg, Niemcy). Wysuszony osad DNA zawieszano w 100 µl buforu TE (pH 8,0) i inkubowano w 65 °C do rozpuszczenia w nim osadu DNA.

4.3. ŁAŃCUCHOWA REAKCJA POLIMERAZY WYKONYWANA W CELU OKREŚLENIA WYSTĘPOWANIA WARIANTÓW POLIMORFICZNYCH BADANYCH GENÓW *FCGR*

Do analizy polimorfizmu genów *FCGR2A*, *FCGR2C*, *FCGR3A* oraz *FCGR3B* wykorzystano metodę łańcuchowej reakcji polimerazy z użyciem starterów specyficznych do sekwencji danego polimorficznego allelu danego genu (PCR-SSP) [303,311,323–328]. Do analizy częstości występowania wariantów polimorficznych genu *FCGR2B* posłużono się metodą PCR w czasie rzeczywistym (RT-PCR). Sekwencje oligonukleotydów (starterów) używanych w przeprowadzanych reakcjach PCR oraz oczekiwaną długość amplifikowanych produktów przedstawiono w Tabeli 12.

Tabela 12. Sekwencje i długość starterów używanych w przeprowadzanych reakcjach PCR-SNP i RT-PCR

Nazwa genu	Nazwa startera	Sekwencja startera 5' -> 3'	Długość produktu PCR [pz]	Źródło sekwencji
<i>FCGR2A</i>	2A-gene	TCAAAGTGAAACAACAGCCTGACT	371	[327]
	2A-519A	GGAAAATCCCAGAAATTCACACA		
	2A-519G	GGAAAATCCCAGAAATTCACACG		
<i>FCGR2B</i>	2B-SNP_F	CCTAGCTCCCAGCTCTTCAC	36	[329]
	2B-SNP_R	CCACTACAGCAGCAACAATGG		
	2B-SNP_695T VIC	TCACTGGGATTGCTG		
	2B-SNP_695C FAM	TCACTGGGACTGCTG		
<i>FCGR2C</i>	2C-gene	GAGATTCCCATTGTGGACCTACG	124	[303,311]
	2C-202T	GGCTGTGCTGAAACTGGAGACCT		
	2C-202C	GGCTGTGCTGAAACTGGAGCCAC		

	3A-gene	AGTTCATCATAATTCTGACTCCT		
<i>FCGR3A</i>	3A-559T	TGAAGACACATTTCTACTCCCTAA	100	[327]
	3A-559G	TGAAGACACATTTCTACTCCCTAC		
	3B-gene	ATGGACTTCTAGCTGCAC	-	
<i>FCGR3B</i>	3B-NA1	CAGTGGTTTCACAATGAGAA	140	[311,328]
	3B-NA2/SH	CAATGGTACAGCGTGCTT	219	
	3B-SH	TCGAGCTACTTCATTGACGA	102	
<i>hGH</i>	hGH-F	CAGTGCCTTCCCAACCATTCCCTTA	439	[330]
	hGH-R	ATCCACTCACGGATTTCTGTTGTGT TTC		
<i>NF1</i> (egzon 4b)	NF1-4b-F	CTGTCCCCTAATACTTAATT	209	[331]
	NF1-4b-R	AATACTAGTTTTTGACCCAGT		
<i>NF1</i> (egzon 22)	NF1-22-F	TCTTTAGCTTCTACCTAAGAA	262	
	NF1-22-R	AACACACATACACACAAAATGAA		

4.3.1. Metoda PCR-SSP z użyciem starterów specyficznych do sekwencji polimorficznego genu *FCGR2A*

Ponieważ oczekiwana długość amplifikowanego fragmentu genu *FCGR2A* wynosiła 371 pz, niezależnie od wariantu polimorficznego, sporządzano dwie oddzielne mieszaniny reakcyjne, osobno dla każdego wariantu polimorficznego.

Wewnętrzna kontrolę amplifikacji stanowił fragment genu ludzkiego hormonu wzrostu (*human Growth Hormone*, hGH).

4.3.1.1. Metoda PCR-SSP z użyciem starterów specyficznych do sekwencji allelu 131H (519A) genu *FCGR2A*

Amplifikacja produktów reakcji PCR-SSP genu *FCGR2A* wariantu polimorficznego 131H (519A) zachodziła w mieszaninie reakcyjnej o objętości 10 µl, z następującymi stężeniami końcowymi składników:

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

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

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

4.3.1.2. Metoda PCR-SSP z użyciem starterów specyficznych do sekwencji allelu 131R (519G) genu *FCGR2A*

Amplifikacja produktów reakcji PCR-SSP genu *FCGR2A* wariantu polimorficznego 131R (519G) zachodziła w mieszaninie reakcyjnej o objętości 10 μl, z następującymi stężeniami końcowymi składników:

- 1x Pol Buffer B,
- 1,75 mM MgCl₂,
- 0,3 mM każdego dNTP,
- 0,25 μM startera 2A-gene,
- 0,25 μM startera 2A-519G,
- 0,32 μM startera hGH-F,
- 0,32 μM startera hGH-R,
- 1 U polimerazy Taq,
- 30 ng genomowego DNA na 1 reakcję.

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

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

4.3.2. Metoda PCR w czasie rzeczywistym (RT-PCR) genu *FCGR2B*

Badanie zostało przeprowadzone z użyciem zestawu *Custom Taqman® SNP Genotyping Assay* za pomocą aparatu *7900HT Fast Real-Time PCR System* (Applied Biosystems, Foster City, USA). Do reakcji używano mieszaniny reakcyjnej *TaqMan Genotyping Master Mix* i testu *TaqMan SNP Genotyping Assay* (40x), który zawierał startery i sondy dla wariantów polimorficznych 695T oraz 695C genu *FCGR2B*, które zostały zaprojektowane przez firmę Applied Biosystems (Foster City, USA) w ramach serwisu *Assays-by-Design*.

Do reakcji RT-PCR stosowano płytki 384-dołkowe. Do każdego dołka nanoszono 2 µl DNA o stężeniu 5 ng/µl. Po wprowadzeniu wszystkich mieszanin z DNA do dołków płytkę suszono w temperaturze pokojowej do czasu wyschnięcia mieszaniny z DNA. Następnie do każdego z dołków dodawano 5 µl mieszaniny reakcyjnej *TaqMan Genotyping Master Mix*, *TaqMan SNP Genotyping Assay* i wody.

Amplifikacja produktów reakcji RT-PCR genu *FCGR2B* zachodziła w mieszaninie reakcyjnej o objętości 5 µl, z następującymi stężeniami końcowymi składników:

- 1x *TaqMan Genotyping Master Mix*,
- 1x *TaqMan SNP Genotyping Assay*,
- 10 ng genomowego DNA.

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

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

4.3.3. Metoda PCR-SSP z użyciem starterów specyficznych do sekwencji polimorficznego genu *FCGR2C*

Oczekiwana długość amplifikowanego fragmentu genu *FCGR2C* wynosiła 124 pz, niezależnie od wariantu polimorficznego. Z tego powodu sporządzano dwie oddzielne mieszaniny reakcyjne, osobno dla każdego wariantu polimorficznego.

Wewnętrzną kontrolę amplifikacji dla allelu 57X (202T) stanowił fragment genu ludzkiego hormonu wzrostu (*human Growth Hormone*, hGH).

4.3.3.1. Metoda PCR-SSP z użyciem starterów specyficznych do sekwencji allelu 57Q (202C) genu *FCGR2C*

Amplifikacja produktów reakcji PCR-SSP genu *FCGR2C* wariantu polimorficznego 57Q (202C) zachodziła w mieszaninie reakcyjnej o objętości 10 μ l, z następującymi stężeniami końcowymi składników:

- 1x Pol Buffer B,
- 3 mM MgCl₂,
- 0,2 mM każdego dNTP,
- 1 μ M startera 2C-gene,
- 1 μ M startera 2C-202C,
- 1,25 U polimerazy Taq,
- 10 ng genomowego DNA na 1 reakcję.

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

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

4.3.3.2. Metoda PCR-SSP z użyciem starterów specyficznych do sekwencji allelu 57X (202T) genu *FCGR2C*

Amplifikacja produktów reakcji PCR-SSP genu *FCGR2C* wariantu polimorficznego 57X (202T) zachodziła w mieszaninie reakcyjnej o objętości 10 µl, z następującymi stężeniami końcowymi składników:

- 1x Pol Buffer B,
- 3 mM MgCl₂,
- 0,2 mM każdego dNTP,
- 0,15 µM startera 2C-gene,
- 0,15 µM startera 2C-202T,
- 0,1 µM startera hGH-F,
- 0,1 µM startera hGH-R,
- 1 U polimerazy Taq,
- 10 ng genomowego DNA na 1 reakcję.

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

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

Wewnętrzną kontrolę amplifikacji stanowił fragment genu ludzkiego hormonu wzrostu (*human Growth Hormone*, hGH).

4.3.4. Metoda PCR-SSP z użyciem starterów specyficznych do sekwencji polimorficznego genu *FCGR3A*

Oczekiwana długość amplifikowanego fragmentu genu *FCGR3A* wynosiła 100 pz, niezależnie od wariantu polimorficznego. Z tego powodu sporządzano dwie oddzielne mieszaniny reakcyjne, osobno dla każdego wariantu polimorficznego.

4.3.4.1. Metoda PCR-SSP z użyciem starterów specyficznych do sekwencji allelu 158F (559T) genu *FCGR3A*

Amplifikacja produktów reakcji PCR-SSP genu *FCGR3A* wariantu polimorficznego 158F (559T) zachodziła w mieszaninie reakcyjnej o objętości 10 µl, z następującymi stężeniami końcowymi składników:

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

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

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

Wewnętrzną kontrolę amplifikacji stanowiła amplifikacja egzonu 4b genu neurofibryminy 1 (*NF1*).

4.3.4.2. Metoda PCR-SSP z użyciem starterów specyficznych do sekwencji allelu 158V (559G) genu *FCGR3A*

Amplifikacja produktów reakcji PCR-SSP genu *FCGR3A* wariantu polimorficznego 158V (559G) zachodziła w mieszaninie reakcyjnej o objętości 10 µl, z następującymi stężeniami końcowymi składników:

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

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

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

Wewnętrzną kontrolę amplifikacji stanowiła amplifikacja egzonu 22 genu neurofibryminy 1 (*NFI*).

4.3.5. Metoda PCR-SSP z użyciem starterów specyficznych do sekwencji polimorficznego genu *FCGR3B*

Amplifikacja produktów reakcji PCR-SSP genu *FCGR3B* wszystkich alleli jednocześnie w jednej mieszaninie reakcyjnej zachodziła w objętości 10 µl, z następującymi stężeniami końcowymi składników:

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

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

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

Z uwagi na podobieństwo allelu NA2 oraz allelu SH, które różnią od siebie jedynie jednym nukleotydem na 6 definiujących rodzaj wariantu polimorficznego, zastosowana metoda ma dla genu *FCGR3B* ograniczenie.

Użyty w badaniu starter *3B-NA2/SH* oraz *3B-gene* są substratami do utworzenia w reakcji PCR produktu specyficznego dla allelu NA2 i SH (produkt NA2/SH). Uzupełnienie reakcji PCR-SSP o starter *3B-SH* umożliwia otrzymanie produktu specyficznego wyłącznie dla allelu SH. W sytuacji jednoczesnej obecności produktów reakcji NA2/SH oraz produktu dla allelu SH przy użyciu zastosowanej metody nie można odróżnić genotypów NA2/SH od SH/SH. Z powodu znacznie rzadszego występowania allelu SH, niż allelu NA2 w populacji kaukaskiej (10% vs. 63%), wynik uzyskany jako NA2/SH, SH/SH interpretowano jako obecność genotypu NA2/SH [332,333].

4.4. ROZDZIAŁ PRODUKTÓW AMPLIFIKACJI

Rozdział produktów amplifikacji powstałych na matrycy genów *FCGR2A*, *FCGR2C*, *FCGR3A* oraz *FCGR3B* przeprowadzano w natywnym żelu poliakrylamidowym o stopniu usieciowania wynoszącym 3%.

Używano 14% żelu poliakrylamidowego stosując do jego sieciowania bisakrylamid. Do zsyntezowania 20 ml żelu używano: 9,33 ml 30% roztworu akrylamid-bisakrylamid (32:1), 2,4 ml 0,5M buforu Tris-mrówczan, 8,27 ml wody dejonizowanej, 150 µl 10% nadsiarczanu amonu i 8 µl TEMEDu.

Produkty reakcji PCR-SSP umieszczano w dołkach drabinki w pobliżu katody. W pierwszym dołku znajdował się zawsze marker masy molekularnej *Gene Ruler* (Thermo

Fisher Scientific Inc., Portsmouth, USA) w celu określenia długości zamplifikowanych fragmentów DNA. W biegunie proksymalnym i dystalnym żelu umieszczano po 3 nałożone na siebie paski bibuły *Whatmann 3MM* nasączone buforem łącznikowym, do których następnie przykładano elektrody. Rozdziału produktów amplifikacji i *Gene Ruler* dokonywano za pomocą aparatu do horyzontalnej elektroforezy poliakrylamidowej *Multiphor II* (Pharmacia LKB Biotechnology AB, Uppsala, Szwecja) przy użyciu parametrów: napięcie 1500 V, natężenie 40 mA i moc 15 W, z użyciem systemu chłodzenia żelu do temperatury 8°C. Rozdział produktów przerywano, kiedy błękit bromofenolowy znajdujący się w buforze łącznikowym osiągał anodę.

4.5. BARWIENIE PRODUKTÓW AMPLIFIKACJI DNA AZOTANEM (V) SREBRA (I)

Barwienie produktów amplifikacji DNA po przeprowadzeniu rozdziału elektroforetycznego rozpoczynano od trzyminutowej oksydacji żelu 1% roztworem kwasu azotowego (V). Roztwór kwasu azotowego zlewano, a żel przemywano wodą dejonizowaną przez około 10 sekund. Po odlaniu wody do kuwety z żelem dolewano 0,1% roztwór azotanu (V) srebra (I) i mieszano przez 20 minut. Po tym czasie odlewano roztwór azotanu (V) srebra (I) i ponownie przemywano żel wodą dejonizowaną przez około 10 sekund. Po odlaniu wody do kuwety z żelem wlewano schłodzony do 4-8° C roztwór 3% węgla sodu z dodatkiem niewielkiej ilości formaldehydu. W momencie uwidocznienia prążków produktów amplifikacji DNA roztwór węgla sodu wylewano umieszczając żel w 10% roztworze kwasu octowego na około 2 minuty w celu zatrzymania procesu redukcji. Po zlaniu kwasu octowego żel po raz kolejny przemywano wodą dejonizowaną, a następnie zanurzano w 5% roztworze gliceryny na około 1 minutę w celu utrwalenia.

4.6. ŁAŃCUCHOWA REAKCJA POLIMERAZY W CZASIE RZECZYWISTYM (RT-PCR) WYKONYWANA W CELU OKREŚLENIA LICZBY KOPII BADANYCH GENÓW *FCGR*

Do analizy liczby kopii genów *FCGR2A*, *FCGR2B*, *FCGR2C*, *FCGR3A* oraz *FCGR3B* wykorzystano metodę łańcuchowej reakcji polimerazy w czasie rzeczywistym z użyciem starterów specyficznych do sekwencji danego fragmentu badanego genu. Startery zostały zaprojektowane przez firmę Life Technologies® (Tabela 13).

Tabela 13. Sekwencje starterów użytych w reakcjach RT-PCR w celu określenia liczby kopii badanych genów

Nazwa genu	Nazwa startera	Sekwencja startera 5' -> 3'	Długość produktu PCR [pz]
<i>FCGR2A</i>	Hs00103511_cn	TCCCAGAAACCTGTGGCTGCTTCAA	90
<i>FCGR2B</i>	Hs00134082_cn	CCCTTCTCCCCTGTTGCCTTTTCTG	78
<i>FCGR2C</i>	FCGR2C_CC5IPK0	ACCTCCTCTCTCTGCCCTCAGCAG	105
<i>FCGR3A</i>	Hs00139300_cn	GTCTGAAGTCTGGCAAGGGAGCCCC	106
<i>FCGR3B</i>	Hs04211858_cn	AGGAGAACTAACTCAATGTAAACAT	106

4.7. LICZBA KOPII GENÓW *FCGR*

Badanie wykonano z użyciem zestawów *TaqMan Copy Number Assays* zaprojektowanych dla genów *FCGR2A* (Hs00103511_cn), *FCGR2B* (Hs00134082_cn), *FCGR3A* (Hs00139300_cn), *FCGR3B* (Hs04211858_cn) oraz *Custom TaqMan Copy Number Assay* dla genu *FCGR2C* (FCGR2C_CC5IPK0) wyprodukowanych przez firmę Life Technologies®. Badanie przeprowadzono za pomocą aparatu *7900HT Fast Real-Time PCR System* (Applied Biosystems, Foster City, USA). Do reakcji używano mieszaniny reakcyjnej *TaqMan Genotyping Master Mix* i *TaqMan Copy Number Reference Assay for RNase P*.

Do reakcji RT-PCR stosowano płytki 384-dołkowe. Do każdego dołka nanoszono 2 µl DNA o stężeniu 5 ng/µl. DNA każdego pacjenta umieszczano w 4 kolejnych dołkach w celu osiągnięcia jak największej pewności otrzymanych wyników. Po wprowadzeniu wszystkich mieszanin DNA do dołków płytkę suszono w temperaturze pokojowej. Następnie do każdego z dołków dodawano 5 µl mieszaniny reakcyjnej *TaqMan Genotyping Master Mix*, *TaqMan Copy Number Assays* badanego genu, *TaqMan Copy Number Reference Assay for RNase P* i wody.

Amplifikacja produktów reakcji RT-PCR genów *FCGR* zachodziła w mieszaninie reakcyjnej o objętości 5 µl, z następującymi stężeniami końcowymi składników:

- 1x *TaqMan Genotyping Master Mix*,
- 1x *TaqMan Copy Number Assays* dla danego genu,

- 1x TaqMan Copy Number Reference Assay for RNase P,
- 10 ng genomowego DNA.

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

Etap	Temperatura [°C]	Czas	Liczba cykli
Wstępna denaturacja	50	120 s	1
Denaturacja	95	10 min	1
Przyłączenie primerów i wydłużanie	92	15 s	40
	60	60	

Liczba kopii badanych genów była obliczana za pomocą programu *CopyCaller Software v. 2.0*. (Applied Biosystems, Foster City, USA). Do oceny występowania różnic statystycznych liczby kopii badanych genów został użyty dokładny test Fishera. Dodatkowo dokładny test Fishera został użyty do analizy różnic w kumulatywnej ilości liczby kopii genów *FCGR* (*FCGR2A*, *FCGR2B*, *FCGR2C*, *FCGR3A*, *FCGR3B*) oraz do analizy kumulatywnej liczby kopii genów aktywujących *FCGR* (*FCGR2A*, *FCGR2C*, *FCGR3A*, *FCGR3B*) po odjęciu liczby kopii genów dla receptora hamującego odpowiedź immunologiczną (*FCGR2B*).

4.8. ANALIZA STATYSTYCZNA

Rozkład normalności wieku w poszczególnych grupach badanych obliczono przy pomocy testu Shapiro-Wilka. Wiek osób w badanych grupach porównano przy użyciu testu U Manna-Whitneya (test nieparametryczny).

W celu oceny różnic w liczbie kobiet i mężczyzn oraz częstości występowania alleli i genotypów w badanych grupach zastosowano dokładny test Fishera (STATISTICA[®] v.13, StatSoft, USA). Za miarę istotności statystycznej uznano wartości $p \leq 0,05$. W pracy tej w całości zaprezentowano jedynie wartości statystycznie istotne.

Do oceny ryzyka rozwoju SA i TB obliczono iloraz szans (*odds ratio*, OR) i jego 95% przedziały ufności (*confidence intervals*, CIs). OR i CIs dla poszczególnych alleli obliczono za pomocą programu *Vassar Stats* (www.vassarstats.net). OR i CIs dla poszczególnych genotypów obliczono za pomocą programu *OR calculator OEGE* (www.oege.org/software/orcalc.html).

W celu weryfikacji zgodności częstości występowania genotypów badanych genów zgodnie z prawem Hardy'ego-Weinberga zastosowano program *Hardy-Weinberg equilibrium calculator* [334].

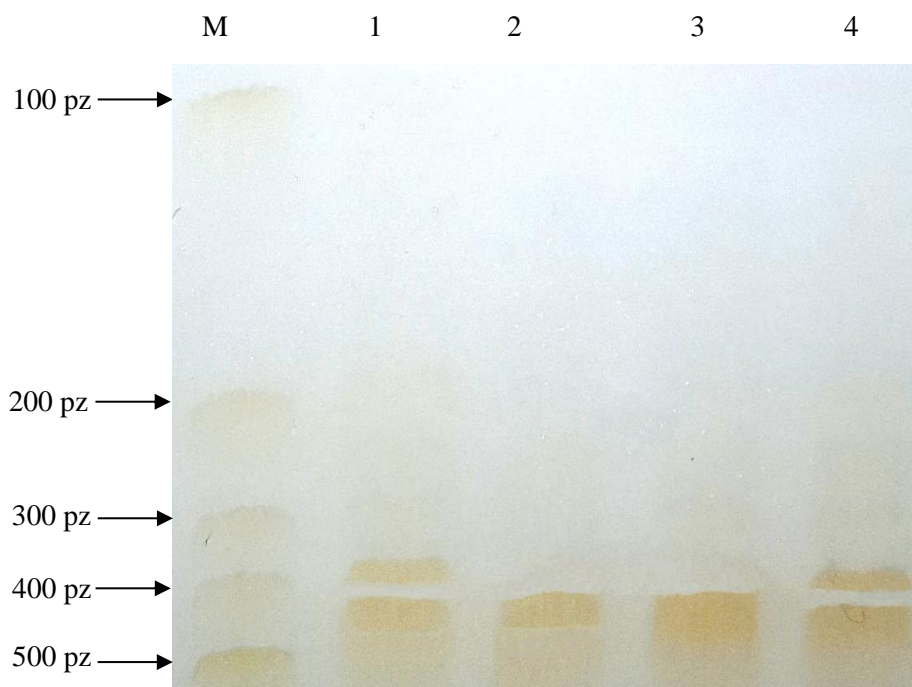
5. WYNIKI

5.1. ANALIZA PRAWIDŁOWEGO DOBRANIA BADANYCH GRUP POD WZGLĘDEM WIEKU I PŁCI

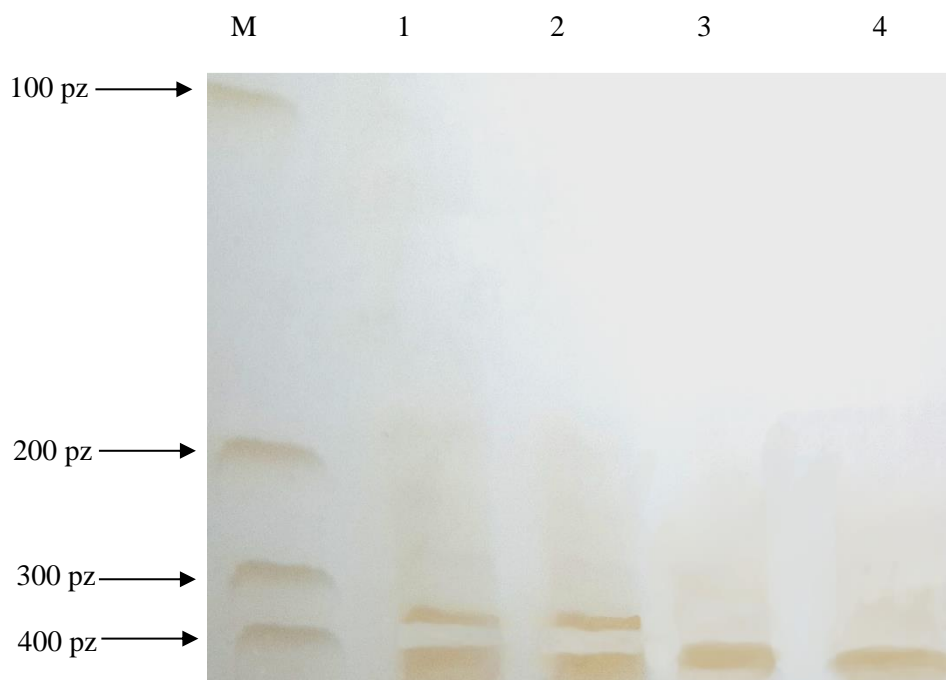
Test normalności Shapiro-Wilka wykazał, że wiek w grupach chorych na SA, TB oraz zdrowych ochotników odbiegał od rozkładu normalnego (odpowiednio: $p = 0,007$, $p = 0,003$ oraz $p = 0,03$). Wiek osób w poszczególnych grupach nie różnił się istotnie od siebie (SA vs. TB: $p = 0,57$; SA vs. kontrola: $p = 0,52$; TB vs. kontrola: $p = 0,08$). Liczba kobiet i mężczyzn nie różniła się pomiędzy badanymi grupami (SA vs. TB: $p = 0,29$; SA vs. kontrola: $p = 0,97$; TB vs. kontrola: $p = 0,97$).

5.2. CZĘSTOŚĆ WYSTĘPOWANIA POSZCZEGÓLNYCH ALLELI I GENOTYPÓW GENU *FCGR2A* W BADANYCH GRUPACH

Przykładowy wynik amplifikacji fragmentu genu *FCGR2A* i wewnętrznej kontroli reakcji PCR-SSP dla allelu 131H i 131R przedstawiono na Rycinach 4. i 5.



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



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

Badanie polimorfizmu genu *FCGR2A* przeprowadzono u 144 osób chorych na sarkoidozę, w tym u 36 osób w I stadium, 53 osób w II stadium, 34 osób w III stadium, 21 osób w IV stadium SA, u 179 osób chorych na TB oraz u 145 osób zdrowych. Rozkład liczebności poszczególnych genotypów był zgodny z prawem Hardy’ego-Weinberga zarówno w grupie pacjentów z SA ($p = 0,87$), TB ($p = 0,55$), jak i w grupie osób zdrowych ($p < 0,99$). Częstość występowania poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR2A* w badanych grupach przedstawiono odpowiednio w Tabelach 14. i 15.

Tabela 14. Częstość występowania poszczególnych alleli genu *FCGR2A* w badanych grupach

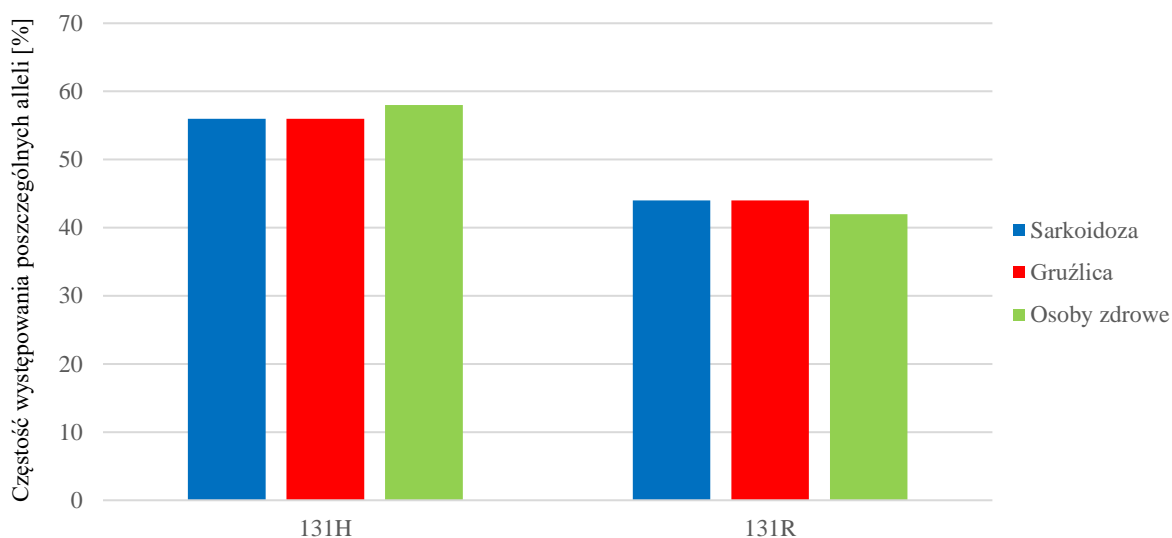
Badana grupa	Częstość występowania alleli genu <i>FCGR2A</i> (w %)	
	131H	131R
Sarkoidoza (SA) (n = 144)	161 (56)	127 (44)
Stadium I SA (n = 36)	42 (58)	30 (42)
Stadium II SA (n = 53)	56 (53)	50 (47)
Stadium III SA (n = 34)	43 (63)	25 (37)
Stadium IV SA (n = 21)	20 (49)	22 (51)
Gruźlica (n = 179)	199 (56)	159 (44)
Osoby zdrowe (n = 145)	169 (58)	121 (42)

Tabela 15. Częstość występowania poszczególnych genotypów genu *FCGR2A* w badanych grupach

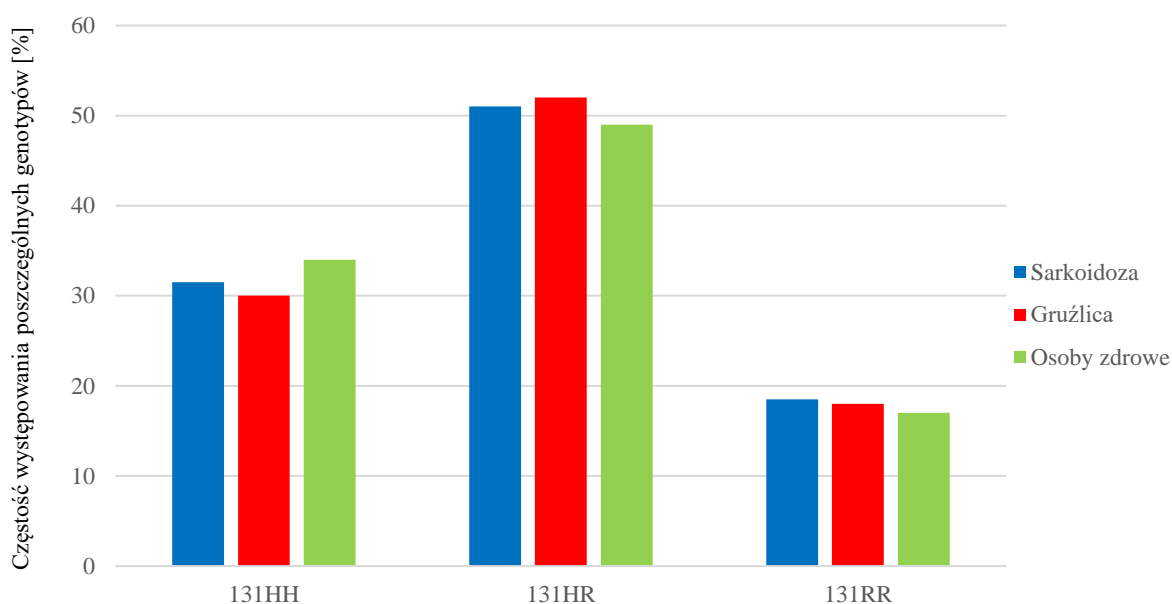
Badana grupa	Częstość występowania genotypów genu <i>FCGR2A</i> (w %)		
	131HH	131HR	131RR
Sarkoidoza (SA) (n = 144)	44 (30,5)	73 (51)	27 (18,5)
Stadium I SA (n = 36)	10 (28)	22 (61)	4 (11)
Stadium II SA (n = 53)	13 (24)	30 (57)	10 (19)
Stadium III SA (n = 34)	17 (50)	9 (26)	8 (24)
Stadium IV SA (n = 21)	4 (19)	12 (57)	5 (24)
Gruźlica (n = 179)	53 (30)	93 (52)	33 (18)
Osoby zdrowe (n = 145)	49 (34)	71 (49)	25 (17)

5.2.1. Porównanie częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR2A* pomiędzy wszystkimi pacjentami chorymi na sarkoidozę, gruźlicę a osobami zdrowymi

Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR2A* pomiędzy ogółem pacjentów chorych na sarkoidozę a chorymi na gruźlicę płuc i osobami zdrowymi oraz między chorymi na gruźlicę płuc i osobami zdrowymi ($p > 0,05$) (Ryc. 6. i 7.).



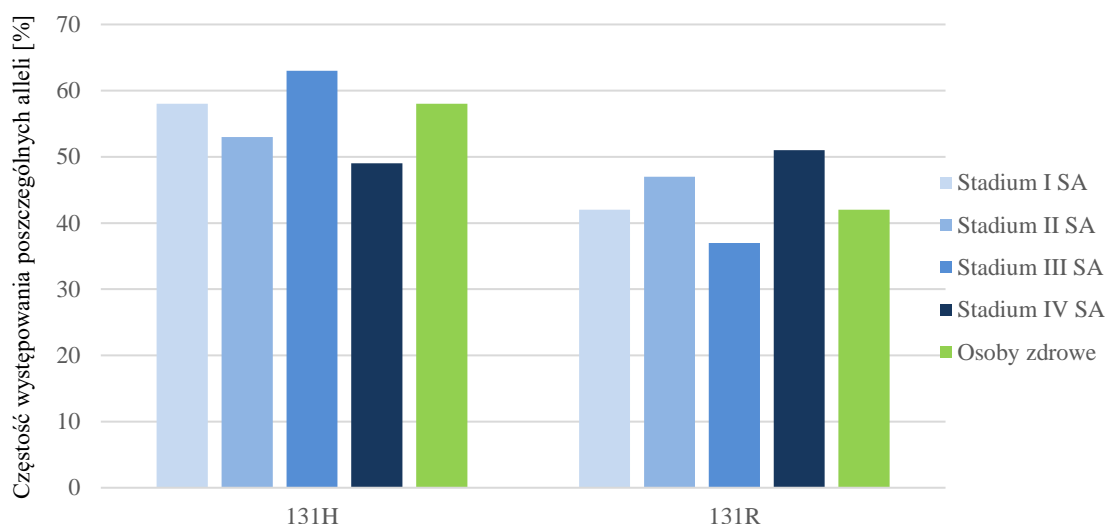
Rycina 6. Analiza porównawcza częstości występowania poszczególnych alleli genu *FCGR2A* u ogółu pacjentów chorych na sarkoidozę, gruźlicę płuc i osób zdrowych



Rycina 7. Analiza porównawcza częstości występowania poszczególnych genotypów genu *FCGR2A* u ogółu pacjentów chorych na sarkoidozę, gruźlicę płuc i osób zdrowych

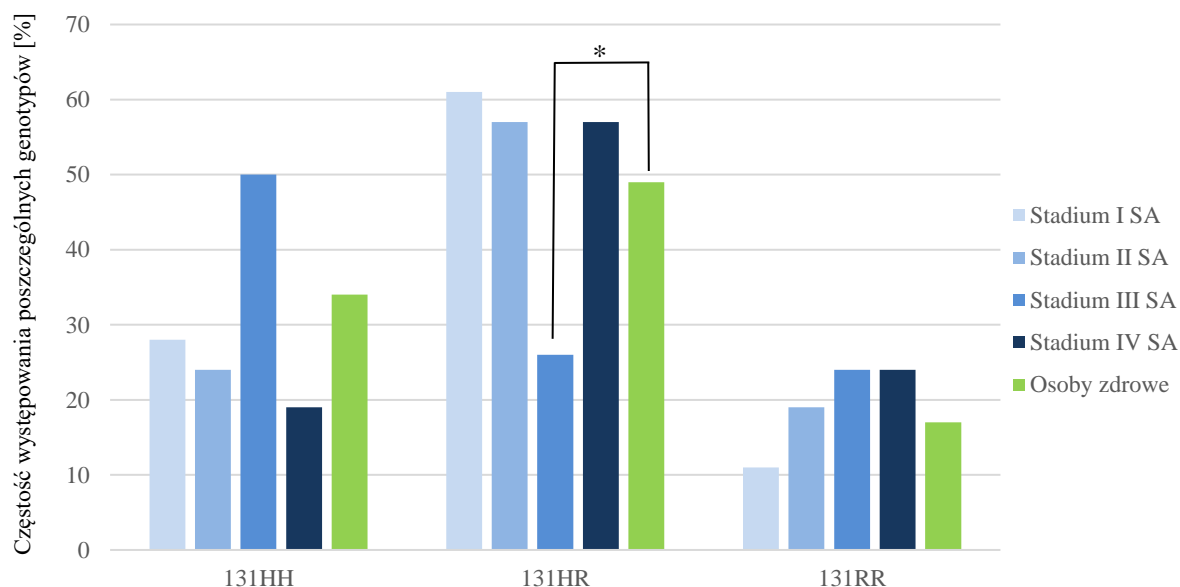
5.2.2. Porównanie częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR2A* pomiędzy pacjentami w różnych stadiach sarkoidozy a osobami zdrowymi

Nie stwierdzono istotnych różnic w częstości występowania poszczególnych alleli genu *FCGR2A* pomiędzy chorymi w różnych stadiach sarkoidozy a osobami zdrowymi (Ryc. 8.).



Rycina 8. Analiza porównawcza częstości występowania alleli genu *FCGR2A* pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy płucnej a osobami zdrowymi

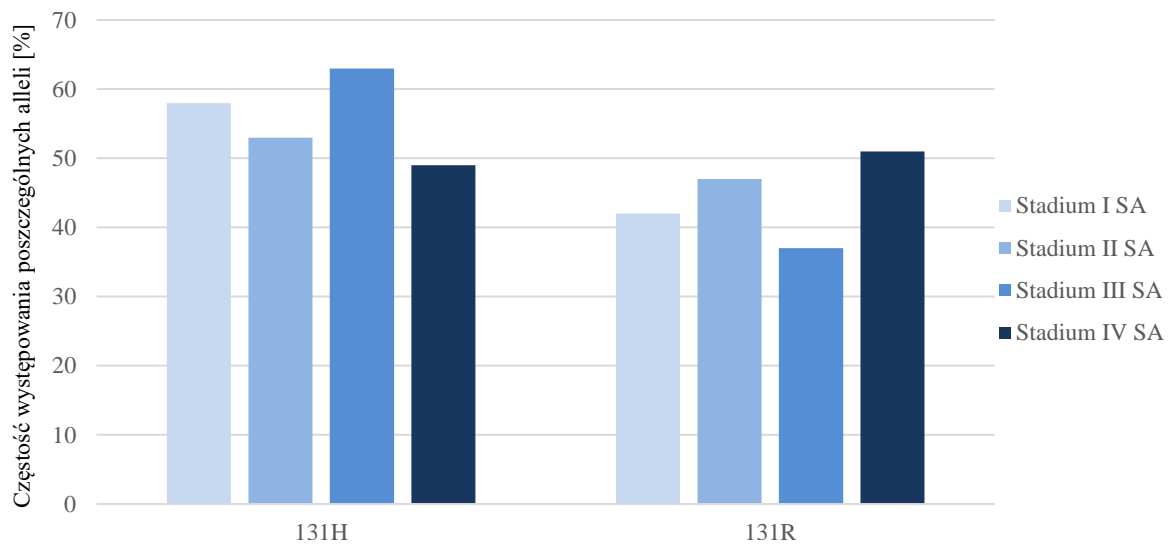
Wykazano natomiast istotnie rzadsze występowanie genotypu 131HR w III stadium sarkoidozy w porównaniu do osób zdrowych (26% vs. 49%, $p = 0,02$, OR = 0,38, CIs 0,16-0,86) (Ryc. 9.).



Rycina 9. Analiza porównawcza częstości występowania genotypów genu *FCGR2A* pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy płucnej a osobami zdrowymi; * $p < 0,05$

5.2.3. Porównanie częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR2A* pomiędzy pacjentami w różnych stadiach sarkoidozy płucnej

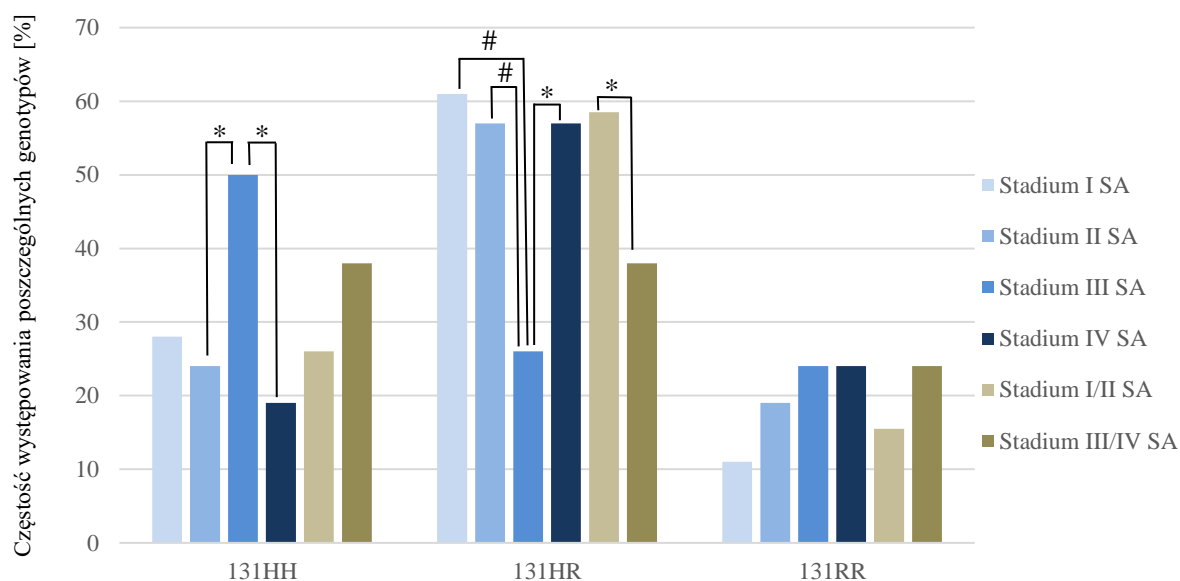
Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w częstości występowania poszczególnych alleli genu *FCGR2A* między różnymi stadiami sarkoidozy ($p > 0,05$) (Ryc. 10.).



Rycina 10. Analiza porównawcza częstości występowania alleli genu *FCGR2A* pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy płucnej

Wykazano natomiast istotnie częstsze występowanie genotypu 131HH w III stadium sarkoidozy w porównaniu do stadiów II i IV SA (odpowiednio: 50% vs. 24%, $p = 0,02$, OR = 3,08, CIs 1,22-7,71; 50% vs. 19%, $p = 0,03$, OR = 4,25, CIs 1,18-15,29). Wykazano również istotnie rzadsze występowanie genotypu 131HR w III stadium sarkoidozy w porównaniu do stadiów I, II oraz IV SA (odpowiednio: 26% vs. 61%, $p = 0,004$, OR = 0,23, CIs 0,08-0,63; 26% vs. 57%, $p = 0,008$, OR = 0,28, CIs 0,11-0,70; 26% vs. 57%, $p = 0,04$, OR = 0,27, CIs 0,09-0,85) (Ryc. 11.).

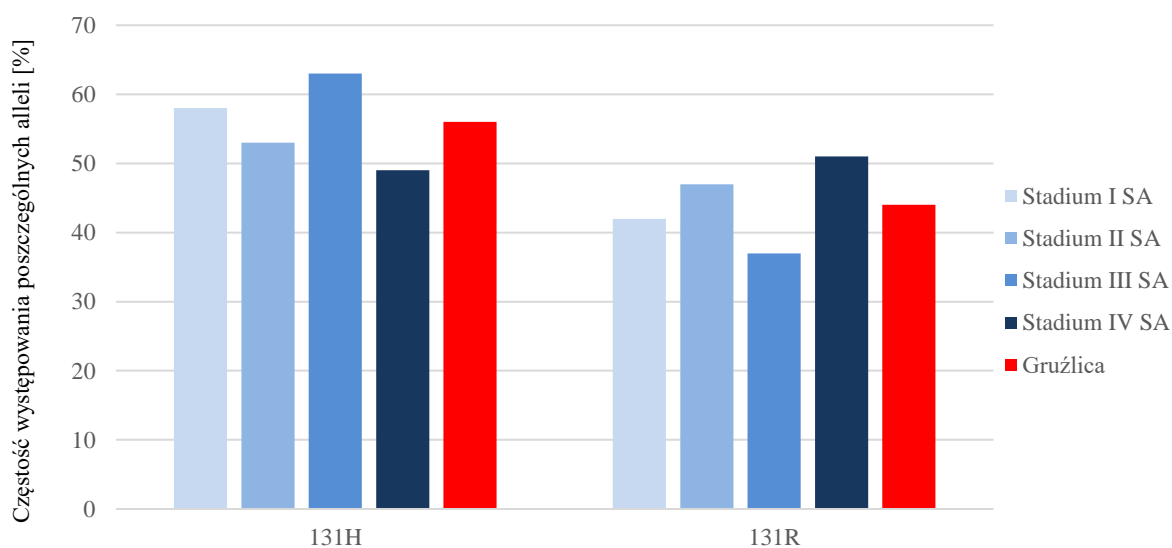
Udokumentowano również częstsze występowanie genotypu 131HR w połączonej grupie chorych w stadiach I i II sarkoidozy w porównaniu do połączonej grupy chorych w stadiach III i IV SA (58,5% vs. 38%, $p = 0,04$, OR = 2,10, CIs 1,06-4,17) (Ryc. 11.).



Rycina 11. Analiza porównawcza częstości występowania genotypów genu *FCGR2A* pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy płucnej; * $p < 0,05$, # $p < 0,01$

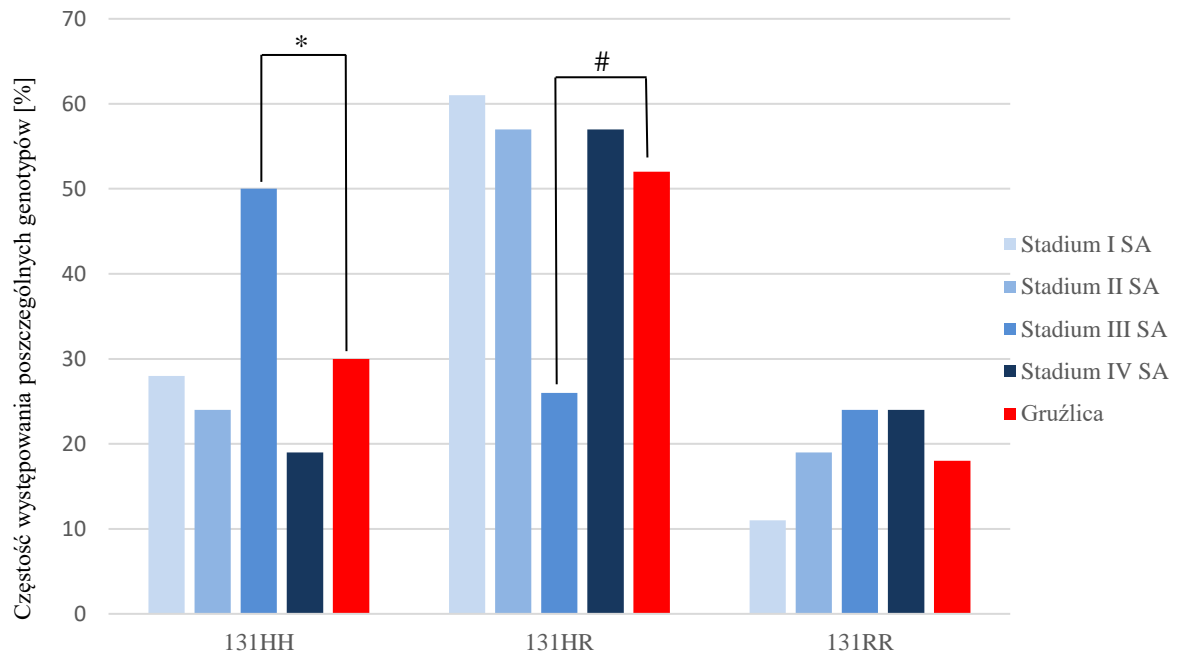
5.2.4. Porównanie częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR2A* pomiędzy pacjentami w różnych stadiach sarkoidozy a chorymi na gruźlicę płuc

Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w odsetku alleli genu *FCGR2A* między chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy a osobami chorymi na gruźlicę płuc ($p > 0,05$) (Ryc. 12.).



Rycina 12. Analiza porównawcza częstości występowania alleli genu *FCGR2A* pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy płucnej a chorymi na gruźlicę

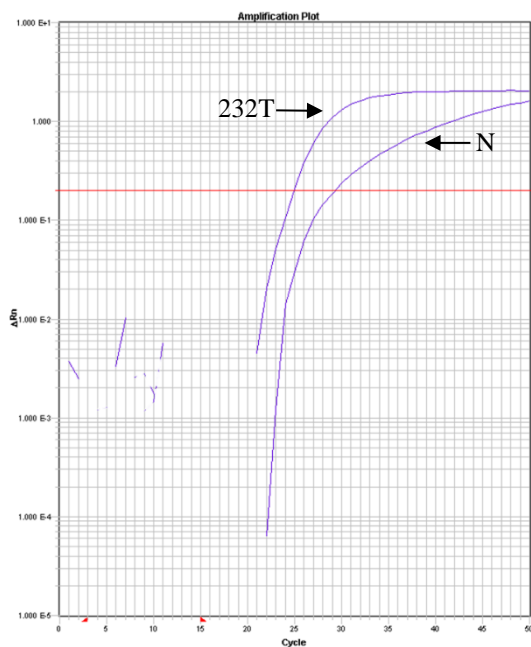
Wykazano natomiast istotnie częstsze występowanie genotypu 131HH oraz istotnie radsze występowanie genotypu 131HR w III stadium sarkoidozy w porównaniu do chorych na TB (odpowiednio 50% vs. 30%, $p = 0,03$, OR = 2,38, CIs 1,13-5,01; 26% vs. 52%, $p = 0,008$, OR = 0,33, CIs 0,15-0,75) (Ryc. 13.).



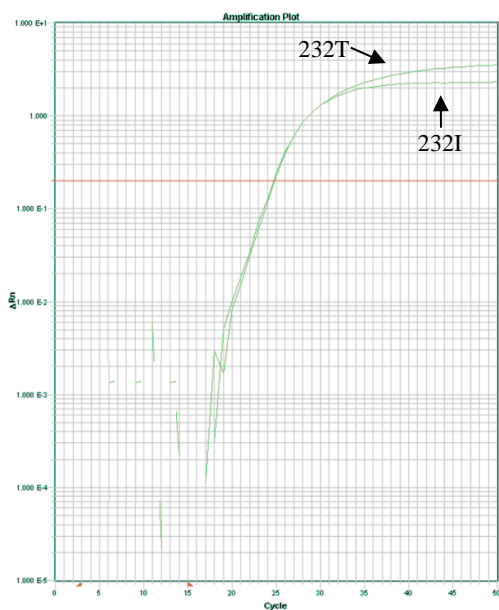
Rycina 13. Analiza porównawcza częstości występowania genotypów genu *FCGR2A* pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy płucnej a chorymi na gruźlicę; * $p < 0,05$, # $p < 0,01$

5.3. CZĘSTOŚĆ WYSTĘPOWANIA POSZCZEGÓLNYCH ALLELI I GENOTYPÓW GENU *FCGR2B* W BADANYCH GRUPACH

Przykładowy wynik reakcji PCR w czasie rzeczywistym genu *FCGR2B* przedstawiono na Rycinach 14. i 15.



Rycina 14. Przykładowy wynik reakcji qPCR genu *FCGR2B* dla genotypu 232TT; 232T- sygnał amplifikacji allelu 232T; N- niespecyficzny sygnał amplifikacji allelu 232I



Rycina 15. Przykładowy wynik reakcji qPCR genu *FCGR2B* dla genotypu 232IT; 232T- sygnał amplifikacji allelu 232T; 232I- sygnał amplifikacji allelu I

Badanie polimorfizmu genu *FCGR2B* przeprowadzono u 134 osób z sarkoidozą, w tym u 30 osób w I stadium, 49 osób w II stadium, 34 osób w III stadium, 21 osób w IV stadium SA, u 97 osób chorych TB oraz u 101 osób zdrowych. Rozkład liczebności poszczególnych genotypów był zgodny z prawem Hardy’ego-Weinberga w grupach chorych na SA ($p = 0,70$), TB ($p = 0,20$) oraz osób zdrowych ($p = 0,69$). Częstość występowania poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR2B* w badanych grupach przedstawiono odpowiednio w Tabelach 16. i 17.

Tabela 16. Częstość występowania poszczególnych alleli genu *FCGR2B* w badanych grupach

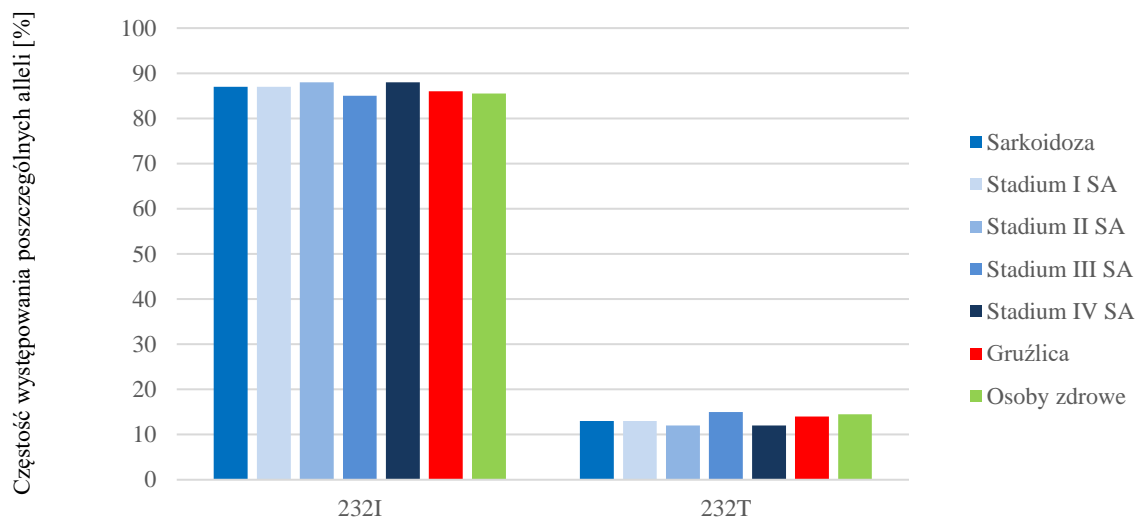
Badana grupa	Częstość występowania alleli genu <i>FCGR2B</i> (w %)	
	232I	232T
Sarkoidoza (SA) (n = 134)	233 (87)	35 (13)
Stadium I SA (n = 30)	52 (87)	8 (13)
Stadium II SA (n = 49)	86 (88)	12 (12)
Stadium III SA (n = 34)	58 (85)	10 (15)
Stadium IV SA (n = 21)	37 (88)	5 (12)
Gruźlica (n = 97)	167 (86)	27 (14)
Osoby zdrowe (n = 101)	173 (85,5)	29 (14,5)

Tabela 17. Częstość występowania poszczególnych genotypów *FCGR2B* w badanych grupach

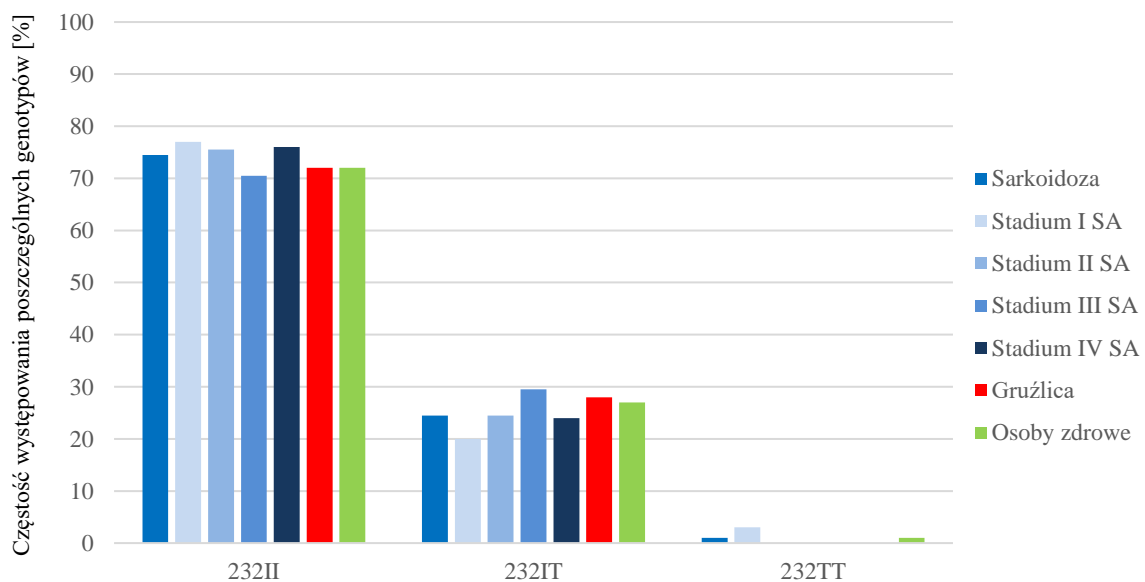
Badana grupa	Częstość występowania genotypów genu <i>FCGR2B</i> (w %)		
	232II	232IT	232TT
Sarkoidoza (SA) (n = 134)	100 (74,5)	33 (24,5)	1 (1)
Stadium I SA (n = 30)	23 (77)	6 (20)	1 (3)
Stadium II SA (n = 49)	37 (75,5)	12 (24,5)	0 (0)
Stadium III SA (n = 34)	24 (70,5)	10 (29,5)	0 (0)
Stadium IV SA (n = 21)	16 (76)	5 (24)	(0)
Gruźlica (n = 97)	70 (72)	27 (28)	0 (0)
Osoby zdrowe (n = 101)	73 (72)	27 (27)	1 (1)

5.3.1. Porównanie częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR2B* pomiędzy wszystkimi pacjentami chorymi na sarkoidozę, gruźlicę a osobami zdrowymi

Nie stwierdzono obecności statystycznie istotnych różnic w częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR2B* pomiędzy ogółem pacjentów chorych na sarkoidozę a chorymi na gruźlicę płuc i osobami zdrowymi oraz między chorymi na TB i osobami zdrowymi ($p > 0,05$) (Ryc. 16. i 17.).



Rycina 16. Analiza porównawcza częstości występowania poszczególnych alleli genu *FCGR2B* w badanych grupach



Rycina 17. Analiza porównawcza częstości występowania poszczególnych genotypów genu *FCGR2B* w badanych grupach

5.3.2. Porównanie częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR2B* pomiędzy pacjentami w różnych stadiach sarkoidozy a osobami zdrowymi

Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR2B* między chorymi w różnych stadiach sarkoidozy a osobami zdrowymi ($p > 0,05$) (Ryc. 16. i 17.).

5.3.3. Porównanie częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR2B* pomiędzy pacjentami w różnych stadiach sarkoidozy płucnej

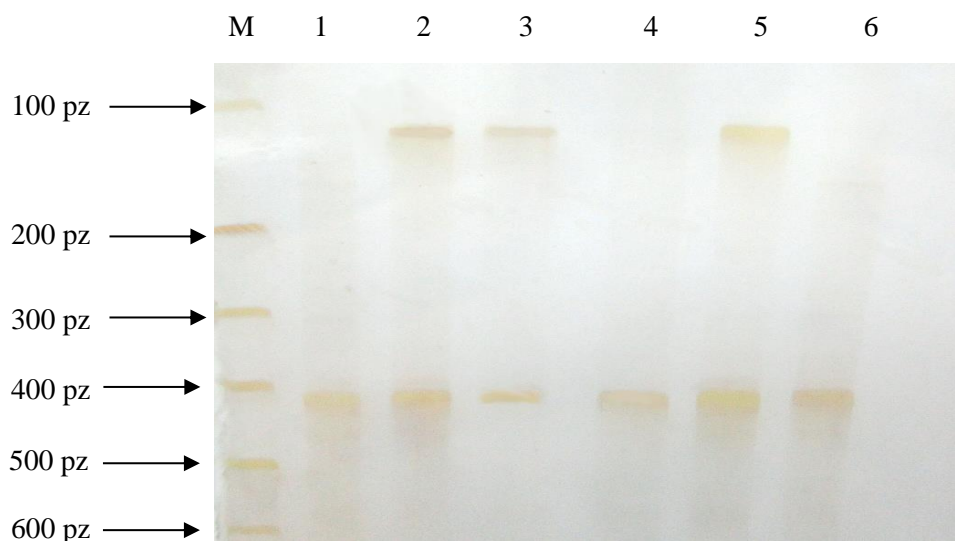
Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR2B* między różnymi stadiami sarkoidozy płucnej ($p > 0,05$) (Ryc. 16. i 17.).

5.3.4. Porównanie częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR2B* pomiędzy pacjentami w różnych stadiach sarkoidozy a chorymi na gruźlicę płuc

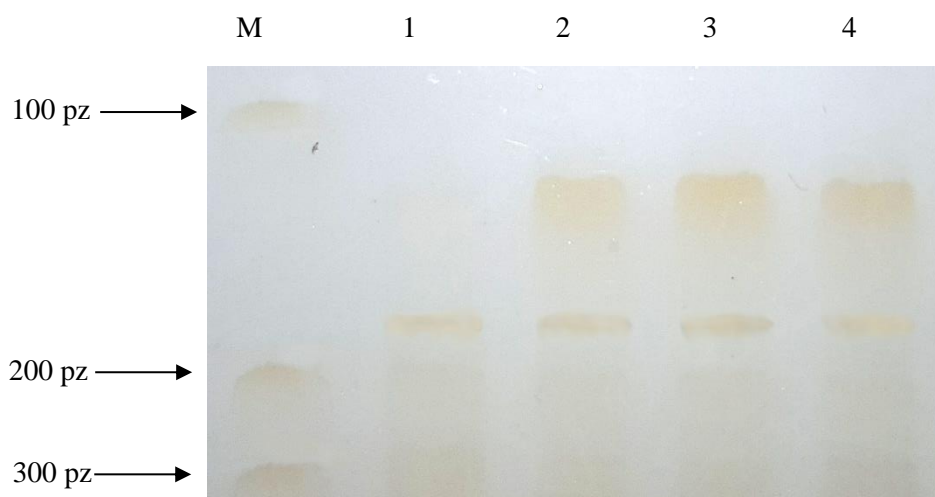
Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR2B* między chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy a osobami chorymi na gruźlicę ($p > 0,05$) (Ryc. 16. i 17.).

5.4. CZĘSTOŚĆ I ANALIZA PORÓWNAWCZA WYSTĘPOWANIA POSZCZEGÓLNYCH ALLELI I GENOTYPÓW GENU *FCGR2C* W BADANYCH GRUPACH

Przykładowy wynik amplifikacji fragmentu genu *FCGR2C* i wewnętrznej kontroli reakcji PCR-SSP dla allelu 57X i 57Q przedstawiono na Rycinach 18. i 19.



Rycina 18. Przykładowy wynik amplifikacji fragmentu genu *FCGR2C* i wewnętrznej kontroli reakcji PCR-SSP dla allelu 57X; M – marker masy molekularnej Gene Ruler; 2,3,5 – próbki z obecnością allelu 57X; 1,4,6 – próbki bez allelu 57X



Rycina 19. Przykładowy wynik amplifikacji fragmentu genu *FCGR2C* i wewnętrznej kontroli reakcji PCR-SSP dla allelu 57Q; M – marker masy molekularnej Gene Ruler; 2,3,4 – próbki z obecnością allelu 57Q; 1 – próbka bez allelu 57Q

Badanie polimorfizmu genu *FCGR2C* przeprowadzono u 149 osób z sarkoidozą, w tym u 37 osób w I stadium choroby, 57 osób w stadium II, 34 osób w stadium III, 21 osób w IV stadium SA, u 179 osób chorych TB oraz u 148 osób zdrowych. Rozkład liczebności poszczególnych genotypów nie był zgodny z prawem Hardy’ego-Weinberga w grupie chorych na TB ($p < 0,001$), był natomiast zgodny zarówno w grupie pacjentów z SA ($p = 0,11$), jak i w grupie osób zdrowych ($p = 0,59$). Częstość występowania

poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR2C* w badanych grupach przedstawiono w Tabelach 18. i 19.

Tabela 18. Częstość występowania poszczególnych alleli genu *FCGR2C* w badanych grupach

Badana grupa	Częstość występowania alleli genu <i>FCGR2C</i> (w %)		
	57X	57Q	delecje
Sarkoidoza (SA) (n = 149)	220 (74)	76 (25,5)	1 (0,5)
Stadium I SA (n = 37)	61 (82)	13 (18)	0
Stadium II SA (n = 57)	94 (82)	20 (18)	0
Stadium III SA (n = 34)	43 (63)	25 (37)	0
Stadium IV SA (n = 21)	22 (52)	18 (43)	1 (5)
Gruźlica (n = 179)	187 (52)	163 (45,5)	4 (2,5)
Osoby zdrowe (n = 148)	257 (87)	39 (13)	0

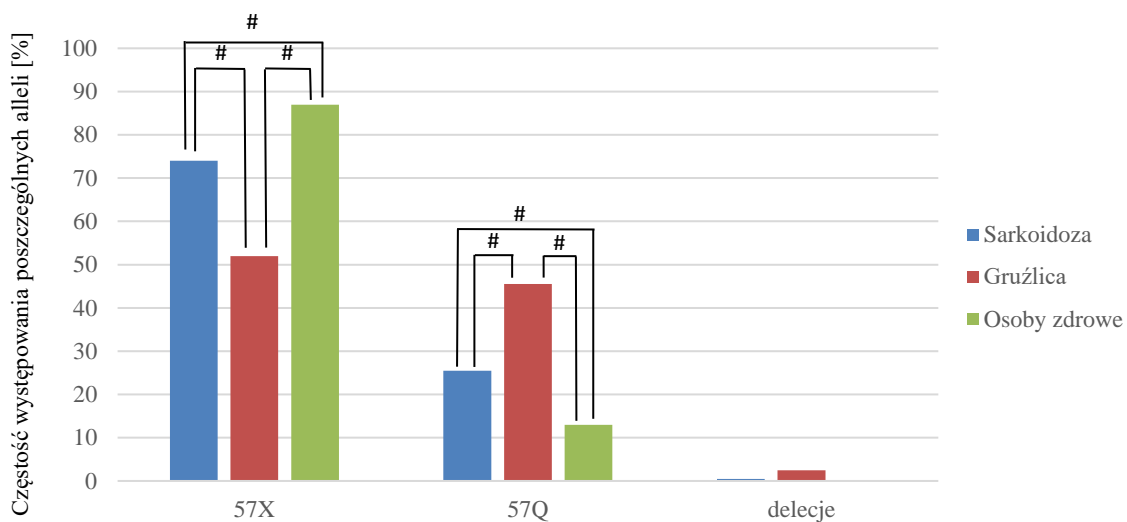
Tabela 19. Częstość występowania poszczególnych genotypów genu *FCGR2C* w badanych grupach

Badana grupa	Częstość występowania genotypów genu <i>FCGR2C</i> (w %)			
	57XX	57XQ	57QQ	delecje
Sarkoidoza (SA) (n = 149)	78 (52)	64 (43)	6 (4)	1 (1)
Stadium I SA (n = 37)	25 (68)	11 (30)	1 (2)	0
Stadium II SA (n = 57)	40 (70)	14 (25)	3 (5)	0
Stadium III SA (n = 34)	9 (26)	25 (74)	0	0
Stadium IV SA (n = 21)	4 (19)	14 (67)	2 (9)	1 (5)
Gruźlica (n = 179)	17 (9)	153 (85)	5 (3)	4 (3)
Osoby zdrowe (n = 148)	112 (76)	33 (22)	3 (2)	0

5.4.1. Porównanie częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR2C* pomiędzy wszystkimi pacjentami chorymi na sarkoidozę, gruźlicę i osobami zdrowymi

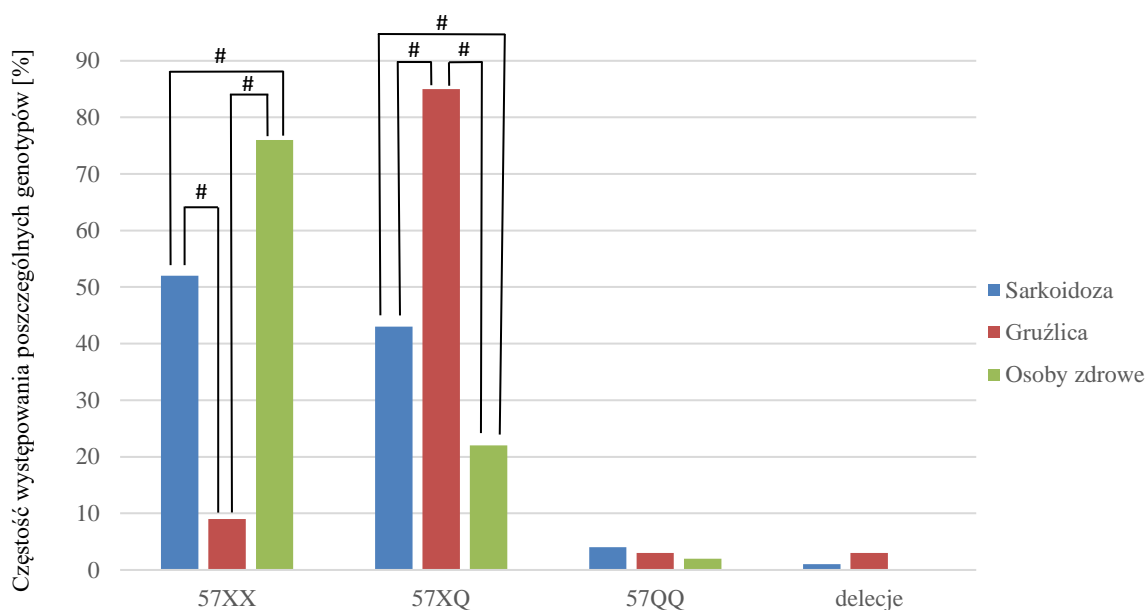
Wykazano rzadsze występowanie allelu 57X u chorych na TB w porównaniu do wszystkich chorych na SA i osób zdrowych (odpowiednio: 52% vs. 74%, $p < 0,0001$,

OR = 0,39, CIs 0,28-0,54; 52% vs. 87%, $p < 0,0001$, OR = 0,17, CIs 0,11-0,25). Udokumentowano również statystycznie częstsze występowanie allelu 57Q u osób chorych na TB w porównaniu do wszystkich chorych na SA i osób zdrowych (odpowiednio: 45,5% vs. 25,5%, $p < 0,0001$, OR = 2,44, CIs 1,75-3,41; 45,5% vs. 13%, $p < 0,0001$, OR = 5,51, CIs 3,71-8,18). Ponadto wykazano istotnie częstsze występowanie allelu 57Q u ogółu chorych na SA w porównaniu do zdrowych ochotników (25,5% vs. 13%, $p = 0,0002$, OR = 2,26, CIs 1,47-3,45) oraz rzadsze występowanie allelu 57X u chorych na SA w porównaniu do osób zdrowych (74% vs. 87%, $p = 0,0001$, OR = 0,43, CIs 0,28-0,65) (Ryc.20.).



Rycina 20. Analiza porównawcza częstości występowania poszczególnych alleli genu *FCGR2C* u ogółu pacjentów chorych na sarkoidozę, gruźlicę płuc i osób zdrowych; # $p < 0,01$

Wykazano istotnie rzadsze występowanie genotypu 57XX u chorych na gruźlicę płuc w porównaniu do ogółu pacjentów chorych na sarkoidozę oraz osób zdrowych (odpowiednio: 9% vs. 52%, $p < 0,0001$, OR = 0,10, CIs 0,05-0,17; 9% vs. 76%, $p < 0,0001$, OR = 0,03, CIs 0,02-0,06). Wykazano również istotnie rzadsze występowanie genotypu 57XX u ogółu chorych na SA w porównaniu do osób zdrowych (52% vs. 76%, $p < 0,0001$, OR = 0,35, CIs 0,22-0,58). Ponadto wykazano istotnie częstsze występowanie genotypu 57XQ u chorych na gruźlicę w porównaniu do ogółu chorych na sarkoidozę oraz osób zdrowych (odpowiednio: 85% vs. 43%, $p < 0,0001$, OR = 7,82, CIs 4,61-13,24; 85% vs. 22%, $p < 0,0001$, OR = 20,51, CIs 11,62-36,19). Istotnie częściej genotyp 57XQ występował również u ogółu chorych na sarkoidozę w porównaniu do osób zdrowych (43% vs. 22%, $p = 0,0002$, OR = 2,62, CIs 1,58-4,35) (Ryc. 21.).

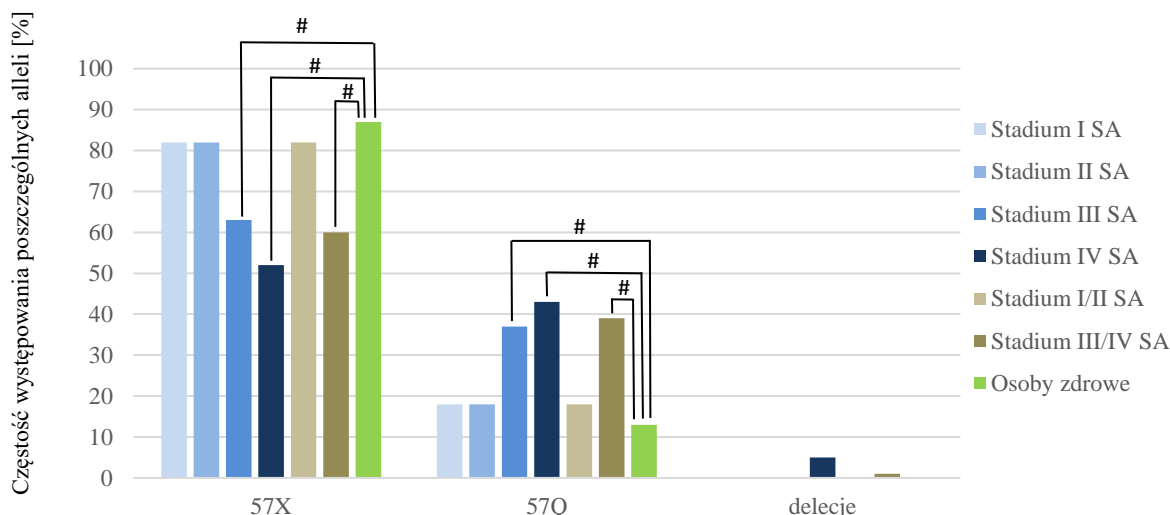


Rycina 21. Analiza porównawcza częstości występowania poszczególnych genotypów genu *FCGR2C* u ogółu pacjentów chorych na sarkoidozę, gruźlicę płuc i osób zdrowych; # $p < 0,01$

5.4.2. Porównanie częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR2C* pomiędzy pacjentami w różnych stadiach sarkoidozy a osobami zdrowymi

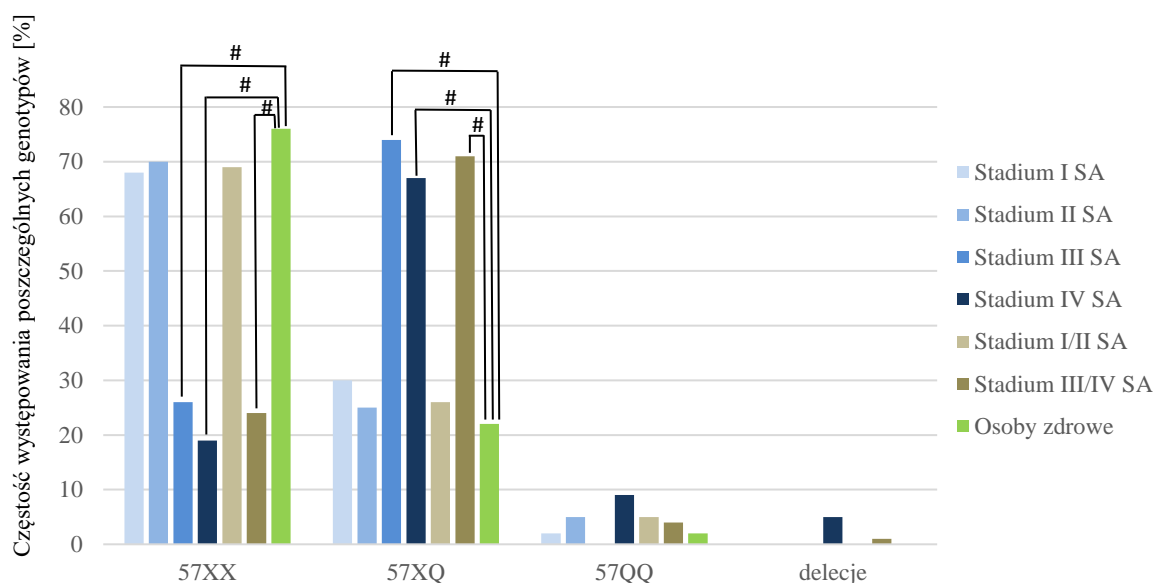
Wykazano rzadsze występowanie allelu 57X u chorych w III i IV stadium sarkoidozy płucnej w porównaniu do osób zdrowych (odpowiednio: 63% vs. 87%, $p < 0,0001$, OR = 0,26, CIs 0,14-0,47; 52% vs. 87%, $p < 0,0001$, OR = 0,17, CIs 0,08-0,33). Udokumentowano również istotnie częstsze występowanie allelu 57Q u chorych w III i IV stadium sarkoidozy płucnej w porównaniu do osób zdrowych (odpowiednio: 37% vs. 13%, $p < 0,0001$, OR = 3,83, CIs 2,11-6,96; 43% vs. 13%, $p < 0,0001$, OR = 4,94, CIs 2,46-9,93) (Ryc. 22.).

W połączonej grupie pacjentów w stadiach III i IV sarkoidozy wykazano rzadsze występowanie allelu 57X oraz częstsze występowanie allelu 57Q w porównaniu do zdrowych ochotników (odpowiednio: 60% vs. 87%, $p < 0,0001$, OR = 0,23, CIs 0,14-0,38; 40% vs. 13%, $p < 0,0001$, OR = 4,36, CIs 2,61-7,27) (Ryc. 22.).



Rycina 22. Analiza porównawcza częstości występowania alleli genu *FCGR2C* pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy płucnej i w połączonych grupach chorych w stadiach I/II oraz III/IV SA a osobami zdrowymi; # $p < 0,01$

Wykazano rzadsze występowanie genotypu 57XX u chorych w III i IV stadium sarkoidozy (odpowiednio: 26% vs. 76%, $p < 0,0001$, OR = 0,12, CIs 0,05-0,27; 19% vs. 76%, $p < 0,0001$, OR = 0,08, CIs 0,02-0,24) oraz częstsze występowanie genotypu 57XQ u chorych w III i IV stadium sarkoidozy w porównaniu do osób zdrowych (odpowiednio: 74% vs. 22%, $p < 0,0001$, OR = 9,68, CIs 4,12-22,75; 67% vs. 22%, $p = 0,0001$, OR = 6,97, CIs 2,60-18,69) (Ryc. 23.). W połączonej grupie pacjentów w stadiach III i IV sarkoidozy wykazano rzadsze występowanie genotypu 57XX oraz częstsze występowanie genotypu 57XQ w porównaniu do osób zdrowych (odpowiednio: 24% vs. 76%, $p < 0,0001$, OR = 0,10, CIs 0,05-0,20; 46% vs. 22% $p < 0,0001$, OR = 8,49, CIs 4,22-17,09) (Ryc. 23.).

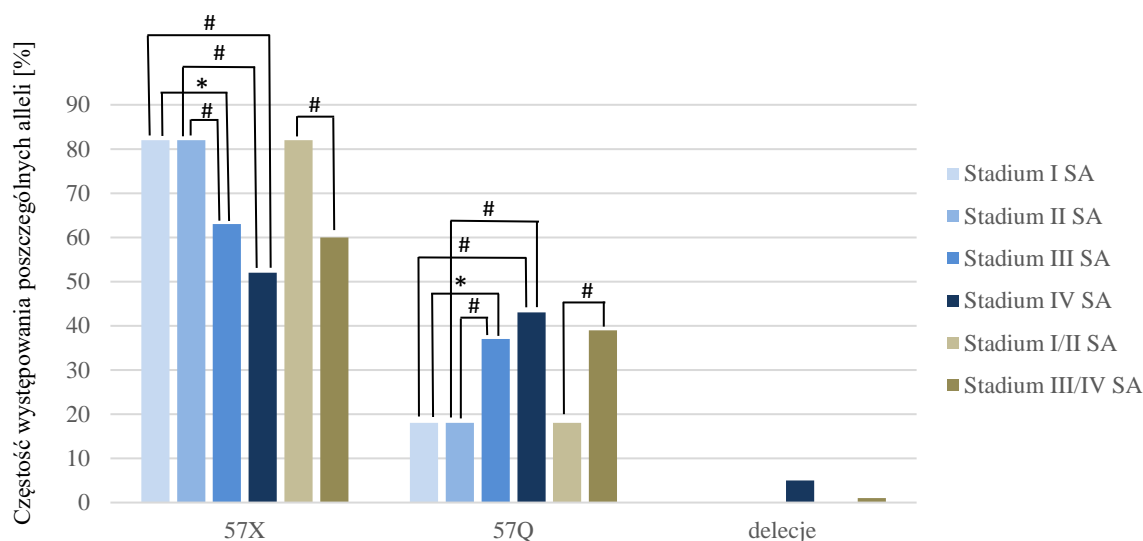


Rycina 23. Analiza porównawcza częstości występowania genotypów genu *FCGR2C* pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy i w połączonych grupach chorych w stadiach I/II oraz III/IV SA a osobami zdrowymi; # $p < 0,01$

5.4.3. Porównanie częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR2C* pomiędzy pacjentami w różnych stadiach sarkoidozy płucnej

Wykazano częstsze występowanie allelu 57X u chorych w I stadium SA w porównaniu do chorych w III i IV stadium sarkoidozy (odpowiednio: 82% vs. 63%, $p = 0,01$, OR = 2,73, CIs 1,26-5,92; 82% vs. 52%, $p = 0,0008$, OR = 4,27, CIs 1,82-10,0). Udokumentowano również rzadsze występowanie allelu 57Q u chorych w I stadium sarkoidozy w porównaniu do chorych w III i IV stadium sarkoidozy płucnej (odpowiednio: 18% vs. 37%, $p = 0,01$, OR = 0,37, CIs 0,17-0,80; 18% vs. 43%, $p = 0,004$, OR = 0,28, CIs 0,12-0,67). Ponadto wykazano istotnie częstsze występowanie allelu 57X u chorych w II stadium sarkoidozy w porównaniu do osób w III i IV stadium SA (odpowiednio: 82% vs. 63%, $p = 0,004$, OR = 2,73, CIs 1,37-5,45; 82% vs. 52%, $p = 0,0002$, OR = 4,27, CIs 1,97-9,27). Z kolei allel 57Q występował rzadziej u chorych w II stadium sarkoidozy w porównaniu do chorych w stadiach III i IV SA (odpowiednio: 18% vs. 37%, $p = 0,004$, OR = 0,37, CIs 0,18-0,73; 18% vs. 43%, $p = 0,002$, OR = 0,28, CIs 0,13-0,62) (Ryc. 24.).

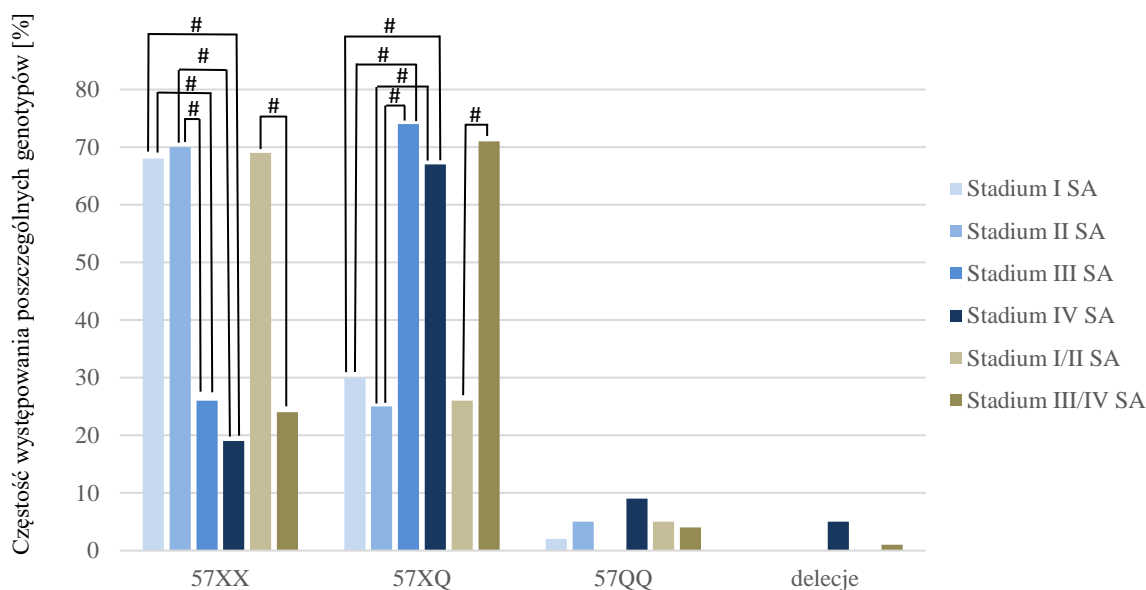
W połączonej grupie chorych w stadiach I i II sarkoidozy wykazano istotnie częstsze występowanie allelu 57X oraz rzadsze występowanie allelu 57Q w porównaniu do połączonej grupy chorych w stadiach III i IV SA (odpowiednio: 82% vs. 60%, $p < 0,0001$, OR = 3,25, CIs 1,90-5,55; 18% vs. 40%, $p = 0,0001$, OR = 0,33, CIs 0,19-0,57) (Ryc. 24.).



Rycina 24. Analiza porównawcza częstości występowania alleli genu *FCGR2C* pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy płucnej i w połączonych grupach chorych w stadiach I/II oraz III/IV SA; * $p < 0,05$, # $p < 0,01$

Ponadto wykazano częstsze występowanie genotypu 57XX u chorych w I stadium SA w porównaniu do stadiów III i IV SA (odpowiednio: 68% vs. 26%, $p = 0,0008$, OR = 5,79, CIs 2,07-16,16; 68% vs. 19%, $p = 0,0009$, OR = 8,85, CIs 2,44-32,12). Udokumentowano również rzadsze występowanie genotypu 57XQ u chorych w I stadium sarkoidozy płucnej w porównaniu do stadiów III i IV SA (odpowiednio: 30% vs. 74%, $p = 0,0004$, OR = 0,15, CIs 0,05-0,43; 30% vs. 67%, $p = 0,008$, OR = 0,21, CIs 0,07-0,67). Ponadto wykazano częstsze występowanie genotypu 57XX u chorych w II stadium sarkoidozy płucnej w porównaniu do stadiów III i IV (odpowiednio: 70% vs. 26%, $p = 0,0001$, OR = 6,54, CIs 2,53-16,90; 70% vs. 19%, $p = 0,0002$, OR = 10,0, CIs 2,93-34,15) oraz rzadsze występowanie genotypu 57XQ u chorych w II stadium sarkoidozy płucnej w porównaniu do stadiów III i IV (odpowiednio: 25% vs. 74%, $p < 0,0001$, OR = 0,12, CIs 0,04-0,31; 25% vs. 67%, $p = 0,001$, OR = 0,16, CIs 0,05-0,48) (Ryc. 25.).

W połączonej grupie chorych w stadiach I i II sarkoidozy płucnej wykazano również częstsze występowanie genotypu 57XX oraz rzadsze występowanie genotypu 57XQ w porównaniu do połączonej grupy chorych w stadiach III i IV sarkoidozy płucnej (odpowiednio: 70% vs. 23%, $p < 0,0001$, OR = 7,24, CIs 3,38-15,49; 27% vs. 70%, $p < 0,0001$, OR = 0,15, CIs 0,07-0,31) (Ryc. 25.).

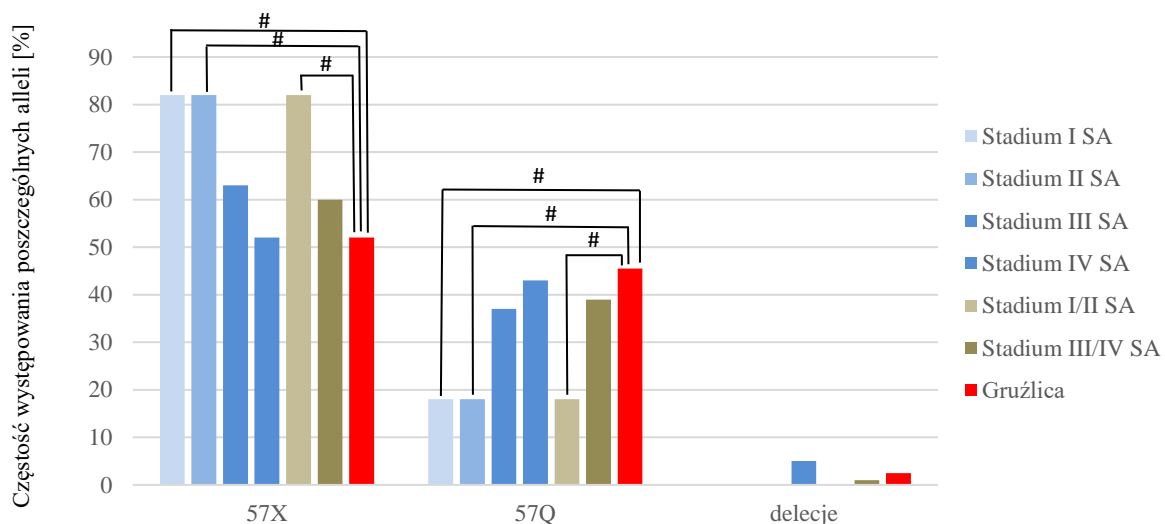


Rycina 25. Analiza porównawcza częstości występowania genotypów genu *FCGR2C* pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy płucnej i w połączonych grupach chorych w stadiach I/II oraz III/IV SA; # $p < 0,01$

5.4.4. Porównanie częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR2C* pomiędzy pacjentami w różnych stadiach sarkoidozy a chorymi na gruźlicę płuc

Wykazano istotnie częstsze występowanie allelu 57X u chorych w I i II fazie sarkoidozy w porównaniu do chorych na gruźlicę (odpowiednio: 82% vs. 52%, $p < 0,0001$, OR = 4,29, CIs 2,28-8,09; 82% vs. 52%, $p < 0,0001$, OR = 4,30, CIs 2,54-7,27). Ponadto wykazano istotnie rzadsze występowanie allelu 57Q u chorych w I i II fazie sarkoidozy w porównaniu do chorych na gruźlicę (odpowiednio: 18% vs. 45,5%, $p < 0,0001$, OR = 0,26, CIs 0,14-0,48; 18% vs. 45,5%, $p < 0,0001$, OR = 0,25, CIs 0,15-0,43) (Ryc. 26.).

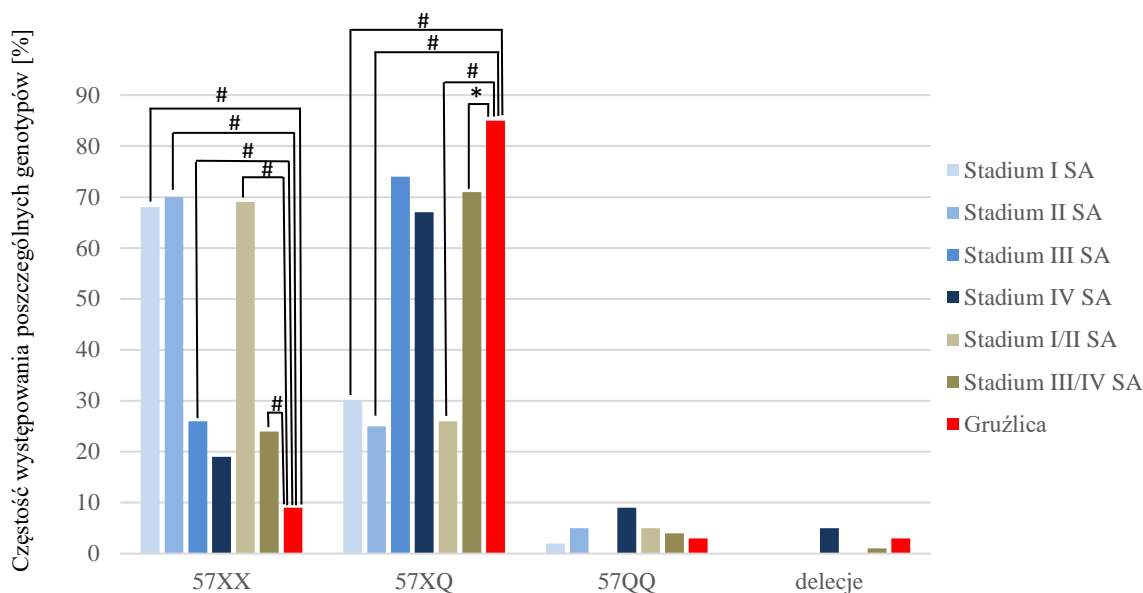
W połączonej grupie chorych w I i II stadium sarkoidozy wykazano częstsze występowanie allelu 57X w porównaniu do osób chorych na gruźlicę (82% vs. 52%, $p < 0,0001$, OR = 4,29, CIs 2,80-6,60). Ponadto w stadiach I/II SA wykazano rzadsze występowanie allelu 57Q w porównaniu do ogółu chorych na TB (18% vs. 45,5%, $p < 0,0001$, OR = 0,25, CIs 0,17-0,39) (Ryc. 26.).



Rycina 26. Analiza porównawcza częstości występowania alleli genu *FCGR2C* pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy płucnej i w połączonych grupach chorych w stadiach I/II oraz III/IV SA a chorymi na gruźlicę; # $p < 0,01$

Wykazano ponadto częstsze występowanie genotypu 57XX u chorych w I, II i III fazie sarkoidozy płucnej w porównaniu do chorych na TB (odpowiednio: 68% vs. 9%, $p < 0,0001$, OR = 19,85, CIs 8,48-46,48; 70% vs. 9%, $p < 0,0001$, OR = 22,42, CIs 10,53-47,76; 26% vs. 9%, $p = 0,01$, OR = 3,43, CIs 1,38-8,53). Udokumentowano również rzadsze występowanie genotypu 57XQ u chorych w I i II fazie sarkoidozy w porównaniu do chorych na TB (odpowiednio: 30% vs. 85%, $p < 0,0001$, OR = 0,07, CIs 0,03-0,16; 25% vs. 85%, $p < 0,0001$, OR = 0,06, CIs 0,03-0,12) (Ryc. 27.).

W połączonej grupie pacjentów w I i II stadium sarkoidozy wykazano częstsze występowanie genotypu 57XX oraz rzadsze występowanie genotypu 57XQ w porównaniu do ogółu chorych na gruźlicę płuc (odpowiednio: 69% vs. 9%, $p < 0,0001$, OR = 21,36, CIs 10,99-41,50; 27% vs. 85% $p < 0,0001$, OR=0,06, CIs 0,03-0,11). Również w połączonej grupie chorych w III i IV stadium sarkoidozy częściej występował genotyp 57XX oraz rzadziej genotyp 57XQ w porównaniu do chorych na TB (odpowiednio: 24% vs. 9%, $p = 0,008$, OR = 2,95, CIs 1,33-6,55; 46% vs. 85%, $p = 0,02$, OR = 0,41, CIs 0,20-0,85) (Ryc. 27.).

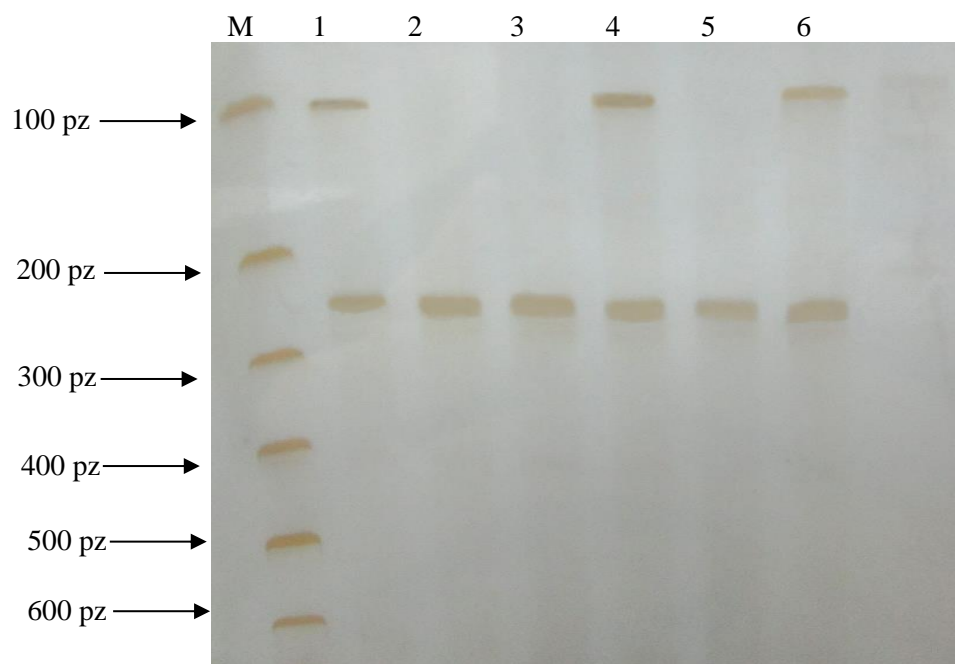


Rycina 27. Analiza porównawcza częstości występowania genotypów genu *FCGR2C* pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy płucnej i w połączonych grupach chorych w stadiach I/II oraz III/IV SA a chorymi na gruźlicę; * $p < 0,05$, # $p < 0,01$

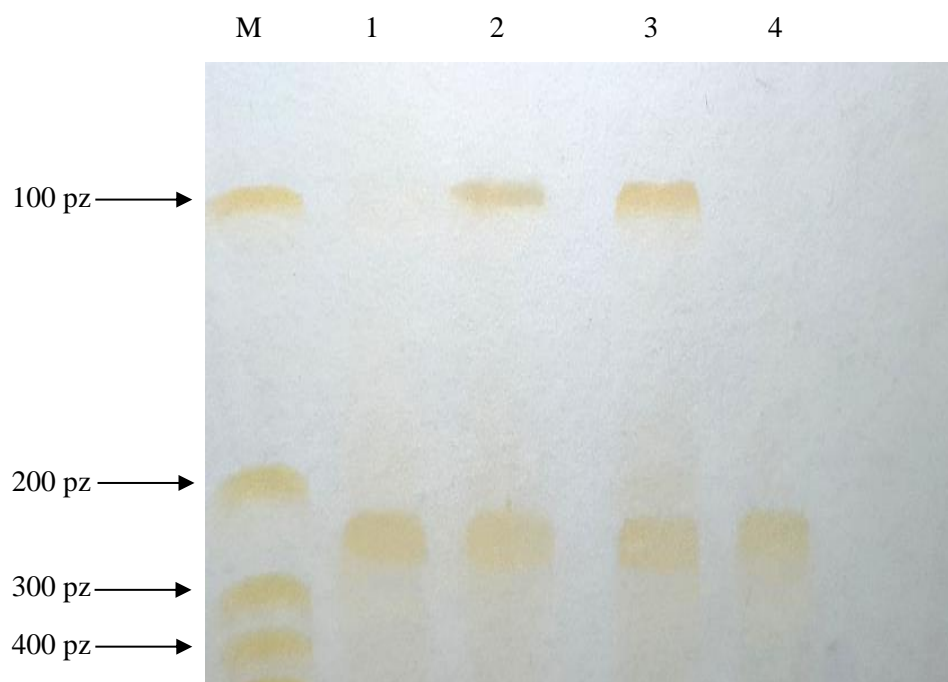
5.5. CZĘSTOŚĆ WYSTĘPOWANIA POSZCZEGÓLNYCH ALLELI I GENOTYPÓW GENU *FCGR3A* W BADANYCH GRUPACH

Przykładowy wynik amplifikacji fragmentu genu *FCGR3A* i wewnętrznej kontroli reakcji PCR-SSP dla allelu 158F i 158V przedstawiono na Rycinach 28. i 29.

Badanie polimorfizmu genu *FCGR3A* przeprowadzono u 120 osób z sarkoidozą, w tym u 23 osób w I stadium choroby, 54 osób w stadium II, 23 osób w stadium III, 20 osób w IV stadium SA, u 179 osób chorych TB oraz u 148 osób zdrowych. Rozkład liczebności poszczególnych genotypów był zgodny z prawem Hardy'ego-Weinberga w grupie chorych na TB ($p = 0,45$), chorych na SA ($p = 0,11$), jak i w grupie osób zdrowych ($p = 0,59$). Częstość występowania poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR3A* w badanych grupach przedstawiono odpowiednio w Tabelach 20. i 21.



Rycina 28. Przykładowy wynik amplifikacji fragmentu genu *FCGR3A* i wewnętrznej kontroli reakcji PCR-SSP dla allelu 158F; M - marker masy molekularnej Gene Ruler; 1,4,6 – próbki z obecnością allelu 158F; 2,3,5 – próbka bez allelu 158F



Rycina 29. Przykładowy wynik amplifikacji fragmentu genu *FCGR3A* i wewnętrznej kontroli reakcji PCR-SSP dla allelu 158V; M - marker masy molekularnej Gene Ruler; 2,3 – próbki z obecnością allelu 158V; 1,4 – próbka bez allelu 158V

Tabela 20. Częstość występowania poszczególnych alleli genu *FCGR3A* w badanych grupach

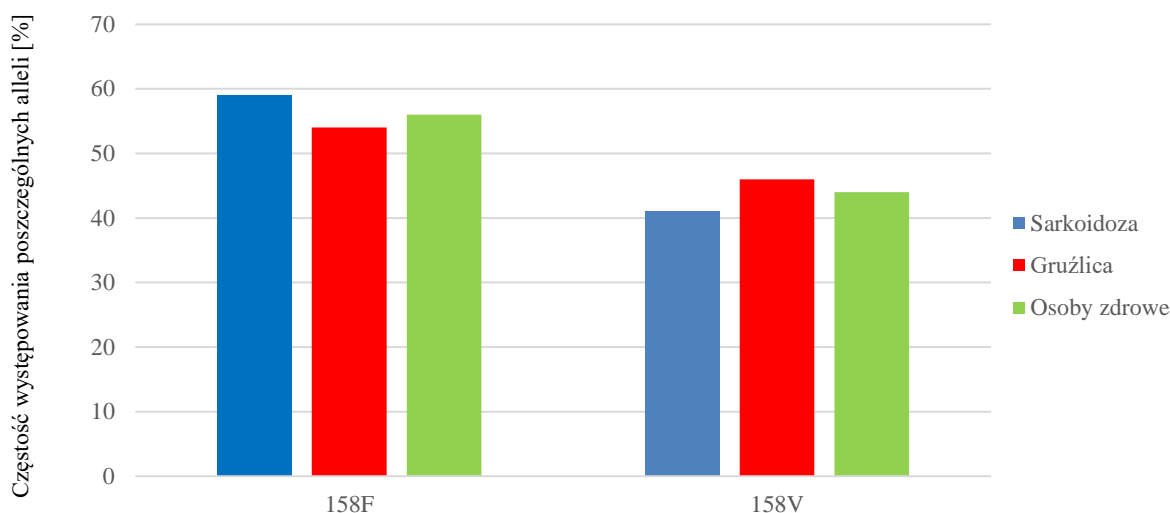
Badana grupa	Częstość występowania alleli genu <i>FCGR3A</i> (w %)	
	158F	158V
Sarkoidoza (SA) (n = 120)	142 (59)	98 (41)
Stadium I SA (n = 23)	33 (72)	13 (28)
Stadium II SA (n = 54)	52 (48)	56 (52)
Stadium III SA (n = 23)	31 (67)	15 (33)
Stadium IV SA (n = 20)	26 (65)	14 (35)
Gruźlica (n = 179)	193 (54)	165 (46)
Osoby zdrowe (n = 148)	167 (56)	129 (44)

Tabela 21. Częstość występowania poszczególnych genotypów genu *FCGR3A* w badanych grupach

Badana grupa	Częstość występowania genotypów genu <i>FCGR3A</i> (w %)		
	158FF	158FV	158VV
Sarkoidoza (SA) (n = 120)	47 (39)	48 (40)	25 (21)
Stadium I SA (n = 23)	13 (57)	7 (30)	3 (13)
Stadium II SA (n = 54)	13 (24)	26 (48)	15 (28)
Stadium III SA (n = 23)	12 (52)	7 (30,5)	4 (17,5)
Stadium IV SA (n = 20)	9 (45)	8 (40)	3 (15)
Gruźlica (n = 179)	49 (27)	95 (53)	35 (20)
Osoby zdrowe (n = 148)	42 (28)	83 (56)	23 (16)

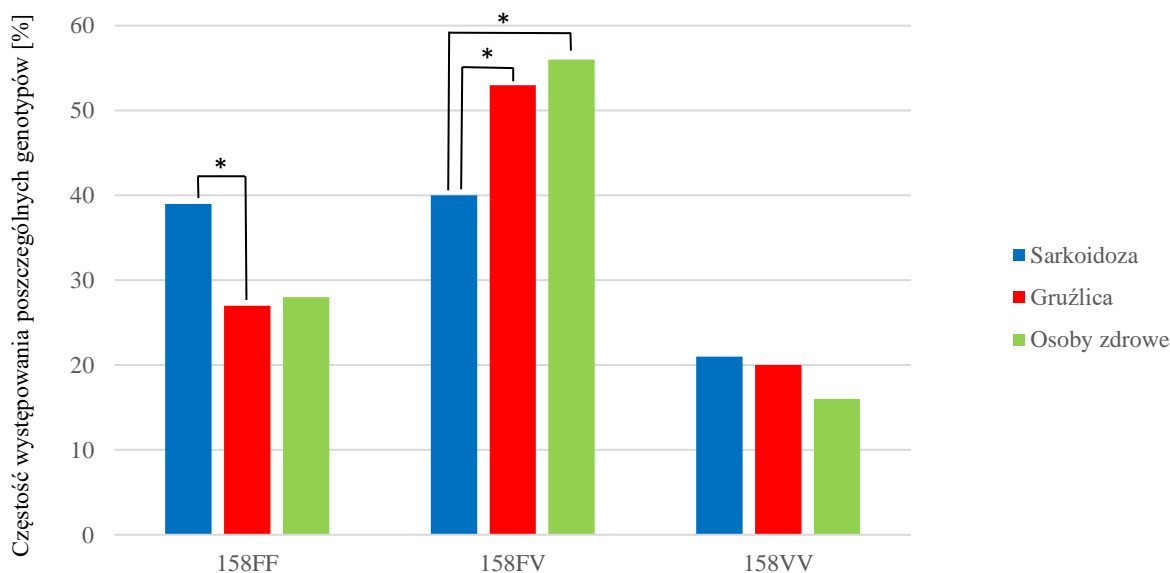
5.5.1. Porównanie częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR3A* pomiędzy wszystkimi pacjentami chorymi na sarkoidozę, gruźlicę i osobami zdrowymi

Nie stwierdzono obecności statystycznie istotnych różnic w częstości występowania poszczególnych alleli genu *FCGR3A* pomiędzy ogółem pacjentów chorych na sarkoidozę a chorymi na gruźlicę i osobami zdrowymi oraz między chorymi na gruźlicę płuc i osobami zdrowymi ($p > 0,05$) (Ryc. 30.).



Rycina 30. Analiza porównawcza częstości występowania poszczególnych alleli genu *FCGR3A* u ogółu pacjentów chorych na sarkoidozę, gruźlicę płuc i osób zdrowych

Natomiast stwierdzono częstsze występowanie genotypu 158FF u ogółu chorych na sarkoidozę w porównaniu do chorych na gruźlicę (39% vs. 27%, $p = 0,04$, OR = 1,71, CIs 1,04-2,79). Ponadto udokumentowano rzadsze występowanie genotypu 158FV u chorych na SA w porównaniu do chorych na TB i osób zdrowych (odpowiednio: 40% vs. 53%, $p = 0,03$, OR = 0,59, CIs 0,37-0,94; 40% vs. 56%, $p = 0,01$, OR = 0,52, CIs 0,32-0,85) (Ryc. 31.).



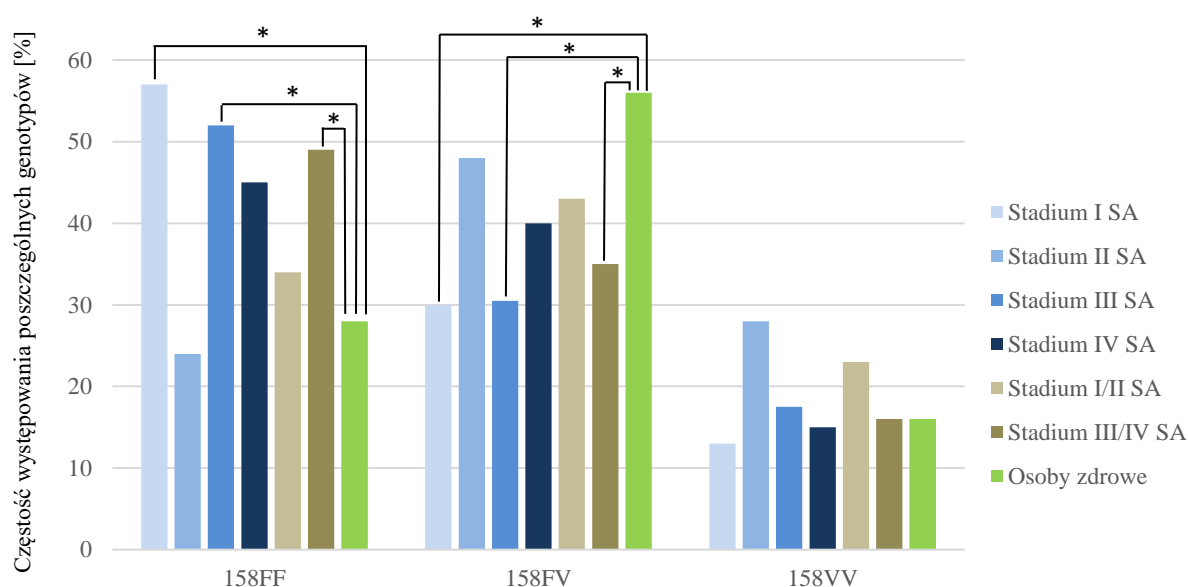
Rycina 31. Analiza porównawcza częstości występowania poszczególnych genotypów genu *FCGR3A* u ogółu pacjentów chorych na sarkoidozę, gruźlicę płuc i osób zdrowych; * $p < 0,05$

5.5.2. Porównanie częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR3A* pomiędzy pacjentami w różnych stadiach sarkoidozy a osobami zdrowymi

Nie stwierdzono obecności statystycznie istotnych różnic w częstości występowania poszczególnych alleli genu *FCGR3A* pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy płucnej a osobami zdrowymi ($p > 0,05$).

Wykazano natomiast częstsze występowanie genotypu 158FF u chorych w I i III stadium sarkoidozy płucnej w porównaniu do osób zdrowych (odpowiednio: 57% vs. 28%, $p = 0,01$, OR = 3,28, CIs 1,34-8,06; 52% vs. 28%, $p = 0,03$, OR = 2,75, CIs 1,13-6,72). Z kolei genotyp 158FV występował rzadziej u chorych w I i III stadium sarkoidozy płucnej w porównaniu do zdrowych ochotników (odpowiednio: 30% vs. 56%, $p = 0,03$, OR = 0,34, CIs 0,13-0,88; 30,5% vs. 56%, $p = 0,03$, OR = 0,34, CIs 0,13-0,88) (Ryc. 32.).

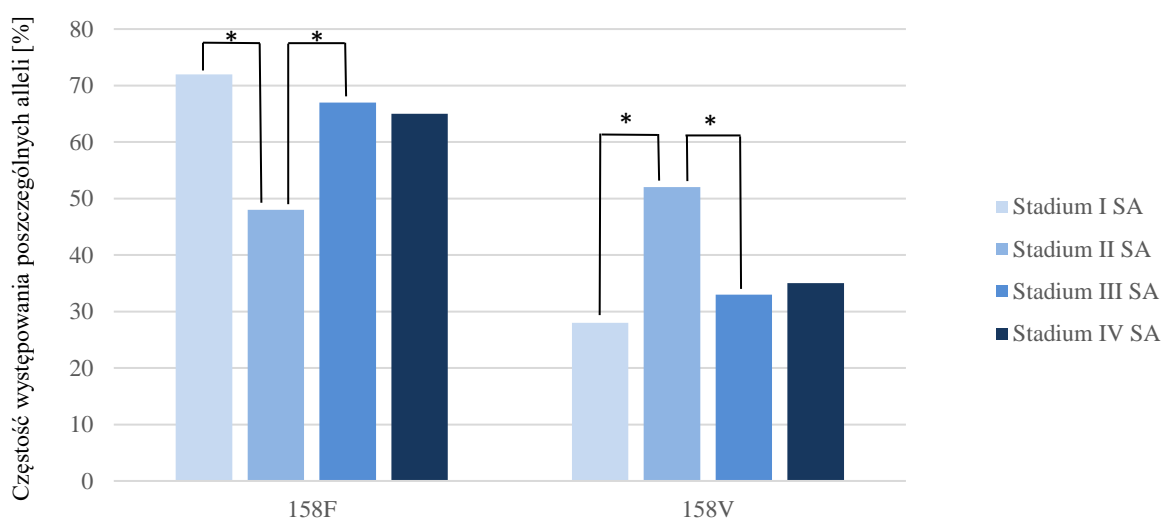
Ponadto w połączonej grupie chorych w stadiach III i IV SA wykazano częstsze występowanie genotypu 158FF w porównaniu do osób zdrowych (49% vs. 28%, $p = 0,02$, OR = 2,41, CIs 1,20-4,83). Natomiast genotyp 158FV występował rzadziej w połączonej grupie chorych w stadiach III i IV SA w porównaniu do grupy kontrolnej (35% vs. 56%, $p = 0,02$, OR = 0,42, CIs 0,21-0,85) (Ryc. 32.).



Rycina 32. Analiza porównawcza częstości występowania genotypów genu *FCGR3A* pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy płucnej i w połączonych grupach chorych w stadiach I/II oraz III/IV SA a osobami zdrowymi; * $p < 0,05$

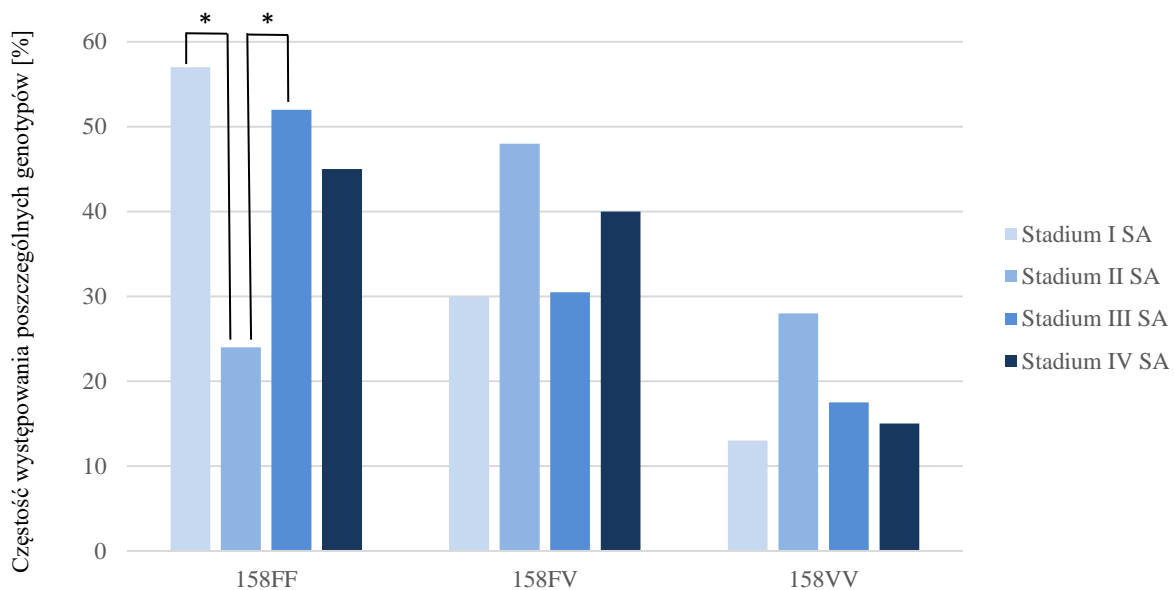
5.5.3. Porównanie częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR3A* pomiędzy pacjentami w różnych stadiach sarkoidozy płucnej

Wykazano częstsze występowanie allelu 158F oraz rzadsze występowanie allelu 158V u chorych w I stadium sarkoidozy w porównaniu do chorych w II stadium SA (odpowiednio: 72% vs. 48%, $p = 0,01$, OR = 2,73, CIs 1,30-5,76; 28% vs. 52%, $p = 0,01$, OR = 0,37, CIs 0,17-0,77). Ponadto wykazano częstsze występowanie allelu 158F i rzadsze występowanie allelu 158V u chorych w III stadium sarkoidozy w porównaniu do chorych w II stadium SA (odpowiednio: 67% vs. 48%, $p = 0,03$, OR = 2,23, CIs 1,08-4,59; 33% vs. 52%, $p = 0,03$, OR = 0,45, CIs 0,22-0,93) (Ryc. 33.).



Rycina 33. Analiza porównawcza częstości występowania alleli genu *FCGR3A* pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy płucnej; * $p < 0,05$

U chorych w stadiach I i III sarkoidozy udokumentowano częstsze występowanie genotypu 158FF w porównaniu do chorych w II stadium SA (odpowiednio: 57% vs. 24%, $p = 0,01$, OR = 4,10, CIs 1,46-11,53; 52% vs. 24%, $p = 0,03$, OR = 3,44, CIs 1,23-9,63) (Ryc. 34.).

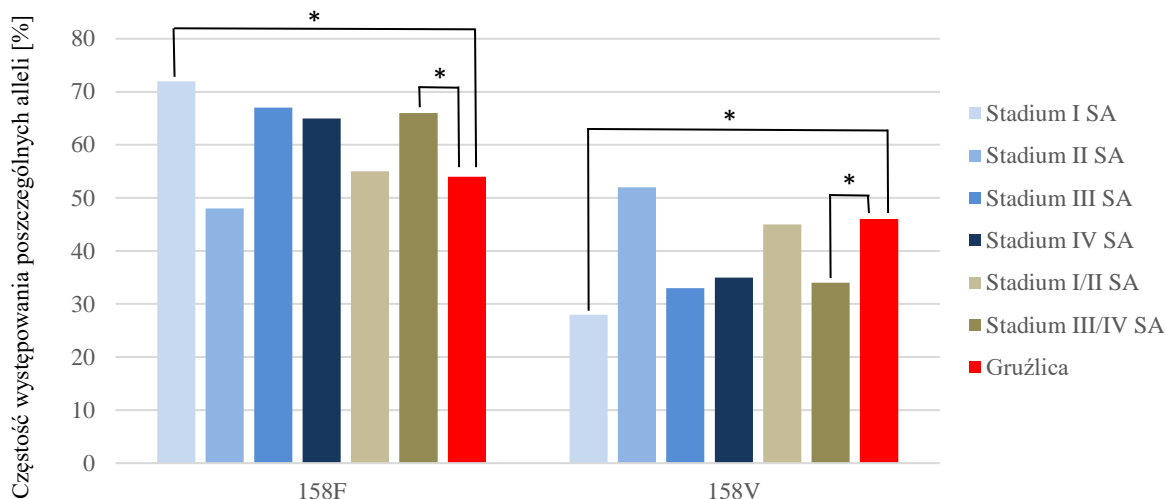


Rycina 34. Analiza porównawcza częstości występowania genotypów genu *FCGR3A* pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy płucnej; * $p < 0,05$

5.5.4. Porównanie częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR3A* pomiędzy pacjentami w różnych stadiach sarkoidozy a chorymi na gruźlicę płuc

Wykazano częstsze występowanie allelu 158F u chorych w I stadium sarkoidozy w porównaniu do chorych na gruźlicę (72% vs. 54%, $p = 0,03$, OR = 2,17, CIs 1,11-4,26). Udokumentowano również rzadsze występowanie allelu 158V u chorych w I stadium SA w porównaniu do chorych na TB (28% vs. 46%, $p = 0,03$, OR = 0,46, CIs 0,23-0,90) (Ryc. 35.).

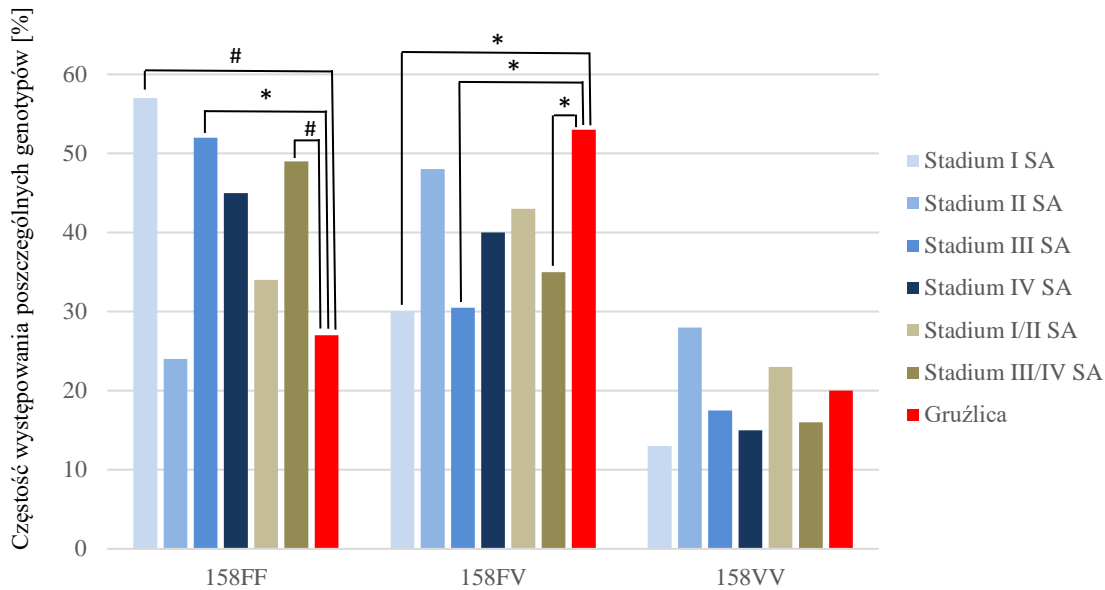
W połączonej grupie chorych w stadiach III i IV SA wykazano częstsze występowanie allelu 158F i rzadsze 158V w porównaniu do chorych na TB (odpowiednio: 66% vs. 54%, $p = 0,04$, OR = 1,68, CIs 1,03-2,75; 34% vs. 46%, $p = 0,04$, OR = 0,60, CIs 0,36-0,97) (Ryc. 35.).



Rycina 35. Analiza porównawcza częstości występowania alleli genu *FCGR3A* pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy płucnej i w połączonych grupach chorych w stadiach I/II oraz III/IV SA a chorymi na gruźlicę; * $p < 0,05$

Ponadto wykazano częstsze występowanie genotypu 158FF u chorych w I i III stadium sarkoidozy w porównaniu do chorych na TB (odpowiednio: 57% vs. 27%, $p = 0,007$, OR = 3,45, CIs 1,42-8,38; 52% vs. 27%, $p = 0,03$, OR = 2,89, CIs 1,20-6,99). Natomiast genotyp 158FV występował rzadziej u chorych w stadiach I i III sarkoidozy w porównaniu do chorych na TB (odpowiednio: 30% vs. 53%, $p = 0,048$, OR = 0,39, CIs 0,15-0,99; 30,5% vs. 53%, $p = 0,048$, OR = 0,39, CIs 0,15-0,99) (Ryc. 36.).

W połączonej grupie chorych w stadiach III i IV SA wykazano częstsze występowanie genotypu 158FF w porównaniu do chorych na gruźlicę (49% vs. 27%, $p = 0,008$, OR = 2,53, CIs 1,28-5,01). Ponadto w połączonej grupie chorych w stadiach III i IV SA wykazano rzadsze występowanie genotypu 158FV w porównaniu do chorych na gruźlicę (35% vs. 53%, $p = 0,03$, OR = 0,47, CIs 0,24-0,95) (Ryc. 36.).

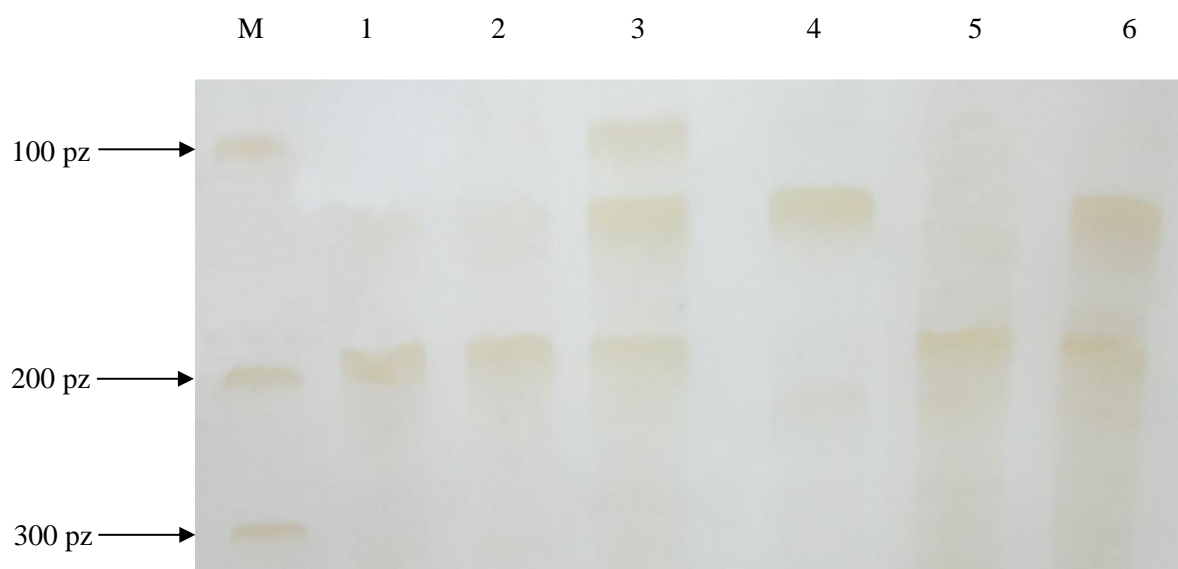


Rycina 36. Analiza porównawcza częstości występowania genotypów genu *FCGR3A* pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy płucnej i w połączonych grupach chorych w stadiach I/II oraz III/IV SA a chorymi na gruźlicę; * $p < 0,05$, # $p < 0,01$

5.6. CZĘSTOŚĆ WYSTĘPOWANIA POSZCZEGÓLNYCH ALLELI I GENOTYPÓW GENU *FCGR3B* W BADANYCH GRUPACH

Przykładowy wynik amplifikacji fragmentu genu *FCGR3B* i wewnętrznej kontroli reakcji PCR-SSP dla poszczególnych genotypów przedstawiono na Rycinie 37.

Badanie polimorfizmu genu *FCGR3B* przeprowadzono u 148 osób z sarkoidozą, w tym u 38 osób w I stadium choroby, 60 osób w stadium II, 35 osób w stadium III, 21 osób w IV stadium SA, u 179 osób chorych TB oraz u 154 osób zdrowych. Rozkład liczebności poszczególnych genotypów nie był zgodny z prawem Hardy'ego-Weinberga w grupie chorych na TB ($p < 0,05$), był natomiast zgodny z prawem Hardy'ego Weinberga w grupie chorych na SA ($p = 0,13$), jak i w grupie osób zdrowych ($p = 0,13$). Częstość występowania poszczególnych alleli genotypów genu *FCGR3B* w badanych grupach przedstawiono odpowiednio w Tabelach 22. i 23.



Rycina 37. Przykładowy wynik amplifikacji fragmentów genu *FCGR3B*. M - marker masy molekularnej Gene Ruler; 1,2,5 – próbki z obecnością allelu NA2; 3 – próbka z allelem NA1 i NA2/SH; 4- próbka z allelem NA2; 6- próbka z allelami NA1 i NA2

Tabela 22. Częstość występowania poszczególnych alleli genu *FCGR3B* w badanych grupach

Badana grupa	Częstość występowania alleli genu <i>FCGR3B</i> (w %)		
	NA1	NA2	SH
Sarkoidoza (SA) (n = 154)	111 (36)	184 (60)	13 (4)
Stadium I SA (n = 38)	32 (42)	38 (50)	6 (8)
Stadium II SA (n = 60)	38 (31,5)	75 (62,5)	7 (6)
Stadium III SA (n = 35)	25 (36)	45 (64)	0 (0)
Stadium IV SA (n = 21)	16 (38)	26 (62)	0 (0)
Gruźlica (n = 179)	152 (42,5)	205 (57)	1 (0,5)
Osoby zdrowe (n = 148)	113 (38)	168 (56,5)	15 (5,5)

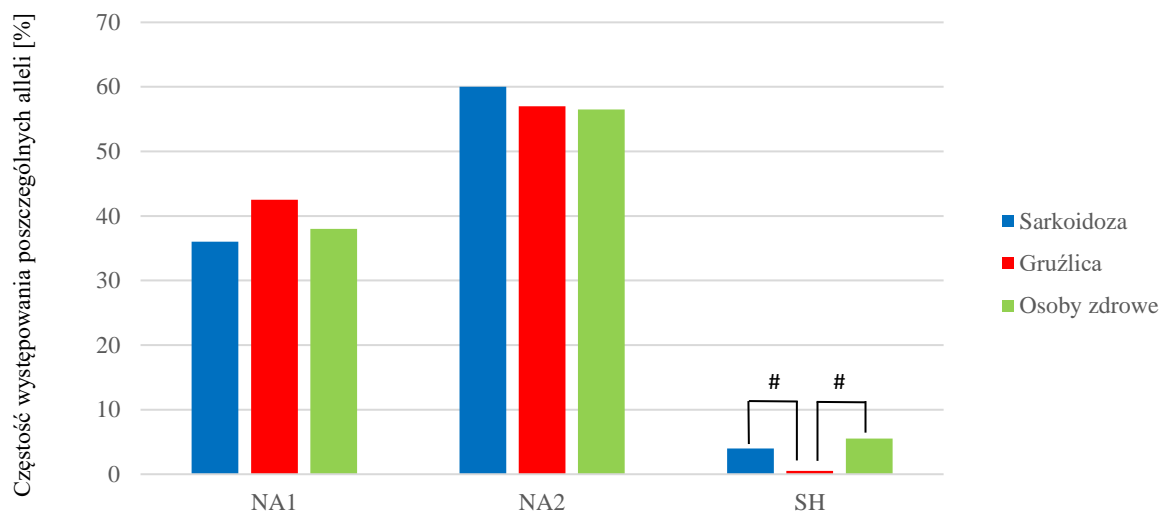
Tabela 23. Częstość występowania poszczególnych genotypów genu *FCGR3B* w badanych grupach

Badana grupa	Częstość występowania genotypów genu <i>FCGR3B</i> (w %)					
	NA1/NA1	NA2/NA2	SH/SH	NA1/NA2	NA1/SH	NA2/SH
Sarkoidoza (SA) (n = 154)	19 (12)	52 (34)	0 (0)	70 (45,5)	9 (6)	4 (2,5)
Stadium I SA (n = 38)	5 (13)	9 (24)	0 (0)	18 (47)	4 (11)	2 (5)
Stadium II SA (n = 60)	5 (8,5)	25 (42)	0 (0)	23 (38)	5 (8,5)	2 (3)
Stadium III SA (n = 35)	7 (20)	11 (31)	0 (0)	17 (49)	0 (0)	0 (0)
Stadium IV SA (n = 21)	2 (10)	7 (33)	0 (0)	12 (57)	0 (0)	0 (0)
Gruźlica (n = 179)	14 (8)	40 (22)	0 (0)	124 (69)	0 (0)	1 (1)
Osoby zdrowe (n = 148)	21 (14)	55 (37)	0 (0)	57 (39)	14 (9)	1 (1)

5.6.1. Porównanie częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR3B* pomiędzy wszystkimi pacjentami chorymi na sarkoidozę, gruźlicę i osobami zdrowymi

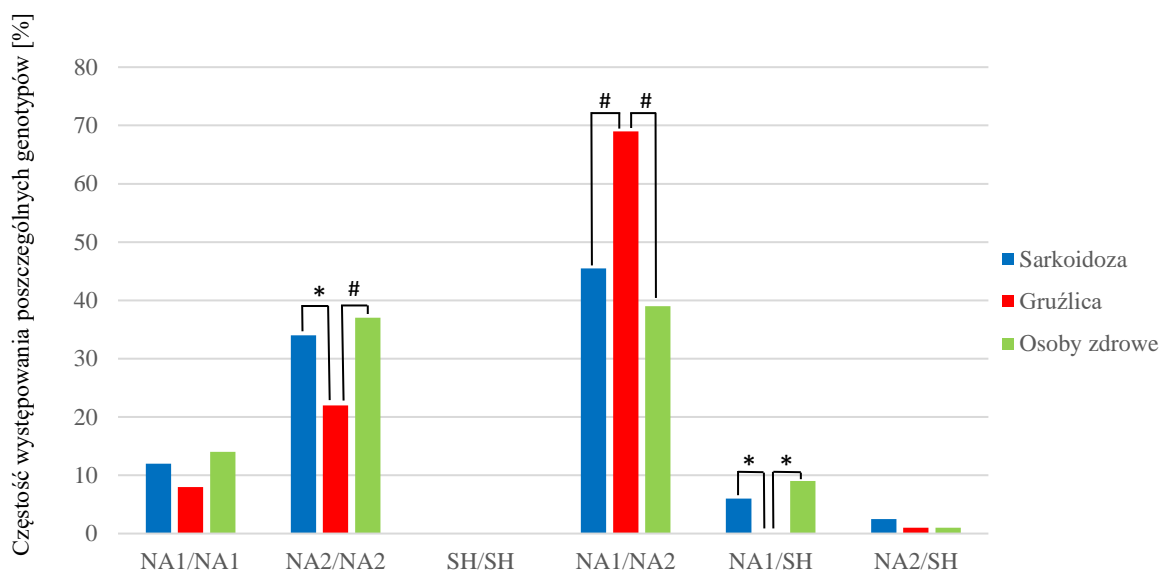
Nie stwierdzono obecności statystycznie istotnych różnic w częstości występowania poszczególnych alleli genu *FCGR3B* pomiędzy ogółem chorych na sarkoidozę płucną a osobami zdrowymi ($p > 0,05$).

Natomiast u osób chorych na gruźlicę wykazano rzadsze występowanie allelu SH w porównaniu do chorych na sarkoidozę i osób zdrowych (odpowiednio: 0,5% vs. 4%, $p = 0,001$, OR = 0,06, CIs 0,01-0,49; 0,5% vs. 5,5%, $p = 0,004$, OR = 0,05, CIs 0,01-0,40) (Ryc. 38.).



Rycina 38. Analiza porównawcza częstości występowania poszczególnych alleli genu *FCGR3B* u ogółu pacjentów chorych na sarkoidozę, gruźlicę płuc i osób zdrowych; # $p < 0,01$

Ponadto u chorych na gruźlicę stwierdzono rzadsze występowanie genotypu NA2/NA2 w porównaniu do chorych na SA i osób zdrowych (odpowiednio: 22% vs. 34%, $p = 0,03$, OR = 0,56, CIs 0,35-0,92; 22% vs. 37%, $p = 0,003$, OR = 0,49, CIs 0,30-0,79). Co więcej, u osób chorych na TB udokumentowano również częstsze występowanie genotypu NA1/NA2 w porównaniu do chorych na SA i zdrowych ochotników (odpowiednio: 69% vs. 45,5%, $p < 0,0001$, OR = 2,71, CIs 1,73-4,24; 69% vs. 39%, $p < 0,0001$, OR = 3,60, CIs 2,28-5,69). U chorych na TB wykazano również rzadsze występowanie genotypu NA1/SH w porównaniu do chorych na SA i osób zdrowych (odpowiednio: 0% vs. 6%, $p = 0,03$, OR = 0,04, CIs 0,003-0,74; 0% vs. 9%, $p = 0,01$, OR = 0,03, CIs 0,002-0,44) (Ryc. 39.).

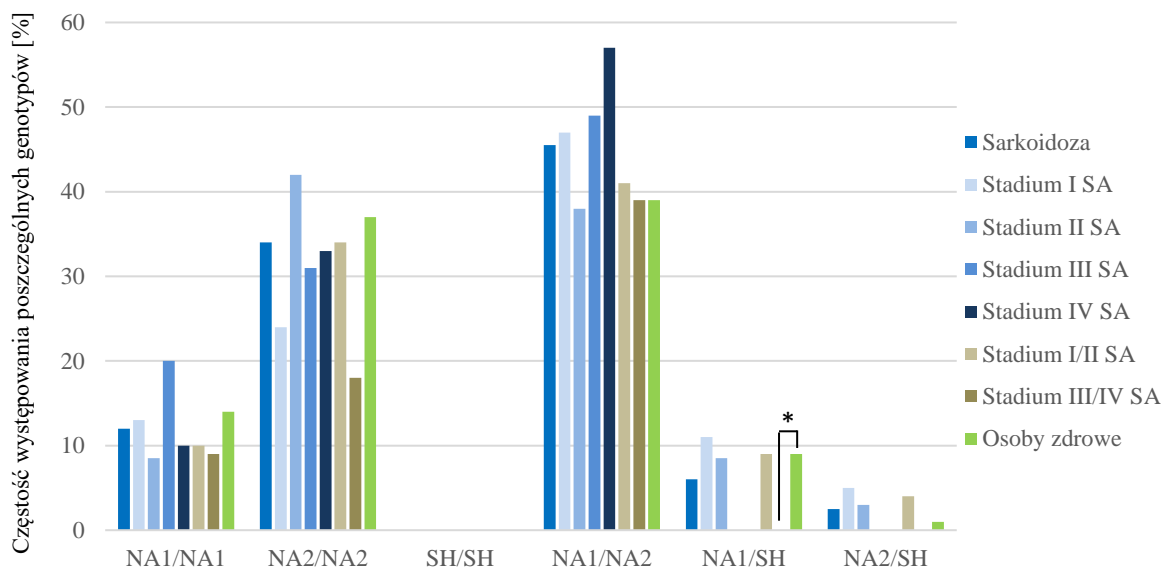


Rycina 39. Analiza porównawcza częstości występowania poszczególnych genotypów genu *FCGR3B* u ogółu pacjentów chorych na sarkoidozę, gruźlicę płuc i osób zdrowych; * $p < 0,05$, # $p < 0,01$

5.6.2. Porównanie częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR3B* pomiędzy pacjentami w różnych stadiach sarkoidozy a osobami zdrowymi

Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w częstości występowania poszczególnych alleli genu *FCGR3B* pomiędzy chorymi w różnych stadiach SA a osobami zdrowymi ($p > 0,05$).

Stwierdzono rzadsze występowanie genotypu NA1/SH w połączonej grupie chorych w stadiach III i IV SA w porównaniu do osób zdrowych (0% vs. 9%, $p = 0,01$, OR = 0,08, CIs 0,005-1,40) (Ryc. 40.).

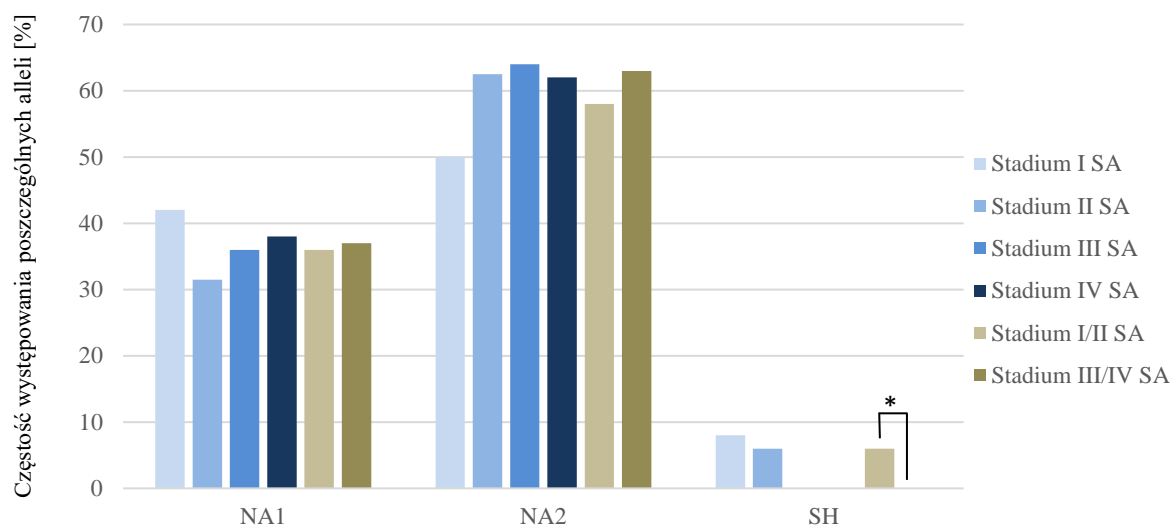


Rycina 40. Analiza porównawcza częstości występowania genotypów genu *FCGR3B* pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy płucnej i w połączonych grupach chorych w stadiach I/II oraz III/IV SA a osobami zdrowymi; * $p = 0,01$

5.6.3. Porównanie częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR3B* pomiędzy pacjentami w różnych fazach sarkoidozy płucnej

Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w częstości występowania poszczególnych alleli genu *FCGR3B* pomiędzy chorymi w różnych stadiach SA ($p > 0,05$).

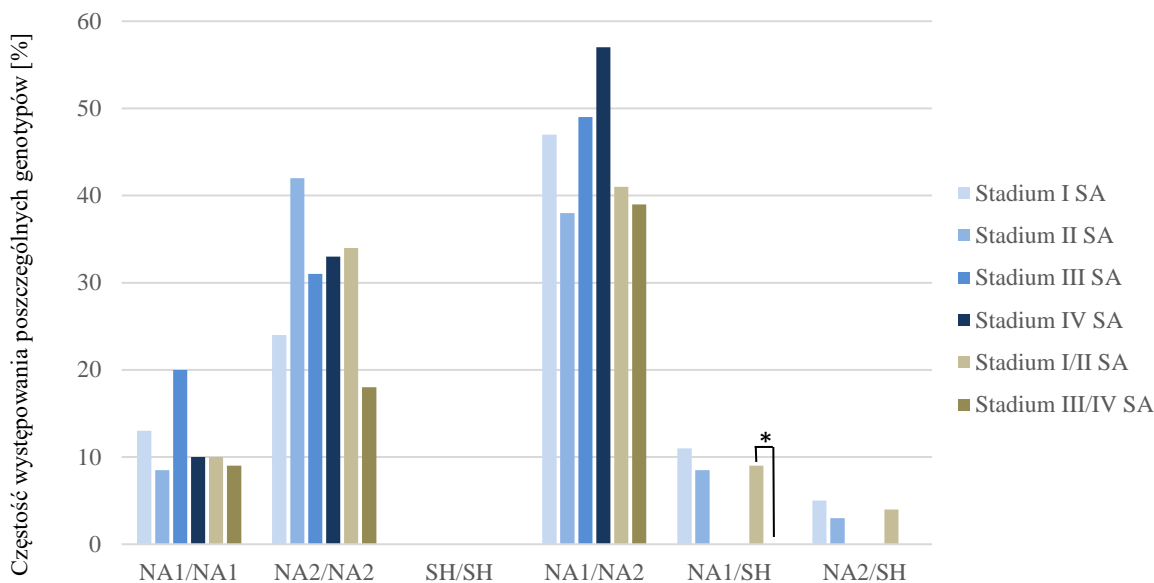
Natomiast w połączonej grupie chorych w stadiach III i IV SA wykazano rzadsze występowanie allelu SH w porównaniu do połączonej grupy chorych w stadiach I i II SA (0% vs. 36%, $p = 0,01$, OR = 0,06, CIs 0,004-1,03) (Ryc. 41.).



Rycina 41. Analiza porównawcza częstości występowania alleli genu *FCGR3B* pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy płucnej i w połączonych grupach chorych w stadiach I/II SA oraz III/IV SA; * $p < 0,05$

Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w częstości występowania poszczególnych genotypów genu *FCGR3B* pomiędzy chorymi w różnych stadiach SA ($p > 0,05$).

Natomiast wykazano rzadsze występowanie genotypu NA1/SH u chorych w połączonej grupie chorych w stadiach III i IV SA w porównaniu do połączonej grupy chorych w stadiach I i II (0% vs. 9%, $p = 0,03$, OR = 0,08, CIs 0,005-1,46) (Ryc. 42).

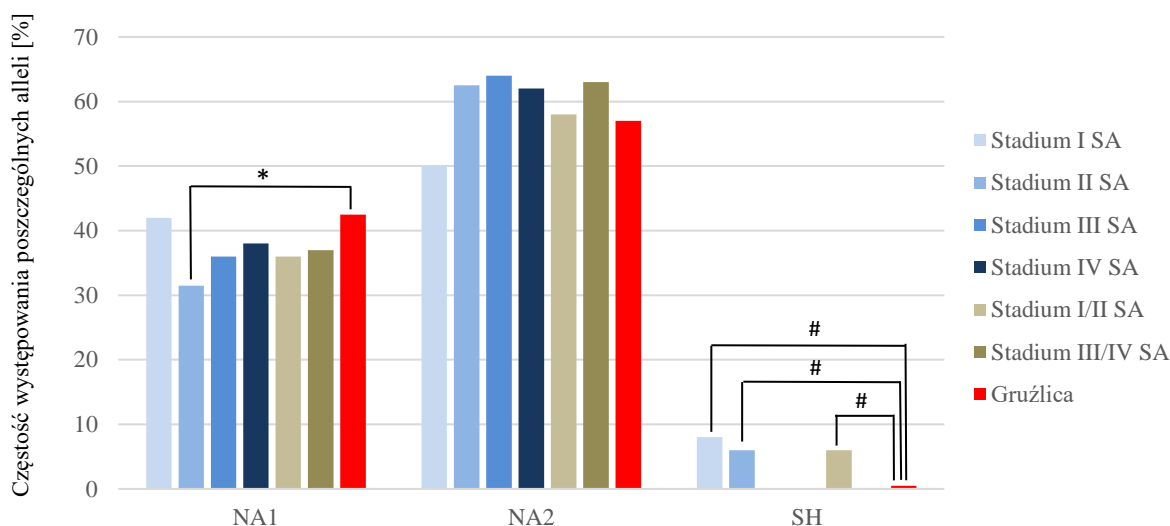


Rycina 42. Analiza porównawcza częstości występowania genotypów genu *FCGR3B* pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy płucnej i w połączonych grupach chorych w stadiach I/II oraz III/IV SA; * $p < 0,05$

5.6.4. Porównanie częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR3B* pomiędzy pacjentami w różnych stadiach sarkoidozy a chorymi na gruźlicę płuc

Wykazano rzadsze występowanie allelu NA1 u chorych w II stadium sarkoidozy w porównaniu do chorych na gruźlicę płuc (31,5% vs. 42,5%, $p = 0,04$, OR = 0,63, CIs 0,41-0,97). Ponadto u chorych na TB wykazano rzadsze występowanie allelu SH w porównaniu do chorych w I i II stadium SA (odpowiednio: 0,5% vs. 8%, $p = 0,002$, OR = 0,03, CIs 0,004-0,28; 0,5% vs. 6%, $p = 0,004$, OR = 0,05, CIs 0,01-0,37) (Ryc. 43.).

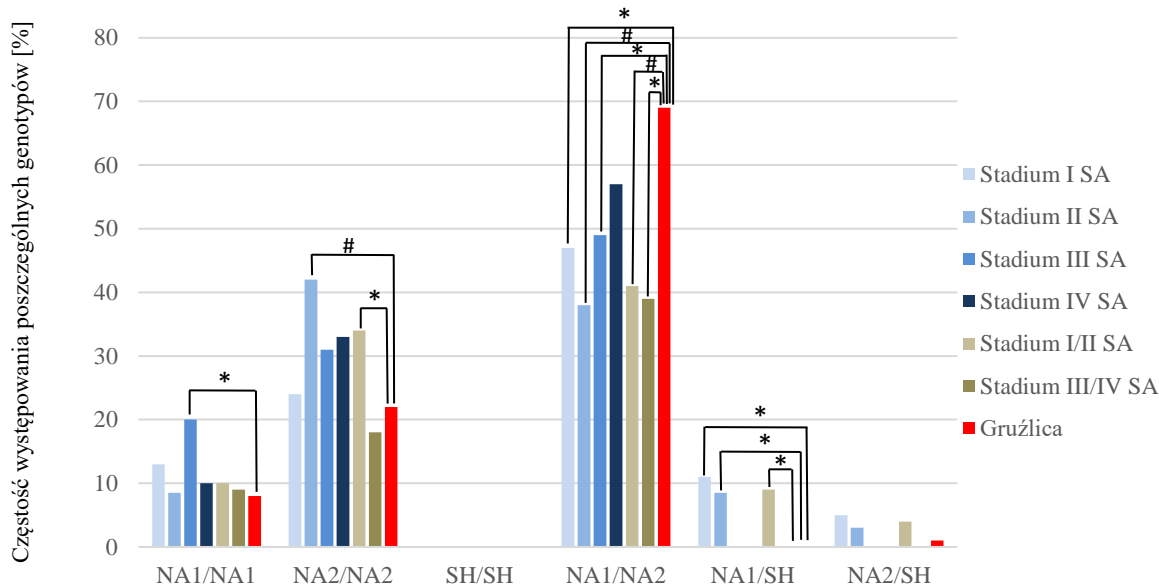
W połączonej grupie chorych w stadiach I i II SA wykazano częstsze występowanie allelu SH w porównaniu do chorych na TB (7% vs. 0,5%, $p = 0,002$, OR = 25,36, CIs 3,29-195,39) (Ryc. 43.).



Rycina 43. Analiza porównawcza częstości występowania alleli genu *FCGR3B* pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy płucnej i w połączonych grupach chorych w stadiach I/II oraz III/IV SA a chorymi na gruźlicę; * $p < 0,05$, # $p < 0,01$

Genotyp NA1/NA1 występował częściej u chorych w III stadium SA w porównaniu do chorych na TB (20% vs. 8%, $p = 0,05$, OR = 2,95, CIs 1,09-7,94). Genotyp NA2/NA2 występował z kolei częściej u chorych w II stadium SA w porównaniu do chorych na TB (42% vs. 22%, $p = 0,001$, OR = 2,48, CIs 1,33-4,62). Ponadto, genotyp NA1/NA2 występował rzadziej u chorych w I, II i III stadium SA w porównaniu do chorych na TB (odpowiednio: 47% vs. 69%, $p = 0,01$, OR = 0,40, CIs 0,20-0,81; 38% vs. 69%, $p < 0,0001$, OR = 0,28, CIs 0,15-0,51; 49% vs. 69%, $p = 0,03$, OR = 0,42, CIs 0,20-0,87). Natomiast genotyp NA1/SH występował rzadziej u chorych na gruźlicę płuc w porównaniu do chorych w I i II stadium SA (odpowiednio: 0% vs. 11%, $p = 0,01$, OR = 0,02, CIs 0,001-0,41; 0% vs. 8,5%, $p = 0,02$, OR = 0,03, CIs 0,002-0,52) (Ryc. 44.).

W połączonej grupie chorych w stadiach I i II SA wykazano częstsze występowanie genotypu NA2/NA2 w porównaniu do chorych na TB (35% vs. 22%, $p = 0,03$, OR = 1,85, CIs 1,07-3,18). Natomiast w połączonych grupach chorych w stadiach I i II oraz III i IV SA wykazano rzadsze występowanie genotypu NA1/NA2 w porównaniu do chorych na TB (odpowiednio: 42% vs. 69%, $p < 0,0001$, OR = 0,32, CIs 0,19-0,53; 52% vs. 69%, $p = 0,02$, OR = 0,48, CIs 0,26-0,88). Ponadto u chorych na TB wykazano rzadsze występowanie genotypu NA1/SH w porównaniu do połączonej grupy chorych w stadiach I i II SA (0% vs. 10%, $p = 0,01$, OR = 0,026, CIs 0,002-0,46) (Ryc. 44.).



Rycina 44. Analiza porównawcza częstości występowania genotypów genu *FCGR3B* pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy płucnej i chorymi w połączonych grupach w stadiach I/II SA oraz III/IV SA a chorymi na gruźlicę; * $p < 0,05$, # $p < 0,01$

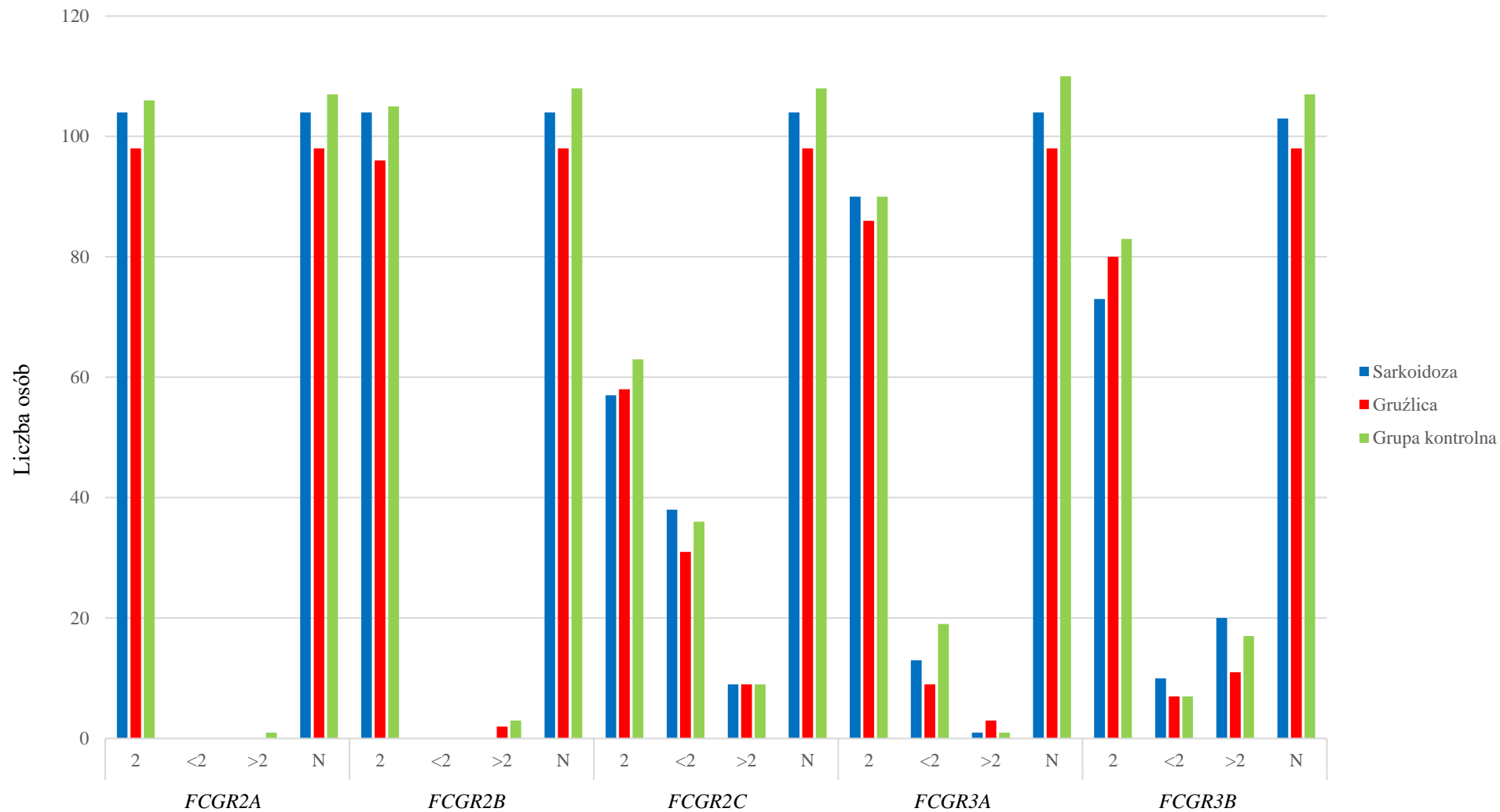
5.7. PORÓWNANIE CZĘSTOŚCI LICZBY KOPII GENÓW *FCGR2A*, *FCGR2B*, *FCGR2C*, *FCGR3A*, *FCGR3B* POMIĘDZY OSOBAMI CHORYMI NA SARKOIDOZĘ, GRUŻLICĘ A OSOBAMI ZDROWYMI

Badanie liczby kopii genów *FCGR* przeprowadzono u 104 chorych na sarkoidozę, 98 chorych na gruźlicę oraz u 110 osób zdrowych. Częstość występowania liczby kopii poszczególnych genów w badanych grupach przedstawiono w Tabeli 24. oraz na Rycinie 45.

Pomiędzy badanymi grupami nie stwierdzono różnic w częstości występowania liczby kopii poszczególnych genów ($p > 0,05$).

Tabela 24. Częstość występowania liczby kopii poszczególnych genów *FCGR* u chorych na sarkoidozę, gruźlicę oraz u osób zdrowych. N – liczba zbadanych osób

Gen	Liczba kopii genu	Sarkoidoza	Gruźlica	Grupa kontrolna
<i>FCGR2A</i>	2	104	98	106
	<2	0	0	0
	>2	0	0	1
	N	104	98	107
<i>FCGR2B</i>	2	104	96	105
	<2	0	0	0
	>2	0	2	3
	N	104	98	108
<i>FCGR2C</i>	2	57	58	63
	<2	38	31	36
	>2	9	9	9
	N	104	98	108
<i>FCGR3A</i>	2	90	86	90
	<2	13	9	19
	>2	1	3	1
	N	104	98	110
<i>FCGR3B</i>	2	73	80	83
	<2	10	7	7
	>2	20	11	17
	N	103	98	107



Rycina 45. Częstość występowania liczby kopii poszczególnych genów *FCGR* u chorych na sarkoidozę, gruźlicę oraz u osób zdrowych

6. DYSKUSJA

Z opisanych w poprzednich rozdziałach wyników badań wynika, że dysfunkcja Fcγ receptorów odpowiedzialnych za usuwanie KI/zopsonizowanych patogenów może mieć wpływ na zwiększone ryzyko rozwoju procesu z autoagresji, jak i chorób infekcyjnych. Głównym czynnikiem wpływającym na wcześniej przedstawione ważne funkcje w/w receptorów Fcγ klas II i III w odpowiedzi (auto)immunologicznej jest polimorfizm kodujących je genów (*FCGR2A*, *FCGR2B*, *FCGR2C*, *FCGR3A*, *FCGR3B*). Wpływ tych polimorfizmów na rozwój autoagresji oraz na przebieg chorób infekcyjnych został wielokrotnie udowodniony. Wstępne wyniki badań molekularnych mogą także wskazywać na ich udział w etiopatogenezie SA oraz TB, chorób o podobnym obrazie klinicznym, radiologicznym i histopatologicznym, co może skutkować pomyłkową diagnozą [93,94,111,311,335]. Stąd trwają liczne próby poszukiwania biomarkera(-ów) różnicującego(-ych) te dwie jednostki chorobowe.

Dotychczas nie przeprowadzono kompleksowej analizy polimorfizmu genów kodujących receptory Fcγ w gruźlicy płuc oraz analizy porównawczej polimorfizmu tych genów w TB oraz w sarkoidozie. W tym celu w obecnej pracy wykonano genotypowanie w/w genów *FCGR* u chorych na SA oraz TB, by wykazać związek występowania poszczególnych polimorfizmów oraz liczby kopii tych genów ze zwiększonym ryzykiem rozwoju tych dwóch jednostek chorobowych, jak i ewentualnych genetycznych różnic.

6.1. PORÓWNANIE CZĘSTOŚCI POSZCZEGÓLNYCH ALLELI I GENOTYPÓW GENU *FCGR2A* U CHORYCH Z SARKOIDOZĄ, GRUŻLICĄ I U OSÓB ZDROWYCH

FcγRIIIa ulega ekspresji na monocytach, makrofagach, neutrofilach, płytkach krwi oraz w mniejszej ilości na eozynofilach, bazofilach i komórkach tucznych [285,286]. Polimorfizm H131R genu *FCGR2A*, kodującego receptor FcγRIIIa, wpływa na wiązanie, fagocytozę i usuwanie immunokompleksów oraz zopsonizowanych patogenów. Allel 131R koduje receptor niewiążący się, a allel 131H koduje receptor wiążący się z KI/Ag/zopsonizowanymi patogenami [299].

W obecnej pracy przeprowadzono analizę porównawczą polimorfizmu H131R genu *FCGR2A* u chorych na sarkoidozę, gruźlicę i u osób zdrowych. W stadium III SA wykazano rzadsze występowanie genotypu 131HR w porównaniu do osób zdrowych. Ponadto w III stadium SA udokumentowano również częstsze występowanie genotypu 131HH

w porównaniu do pacjentów w stadiach II i IV SA oraz rzadsze występowanie genotypu 131HR w porównaniu do stadiów I, II i IV sarkoidozy. Analiza częstości występowania poszczególnych genotypów genu *FCGR2A* w połączonych grupach chorych w stadiach sarkoidozy z zajęciem węzłów chłonnych wnek płucnych i śródpiersia (stadia I i II SA) oraz stadiach jedynie ze zmianami śródmiąższowymi płuc (stadia III i IV SA) ujawniła częstsze występowanie genotypu 131HR w połączonej grupie chorych w stadiach I/II w porównaniu do stadiów III/IV. Ponadto w stadium III SA, genotyp 131HH występował częściej, a 131HR rzadziej w porównaniu do chorych na gruźlicę płuc. Nie wykazano różnic w częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR2A* między chorymi na TB a osobami zdrowymi (Tab. 14. i 15., Ryc. 6.-13.).

Dotychczas wykonano jedno badanie polimorfizmu H131R genu *FCGR2A* w sarkoidozie z podziałem na jej poszczególne stadia, ale na znacznie mniejszych liczebnie grupach chorych w stadiach III i IV [312]. Podobnie jak w badaniu obecnym wykazano częstsze występowanie genotypu 131HR w I stadium sarkoidozy w porównaniu do stadium III oraz częstsze występowanie genotypu 131HR w połączonej grupie chorych w stadiach III i IV choroby w porównaniu do połączonej grupy pacjentów w stadiach I i II SA. Udokumentowano również rzadsze występowanie heterozygot 131HR w III stadium SA w porównaniu do osób zdrowych.

Jedynie dotychczas badanie polimorfizmu H131R genu *FCGR2A* u chorych na gruźlicę przeprowadzono w populacji marokańskiej [316]. Podobnie jak w obecnej pracy nie wykazano różnic w częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR2A* u chorych na TB w porównaniu do zdrowych ochotników.

Obecna analiza porównawcza polimorfizmu H131R genu *FCGR2A* między chorymi na sarkoidozę, z podziałem na poszczególne jej stadia, a chorymi na gruźlicę jest pierwszą na świecie.

Polimorfizm H131R był dotychczas badany w chorobach autoimmunizacyjnych, w tym m. in. w zespole Guillaina-Barrego [309,336], idiopatycznej plamicy małopłytkowej (ITP) [337], toczniu rumieniowatym układowym (TRU) [338,339], reumatoidalnym zapaleniu stawów (RZS) [338], zespole Sjögrena [340], olbrzymiokomórkowym zapaleniu tętnic (GCA) [341], czy w chorobie Kawasaki [342]. Genotyp 131HH u pacjentów z zespołem Guillaina-Barrego predysponował do cięższego przebiegu choroby [309], a u dzieci predysponował do zachorowania na chorobę Kawasaki [342]. Podczas gdy, rzadsze występowanie genotypu 131HH udokumentowano w jednym z badań u chorych na TRU [339] i u chorych na GCA [341]. Natomiast w innych doniesieniach, obecność genotypu 131RR predysponowała

do wcześniejszego rozwoju TRU w niemieckiej populacji [339], a w populacji hiszpańskiej do zachorowania na GCA [341]. Wyniki części badań nie wykazały korelacji pomiędzy polimorfizmem H131R a ryzykiem zachorowania na takie choroby autoimmunizacyjne, jak: zespół Guillaina-Barrego [309,336], TRU [338,339], RZS [338] czy zespół Sjögrena [340].

Wykazana w obecnym badaniu w III stadium SA zwiększona ilość homozygot 131HH w porównaniu do chorych w stadiach II i IV SA oraz zmniejszona ilość heterozygot 131HR w porównaniu do osób zdrowych i pozostałych stadiów SA może skutkować obecnością większej ilości receptorów efektywnie wiążących się z KI/Ag/patogenami w III stadium SA, co może prowadzić do zwiększonej aktywności fagocytarnej monocytów i neutrofilii [111]. W tych samych grupach badanych, stwierdzono upośledzoną aktywność bakteriobójczą i apoptotyczną tych fagocytów w SA, w porównaniu do chorych na TB [93–95,254]. Może to u chorych w III stadium SA prowadzić do przewlekłego bytowania Mtb w fagocytach i chronicznej obecności jego antygenów, co może skutkować długotrwałym wydzielaniem hsp ludzkich (DAMPs) oraz mykobakteryjnych (PAMPs) prowadzącym do przewlekłej ich prezentacji i stymulacji limfocytów T w kontekście HLA oraz limfocytów B, skutkując rozwojem *bystander activation* i ziarniny sarkoidalnej [284,304].

Natomiast udokumentowane w obecnej pracy częstsze występowanie genotypu 131HR w połączonej grupie chorych w stadiach I/II SA w porównaniu do połączonej grupy chorych w stadiach III/IV SA może skutkować częstszym występowaniem niefunkcjonalnego receptora FcγRIIa w początkowych stadiach SA. Może to być przyczyną zmniejszonej fagocytozy KI/Ag/patogenów i przewlekłej antygenemii oraz immunokomplekssemii, wykazanych w badaniach poprzednich u chorych w stadiach I/II SA [111,255]. Przewlekła antygenemia i immunokomplekssemia z Mtb-hsp u chorych w początkowych stadiach SA może prowadzić do przewlekłej stymulacji komórek APC, limfocytów T i B, a zmieniając ekspresję cytokin, cząsteczek kostymulatorowych, komórek Treg, apoptozy, stresu oksydacyjnego, może indukować autoimmunizację i rozwój ziarniny sarkoidalnej [93–95]. W związku z powyższym, wyniki obecnego badania mogą sugerować występowanie odmiennego podłoża genetycznego predysponującego do rozwoju faz sarkoidozy z zajęciem węzłów chłonnych wnek płucnych i śródpiersia (stadia I i II SA) oraz faz jedynie ze zmianami śródmiąższowymi (stadia III i IV SA) i podkreślać autoimmunizacyjne podłoże rozwoju początkowych stadiów SA [284,304].

Polimorfizm H131R wpływa również na efektywność zwalczania przez układ immunologiczny patogenów otoczkowych, jak *Streptococcus pneumoniae* oraz *Neisseria meningitidis* [314,315]. Bakterie te po opsonizacji IgG2 łączą się z aktywnymi FcγRIIa,

co powoduje ich fagocytozę i niszczenie. Wykazano, że komórki odpornościowe osób z haplotypami 131HH *FCGR2A*, efektywnie wiążącymi się z IgG2, wykazują większą aktywność fagocytarną u osób zakażonych w/w patogenami [314,315]. Z drugiej strony, nosiciele haplotypu 131RR genu *FCGR2A* posiadali większe ryzyko rozwoju inwazyjnej infekcji pneumokokowej [314] oraz rozwoju cięższej postaci malarii [343]. Udokumentowano również, że myszy pozbawione genu *FCGR2A* są bardziej podatne na zakażenie *Mtb* [316]. Ponadto stwierdzono, że aktywacja neutrofilów migrujących do miejsca zakażenia, poprzez połączenie *FcγRIIa* z KI/zopsonizowanymi patogenami może prowadzić do NETozy [344]. Również stymulacja TLR7/8, przez m. in. mykobakterialne kwasy nukleinowe, prowadzi do proteolizy N-końca receptora *FcγRIIa* i przesuwa odpowiedź neutrofilów z fagocytozy KI/Ag/patogenów w kierunku NETozy [345]. Dlatego zaburzenie funkcji tego receptora może obniżać aktywność bakteriobójczą fagocytów i prowadzić do rozwoju TB.

Wykazane w obecnej pracy rzadsze występowanie homozygot 131HH oraz częstsze heterozygot 131HR w gruźlicy w porównaniu do III stadium SA, może prowadzić do częstszego występowania niefunkcjonalnych receptorów *FcγRIIa* u chorych na TB, co może warunkować słabszą eliminację i niszczenie zopsonizowanych patogenów, w tym *Mtb*, oraz prowadzić do rozwoju TB.

Podsumowując, w obecnym badaniu wykazano mniejsze ryzyko rozwoju stadium III SA u nosicieli genotypu 131HR. Udokumentowano również częstsze występowanie genotypu 131HR w połączonej grupie chorych w stadiach I/II SA w porównaniu do połączonej grupy chorych w stadiach III/IV SA. W TB nie wykazano różnic w częstości występowania alleli i genotypów genu *FCGR2A* w zestawieniu ze zdrowymi osobami. Natomiast analiza porównawcza SA i TB ujawniła częstsze występowanie genotypu 131HH i rzadsze genotypu 131HR w III stadium SA w porównaniu do chorych na gruźlicę płuc. Wykazane różnice w częstości występowania polimorfizmów genu *H131R* mogą sugerować obecność odmiennego podłoża genetycznego wczesnych i zaawansowanych faz sarkoidozy, jak i odrębności genetycznej w rozwoju TB i III fazy SA.

6.2. PORÓWNANIE CZĘSTOŚCI POSZCZEGÓLNYCH ALLELI I GENOTYPÓW GENU *FCGR2B* U CHORYCH Z SARKOIDOZĄ, GRUŻLICĄ I U OSÓB ZDROWYCH

FcγRIIb jest jedynym receptorem hamującym należącym do rodziny receptorów dla fragmentu stałego immunoglobuliny G. Ulega on koekspresji z aktywującymi *FcγR*

na wszystkich leukocytach, poza limfocytami T oraz komórkami NK. Jako jedyny receptor z rodziny FcγR jest syntetyzowany przez limfocyty B [285,286]. Polimorfizm I232T genu *FCGR2B* wpływa na funkcjonowanie tego receptora. Allel 232T koduje receptor słabiej pozycjonujący się w obrębie błonowych wysp lipidowych, co osłabia jego funkcjonowanie i zmniejsza ilość przekazywanych przez niego sygnałów hamujących, z kolei allel 232I koduje w pełni funkcjonalny receptor prawidłowo pozycjonujący się w błonie komórkowej [300].

W obecnej pracy przeprowadzono analizę porównawczą polimorfizmu I232T genu *FCGR2B* u chorych na sarkoidozę, gruźlicę i u osób zdrowych. Nie wykazano różnic w częstościach występowania poszczególnych alleli i genotypów pomiędzy w/w badanymi grupami (Tab. 16. i 17., Ryc. 16. i 17.).

Dotychczas wykonano jedno badanie polimorfizmu I232T genu *FCGR2B* wśród naszych chorych na sarkoidozę w porównaniu ze zdrową populacją [311]. Podobnie do badania w tej rozprawie doktorskiej nie wykazano istotnych statystycznie różnic w częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów I232T pomiędzy chorymi na sarkoidozę a osobami zdrowymi. Natomiast obecna praca przedstawia pierwszą na świecie analizę porównawczą częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów polimorfizmu I232T w gruźlicy i w sarkoidozie, z uwzględnieniem poszczególnych stadiów tej choroby.

Polimorfizm I232T był dotychczas badany w takich chorobach autoimmunizacyjnych, jak zespół Goodpasture'a [346], TRU [338,347], ITP [348], MPA [349], GCA [341] czy w chorobie Kawasaki [350]. Podobnie jak w badaniu obecnym, wykazano brak różnic w dystrybucji poszczególnych alleli i genotypów polimorfizmu I232T u chorych na MPA, GCA, w chorobie Kawasaki, w jednym z badań nad TRU oraz w większości badań nad RZS [338,341,349–351]. Natomiast w populacji tajwańskiej stwierdzono, że allel 232I wiązał się z wysokim ryzykiem zachorowania na reumatoidalne zapalenie stawów [352]. W innym badaniu wykazano, że obecność tego allelu zaburzała funkcjonowanie komórek dendrytycznych i predysponowała do cięższego przebiegu RZS [353]. W chińskiej populacji chorych na zespół Goodpasture'a stwierdzono częstsze występowanie mniej funkcjonalnego allelu 232T oraz haplotypu 232TT w porównaniu do osób zdrowych [346]. Również w japońskiej populacji chorych na TRU wykazano częstsze występowanie genotypu 232TT w porównaniu do zdrowych ochotników [347].

Polimorfizm I232T był również badany w chorobach infekcyjnych u ludzi. W badaniach *in vivo* wykazano, że homozygoty 232TT wykazują większą aktywność fagocytarną względem *Streptococcus pneumoniae* [354]. W innym badaniu udokumentowano,

że genotyp 232TT zmniejszał ryzyko rozwoju ciężkiej postaci malarii u mieszkańców Afryki Wschodniej [355]. Natomiast genotyp 232II predysponował do kryptokokowego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych w populacji chińskiej [356].

Wykazana we wcześniejszych badaniach w naszym ośrodku immunokompleksemia u naszych chorych na SA, zwiększona aktywność fagocytów w SA i TB oraz brak różnic w częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów polimorfizmu I232T *FCGR2B*, przemawiają za większą rolę polimorfizmu genów kodujących aktywujące receptory Fcγ (*FCGR2A*, *FCGR2C*, *FCGR3A*, *FCGR3B*) w etiopatogenezie SA i TB.

6.3. PORÓWNANIE CZĘSTOŚCI POSZCZEGÓLNYCH ALLELI I GENOTYPÓW GENU *FCGR2C* U CHORYCH Z SARKOIDOZĄ, GRUŻLICĄ I U OSÓB ZDROWYCH

FcγRIIc ulega ekspresji jedynie u około 30% ludzi i jest syntetyzowany przez komórki NK, w mniejszych ilościach występuje też na monocytach, makrofagach i neutrofilach [285,286]. Polimorfizm X57Q genu *FCGR2C* X57Q wpływa na budowę i funkcjonalność receptora FcγRIIc. Obecność allelu 57X (202T) cechuje występowanie kodonu STOP w mRNA, co skutkuje syntezą skróconego łańcucha białkowego i niefunkcjonalnego receptora. Z kolei allel 57Q (202C) warunkuje powstanie w pełni funkcjonalnego receptora zdolnego do wiązania, fagocytozy i usuwania immunokompleksów oraz zopsonizowanych patogenów [284].

W obecnej pracy przeprowadzono analizę porównawczą polimorfizmu X57Q genu *FCGR2C* u chorych na sarkoidozę, gruźlicę i u osób zdrowych. U ogółu chorych na SA, w tym w stadiach III i IV SA oraz w połączonej grupie chorych w stadiach III/IV, udokumentowano częstsze występowanie allelu 57Q i genotypu 57XQ oraz rzadsze występowanie allelu 57X i genotypu 57XX w porównaniu do osób zdrowych. W stadiach I i II SA, jak i w połączonej grupie chorych w fazach I/II choroby, allel 57Q i genotyp 57XQ występowały rzadziej, a allel 57X i genotyp 57XX częściej w porównaniu do chorych w stadiach III i IV SA oraz w połączonej grupie chorych w stadiach III/IV SA. Podobnie jak wśród ogółu chorych na SA, w gruźlicy wykazano rzadsze występowanie allelu 57X i genotypu 57XX oraz częstsze występowanie allelu 57Q i genotypu 57XQ w porównaniu do zdrowych ochotników. Natomiast w porównaniu z TB, wśród ogółu chorych na sarkoidozę, u pacjentów w I i II stadium SA oraz w połączonej grupie chorych w stadiach I/II SA odnotowano częstsze występowanie allelu 57X oraz rzadsze występowanie

allelu 57Q. W stadiach I, II, III, I/II i III/IV SA udokumentowano częstsze występowanie homozygot 57XX oraz w stadiach I, II, I/II i III/IV SA rzadsze występowanie heterozygot 57XQ w porównaniu do chorych na TB (Tab. 18. i 19., Ryc. 20.-27.).

Dotychczas wykonano jedno badanie dotyczące analizy polimorfizmu X57Q genu *FCGR2C* w sarkoidozie, jednak na znacznie mniejszych liczbach grupach chorych w stadiach III i IV [312]. Podobnie do wyników w/w pracy [312], w obecnej analizie wykazano istotny spadek odsetka genotypu 57XQ w połączonej grupie pacjentów w początkowych stadiach (I/II) SA w porównaniu do chorych ze zaawansowanymi zmianami śródmiąższowymi płuc zarówno w stadium III, jak i połączonej grupie chorych w stadiach III/IV SA. Istotnie niższą częstość występowania tego genotypu stwierdzono również w stadium II w stosunku do III stadium SA. Wykazano także istotny spadek odsetka allelu 57X i genotypu 57XX oraz istotny wzrost obecności heterozygot 57XQ w III i III/IV stadium sarkoidozy wobec osób zdrowych.

Jest to natomiast pierwsza na świecie analiza porównawcza częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów polimorfizmu X57Q w gruźlicy i w sarkoidozie, z uwzględnieniem poszczególnych stadiów tej choroby.

Polimorfizm X57Q został również zbadany w TRU, RZS oraz w ITP [312,326,357,358]. Przeciwnie wyniki otrzymano w badaniu w/w polimorfizmu w TRU. W jednym ośrodku wykazano związek obecności allelu 57Q (*FCGR2C*-ORF) ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na TRU [357], podczas gdy inni autorzy nie stwierdzili korelacji w/w polimorfizmu z większym ryzykiem rozwoju tej jednostki chorobowej [358]. Natomiast częstsze występowanie allelu 57Q i genotypu 57XQ udokumentowano wśród chorych na ITP oraz w stadium III/IV sarkoidozy w porównaniu do grupy zdrowych ochotników [312,326]. Ponadto w RZS, wykazano istotnie częstsze występowanie allelu 57Q i genotypu 57XQ oraz rzadsze występowanie genotypu 57XX w porównaniu do osób zdrowych [338].

Stwierdzone w obecnej pracy częstsze występowanie allelu 57Q i genotypu 57XQ oraz rzadsze występowanie allelu 57X i genotypu 57XX u ogółu chorych na SA, w tym w stadiach III i IV oraz połączonej grupie chorych w stadiach III/IV SA, w porównaniu do osób zdrowych, może skutkować częstszym występowaniem funkcjonalnego receptora FcγRIIc na komórkach układu odpornościowego w SA, co może prowadzić do efektywniejszej reakcji ADCC i większej produkcji cytokin prozapalnych (m. in. IFN-γ, TNF-α) przez komórki NK [359] oraz intensywniejszej fagocytozy zagregowanych antygenów/patogenów przez fagocyty, w tym monocyty, co zostało wykazane we wcześniejszych badaniach u tych samych

chorych [360]. Procesy te mogą u chorych na SA skutkować aktywacją monocytów/makrofagów o upośledzonej aktywności bójczej i apoptotycznej wykazanej we wcześniejszych badaniach [93–95,254], nadmiernym i przewlekłym uwalnianiem/wydzielaniem przez komórki prezentujące antygeny Mtb, białek szoku termicznego mykobakteryjnych i/lub ludzkich z limfoproliferacją komórek T oraz B, mogącymi skutkować rozwojem *bystander activation* i ziarniny sarkoidalnej [284,304].

Natomiast wykazana w obecnej pracy zwiększona ilość allelu 57X i genotypu 57XX oraz zmniejszona ilość allelu 57Q i genotypu 57XQ u naszych pacjentów w stadiach I/II SA w porównaniu do chorych w stadiach III/IV, może skutkować częstszą obecnością niefunkcjonalnego receptora FcγRIIc, mniej efektywną reakcją ADCC i fagocytozą zagregowanych antygenów w początkowych stadiach (I/II) SA. Procesy te mogą prowadzić u tych chorych do większej immunokomplekssemii, którą wykazano w poprzednich badaniach [111,255]. Przewlekła antygenemia i immunokomplekssemia, np. z Mtb-hsp, u chorych w stadiach I/II SA może prowadzić do przewlekłej stymulacji komórek APC, limfocytów T i B, zmieniać ekspresję cytokin prozapalnych, cząsteczek kostymulatorowych, komórek Treg, proces apoptozy czy stresu oksydacyjnego, indukując autoimmunizację i rozwój ziarniny sarkoidalnej [93–95].

W związku z powyższym, wyniki obecnego badania mogą sugerować występowanie odmiennego podłoża genetycznego predysponującego do rozwoju faz sarkoidozy z zajęciem węzłów chłonnych wnek płucnych i śródpiersia (stadia I i II SA) oraz faz jedynie ze zmianami śródmiąższowymi (stadia III i IV SA). Wyniki te mogą podkreślać autoimmunizacyjne podłoże rozwoju początkowych stadiów SA [284,304].

Ponadto stwierdzona u chorych na SA obniżona liczba komórek NK z FcγRIIc we krwi obwodowej i w płynie z płukania pęcherzykowo-oskrzelikowego może skutkować upośledzonym usuwaniem komórek prezentujących antygeny, np. prątka gruźlicy, co może być przyczyną antygenemii/immunokomplekssemii, nadmiernej odpowiedzi komórkowej i humoralnej oraz rozwojem ziarniny sarkoidalnej [361].

Wykazane w TB częstsze występowanie allelu 57Q i genotypu 57XQ genu *FCGR2C* kodujących funkcjonalny wariant receptora FcγRIIc w porównaniu do ogółu chorych na sarkoidozę, stadiów I i II SA oraz osób zdrowych, może przyczyniać się do zwiększonej cytotoksyczności komórkowej zależnej od przeciwciał komórek NK oraz wytwarzania przez nie większej ilości cytokin prozapalnych, co może skutkować efektywniejszym niszczeniem zopsonizowanych prątków, komórek zakażonych i prezentujących antygeny Mtb [359,362].

Może być również jedną z przyczyn udokumentowanej u tych samych chorych intensywniejszej fagocytozy Mtb [360], wytwarzania większych ilości wolnych rodników tlenowych i bardziej intensywnego uwalniania bakteriobójczych enzymów z ziarnistości neutrofilii [102]. W pierwotnej odpowiedzi immunologicznej zopsonizowane przez SAP Mtb mogą być intensywnie fagocytowane przez m. in. funkcjonalne receptory FcγRIIc, co może prowadzić do ich zwiększonego namnażania w makrofagach, zwłaszcza M2, w początkowej fazie zakażenia i przyczyniać się do rozwoju TB [102]. Natomiast w przeciwieństwie do sarkoidozy, w aktywnej gruźlicy sfagocytowane prątki wytwarzają mniejsze ilości Mtb-hsp16, co powoduje większą apoptozę komórek, podwyższoną ekspresję iNOS z następowym podwyższeniem bakteriobójczego poziomu NO, co może być przyczyną efektywniejszego usuwania prątka gruźlicy z organizmu [93,94,254,363]. Z drugiej strony, nadmierna aktywacja neutrofilii mogąca być związana m. in. z większą ilością funkcjonalnych receptorów FcγRIIc zarówno na samych neutrofilach, jak i m. in. komórkach NK, może skutkować NETozą. Rola sieci NET w TB nie jest do końca poznana, jednak ostatnie badania sugerują jej wpływ na upośledzenie fagocytozy Mtb, co mogłoby przyczyniać się do rozwoju gruźlicy [104,106, 364].

Natomiast wykazane w obecnej pracy częstsze występowanie allelu 57X i genotypu 57XX oraz rzadsze występowanie allelu 57Q i genotypu 57XQ, u naszych chorych na sarkoidozę, w tym w stadiach I, II i III, w porównaniu do pacjentów z gruźlicą, mogą prowadzić do stosunkowo słabszej ADCC, mniejszego wytwarzania cytokin prozapalnych przez komórki NK i mniej intensywniej fagocytozy KI/Ag/prątka gruźlicy [359]. Może to być przyczyną, wykazanej w badaniach wcześniejszych, immunokompleksemii z udziałem mykobakteryjnych antygenów Mtb-hsp u tych samych pacjentów chorych na SA, większej niż u chorych na gruźlicę. Może to skutkować wraz z już wykazaną u naszych chorych na SA, słabszą apoptozą monocytów zakażonych prątkiem gruźlicy i zmniejszoną aktywnością bakteriobójczą/degradacyjną fagocytów, przewlekłym bytowaniem patogenów/Ag/KI w tych komórkach, predysponując do rozwoju sarkoidozy [93–95,254]. Ponadto może to również prowadzić do stosunkowo słabszej aktywacji neutrofilii i skutkować udokumentowanym w jednym z badań [108] brakiem sieci NET w ziarniniakach sarkoidalnych bez martwicy.

Podsumowując, zarówno w SA, jak i w TB wykazano częstsze występowanie allelu 57X i genotypu 57XQ oraz rzadsze allelu 57Q i genotypu 57XQ w porównaniu ze zdrowymi ochotnikami. Może to świadczyć o wspólnym mechanizmie tworzenia ziarniny. Natomiast porównawcza analiza polimorfizmu genu *FCGR2C* w SA i TB ujawniła większą obecność allelu 57X i genotypu 57XX oraz rzadsze występowanie allelu 57Q i genotypu 57XQ w SA,

w porównaniu do chorych na gruźlicę płuc. Te różnice w częstości polimorfizmów X57Q genu *FCGR2C* mogą odpowiadać za odmienną etiopatogenezę tych dwóch jednostek chorobowych. Ponadto wykazane różnice w częstości występowania alleli i genotypów genu *FCGR2C* w początkowych i zaawansowanych stadiach SA mogą świadczyć o różnym podłożu genetycznym ich rozwoju. Jednak wyniki tego genotypowania muszą być potwierdzone na liczniejszych grupach badanych.

6.4. PORÓWNANIE CZĘSTOŚCI POSZCZEGÓLNYCH ALLELI I GENOTYPOW GENU *FCGR3A* U CHORYCH Z SARKOIDOZĄ, GRUŻLICĄ I U OSÓB ZDROWYCH

Receptor FcγRIIIa jest syntetyzowany przez komórki NK, a także monocyty, makrofagi, neutrofile i limfocyty Tγδ [285,286]. Polimorfizm V158F genu *FCGR3A* wpływa na funkcjonalność receptora FcγRIIIa. Allel 158V koduje receptor bardziej efektywnie wiążący się ze zagregowanymi IgG1, IgG3 oraz IgG4, w porównaniu do allelu 158F [303].

W obecnej pracy przeprowadzono analizę porównawczą polimorfizmu V158F genu *FCGR3A* u chorych na sarkoidozę, gruźlicę i u osób zdrowych. W SA stwierdzono rzadszą obecność heterozygot 158FV w porównaniu ze zdrowymi ochotnikami. Ponadto w poszczególnych fazach SA wykazano częstsze występowanie genotypu 158FF oraz rzadsze genotypu 158FV w stadiach I i III oraz w połączonej grupie chorych w stadiach III/IV SA w porównaniu do osób zdrowych. W stadiach I i III SA allel 158F i genotyp 158FF występowały częściej, a allel 158V rzadziej w porównaniu do stadium II SA. U chorych na gruźlicę nie stwierdzono korelacji polimorfizmu F158V, a zwiększonym ryzykiem zachorowania. Natomiast w porównaniu do chorych na TB, u chorych na SA wykazano częstsze występowanie genotypu 158FF i rzadszą obecność heterozygot 158FV. Ponadto w I stadium SA oraz w połączonej grupie chorych w stadiach III/IV SA, allel 158F oraz genotyp 158FF występowały częściej, a allel 158V i genotyp 158FV rzadziej w porównaniu do chorych na TB. Również w stadium III SA wykazano częstsze występowanie genotypu 158FF i rzadsze występowanie genotypu 158FV w porównaniu do chorych na TB (Tab. 20. i 21., Ryc. 30.-36.).

Dotychczas wykonano jedno badanie dotyczące analizy polimorfizmu V158F genu *FCGR3A* w sarkoidozie, jednak na znacznie mniejszych liczebnie grupach chorych w stadiach III i IV SA [312]. Podobnie do badania obecnego wykazano rzadsze występowanie heterozygot 158FV w sarkoidozie w porównaniu do osób zdrowych. Ponadto genotyp 158FF występował częściej, a 158FV rzadziej u chorych w I stadium SA w porównaniu do osób

zdrowych. W I stadium SA allel 158F występował częściej, a 158V rzadziej w porównaniu do stadium II SA. Co więcej, genotyp 158FF występował również częściej w I fazie SA w porównaniu do II fazy SA.

W badaniu dotyczącym polimorfizmu V158F w populacji marokańskiej chorych na TB, nie wykazano różnic w częstościach poszczególnych alleli i genotypów pomiędzy chorymi na TB a osobami zdrowymi [316]. Natomiast Typiak [311] stwierdziła w I fazie SA, w porównaniu do chorych na TB, występowanie większej ilości allelu 158F oraz zwiększonej liczby homozygot 158FF genu *FCGR3A*, kodujących receptor słabiej wiążący się ze zagregowanymi IgG. Jednakże, nie wykazano różnic w częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR3A* pomiędzy pacjentami z gruźlicą a osobami zdrowymi, jak również pomiędzy chorymi na TB a ogółem pacjentów z sarkoidozą oraz pacjentami w stadium II SA.

Polimorfizm V158F był badany także w takich chorobach autoimmunizacyjnych, jak: TRU [338], RZS [338], GCA [365], ziarniniakowatość z zapaleniem naczyń (GPA) [366], zespół Goodpasture'a [346], ITP [326,367,368], choroba Kawasaki [369], czy w zespół Sjögrena [340]. Także w hiszpańskiej populacji chorych na RZS wykazano częstsze występowanie genotypu 158FF [370]. Podobnie jak w obecnej pracy doktorskiej, stwierdzono także częstsze występowanie allelu 158F oraz 158FF w porównaniu do osób zdrowych w polskiej populacji pacjentów z TRU [338]. W badaniu Morgana i wsp. wykazano również częstsze występowanie allelu 158F u chorych na GCA [365]. Natomiast u chorych na GPA, allel 158F związany był z większym ryzykiem wznowy choroby [366]. W przeciwieństwie do wyników obecnej pracy, większa obecność allelu 158V była związana z większym ryzykiem rozwoju ITP [326,367,368]. W populacji europejskiej pacjentów z RZS, genotyp 158VV predysponował do zachorowania na tę chorobę [371]. U chorych na przewlekłą berylozę udokumentowano również częstsze występowanie allelu 158V i genotypu 158VV w porównaniu do osób zdrowych [372]. Nie odnotowano natomiast związku polimorfizmu V158F a ryzykiem rozwoju zespołu Sjögrena, zespołu Goodpasture'a, czy choroby Kawasaki [340,346,369]. Również w badaniach polskiej populacji chorych na RZS oraz wśród brazylijskich pacjentów z TRU nie wykazano różnic w dystrybucji poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR3A* [338].

Wykazana w obecnym badaniu zwiększona częstość genotypu 158FF w SA w porównaniu do TB oraz rzadsze występowanie genotypu 158FV w SA w porównaniu do osób zdrowych i chorych na TB, może skutkować częstszym występowaniem mniej funkcjonalnego wariantu receptora $Fc\gamma RIIIa$ u chorych na SA. Może to prowadzić do osłabienia

ADCC, zmniejszenia wytwarzania cytokin prozapalnych przez komórki NK oraz do upośledzenia fagocytozy KI/Ag/zopsonizowanych patogenów. Zmniejszona fagocytoza skutkuje immunokompleksemią, większą u chorych na SA niż w TB, co wykazały wcześniejsze badania u tych samych pacjentów [93–95,254]. Przewlekła antygenemia i immunokompleksema z Mtb-hsp u chorych na SA może prowadzić do przewlekłej stymulacji komórek APC, limfocytów T i B, zmienionej ekspresji cytokin, cząsteczek kostymulatorowych, komórek Treg, procesu apoptozy, czy stresu oksydacyjnego z indukcją autoimmunizacji oraz rozwojem ziarniny sarkoidalnej [93–95]. Ponadto stosunkowo słabsza aktywacja neutrofilii może skutkować brakiem sieci NET w nieserowacujących ziarniniakach sarkoidalnych [108]. Natomiast występujący na limfocytach T $\gamma\delta$ receptor Fc γ RIIIa po połączeniu z KI/zopsonizowanymi patogenami również prowadzi do aktywacji tych komórek i wytwarzania cytokin Il-17 czy INF- γ [373]. Udokumentowana w obecnym badaniu większa ilość alleli i genotypów kodujących mniej funkcjonalne warianty receptora Fc γ RIIIa w SA może prowadzić do osłabionej aktywacji limfocytów T $\gamma\delta$, co wraz z wykazanymi w badaniach wcześniejszych mniejszymi ilościami komórek CD8+ $\gamma\delta$ + u chorych na SA w porównaniu do osób zdrowych oraz CD4+ $\gamma\delta$ + w SA w porównaniu do TB, może prowadzić do słabszej ADCC i mniejszej produkcji cytokin prozapalnych, co również może wpływać na obecność przewlekłej antygenemii oraz immunokompleksii prowadzącej u predysponowanych osób do rozwoju autoagresji [109]. Wyniki tego badania mogą podkreślać autoimmunizacyjne podłoże rozwoju SA [284,304].

Częstsze występowanie allelu 158V oraz rzadsze występowanie allelu 158F i genotypu 158FF w II stadium SA w porównaniu do stadiów I oraz III, skutkować mogą częstszą obecnością bardziej funkcjonalnego wariantu receptora Fc γ RIIIa w tej fazie choroby. Może to przyczyniać się do efektywniejszej reakcji ADCC i produkcji cytokin prozapalnych przez komórki NK oraz fagocytozy zagregowanych antygenów/KI/patogenów przez fagocyty o obniżonej aktywności bakteriobójczej/degradującej. Procesy te mogą przyczyniać się do nadmiernego przewlekłego uwalniania/wydzielania przez komórki prezentujące antygeny hsp mykobakteryjnych i/lub ludzkich, przewlekłej stymulacji limfocytów T w kontekście HLA oraz limfocytów B, *bystander activation* i predysponować do rozwoju ziarniny sarkoidalnej [254,284,304,374]. Przedstawione wyżej wyniki sugerują występowanie odmiennego podłoża genetycznego predysponującego do rozwoju II fazy sarkoidozy.

Wykazano także wpływ polimorfizmu V158F na proces apoptozy komórek. U osób z genotypem 158FF obniżona jest aktywność apoptotyczna komórek po stymulacji komórek

agregatami IgG. Może to wyjaśniać zmiany w procesie apoptozy stwierdzone wcześniej u naszych pacjentów chorych na SA [93–95,254,363]. Zarówno apoptoza, jak i proliferacja są regulowane przez napływ wapnia (Ca^{2+}). Wykazano gwałtowny wzrost stężenia Ca^{2+} w komórkach NK po stymulacji agregatami IgG zarówno w przypadku homozygot 158FF, jak i 158VV, lecz dla genotypu 158FF był on trzykrotnie mniejszy niż u homozygot 158VV. Ponieważ wysokie stężenie wewnątrzkomórkowe wapnia zmniejsza proliferację komórek układu odpornościowego, zwiększona obecność genotypu 158FF w stadium I sarkoidozy może odpowiadać za zmniejszone tworzenie ziarniniaków i możliwą szybką, samoistną remisję tej choroby. Podczas gdy, u homozygot 158VV, znacząco większy napływ wapnia do komórki w stosunku do chorych z genotypem 158FF, skutkować może podwyższoną proliferacją komórek, tworzeniem ziarniniaków i przewlekłym charakterem sarkoidozy [303]. Zwiększona proliferacja komórek w II stadium choroby może również być skutkiem przewlekłego utrzymywania się w organizmie antygenów np. prątka gruźlicy, które są prezentowane w kontekście poszczególnych antygenów HLA. Dotychczasowe sprzeczne wyniki nielicznych analiz związku polimorfizmu V158F z allelami HLA w chorobach autoimmunizacyjnych wykazały powiązanie jedynie z locus *DRB1*. W większości przeprowadzonych badań stwierdzono powiązanie locus *DRB1* z genotypem 158FF, podczas gdy inni wykazali związek wariantu 158V z występowaniem allelu *HLA-DRB1*04*, charakterystycznego dla przewlekłej postaci sarkoidozy w różnych populacjach [375].

Polimorfizm V158F był badany również w chorobach infekcyjnych [376-379]. Podobnie do wyników obecnej pracy, która ujawniła częstsze występowanie genotypu 158FV u chorych na TB w porównaniu do chorych na SA, w tym stadiów I i III, oraz połączonej grupie chorych w stadiach III/IV, u chorych po transplantacji wątroby czy nerek, genotyp 158FV zwiększał ryzyko rozwoju infekcji po przeszczepieniu tych narządów [376,377]. Natomiast w populacji włoskiej chorych na AIDS wykazano zwiększone ryzyko zachorowania na mięsaka Kaposiego u kobiet z genotypem 158VV, kodującym bardziej funkcjonalne receptory [378]. U chorych zakażonych wirusem HIV genotyp 158VV predysponował również do rozwoju kryptokokozy [379].

Analogicznie do częstszego występowania alleli i genotypów genu *FCGR2C* kodujących funkcjonalne warianty receptora $\text{Fc}\gamma\text{RIIc}$ w TB w porównaniu do SA, mniejsza liczba allelu 158F, większa liczba allelu 158V w porównaniu do stadium I oraz połączonej grupy chorych w stadiach III/IV SA, jak również mniejsza liczba genotypów 158FF i częstsze występowanie genotypu 158FV zarówno w porównaniu do ogółu chorych na SA oraz stadiów I i III, a także połączonej grupy chorych w stadiach III/IV SA, mogą prowadzić do większej

ilości bardziej funkcjonalnych receptorów FcγRIIIa w TB.

Zwiększona ilość bardziej funkcjonalnych receptorów FcγRIIIa na komórkach NK u chorych na TB może przyczyniać się do zwiększonej cytotoxyczności komórkowej zależnej od przeciwciał i produkcji cytokin prozapalnych (m. in. IFN-γ, TNF-α) oraz skutkować efektywniejszym niszczeniem zarówno zopsonizowanych IgG Mtb, komórek zakażonych Mtb i prezentujących antygeny prątkowe. Może to uniemożliwiać przewlekłe bytowanie i namnażanie się prątków gruźlicy w cytoplazmie fagocytów oraz sprzyjać efektywniejszemu ich niszczeniu [359,362]. Z kolei obecność bardziej funkcjonalnych receptorów FcγRIIIa na monocytach, makrofagach i neutrofilach może ułatwiać ich aktywację oraz nasilać fagocytozę [360]. W pierwotnej odpowiedzi immunologicznej zopsonizowane przez SAP Mtb mogą być intensywnie fagocytowane przez m. in. funkcjonalne receptory FcγRIIIa, co może prowadzić do ich zwiększonego namnażania w makrofagach, zwłaszcza M2, w początkowej fazie zakażenia i przyczyniać się do rozwoju TB [102]. W przeciwieństwie do sarkoidozy, w aktywnej gruźlicy sfagocytowane prątki wytwarzają mniejsze ilości Mtb-hsp16, co powoduje większą apoptozę komórek, podwyższoną ekspresją iNOS z następowym podwyższeniem bakteriobójczego poziomu NO, co może być przyczyną efektywnego usuwania prątka gruźlicy z organizmu [93,94,254]. Z drugiej strony, nadmierna aktywacja neutrofilii, związana m. in. z większą ilością funkcjonalnych receptorów FcγRIIIa zarówno na samych neutrofilach, jak i m. in. komórkach NK, stymuluje je do produkcji cytokin prozapalnych, co może skutkować NETozą, upośledzeniem fagocytozy Mtb i rozwojem gruźlicy [104,106]. Ponadto nadmierna aktywacja limfocytów Tγδ u chorych na TB, spowodowana obecnością większej liczby alleli i genotypów genu *FCGR3A* kodujących bardziej funkcjonalny receptor FcγRIIIa [373] wraz ze zwiększoną liczbą limfocytów CD4+γδ+ [109] może prowadzić do silniejszej reakcji ADCC i większego wytwarzania cytokin prozapalnych, co z jednej strony może ułatwiać niszczenie prątków gruźlicy i komórek zakażonych Mtb, a z drugiej do NETozy, która osłabiając fagocytozę prątków gruźlicy może prowadzić do rozwoju TB [104, 106].

W związku z powyższym, występowanie genotypu 158FV wiąże się z mniejszym ryzykiem zachorowania na SA w porównaniu do zdrowych ochotników. Podczas gdy w TB, nie wykazano korelacji rozwoju choroby z obecnością polimorfizmu genu *FCGR3A* w zestawieniu ze zdrowymi osobami. Natomiast analiza porównawcza w SA i TB ujawniła większą częstość homozygot 158FF i rzadszą heterozygot 158FV w sarkoidozie niż w gruźlicy. Dlatego polimorfizm V158F, zwłaszcza genotyp 158FV, związany z zachorowaniem na SA, nie TB, może być jednym z markerów pomocnych w różnicowaniu

tych dwóch jednostek chorobowych. Jednak wyniki tego genotypowania muszą być potwierdzone na liczniejszych grupach badanych.

6.5. PORÓWNANIE CZĘSTOŚCI POSZCZEGÓLNYCH ALLELI I GENOTYPÓW GENU *FCGR3B* U CHORYCH Z SARKOIDOZĄ, GRUŻLICĄ I U OSÓB ZDROWYCH

Receptor FcγRIIIb jest głównym receptorem Fcγ aktywującym neutrofile, ulega ekspresji również na bazofilach i eozynofilach [285,286]. Allel NA1 koduje bardziej efektywnie wiążący się z IgG1 oraz IgG3 receptor, niż allele NA2 i SH [284].

W obecnej pracy przeprowadzono analizę częstości występowania poszczególnych alleli (NA1, NA2, SH) i genotypów (NA1/NA1, NA1/NA2, NA2/NA2, NA1/SH, NA2/SH, SH/SH) genu *FCGR3B* u chorych na sarkoidozę, gruźlicę i u osób zdrowych. Jest to pierwsza na świecie analiza porównawcza częstości występowania poszczególnych polimorfizmów genu *FCGR3B* w gruźlicy i sarkoidozie z podziałem na jej poszczególne stadia.

U ogółu chorych na SA w porównaniu ze zdrowymi ochotnikami nie stwierdzono istotnych korelacji polimorfizmu genu *FCGR3B* z ryzykiem rozwoju choroby. Natomiast w połączonej grupie pacjentów w stadiach III/IV SA udokumentowano rzadsze występowanie genotypu NA1/SH w porównaniu do osób zdrowych. W połączonej grupie chorych w stadiach I/II SA w porównaniu do połączonej grupy chorych w stadiach III/IV SA wykazano częstsze występowanie allelu SH i genotypu NA1/SH.

Natomiast w TB wykazano większą częstość genotypu NA1/NA2 i rzadsze występowanie allelu SH oraz genotypów NA1/SH i NA2/NA2 w porównaniu do osób zdrowych i ogółu chorych na SA. Ponadto w I i II stadium SA allel SH oraz genotyp NA1/SH występowały częściej, a genotyp NA1/NA2 występował rzadziej w porównaniu do chorych na TB. Co więcej, w stadium II SA allel NA1 występował rzadziej, a genotyp NA2/NA2 występował częściej w porównaniu do chorych na gruźlicę. Z kolei w III stadium SA genotyp NA1/NA1 występował częściej, a NA1/NA2 rzadziej w porównaniu do chorych na TB. Ponadto w połączonej grupie chorych w stadiach I/II SA wykazano częstsze występowanie genotypów NA1/SH i NA2/NA2 oraz rzadsze występowanie genotypu NA1/NA2 w porównaniu do chorych na TB. Natomiast w połączonej grupie chorych w stadiach III/IV SA udokumentowano rzadsze występowanie genotypu NA1/NA2 w porównaniu do chorych na gruźlicę (Tab. 22. i 23., Ryc. 38.-44.).

Dotychczas u chorych na sarkoidozę wykonano jedynie jedno badanie dotyczące analizy polimorfizmu genu *FCGR3B* w sarkoidozie, jednak na znacznie mniejszych liczebnie grupach chorych w stadiach III i IV [312]. Podobnie do w/w pracy [312], nie stwierdzono związku obecności polimorfizmu *FCGR3B* ze zwiększonym ryzykiem rozwoju sarkoidozy u naszych chorych. Podczas gdy, w przeciwieństwie do badania obecnego, nie wykazano istotnych statystycznie różnic między chorymi w poszczególnych fazach SA a osobami zdrowymi oraz w obrębie poszczególnych stadiów tej choroby [312].

Polimorfizm genu *FCGR3B* był dotychczas badany także w takich chorobach z autoagresji, jak: zespół Goodpasture'a [346], RZS [351,371,380,381], TRU [339,347,382–384], zespół Guillaina-Barrego [385–387], choroba Behçeta [388], idiopatyczne włóknienie płuc [389], ITP, [390], miastenia [391], czy zespół Sjögrena [340].

Podobnie jak w obecnym badaniu, w którym wykazano częstsze występowanie genotypu NA2/NA2 u chorych na SA w porównaniu do TB, stwierdzono częstsze występowanie tego genotypu i jego związek z podwyższonym ryzykiem zachorowania na TRU w populacjach tajskiej, japońskiej czy hiszpańskiej [328,392,393]. Co więcej, wśród chorych na RZS wykazano częstsze występowanie haplotypu 158V-NA2 genów *FCGR3A* i *FCGR3B* [394]. Udokumentowano również związek obecności allelu NA2 z cięższym przebiegiem zespołu Guillaina-Barrego w populacji kaukaskiej [385,386]. Ponadto także w populacji tureckiej allel NA2 predysponował do zwiększonego ryzyka rozwoju choroby Behçeta [388]. Natomiast w polskiej populacji chorych na TRU wykazano rzadsze występowanie allelu SH oraz genotypu NA1/SH [338]. Co więcej, podwyższone ryzyko wystąpienia ITP oraz idiopatycznego włóknienia płuc było związane z obecnością allelu NA1 i genotypu NA1/NA1 [389,390]. Udokumentowano także, że genotyp NA1/NA1 predysponował do cięższego przebiegu ITP i miastonii [390,391]. Podczas gdy, większość badań u chorych na RZS i TRU w różnych grupach etnicznych, w tym populacji kaukaskiej, oraz wśród chorych z zespołem Sjögrena, Goodpasture'a czy Guillaina-Barrego, nie wykazały związku polimorfizmu NA1/NA2/SH genu *FCGR3B* a ryzykiem zachorowania, czy przebiegiem tych chorób [338-340,346,347,351,371,380–384].

W SA nie wykazano korelacji obecności w/w polimorfizmów *FCGR3B* ze zwiększoną zachorowalnością. Natomiast u pacjentów z SA w porównaniu do chorych na TB wykazano częstsze występowanie allelu SH oraz genotypów NA1/SH i NA2/NA2, a rzadszą obecność genotypu NA1/NA2. Może to skutkować częstszym występowaniem mniej funkcjonalnych receptorów FcγRIIIb na neutrofilach w SA w porównaniu do TB. W związku z tym, że wykazano nasilenie fagocytozy i klirensu KI

z krwioobiegu przez neutrofile aktywowane za pomocą receptorów FcγRIIIb [344], mniejsza liczba funkcjonalnych receptorów może prowadzić do osłabionej fagocytozy prątko gruźlicy/Ag/KI w SA i skutkować większą immunokompleksemią w SA, co wykazano w poprzednich badaniach u tych chorych [111,255]. Przewlekła antygenemia i immunokompleksema z/bez Mtb-hsp u chorych na SA może powodować przewlekłą stymulację komórek APC, limfocytów T i B, zmieniać ekspresję cytokin, cząsteczek kostymulatorowych, komórek Treg, apoptozę, stres oksydacyjny i indukować autoimmunizację i rozwój ziarniny sarkoidalnej [93–95]. Co więcej, słabsza aktywacja neutrofilów w SA może skutkować brakiem NETozy [108]. Wyniki te mogą podkreślać autoimmunizacyjne podłoże rozwoju SA [284,304]. Ponadto, występująca w fazach I i II SA częstsza obecność alleli SH, genotypu NA1/SH oraz rzadsza obecność genotypu NA1/NA2, a dodatkowo występujące jedynie w II fazie SA rzadsze występowanie allelu NA1 oraz częstsza obecność genotypu NA2/NA2 w porównaniu do chorych na TB, może wiązać się z częstszym występowaniem mniej funkcjonalnych receptorów FcγRIIIb, również skutkując zmniejszeniem fagocytozy KI/Ag/patogenów i immunokompleksemią w tych początkowych stadiach SA [111,255]. Natomiast występująca w fazie III SA, częstsza obecność genotypu NA1/NA1 i rzadsza genotypu NA1/NA2 w porównaniu do TB może powodować intensywniejszą fagocytozę zagregowanych antygenów/KI/patogenów przez fagocyty o obniżonej aktywności bójczej. Procesy te mogą przyczyniać się do nadmiernego przewlekłego uwalniania/wydzielania przez komórki prezentujące antygeny prątkowe, hsp mykobakteryjnych i/lub ludzkich, przewlekłej stymulacji limfocytów T w kontekście HLA oraz komórek B, nadmiernej odpowiedzi komórkowej i humoralnej, co skutkować może rozwojem ziarniny sarkoidalnej w tej fazie SA [254,284,304,374]. Ponadto częstsze występowanie allelu SH i genotypu NA1/SH w połączonej grupie chorych w stadiach I/II SA w porównaniu do połączonej grupy pacjentów w stadiach III/IV choroby, również może warunkować częstsza obecność mniej funkcjonalnego receptora FcγRIIIb w początkowych stadiach SA i przyczyniać się do zmniejszonej fagocytozy KI/Ag/patogenów z immunokompleksemią, przewlekłą stymulacją oraz limfoproliferacją z rozwojem ziarniny sarkoidalnej w stadiach I/II SA [284,304]. Wyniki obecnego badania mogą sugerować występowanie odmiennego podłoża genetycznego predysponującego do rozwoju faz sarkoidozy z zajęciem węzłów chłonnych wnek płucnych i śródpiersia (stadia I i II SA) oraz faz jedynie ze zmianami śródmiąższowymi (stadia III i IV SA) i podkreślać autoimmunizacyjne podłoże rozwoju początkowych stadiów SA [284,304]. Nie stwierdzono różnic w występowaniu poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR3B* między chorymi w IV fazie SA a chorymi na gruźlicę płuc.

Polimorfizm genu *FCGR3B* był również badany w chorobach infekcyjnych. W jednym z badań wykazano częstsze występowanie infekcji układu oddechowego u chorych na RZS będących nosicielami allelu NA2 [395]. Udokumentowano również predyspozycję do ciężkiego przebiegu infekcji tkanek okołowierchołkowych zębów u nosicieli genotypu NA2/NA2 [396]. Natomiast podobnie jak w obecnym badaniu, w którym udokumentowano protekcyjny wpływ genotypu NA2/NA2 na rozwój gruźlicy, u chorych zakażonych wirusem HIV genotyp ten zmniejszał ryzyko rozwoju kryptokokozy [379].

U chorych na TB w porównaniu do chorych na SA i osób zdrowych wykazano częstszą obecność genotypu NA1/NA2 oraz rzadsze występowanie allelu SH i genotypów NA1/SH oraz NA2/NA2, co może skutkować częstszym występowaniem funkcjonalnego wariantu receptora *FcγRIIIb* u chorych na TB i być jedną z przyczyn intensywniejszej fagocytozy prątka gruźlicy/klirensu KI, co wykazano wcześniej u tych samych chorych [111,255]. W pierwotnej odpowiedzi immunologicznej zopsonizowane przez SAP *Mtb* mogą być intensywnie fagocytowane przez m. in. funkcjonalne receptory *FcγRIIIb*, co może prowadzić do ich zwiększonego namnażania w makrofagach, zwłaszcza M2, w początkowej fazie zakażenia i przyczyniać się do rozwoju TB [102]. W przeciwieństwie do sarkoidozy, w aktywnej gruźlicy sfagocytowane prątki wytwarzają mniejsze ilości *Mtb*-hsp16, co powoduje większą apoptozę komórek, podwyższoną ekspresję iNOS z następowym podwyższeniem poziomu bakteriobójczego NO, co może być przyczyną efektywnego usuwania prątka gruźlicy z organizmu [93,94,254,363]. Ponadto obecność bardziej funkcjonalnych receptorów *FcγRIIIb* na neutrofilach, spełniających bardzo ważną rolę w fagocytozie prątków gruźlicy w początkowej fazie zakażenia, może powodować nadmierną aktywację tych komórek, wytwarzanie większej liczby wolnych rodników tlenowych i bardziej intensywnego uwalniania enzymów z ich ziarnistości, co przyczynia się do efektywnego usuwania *Mtb* [102]. Z drugiej strony, nadmierna aktywacja neutrofilów mogąca być związana m. in. z większą ilością funkcjonalnych receptorów *FcγRIIIb* może skutkować NETozą, która upośledzając fagocytozę *Mtb* i może przyczyniać się do rozwoju gruźlicy [104,106].

Podsumowując, zwiększone ryzyko zachorowania na TB było związane z częstszym występowaniem genotypu NA1/NA2 oraz rzadszym allelu SH, genotypów NA1/SH i NA2/NA2. Podczas gdy w SA, nie wykazano związku obecności polimorfizmu *FCGR3B* ze zwiększonym ryzykiem zachorowania. Natomiast porównawcza analiza genotypowania w SA i TB, ujawniła częstszą obecność allelu SH, genotypów NA1/SH i NA2/NA2 oraz rzadszą NA1/NA2 w sarkoidozie, niż w gruźlicy. Stąd, może również allel i genotypy, związane

z wysokim ryzykiem zachorowania na TB, nie SA, mogą stać się markerami pomocnymi w różnicowaniu tych dwóch jednostek chorobowych. Ponadto wykazane różnice w częstości występowania alleli i genotypów genu *FCGR3B* w początkowych (I/II) i zaawansowanych (III/IV) stadiach SA mogą świadczyć o różnym podłożu genetycznym ich rozwoju. Jednak wyniki tego genotypowania muszą być potwierdzone na liczniejszych grupach badanych.

6.6. PORÓWNANIE CZĘSTOŚCI WYSTĘPOWANIA LICZBY KOPII POSZCZEGÓLNYCH GENÓW *FCGR* U CHORYCH NA SARKOIDOZĘ, GRUŻLICĘ ORAZ OSÓB ZDROWYCH

Obecna rozprawa doktorska jest pierwszym badaniem, w którym kompleksowo oceniono liczbę kopii genów *FCGR2-3* w gruźlicy oraz dokonano analizy porównawczej ich liczby między chorymi na TB, SA oraz osobami zdrowymi. W niniejszej pracy nie stwierdzono różnic w częstości występowania liczby kopii poszczególnych genów *FCGR* pomiędzy badanymi grupami (Tab. 24., Ryc. 45.).

Podobnie do badania obecnego, w sarkoidozie w populacji polskiej nie wykazano różnic w częstości występowania liczby kopii genów *FCGR* pomiędzy chorymi a osobami zdrowymi [313]. W przeciwieństwie do wyników obecnej pracy, w populacji chińskiej wykazano zmniejszoną liczbę kopii genu *FCGR3A* u kobiet chorujących na SA oraz zmniejszoną liczbę kopii genu *FCGR3B* u ogółu pacjentów z SA [397]. Natomiast, w jedynym dotychczas badaniu liczby kopii genów *FCGR2C*, *FCGR3A*, *FCGR3B* u mieszkańców Afryki Subsaharyjskiej wykazano mniejszą liczbę kopii genu *FCGR3B* u chorych z koinfekcją TB i wirusa HIV [318].

Liczba kopii genów *FCGR* była badana w wielu chorobach autoimmunizacyjnych. Podobnie jak w obecnej pracy, w części badań nie wykazano związku pomiędzy liczbą kopii genu *FCGR3B* a rozwojem toczniowego zapalenia nerek [398], liczbą kopii genów *FCGR3A* i *FCGR3B* a rozwojem RZS [399–401], czy liczbą kopii genów *FCGR2B* i *FCGR3B* a rozwojem zespołu Goodpasture'a [402].

Natomiast, w innych badaniach mniejsza od 2 liczba kopii genu *FCGR3B* była czynnikiem zwiększającym ryzyko rozwoju TRU i toczniowego zapalenia nerek [401,403–405], zespołu Sjögrena [401,406], serologicznie dodatniego RZS [399,407,408], GPA [401], twardziny układowej [409], czy IPF [410]. Mniejsza lub równa 3 liczba kopii genów *FCGR3A* i *FCGR3B* predysponowały również do zachorowania na zeszytniające zapalenie stawów kręgosłupa w populacji chińskiej [411]. Ponadto w jednym z badań wykazano,

że duplikacja genu *FCGR3B* predysponuje do rozwoju serologicznie ujemnego RZS [408], a >2 kopii genów *FCGR3B* do rozwoju łuszczycy [412]. Udokumentowano również, że zwiększona liczba kopii genu *FCGR2C* oraz zmniejszona liczba kopii genu *FCGR3B* zmniejsza ryzyko rozwoju choroby Kawasaki [413]. Natomiast, u chorych z zespołem Goodpasture'a wykazano wzrost ryzyka zachorowania związany ze zwiększoną liczbą kopii genu *FCGR3A* [402].

Zmniejszona liczba kopii aktywujących genów *FCGR* może korelować ze słabszym klirensiem KI i przyczyniać się do rozwoju chorób autoimmunizacyjnych zależnych od przeciwciał oraz zmniejszoną fagocytozą zopsonizowanych patogenów predysponując do rozwoju chorób infekcyjnych [414]. W obecnej pracy wykazany brak różnic w częstości występowania liczby kopii poszczególnych genów *FCGR* w sarkoidozie, gruźlicy i u osób zdrowych przemawia za główną rolą funkcjonalnego polimorfizmu genów kodujących aktywujące receptory FcγR a nie liczbą kopii genów *FCGR* i zwiększonym ryzykiem zachorowania zarówno na SA, jak i TB.

6.7. PODSUMOWANIE

Wykazana w poprzednich badaniach immunokompleksemia z obecnością Mtb-hsp u naszych chorych na SA, o większym nasileniu niż u chorych na TB i osób zdrowych może wynikać z zaburzonej fagocytozy opornych na apoptozę monocytów krwi obwodowej o obniżonej aktywności bójczej. Jako że kluczowymi receptorami biorącymi udział w fagocytozie KI są FcγR przeprowadzono analizę porównawczą ich ilości na monocytach krwi obwodowej chorych na SA i TB, dokumentując podwyższoną aktywność fagocytarną ze zwiększoną ilością FcγRI-III monocytów krwi obwodowej u naszych chorych na SA. Stan ten może sugerować dysfunkcję tychże receptorów, za którą może być odpowiedzialny polimorfizm kodujących je genów. Dlatego też w obecnej pracy u chorych na SA, TB oraz osób zdrowych przeprowadzono analizę porównawczą polimorfizmu genów: *FCGR2A*, *FCGR2B*, *FCGR2C*, *FCGR3A* oraz *FCGR3B*, które kodują receptory Fcγ klasy II i III oraz są odpowiedzialne za usuwanie kompleksów immunologicznych i zopsonizowanych patogenów.

Wyniki analizy porównawczej polimorfizmu H131R genu *FCGR2A* wykazały istotne różnice w obecności poszczególnych genotypów genu *FCGR2A* między chorymi w III stadium SA a osobami zdrowymi i chorymi na TB oraz między poszczególnymi stadiami SA. W stadium III SA udokumentowano rzadsze występowanie genotypu 131HR w porównaniu do osób zdrowych, częstsze występowanie genotypu 131HH w porównaniu do stadiów II i IV SA oraz rzadsze występowanie genotypu 131HR w porównaniu do stadiów I, II i IV choroby. Może być to przyczyną większej ilości funkcjonalnych FcγRIIa w stadium III SA oraz stwierdzonej u tych chorych w poprzednich badaniach zwiększonej aktywności fagocytarnej monocytów. Natomiast upośledzona aktywność bakteriobójcza i apoptotyczna fagocytów, wykazana w badaniach poprzednich w SA, może prowadzić do przewlekłej obecności Mtb i/lub jego antygenów i skutkować wydzielaniem przez te komórki hsp ludzkich (DAMPs) oraz mykobakteryjnych (PAMPs) z przewlekłą ich prezentacją i stymulacją limfocytów T w kontekście HLA oraz limfocytów B z rozwojem nadmiernej odpowiedzi komórkowej, jak i humoralnej, co skutkować może tworzeniem sarkoidalnej ziarniny. Wykazane w połączonej grupie chorych w stadiach sarkoidozy z zajęciem węzłów chłonnych wnek płucnych i śródpiersia (stadia I i II SA) częstsze występowanie genotypu 131HR w porównaniu do stadiów jedynie ze zmianami śródmiąższowymi (stadia III i IV SA) może wiązać się z częstszym występowaniem mniej funkcjonalnego receptora FcγRIIa w stadiach I/II, co może skutkować zmniejszoną fagocytozą KI/patogenów przez receptor FcγRIIa

z następową immunokompleksemią zwłaszcza w początkowych stadiach I/II SA. Przewlekła antygenemia i immunokompleksemią z/bez Mtb-hsp u chorych w początkowych stadiach SA może prowadzić do przewlekłej stymulacji komórek APC, limfocytów T i B, zmieniać ekspresję cytokin, cząsteczek kostymulatorowych, komórek Treg, wpływać na apoptozę, stres oksydacyjny, indukować autoimmunizację i rozwój ziarniny sarkoidalnej. Ponadto wykazane w TB rzadsze występowanie genotypu 131HH i częstsze genotypu 131HR w porównaniu do chorych w stadium III SA może skutkować częstszym występowaniem niefunkcjonalnego receptora FcγRIIa u chorych na TB i być to przyczyną słabszej eliminacji zopsonizowanych patogenów, w tym Mtb, w porównaniu do chorych w III stadium SA predysponując w ten sposób do rozwoju gruźlicy.

Podsumowując, w obecnym badaniu wykazano mniejsze ryzyko rozwoju stadium III SA u nosicieli genotypu 131HR. Udokumentowano również częstsze występowanie genotypu 131HR w połączonej grupie chorych w stadiach I/II SA, w porównaniu do połączonej grupy chorych w stadiach III/IV SA. W TB, nie wykazano różnic w częstości występowania alleli i genotypów genu *FCGR2A* w zestawieniu ze zdrowymi osobami. Natomiast analiza porównawcza SA i TB ujawniła częstsze występowanie genotypu 131HH i rzadsze genotypu 131HR w III stadium SA w porównaniu do chorych na gruźlicę płuc. Wykazane różnice w częstości występowania polimorfizmów genu *H131R* mogą sugerować obecność odmiennego podłoża genetycznego wczesnych i zaawansowanych faz sarkoidozy, jak i odrębności genetycznej w rozwoju TB i III fazy SA.

Wyniki analizy porównawczej polimorfizmu X57Q genu *FCGR2C* wykazały u ogółu chorych na SA, w tym w stadiach III i IV SA oraz w połączonej grupie chorych w stadiach III/IV choroby, częstsze występowanie allelu 57Q i genotypu 57XQ oraz rzadsze występowanie allelu 57X i genotypu 57XX w porównaniu do osób zdrowych, co może skutkować częstszą obecnością funkcjonalnego receptora FcγRIIc na komórkach układu odpornościowego u chorych na sarkoidozę. Może to skutkować efektywniejszą reakcją ADCC i większą produkcją cytokin prozapalnych przez komórki NK, intensywniejszą fagocytozą zagregowanych antygenów/patogenów przez monocyty, makrofagi i neutrofile u naszych chorych na SA, co wykazały wcześniejsze badania. Procesy te mogą u chorych na SA skutkować aktywacją monocytów/makrofagów o upośledzonej aktywności bójczej i apoptotycznej, wykazanej we wcześniejszych badaniach, nadmiernym i przewlekłym uwalnianiem/wydzielaniem przez komórki prezentujące antygeny Mtb, białek szoku termicznego mykobakterialnych i/lub ludzkich z limfoproliferacją komórek T oraz B i rozwojem ziarniny sarkoidalnej. Natomiast zwiększona ilość allelu 57Q, jak również

genotypu 57XQ, u naszych pacjentów z SA w przewlekłym III i IV stadium w porównaniu do faz I/II, może być przyczyną efektywniejszej reakcji ADCC, intensywniejszej fagocytozy zagregowanych antygenów i mniejszą immunokompleksemią niż w początkowych stadiach SA, co również wykazano w poprzednich badaniach u tych samych chorych.

Natomiast wykazane w TB częstsze występowanie alleli i genotypów genu *FCGR2C* kodujących funkcjonalny wariant receptora FcγRIIc może przyczyniać się do zwiększonej cytotoksyczności komórkowej zależnej od przeciwciał oraz wytwarzania cytokin prozapalnych przez komórki NK, skutkując efektywniejszym niszczeniem zarówno zopsonizowanych IgG Mtb, komórek zakażonych Mtb i prezentujących antygeny prątkowe. Może również ułatwiać aktywację fagocytów, intensyfikować fagocytozę prątka gruźlicy, zwiększać wytwarzanie wolnych rodników tlenowych i uwalnianie bakteriobójczych enzymów z ziarnistości neutrofilii. W pierwotnej odpowiedzi immunologicznej zopsonizowane przez SAP Mtb mogą być intensywnie fagocytowane przez m. in. funkcjonalne receptory FcγRIIc, co może prowadzić do ich zwiększonego namnażania w makrofagach, zwłaszcza M2, w początkowej fazie zakażenia i przyczyniać się do rozwoju TB. Z drugiej strony, nadmierna aktywacja neutrofilii mogąca być związana m. in. z większą ilością funkcjonalnych receptorów FcγRIIc zarówno na samych neutrofilach, jak i na komórkach NK, produkujących cytokiny prozapalne, może skutkować NETozą mogącą prowadzić do upośledzenia fagocytozy Mtb i przyczyniać się do rozwoju gruźlicy. Natomiast stosunkowo częstsze występowanie allelu 57X oraz genotypu 57XX, kodujących niefunkcjonalne warianty receptora FcγRIIc w sarkoidozie, zwłaszcza w stadiach I i II, w porównaniu do pacjentów z gruźlicą, może prowadzić do osłabionej ADCC i mniejszego wytwarzania cytokin prozapalnych przez komórki NK, zmniejszonej fagocytozy KI/Ag/prątka gruźlicy i być przyczyną stwierdzonej wcześniej immunokompleksmii z udziałem mykobakteryjnych antygenów Mtb-hsp u pacjentów z SA, większej niż u chorych na gruźlicę. Może to prowadzić wraz z wykazaną w badaniach wcześniejszych, słabszą apoptozą monocytów zakażonych prątkiem gruźlicy w SA i zmniejszoną aktywnością bakteriobójczą/degradacyjną fagocytów, przewlekłym bytowaniem patogenów/Ag w tych komórkach i predysponować do rozwoju SA. Ponadto słabsza aktywacja neutrofilii może skutkować brakiem sieci NET w nieserowaciejących ziarniniakach sarkoidalnych.

Podsumowując, zarówno w SA, jak i w TB wykazano częstsze występowanie allelu 57X i genotypu 57XQ oraz rzadsze allelu 57X i genotypu 57XQ w porównaniu ze zdrowymi ochotnikami. Może to świadczyć o wspólnym mechanizmie tworzenia ziarniny. Natomiast porównawcza analiza polimorfizmu genu *FCGR2C* w SA i TB ujawniła większą obecność

allelu 57X i genotypu 57XX oraz rzadsze występowanie allelu 57Q i genotypu 57XQ w SA, w porównaniu do chorych na gruźlicę płuc. Te różnice w częstości polimorfizmów X57Q genu *FCGR2C* mogą odpowiadać za odmienną etiopatogenezę tych dwóch jednostek chorobowych. Ponadto wykazane różnice w częstości występowania alleli i genotypów genu *FCGR2C* w początkowych i zaawansowanych stadiach SA mogą świadczyć o różnym podłożu genetycznym ich rozwoju. Jednak wyniki tego genotypowania muszą być potwierdzone na liczniejszych grupach badanych.

Analiza porównawcza polimorfizmu V158F genu *FCGR3A* u chorych na sarkoidozę, gruźlicę i u osób zdrowych wykazała zwiększoną ilość genotypu 158FF w SA w porównaniu do TB oraz rzadsze występowanie genotypu 158FV w SA w porównaniu do osób zdrowych i chorych na TB. Może to skutkować częstszym występowaniem mniej funkcjonalnego wariantu receptora FcγRIIIa u chorych na SA, co może skutkować osłabieniem fagocytozy KI/Ag/zopsonizowanych patogenów i reakcji ADCC, zmniejszeniem wytwarzania cytokin prozapalnych przez komórki NK i limfocyty Tγδ. Ponadto u osób z genotypem 158FF, w przeciwieństwie do homozygot 158VV, obniżona aktywność apoptotyczna może wyjaśniać zmiany w procesie apoptozy stwierdzone wcześniej u naszych chorych na SA, zwłaszcza w fazie I sarkoidozy w porównaniu z TB. Zmniejszona fagocytoza przez komórki o upośledzonej apoptozie i zdolnościach bójczych u naszych chorych na SA może prowadzić do immunokomplekssemii większej niż w TB, co wykazały także wcześniejsze badania u tych samych pacjentów. Immunokompleksemia z udziałem mykobakteryjnych antygenów Mtb-hsp jest przyczyną przewlekłej stymulacji limfocytów T w kontekście HLA i B, co może prowadzić do nadmiernej odpowiedzi komórkowej i humoralnej, *bystander activation* oraz rozwoju ziarniny sarkoidalnej. Ponadto stosunkowo słabsza aktywacja neutrofilów może skutkować, udokumentowanym w jednym z badań, brakiem sieci NET w ziarniniakach sarkoidalnych. Wyniki tego badania mogą ponadto podkreślać autoimmunizacyjne podłoże rozwoju SA.

Wykazane w obecnej pracy częstsze występowanie allelu 158V oraz rzadsze występowanie allelu 158F i genotypu 158FF w II stadium SA w porównaniu do stadiów I oraz III, skutkować może częstą obecnością bardziej funkcjonalnego wariantu receptora FcγRIIIa w tej fazie choroby. Może to przyczyniać się do efektywniejszej reakcji ADCC i wytwarzania cytokin przez komórki NK oraz fagocytozy zagregowanych antygenów/KI/patogenów przez fagocyty o obniżonej aktywności bakteriobójczej/degradującej. Procesy te mogą przyczyniać się do nadmiernego przewlekłego uwalniania/wydzielania przez komórki prezentujące antygeny prątkowych hsp mykobakteryjnych i/lub ludzkich, przewlekłej stymulacji limfocytów i predysponować do rozwoju ziarniny sarkoidalnej. Przedstawione wyżej wyniki

mogą sugerować występowanie odmiennego podłoża genetycznego predysponującego do rozwoju II fazy sarkoidozy.

Natomiast w obecnej pracy nie wykazano korelacji obecności polimorfizmu V158F genu *FCGR3A* ze zwiększoną zachorowalnością na gruźlicę. Analiza także ujawniła mniejszą liczbę alleli 158F i genotypów 158FF oraz większą liczbą alleli 158V i genotypów 158FV w gruźlicy w porównaniu do stadiów I i III SA oraz połączonej grupy chorych w stadiach III/IV SA. Może to skutkować zwiększoną liczbą bardziej funkcjonalnych receptorów FcγRIIIa i intensywniejszą fagocytozą prątka gruźlicy, zwiększoną cytotoksycznością komórkową zależną od przeciwciał, wytwarzaniem cytokin prozapalnych przez komórki NK i limfocyty Tγδ w TB. Ponadto obecność tych bardziej funkcjonalnych receptorów FcγRIIIa na neutrofilach może powodować produkcję większej liczby wolnych rodników tlenowych i bardziej intensywnego uwalniania enzymów z ich ziarnistości. W przeciwieństwie do sarkoidozy, w aktywnej gruźlicy sfagocytowane prątki gruźlicy wytwarzają mniejsze ilości Mtb-hsp16, co powoduje większą apoptozą komórek, podwyższoną ekspresją iNOS z następowym podwyższeniem bakteriobójczego poziomu NO, co uniemożliwia przewlekłe bytowanie i namnażanie się prątków gruźlicy w cytoplazmie fagocytów i sprzyja efektywniejszemu ich niszczeniu. Z drugiej strony, nadmierna aktywacja neutrofilów, związana m. in. z większą ilością funkcjonalnych receptorów FcγRIIIa zarówno na samych neutrofilach, jak i komórkach NK, produkujących cytokiny prozapalne, może skutkować NETozą, mogącą przyczyniać się do upośledzenia fagocytozy Mtb i rozwoju gruźlicy.

W związku z powyższym, obecność genotypu 158FV wiąże się z mniejszym ryzykiem zachorowania na SA w porównaniu do zdrowych ochotników. Podczas gdy, w TB nie wykazano korelacji z obecnością polimorfizmu genu *FCGR3A* w zestawieniu ze zdrowymi osobami. Natomiast analiza porównawcza SA i TB ujawniła większą częstość homozygot 158FF i rzadszą heterozygot 158FV w sarkoidozie, niż w gruźlicy. Dlatego polimorfizm V158F, zwłaszcza genotyp 158FV, związany z zachorowaniem na SA, nie TB, może być jednym z markerów pomocnych w różnicowaniu tych dwóch jednostek chorobowych. Jednak wyniki tego genotypowania muszą być potwierdzone na liczniejszych grupach badanych.

Wyniki analizy polimorfizmu NA1/NA2/SH genu *FCGR3B* nie wykazały jego korelacji ze zwiększoną zachorowalnością na sarkoidozę. Natomiast u pacjentów z SA, w porównaniu do chorych na TB, stwierdzono częstsze występowanie allelu SH oraz genotypów NA1/SH i NA2/NA2, a rzadsze występowanie genotypu NA1/NA2. Może to skutkować częstszą obecnością mniej funkcjonalnych receptorów FcγRIIIb na neutrofilach

w SA w porównaniu do TB. Może to prowadzić do osłabionej fagocytozy prątka gruźlicy/Ag/KI i większej immunokomplekssemii w SA niż w TB, co wykazano w poprzednich badaniach u tych chorych. Przewlekła antygenemia i immunokomplekssemia z/bez Mtb-hsp w SA może powodować przewlekłą stymulację komórek APC, limfocytów T i B, zmianę ekspresji cytokin, cząsteczek kostymulatorowych, komórek Treg, apoptozy, stresu oksydacyjnego, rozwój autoimmunizacji i ziarniny sarkoidalnej. Co więcej, słabsza aktywacja neutrofilów w SA może skutkować brakiem NETozy w sarkoidozie.

Ponadto występująca w stadiach I i II SA częstsza obecność alleli SH, genotypu NA1/SH oraz rzadsze występowanie genotypu NA1/NA2, a także występujące jedynie w II fazie SA, rzadsze występowanie allelu NA1 oraz częstsza obecność genotypu NA2/NA2 w porównaniu do chorych na TB może wiązać się z częstszą obecnością mniej funkcjonalnych receptorów FcγRIIIb w stadiach początkowych SA. Skutkiem może być zmniejszenie fagocytozy KI/Ag/patogenów, przewlekła antygenemia i immunokomplekssemia z/bez Mtb-hsp w I i II stadiach SA. Natomiast występująca w fazie III SA, częstsza obecność genotypu NA1/NA1 i rzadsza genotypu NA1/NA2 w porównaniu do TB może być przyczyną intensywniejszej fagocytozy zagregowanych antygenów/KI/patogenów przez fagocyty o obniżonej aktywności bójczej/degradacyjnej. Procesy te mogą prowadzić do nadmiernego przewlekłego uwalniania/wydzielania przez komórki prezentujące antygeny prątkowe, hsp mykobakteryjnych i/lub ludzkich, przewlekłej stymulacji limfocytów T w kontekście HLA oraz komórek B, nadmiernej odpowiedzi komórkowej i humoralnej z rozwojem ziarniny sarkoidalnej w tej fazie choroby. Ponadto częstsze występowanie allelu SH i genotypu NA1/SH w połączonej grupie chorych w stadiach I/II SA w porównaniu do połączonej grupy pacjentów w stadiach III/IV choroby, również może warunkować częstszą obecność mniej funkcjonalnego receptora FcγRIIIb w początkowych stadiach SA, co może przyczyniać się do zmniejszonej fagocytozy KI/Ag/patogenów z immunokompleksmią, przewlekłą stymulacją i limfoproliferacją oraz rozwojem ziarniny sarkoidalnej w początkowych stadiach SA.

Nie stwierdzono różnic w występowaniu poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR3B* między chorymi w IV fazie SA a chorymi na gruźlicę płuc.

W TB, wysokie ryzyko rozwoju choroby związane było z częstszą obecnością genotypu NA1/NA2 oraz rzadszym występowaniem allelu SH, genotypów NA1/SH i NA2/NA2. Może to skutkować częstszą obecnością funkcjonalnego wariantu receptora FcγRIIIb u chorych na TB i być jedną z przyczyn intensywniejszej fagocytozy prątka gruźlicy/klirensu KI w gruźlicy niż w SA, co wykazano wcześniej u tych samych chorych. W przeciwieństwie do sarkoidozy, w aktywnej TB sfagocytowane prątki wytwarzają mniejsze ilości

Mtb-hsp16, co powoduje większą apoptozę komórek, podwyższoną ekspresję iNOS z podwyższeniem poziomu bakteriobójczego NO, co może być przyczyną efektywnego usuwania prątka gruźlicy z organizmu. Ponadto obecność bardziej funkcjonalnych receptorów FcγRIIIb na neutrofilach, spełniających bardzo ważną rolę w fagocytozie prątków gruźlicy również w początkowej fazie zakażenia, może powodować nadmierną aktywację tych komórek, produkcję większej liczby wolnych rodników tlenowych i bardziej intensywnego uwalniania enzymów z ich ziarnistości, co również może przyczyniać się do efektywniejszego usuwania Mtb. Z drugiej strony, nadmierna aktywacja neutrofilii mogąca być związana m. in. z większą ilością funkcjonalnych receptorów FcγRIIIb może skutkować NETozą, mogącą prowadzić do upośledzenia fagocytozy Mtb i rozwoju gruźlicy. Podsumowując, w TB w przeciwieństwie do zdrowych ochotników ujawniono częstsze występowanie genotypu NA1/NA2 oraz rzadsze allelu SH, genotypów NA1/SH i NA2/NA2. Podczas gdy, w populacji chorych na SA w porównaniu do zdrowych osób nie wykazano związku ze zwiększonym ryzykiem zachorowania a polimorfizmem *FCGR3B*. Natomiast porównawcza analiza genotypowania SA i TB, ujawniła większą obecność allelu SH, genotypów NA1/SH i NA2/NA2 oraz rzadszą NA1/NA2 w sarkoidozie, niż w gruźlicy. Stąd, może to kolejny allel i genotypy, związane z większym ryzykiem zachorowania na TB, nie SA, mogą stać się jednymi z markerów pomocnych w różnicowaniu tych dwóch jednostek chorobowych. Ponadto wykazane różnice w częstości występowania alleli i genotypów genu *FCGR3B* w początkowych (I/II) i zaawansowanych (III/IV) stadiach SA mogą świadczyć o różnym podłożu genetycznym ich rozwoju. Jednak wyniki tego genotypowania muszą być potwierdzone na liczniejszych grupach badanych.

Wyniki analizy polimorfizmu I232T genu *FCGR2B* oraz liczby kopii genów *FCGR2A*, *FCGR2B*, *FCGR2C*, *FCGR3A*, *FCGR3B* nie wykazały różnic pomiędzy badanymi grupami.

Podsumowując, w populacji mieszkańców Polski północnej ryzyko rozwoju sarkoidozy, jak i gruźlicy było związane z polimorfizmem X57Q genu *FCGR2C*. Ponadto, w SA, większa zachorowalność była także związana z polimorfizmem F158V genu *FCGR3A*, podczas gdy w TB z polimorfizmami NA1/NA2/SH genu *FCGR3B*. Nie wykazano wpływu polimorfizmu genu *FCGR2B* na ryzyko rozwoju SA i TB. Analiza porównawcza częstości występowania polimorfizmów genów *FCGR* w poszczególnych fazach sarkoidozy wykazała we wczesnych stadiach (I, II, I/II) w porównaniu z zaawansowanymi stadiami (III, IV, III/IV) SA obecność polimorfizmów genów *FCGR2A*, *FCGR2C* i *FCGR3B*, które warunkują przewagę alleli i genotypów kodujących mniej funkcjonalne receptory FcγRIIa, FcγRIIc, FcγRIIIb w stadiach I/II, co może prowadzić do obniżonej fagocytozy KI/Ag

i immunokomplekseмии, wykazanej we wcześniejszych badaniach u tych samych chorych. Wyniki ujawniają odmienność genetyczną wczesnych i zaawansowanych stadiów SA, podkreślając komponentę autoimmunizacyjną, zwłaszcza w początkowych fazach choroby (I/II). Ponadto różnice w częstościach występowania alleli i genotypów genu *FCGR3A* między stadium II SA a stadiami I/II mogą świadczyć o odmiennym podłożu genetycznym jej rozwoju. U ogółu chorych na sarkoidozę, jak i w poszczególnych jej stadiach, w porównaniu do chorych na gruźlicę wykazano różnice w częstości polimorfizmów genów *FCGR2C*, *FCGR3A* i *FCGR3B*. Ponadto pomiędzy stadium III SA a chorymi na TB występowały również różnice w częstościach występowania genotypów genu *FCGR2A*.

Wykazane różnice w częstości występowania alleli oraz genotypów genów *FCGR3A* i *FCGR3B* mogą stać się pomocne w różnicowaniu SA i TB, jednak wymagają potwierdzenia na większych grupach badanych.

7. WNIOSKI

1. Wykazany u pacjentów z sarkoidozą polimorfizm genów *FCGR2C* i *FCGR3A* może być związany z ryzykiem rozwoju choroby. Częstsze występowanie bardziej funkcjonalnych receptorów FcγRIIc i mniej funkcjonalnych FcγRIIIa może tłumaczyć stwierdzoną wcześniej zwiększoną immunokompleksemię przy jednoczesnym wzroście odsetka monocytów z FcγR oraz dysfunkcję komórek NK u tych samych chorych.
2. Analiza porównawcza częstości występowania polimorfizmów genów *FCGR* w poszczególnych fazach SA wykazała odmienną genetyczną wczesnych i zaawansowanych stadiów SA, podkreślając komponentę autoimmunizacyjną, zwłaszcza początkowych stadiów choroby. We wczesnych stadiach choroby (I, II, I/II) przewaga alleli i genotypów, kodujących mniej funkcjonalne receptory FcγRIIIa, FcγRIIc, FcγRIIIb w porównaniu z zaawansowanymi jej stadiami (III, IV, III/IV) może skutkować obniżoną fagocytozą KI/Ag i immunokompleksemią w początkowych fazach SA.
3. W TB zwiększone ryzyko zachorowania było związane z obecnością polimorfizmów genów *FCGR2C* oraz *FCGR3B* i występowaniem bardziej funkcjonalnych receptorów FcγRIIc oraz FcγRIIIb, które zwiększają klirens KI/Ag/Mtb i powodują mniejszą immunokompleksemię u tych chorych.
4. Porównawcza analiza polimorfizmów w/w genów *FCGR* w SA, jej poszczególnych fazach oraz w TB, potwierdziła możliwość częstszego występowania mniej funkcjonalnych receptorów FcγRIIc, FcγRIIIa i FcγRIIIb w SA niż w gruźlicy. Może to być przyczyną obniżenia klirensu KI/Ag i większej immunokompleksii w sarkoidozie niż w gruźlicy, wykazanej w poprzednich badaniach u tych samych chorych. Ponadto częstsze występowanie alleli i genotypów, kodujących funkcjonalne FcγR u chorych na TB, w porównaniu do pacjentów z SA oraz osób zdrowych, może również skutkować nadmierną aktywacją neutrofilii i NETozą, która może utrudniać fagocytozę Mtb i przyczynić się do rozwoju gruźlicy.
5. Wykazane różnice w częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów między SA i TB, a zwłaszcza w zakresie genów *FCGR3A* (genotyp 158FV) oraz *FCGR3B* (genotyp NA1/NA2), mogą stać się pomocne w różnicowaniu tych dwóch chorób, jednak wymagają potwierdzenia na większych grupach badanych.
6. Liczba kopii poszczególnych genów *FCGR* nie miała wpływu na zwiększone ryzyko zachorowania na sarkoidozę i gruźlicę płuc oraz nie różniła się między tymi dwoma chorobami.

8. PIŚMIENICTWO

1. Hutchinson J. Anomalous disease of the skin of the fingers: Case of livid papillary psoriasis. *Illus Clin Surg.* 1877;1:42–3.
2. Besnier E. Lupus pernio de la face: synovites fongueses symétriques des extrémités supérieures. *Ann Dermatol Syphilol.* 1889;10:333–6.
3. Sharma OP. Definition and history of sarcoidosis. *Eur Respir Monogr.* 2005;32:1.
4. Boeck C. Multiple benign sarcoid of the skin. *J Cut Genito-Urin Dis.* 1899;17:543–50.
5. Mikhail JR, Mitchell DN. The Kveim test in sarcoidosis. *Postgrad Med J.* 1970;46:484–5.
6. Scadding JG. Prognosis of intrathoracic sarcoidosis in England. *Br Med J.* 1961;2:1165.
7. Ikeda S, Yanai N, Ishikawa S. Flexible bronchofiberscope. *Keio J Med.* 1968;17:1–16.
8. Rudd RM, Haslam PL, Turner-Warwick M. Cryptogenic fibrosing alveolitis: relationships of pulmonary physiology and bronchoalveolar lavage to response to treatment and prognosis. *Am Rev Respir Dis.* 1981;124:1–8.
9. Strumpf IJ, Feld MK, Cornelius MJ, Keogh BA, Crystal RG. Safety of fiberoptic bronchoalveolar lavage in evaluation of interstitial lung disease. *Chest.* 1981;80:268–71.
10. Hunninghake GW, Costabel U, Ando M, Baughman R, Cordier JF, du Bois R i wsp. ATS/ERS/WASOG statement on sarcoidosis. American Thoracic Society/European Respiratory Society/World Association of Sarcoidosis and other Granulomatous Disorders. *Sarcoidosis Vasc Diffus lung Dis.* 1999;16:149–73.
11. Dubaniewicz A. Sarkoidoza-choroba o wielu twarzach. *Forum Med Rodz.* 2009. p. 27–41.
12. Leão SC, Portaels F. History of Tuberculosis. *Tuberc* 2007, Palomino JC, Leão SC, Ritacco V. (eds) p25-49.
13. World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2021. <https://www.who.int/publications-detail-redirect/9789240037021>.
14. World Health Organization. WHO consolidated guidelines on tuberculosis: module 2: screening: systematic screening for tuberculosis disease. World Health Organization, 2021.
15. Hetherington S. Sarcoidosis in young children. *Am J Dis Child.* 1982;136:13–5.
16. Chevalet P, Clément R, Rodat O, Moreau A, Bricseau J-M, Clarke J-P. Sarcoidosis diagnosed in elderly subjects: retrospective study of 30 cases. *Chest.* 2004;126:1423–30.
17. Henke CE, Henke G, Elveback LR, Beard M, Ballard DJ, Kurland LT. The epidemiology of sarcoidosis in Rochester, Minnesota: a population-based study of incidence and survival. *Am J Epidemiol.* 1986;123:840–5.
18. Rybicki BA, Major M, Popovich Jr J, Maliank MJ, Iannuzzi MC. Racial differences in sarcoidosis incidence: a 5-year study in a health maintenance organization. *Am J Epidemiol.* 1997;145:234–41.
19. Badrinas F, Morera J, Fité E, Plasencia A. Seasonal clustering of sarcoidosis. *Lancet.* 1989;334:455–6.
20. Glennås A, Kvien TK, Melby K, Refvem OK, Andrup O, Karstensen B i wsp. Acute sarcoid arthritis: occurrence, seasonal onset, clinical features and outcome. *Rheumatology.* 1995;34:45–50.
21. Arkema E V., Grunewald J, Kullberg S, Eklund A, Askling J. Sarcoidosis incidence and prevalence: A nationwide register-based assessment in Sweden. *Eur Respir J.* 2016;48:1690–9.
22. Pietinalho A. Sarcoidosis in Finland and Hokkaido, Japan. *Respir Med.* 1999;93:408-12.
23. Mana J, Badrinas F, Morera J, Fite E, Manresa F, Fernandez-Nogues F. Sarcoidosis in Spain. *Sarcoidosis.* 1992;9:118–22.
24. Yoon H-Y, Kim HM, Kim Y-J, Song JW. Prevalence and incidence of sarcoidosis in Korea: a nationwide population-based study. *Respir Res.* 2018;19:158.
25. Thomeer M, Demedts M, Wuyts W. Epidemiology of sarcoidosis. *Eur Respir Monogr.* 2005;32:13.

26. Jaroszewicz W. Sarkoidoza. PZWL, Warszawa. 1976.
27. Bogdan M, Nitsch-Osuch A, Kanecki K, Goryński P, Tyszko P, Barańska A, i wsp. Sarcoidosis among hospitalized patients in Poland: a study based on a national hospital registry. *Polish Arch Intern Med.* 2019;129:580–5.
28. Iwai K, Sekiguti M, Hosoda Y, DeRemee RA, Tazelaar HD, Sharma OP, i wsp. Racial difference in cardiac sarcoidosis incidence observed at autopsy. *Sarcoidosis.* 1994;11:26–31.
29. Morimoto T, Azuma A, Abe S, Usuki J, Kudoh S, Sugisaki K i wsp. Epidemiology of sarcoidosis in Japan. *Eur Respir J.* 2008;31:372–9.
30. Keller AZ. Hospital, age, racial, occupational, geographical, clinical and survivorship characteristics in the epidemiology of sarcoidosis. *Am J Epidemiol.* 1971;94:222–30.
31. Dubaniewicz A. Teoria Danger jako wspólny mechanizm indukcji sarkoidozy przez czynniki infekcyjne i nieinfekcyjne – rola czynników środowiskowych i autoimmunizacji. *Pol Merkur Lekarski.* 2018;44:97–100.
32. Vynnycky E, Fine PEM. The natural history of tuberculosis: the implications of age-dependent risks of disease and the role of reinfection. *Epidemiol Infect.* 1997;119:183–201.
33. Korzeniewska-Koseła M. Gruźlica i Choroby Układu Oddechowego w Polsce w 2020 roku. Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc, Warszawa. 2021.
34. Tuberculosis. Annual epidemiological report for 2019. European Centre for Disease Prevention and Control, Stockholm. 2021.
35. Crouser ED, Maier LA, Wilson KC, Bonham CA, Morgenthau AS, Patterson KC i wsp. Diagnosis and detection of sarcoidosis. An official American Thoracic Society clinical practice guideline. *Am J Respir Crit Care Med.* 2020;201:26–51.
36. Shah KK, Pritt BS, Alexander MP. Histopathologic review of granulomatous inflammation. *J Clin Tuberc Other Mycobact Dis.* 2017;7:1–12.
37. Valeyre D, Prasse A, Nunes H, Uzunhan Y, Brillet PY, Müller-Quernheim J. Sarcoidosis. 2014;383:1155–67.
38. Gerke AK, Judson MA, Cozier YC, Culver DA, Koth LL. Disease burden and variability in sarcoidosis. *Ann Am Thorac Soc.* 2017;14:S421–8.
39. Baughman RP, Teirstein S, Judson M, Rossman MD, Yeager Jr. H, Bresnitz E i wsp. Clinical characteristics of patients in a case control study of sarcoidosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;164:1885–9.
40. De Vries J, Michielsen H, Van Heck GL, Drent M. Measuring fatigue in sarcoidosis: the Fatigue Assessment Scale (FAS). *Br J Health Psychol.* 2004;9:279–91.
41. Michielsen HJ, Drent M, Peros-Golubicic T, De Vries J. Fatigue is associated with quality of life in sarcoidosis patients. *Chest.* 2006;130:989–94.
42. Centers for Disease Control and Prevention. <http://www.cdc.gov/cfs/case-definition/>; 28.01.2016.
43. Mañá J, Marcoval J. Skin manifestations of sarcoidosis. *Presse Med.* 2012;41:e355–74.
44. Judson MA. Extrapulmonary sarcoidosis. *Semin Respir Crit Care Med.* 2007;83–101.
45. Herbort CP, Rao NA, Mochizuki M, (IWOS) the members of the SC of the FIW on OS. International Criteria for the Diagnosis of Ocular Sarcoidosis: Results of the First International Workshop on Ocular Sarcoidosis (IWOS). *Ocul Immunol Inflamm.* 2009;17:160–9.
46. Baughman RP, Lower EE, Kaufman AH. Ocular sarcoidosis. *Semin Respir Crit Care Med.* 2010;452–62.
47. Cremers J, Drent M, Driessen A, Nieman F, Wijnen P, Baughman R i wsp. Liver-test abnormalities in sarcoidosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2012;24:17–24.
48. Birnie DH, Nery PB, Ha AC, Beanlands RSB. Cardiac sarcoidosis. *J Am Coll Cardiol.* 2016;68:411–21.
49. Hoitsma E, Faber CG, Drent M, Sharma OP. Neurosarcoidosis: a clinical dilemma. *Lancet Neurol.* 2004;3:397–407.

50. Baughman RP, Teirstein AS, Judson MA, Rossman MD, Yeager Jr H, Bresnitz EA i wsp. Clinical characteristics of patients in a case control study of sarcoidosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;164:1885–9.
51. Sweiss NJ, Patterson K, Sawaged R, Jabbar U, Korsten P, Hogarth K i wsp. Rheumatologic manifestations of sarcoidosis. *Semin Respir Crit Care Med.* 2010;1:463–73.
52. Miller BH, Putman CE. The chest radiograph and sarcoidosis. Reevaluation of the chest radiograph in assessing activity of sarcoidosis: a preliminary communication. *Sarcoidosis.* 1985;2:85–90.
53. Prasse A, Katic C, Germann M, Buchwald A, Zissel G, Müller-Quernheim J. Phenotyping sarcoidosis from a pulmonary perspective. *Am J Respir Crit Care Med.* 2008;177:330–6.
54. Schupp JC, Freitag-Wolf S, Bargagli E, Mihailović-Vučinić V, Rottoli P, Grubanovic A i wsp. Phenotypes of organ involvement in sarcoidosis. *Eur Respir J.* 2018;51:1700991.
55. Dabir D, Meyer D, Kuetting D, Luetkens J, Homsy R, Pizarro C i wsp. Diagnostic Value of Cardiac Magnetic Resonance Strain Analysis for Detection of Cardiac Sarcoidosis. *Rofo.* 2018;190:712–21.
56. Sekhri V, Sanal S, DeLorenzo LJ, Aronow WS, Maguire GP. Cardiac sarcoidosis: A comprehensive review. *Arch Med Sci.* 2011;7:546–54.
57. Hebel R, Dubaniewicz-Wybieralska M, Dubaniewicz A. Neurosarcoidosis - diagnosis, clinical picture and therapy. *Pol Merkur Lekarski.* 2018;44:130–4.
58. Kurmann R, Mankad S V, Mankad R. Echocardiography in Sarcoidosis. *Curr Cardiol Rep.* 2018;20:118.
59. Thunell M, Bjerle P, Stjernberg N. ECG abnormalities in patients with sarcoidosis. *Acta Med Scand.* 1983;213:115–8.
60. Hulten E, Aslam S, Osborne M, Abbasi S, Bittencourt MS, Blankstein R. Cardiac sarcoidosis-state of the art review. *Cardiovasc Diagn Ther.* 2016;6:50–63.
61. Youssef G, Leung E, Mylonas I, Nery P, Williams K, Wisenberg G i wsp. The use of 18F-FDG PET in the diagnosis of cardiac sarcoidosis: a systematic review and metaanalysis including the Ontario experience. *J Nucl Med.* 2012;53:241–8.
62. Martusewicz-Boros M, Wiatr E, Piotrowska-Kownacka D, Tomkowski W, Roszkowski-Śliż K. Sarkoidoza z zajęciem serca-doświadczenia własne. *Pneumonol Alergol Pol.* 2007;75:100–99.
63. Nishiyama Y, Yamamoto Y, Fukunaga K, Takinami H, Iwado Y, Satoh K i wsp. Comparative evaluation of 18F-FDG PET and 67Ga scintigraphy in patients with sarcoidosis. *J Nucl Med.* 2006;47:1571–6.
64. Danila E, Zurauskas E. Diagnostic value of epithelioid cell granulomas in bronchoscopic biopsies. *Internal Medicine.* 2008;47:2121–6.
65. Heron M, Sliker WAT, Zanen P, van Lochem EG, Hooijkaas H, van den Bosch JMM i wsp. Evaluation of CD103 as a cellular marker for the diagnosis of pulmonary sarcoidosis. *Clin Immunol.* 2008;126:338–44.
66. Costabel U. Sensitivity and specificity of BAL findings in sarcoidosis. *Sarcoidosis.* 1992;9:211–4.
67. Lieberman J. Elevation of serum angiotension-converting-enzyme (ACE) level in sarcoidosis. *Am J Med.* 1975;59:365–72.
68. Martusewicz-Boros MM, Boros PW, Wiatr E, Fijołek J, Roszkowski-Śliż K. Systemic treatment for sarcoidosis was needed for 16% of 1810 Caucasian patients. *Clin Respir J.* 2018;12:1367–71.
69. Drent M, Crouser ED, Grunewald J. Challenges of Sarcoidosis and Its Management. *N Engl J Med.* 2021;385:1018–32.
70. Baughman RP, Grutters JC. New treatment strategies for pulmonary sarcoidosis: antimetabolites, biological drugs, and other treatment approaches. *Lancet Respir Med.*

2015;3:813–22.

71. Nunley DR, Hattler B, Keenan RJ, Iacono AT, Yousem S, Ohori NP i wsp. Lung transplantation for end-stage pulmonary sarcoidosis. *Sarcoidosis Vasc Diffus lung Dis.* 1999;16:93–100.

72. Korzeniewska-Koseła M. Gruźlica i choroby układu oddechowego w Polsce w 2018 roku. <https://szczepienia.pzh.gov.pl/instytut-gruzlicy-chorob-pluc2019>.

73. Rymkiewicz E, Milaniuk S, Rękas-Wójcik A, Dzida G, Mosiewicz J. Gruźlica pozapłucna—problem interdyscyplinarny. *Forum Med Rodz.* 2016. 34–41.

74. Hoa NB, Sy DN, Nhung NV, Tiemersma EW, Borgdorff MW, Cobelens FGJ. National survey of tuberculosis prevalence in Vietnam *bull. World Health Organization.* 2010;88:273–80.

75. Migliori GB, Sotgiu G, Rosales-Klintz S, Centis R, D’Ambrosio L, Abubakar I i wsp. ERS/ECDC Statement: European Union standards for tuberculosis care, 2017 update. *Eur Respir J.* 2018;51.

76. Menzies D, Schwartzman K, Pai M. Immune-based tests for tuberculosis. *Tuberculosis.* 2009;179–96.

77. Chadha VK. Tuberculin test. *Indian J Pediatr.* 2001;68:53–8.

78. Jakubowiak W, Korzeniewska-Koseła M, Kuś J, Michałowska-Mitczuk D, Wesołowski S, Ziegman M i wsp. IGiChP, Warszawa 2001.

79. Menzies R, Vissandjee B, Rocher I, Germain YS. The booster effect in two-step tuberculin testing among young adults in Montreal. *Ann Intern Med.* 1994;120:190–8.

80. WHO consolidated guidelines on tuberculosis. Module 3: Diagnosis- Rapid diagnostics for tuberculosis detection 2021 update.

81. Borkowska D, Radzikowska E, Załęska J, Ziołkowski J, Klatt M, Zwolska Z, Augustynowicz-Kopeć E, Roszkowski-Śliż K. Interferon-Gamma Release Assays in the diagnosis of latent tuberculosis infection in clinical situations. *Advances in Respiratory Medicine.* 2014;82.1:39-45.

82. van Zyl-Smit RN, Zwerling A, Dheda K, Pai M. Within-subject variability of interferon- γ assay results for tuberculosis and boosting effect of tuberculin skin testing: a systematic review. *PLoS One.* 2009;4:e8517.

83. World Health Organization. Systematic screening for active tuberculosis: principles and recommendations. World Health Organization. 2013.

84. Nakanishi M, Demura Y, Ameshima S, Kosaka N, Chiba Y, Nishikawa S i wsp. Utility of high-resolution computed tomography for predicting risk of sputum smear-negative pulmonary tuberculosis. *Eur J Radiol.* 2010;73:545–50.

85. Augustynowicz-Kopeć E i wsp. Zalecenia Polskiego Towarzystwa Chorób Płuc dotyczące rozpoznawania, leczenia i zapobiegania gruźlicy u dorosłych i dzieci. *Pneumonol Alergol Pol.* 2013;81:323-379.

86. Kim J, Lee IJ, Kim J-H. CT findings of pulmonary tuberculosis and tuberculous pleurisy in diabetes mellitus patients. *Diagnostic Interv Radiol.* 2017;23:112.

87. Nachiappan AC, Arun C i wsp. Pulmonary tuberculosis: role of radiology in diagnosis and management. *Radiographics.* 2017;37.1:52-72.

88. World Health Organization. Treatment of tuberculosis: guidelines. World Health Organization. 2010.

89. World Health Organization. WHO treatment guidelines for drug-resistant tuberculosis. World Health Organization. 2016.

90. World Health Organization. Guidance for National Tuberculosis Programmes on the Management of Tuberculosis in Children. 2014.

91. Matzinger P. Tolerance, danger, and the extended family. *Annu Rev Immunol.* 1994;12: 991–1045.

92. Dubaniewicz A. Microbial and human heat shock proteins as “danger signals” in sarcoidosis. *Hum Immunol.* 2013;74:1550–8.
93. Dubaniewicz A, Dubaniewicz-Wybieralska M, Sternau A, Zwolska Z, Izycka-Świeszewska E, Augustynowicz-Kopeć E i wsp. Mycobacterium tuberculosis complex and mycobacterial heat shock proteins in lymph node tissue from patients with pulmonary sarcoidosis. *J Clin Microbiol.* 2006;44:3448–51.
94. Dubaniewicz A, Holownia A, Kalinowski L, Wybieralska M, Dobrucki IT, Singh M. Is mycobacterial heat shock protein 16kDa, a marker of the dormant stage of Mycobacterium tuberculosis, a sarcoid antigen? *Hum Immunol.* 2013;74:45–51.
95. Dubaniewicz A, Kämpfer S, Singh M. Serum anti-mycobacterial heat shock proteins antibodies in sarcoidosis and tuberculosis. *Tuberculosis.* 2006;86:60–7.
96. Sakthivel P, Bruder D. Mechanism of granuloma formation in sarcoidosis. *Curr Opin Hematol.* 2017;24:59–65.
97. Rose NR, Bona C. Defining criteria for autoimmune diseases (Witebsky’s postulates revisited). *Immunol Today.* 1993;14:426–30.
98. Dubaniewicz A. Mycobacterium tuberculosis heat shock proteins and autoimmunity in sarcoidosis. *Autoimmun Rev.* 2010;9:419–24.
99. Maher D. The natural history of *Mycobacterium tuberculosis* infection in adults. W: Schaaf HS, Zumla AI. ed. *Tuberculosis a comprehensive clinical reference.* Saunders, Europe 2009: 29–132.
100. Eum S-Y, Kong J-H, Hong M-S, Lee Y-J, Kim J-H, Hwang S-H i wsp. Neutrophils are the predominant infected phagocytic cells in the airways of patients with active pulmonary TB. *Chest.* 2010;137:122–8.
101. de Martino M, Galli L, Chiappini E. Reflections on the immunology of tuberculosis: will we ever unravel the skein? *BMC Infect Dis.* 2014;14:S1.
102. Pilling D, Gomer RH. The development of serum amyloid P as a possible therapeutic. *Frontiers in immunology* 2018, 9:2328.
103. Demkow U, Białas-Chromiec B, Filewska M, Sobiecka M, Kuś J, Szturmowicz M, Zielonka T, Augustynowicz-Kopeć E, Zwolska Z, Wasik M, Rowińska-Zakrzewska E. Humoral immune response against mycobacterial antigens in bronchoalveolar fluid from tuberculosis patients. *Journal of Physiology and Pharmacology: an Official Journal of the Polish Physiological Society.* 2005;56:79-84.
104. Ramos-Kichik V i wsp. Neutrophil extracellular traps are induced by *Mycobacterium tuberculosis*. *Tuberculosis* 2009;89.1:29-37.
105. Matoszka N, Działo J, Tokarz-Deptuła B i Deptuła W. NET and NETosis-new phenomenon in immunology. *Postepy higieny i medycyny doswiadczalnej* 2012: 66, 437-445.
106. Moreira-Teixeria L i wsp. Type I IFN exacerbates disease in tuberculosis-susceptible mice by inducing neutrophil-mediated lung inflammation and NETosis. *Nat Commun.* 2020;11.1:1-18.
107. Kolaczowska E, Kubes P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nat Rev Immunol* 2013;13:159-175.
108. Masuda S i wsp. Formation and disordered degradation of neutrophil extracellular traps in necrotizing lesions of anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Am J Pathol.* 2019. 189.4: 839-846.
109. Dubaniewicz A, Trzonkowski P, Dubaniewicz-Wybieralska M, Dubaniewicz A, Singh M, Myśliwski A. Mycobacterial heat shock protein-induced blood T lymphocytes subsets and cytokine pattern: Comparison of sarcoidosis with tuberculosis and healthy controls. *Respirology.* 2007;12:346–54.
110. Dubaniewicz A, Trzonkowski P, Dubaniewicz-Wybieralska M, Dubaniewicz A, Singh M,

- Myśliwski A. Comparative analysis of mycobacterial heat shock proteins-induced apoptosis of peripheral blood mononuclear cells in sarcoidosis and tuberculosis. *J Clin Immunol*. 2006;26:243–50.
111. Dubaniewicz A, Typiak M, Wybieralska M, Szadurska M, Nowakowski S, Staniewicz-Panasik A i wsp. Changed phagocytic activity and pattern of Fc γ and complement receptors on blood monocytes in sarcoidosis. *Hum Immunol*. 2012;73:788–94.
112. Nowakowski S, Typiak M, Dubaniewicz A. Receptory dla Fc części stałej immunoglobuliny G w etiopatogenezie chorób z autoagresji. *Int Rev Allergol Clin Immunol Fam Med*. 2015;21:55–61.
113. Brennan NJ, Crean P, Long JP, Fitzgerald MX. High prevalence of familial sarcoidosis in an Irish population. *Thorax*. 1984;39.1:14-18.
114. Judson MA, Hirst K, Iyengar SK, Rybicki BA, El Ghormli L, Baughman RP i wsp. Comparison of sarcoidosis phenotypes among affected African-American siblings. *Chest*. 2006;130:855–62.
115. Schurmann M, Reichel P, Muller-Myhsok B, Schlaak M, Muller-Quernheim J, Schwinger E. Results from a genome-wide search for predisposing genes in sarcoidosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;164:840–6.
116. Iannuzzi MC, Iyengar SK, Gray-McGuire C, Elston RC, Baughman RP, Donohue JF i wsp. Genome-wide search for sarcoidosis susceptibility genes in African Americans. *Genes Immun*. 2005;6:509.
117. Gray-McGuire C, Sinha R, Iyengar S, Millard C, Rybicki BA, Elston RC i wsp. Genetic characterization and fine mapping of susceptibility loci for sarcoidosis in African Americans on chromosome 5. *Hum Genet*. 2006;120:420–30.
118. Morrison J, Pai M, Hopewell PC. Tuberculosis and latent tuberculosis infection in close contacts of people with pulmonary tuberculosis in low-income and middle-income countries: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2008;8:359–68.
119. Sorensen TIA, Nielsen GO, Anderson PK, Teasdale TW. Genetic and environmental influences on premature death in adult adoptees. *N Engl J Med*. 1988;318:727-32.
120. Flynn JL. Lessons from experimental Mycobacterium tuberculosis infections. *Microbes Infect*. 2006;8:1179–88.
121. Bellamy R, Beyers N, McAdam KPWJ, Ruwende C, Gie R, Samaai P i wsp. Genetic susceptibility to tuberculosis in Africans: a genome-wide scan. *Proc Natl Acad Sci*. 2000;97:8005–9.
122. Jamieson SE, Miller EN, Black GF, Peacock CS, Cordell HJ, Howson JMM i wsp. Evidence for a cluster of genes on chromosome 17q11–q21 controlling susceptibility to tuberculosis and leprosy in Brazilians. *Genes Immun*. 2004;5:46–57.
123. Miller EN, Jamieson SE, Joberty C, Fakiola M, Hudson D, Peacock CS i wsp. Genome-wide scans for leprosy and tuberculosis susceptibility genes in Brazilians. *Genes Immun*. 2004;5:63–7.
124. Png E, Alisjahbana B, Sahiratmadja E, Marzuki S, Nelwan R, Balabanova Y i wsp. A genome wide association study of pulmonary tuberculosis susceptibility in Indonesians. *BMC Med Genet*. 2012;13:5.
125. Thye T, Vannberg FO, Wong SH, Owusu-Dabo E, Osei I, Gyapong J, Morris AP i wsp. Genome-wide association analyses identifies a susceptibility locus for tuberculosis on chromosome 18q11.2. *Nat Genet*. 2010;42.9:739-741.
126. Thye T, Owusu-Dabo E, Vannberg FO, van Crevel R, Curtis J, Sahiratmadja E i wsp. Common variants at 11p13 are associated with susceptibility to tuberculosis. *Nat Genet*. 2012;44:257–9.
127. Wang X, Tang NL-S, Leung CC, Kam KM, Yew WW, Tam CM i wsp. Association of polymorphisms in the Chr18q11. 2 locus with tuberculosis in Chinese population. *Hum*

Genet. 2013;132:691–5.

128. Chimusa ER, Zaitlen N, Daya M, Möller M, van Helden PD, Mulder NJ i wsp. Genome-wide association study of ancestry-specific TB risk in the South African Coloured population. *Hum Mol Genet.* 2014;23:796–809.

129. Malkova A, Starshinova A, Zinchenko Y, Basantsova N, Mayevskaya V, Yablonskiy P i wsp. The opposite effect of human leukocyte antigen genotypes in sarcoidosis and tuberculosis: a narrative review of the literature. *ERJ Open Res.* 2020;6.3.

130. Dubaniewicz A, Szczerkowska Z, Hoppe A. Comparative analysis of HLA class I antigens in pulmonary sarcoidosis and tuberculosis in the same ethnic group. *Mayo Clin Proc.* 2003;436–42.

131. Dubaniewicz A, Moszkowska G. Analysis of occurrence of DRB and DQ alleles in sarcoidosis and tuberculosis from Northern Poland. *Adv Respir Med.* 2007;75:13–21.

132. Dubaniewicz A, Dubaniewicz A, Dubaniewicz A, Moszkowska G. DQA1* 03011 allele: protective or an adverse effect on the development of sarcoidosis; preliminary study. *Respir Med.* 2007;101:2213–6.

133. Dubaniewicz A, Zimmermann A, Dudziak M, Typiak M, Skotarczak M. Tuberculosis in the course of sarcoidosis treatment: is genotyping necessary for personalized therapy? *Expert Rev Clin Immunol.* 2013;9:349–60.

134. Salie M, van der Merwe L, Möller M, Daya M, van der Spuy GD, van Helden PD i wsp. Associations Between Human Leukocyte Antigen Class I Variants and the Mycobacterium tuberculosis Subtypes Causing Disease. *J Infect Dis.* 2013;209:216–23.

135. Martinetti M, Tinelli C, Kolek V, Cuccia M, Salvaneschi L, Pasturenzi L i wsp. “The sarcoidosis map”: a joint survey of clinical and immunogenetic findings in two European countries. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995;152:557–64.

136. Balamurugan A, Sharma SK, Mehra NK. Human leukocyte antigen class I supertypes influence susceptibility and severity of tuberculosis. *J Infect Dis.* 2004;189:805–11.

137. Ruggiero G, Cosentini E, Zanzi D, Sanna V, Terrazzano G, Matarese G i wsp. Allelic distribution of human leucocyte antigen in historical and recently diagnosed tuberculosis patients in Southern Italy. *Immunology.* 2004;111:318–22.

138. Rajalingam R, Mehra NK, Mehra RD, Neolia S, Jain RC, Pande JN. HLA class I profile in Asian Indian patients with pulmonary tuberculosis. *Indian J Exp Biol.* 1997;35:1055–9.

139. Grunewald J, Eklund A, Olerup O. Human leukocyte antigen class I alleles and the disease course in sarcoidosis patients. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004;169:696–702.

140. Gardner J, Kennedy HG, Hamblin A, Jones E. HLA associations in sarcoidosis: a study of two ethnic groups. *Thorax.* 1984;39:19–22.

141. Singh SPN, Mehra NK, Dingley HB, Pande JN, Vaidya M. HLA-A,-B,-C and -DR antigen profile in pulmonary tuberculosis in North India. *Tissue Antigens.* 1983;21:380–4.

142. Rajalingam R, Mehra NK, Jain RC, Myneedu VP, Pande JN. Polymerase chain reaction-based sequence-specific oligonucleotide hybridization analysis of HLA class II antigens in pulmonary tuberculosis: relevance to chemotherapy and disease severity. *J Infect Dis.* 1996;173:669–76.

143. Selvaraj P, Uma H, Reetha AM, Kurian SM, Xavier T, Prabhakar R i wsp. HLA antigen profile in pulmonary tuberculosis patients and their spouses. *Indian J Med Res.* 1998;107: 155–8.

144. Brahmajothi V, Pitchappan RM, Kakkanaiah VN, Sashidhar M, Rajaram K, Ramu S i wsp. Association of pulmonary tuberculosis and HLA in south India. *Tubercle.* 1991;72:123–32.

145. Berlin M, Fogdell-Hahn A, Olerup O, Eklund A, Grunewald J. HLA-DR predicts the prognosis in Scandinavian patients with pulmonary sarcoidosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997;156:1601–5.

146. Grutters JC, Sato H, Welsh KI, du Bois RM. The importance of sarcoidosis genotype

- to lung phenotype. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2003;29.3:S59.
147. Foley PJ, McGrath DS, Puscinska E, Petrek M, Kolek V, Drabek J i wsp. Human leukocyte antigen-DRB1 position 11 residues are a common protective marker for sarcoidosis. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2001;25:272–7.
 148. Sato H, Woodhead FA, Ahmad T, Grutters JC, Spagnolo P, van den Bosch JMM i wsp. Sarcoidosis HLA class II genotyping distinguishes differences of clinical phenotype across ethnic groups. *Hum Mol Genet.* 2010;19:4100–11.
 149. Bogunia-Kubik K, Tomeczko J, Suchnicki K, Lange A. HLA-DRB1*03, DRB1*11 or DRB1*12 and their respective DRB3 specificities in clinical variants of sarcoidosis. 2001;57:87–90.
 150. Grunewald J, Eklund A. Lofgren's syndrome: human leukocyte antigen strongly influences the disease course. *Am J Respir Crit Care Med.* 2009;179:307–12.
 151. Chen BF, Wang R, Chen YJ, Zhu Y, Ding L, Wen YF. Association between HLA-DRB1 alleles and tuberculosis: a meta-analysis. *Genet Mol Res.* 2015;14:15859–68.
 152. Oliveira-Cortez A, Melo AC, Chaves VE, Condino-Neto A, Camargos P. Do HLA class II genes protect against pulmonary tuberculosis? A systematic review and meta-analysis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2016;35:1567–80.
 153. Sato H, Nagai S, Du Bois RM, Handa T, Sugino-shita Y, Ohta K i wsp. HLA-DQB1* 0602 allele is associated with splenomegaly in Japanese sarcoidosis. *J Intern Med.* 2007;262: 449–57.
 154. Oswald-Richter K, Sato H, Hajizadeh R, Shepherd BE, Sidney J, Sette A i wsp. Mycobacterial ESAT-6 and katG are recognized by sarcoidosis CD4+ T cells when presented by the American sarcoidosis susceptibility allele, DRB1*1101. *J Clin Immunol.* 2010;30: 157–66.
 155. Rossmann MD, Thompson B, Frederick M, Maliarik M, Iannuzzi MC, Rybicki BA i wsp. HLA-DRB1* 1101: a significant risk factor for sarcoidosis in blacks and whites. *Am J Hum Genet.* 2003;73:720–35.
 156. Dubaniewicz A, Lewko B, Moszkowska G, Zamorska B, Stepinski J. Molecular subtypes of the HLA-DR antigens in pulmonary tuberculosis. *Int J Infect Dis.* 2000;4:129–33.
 157. Tong X, Chen L, Liu S, Yan Z, Peng S, Zhang Y i wsp. Polymorphisms in HLA-DRB1 gene and the risk of tuberculosis: a meta-analysis of 31 studies. *Lung.* 2015;193:309–18.
 158. Dubaniewicz A, Moszkowska G, Szczerkowska Z. Frequency of DRB1–DQB1 two-locus haplotypes in tuberculosis: Preliminary report. *Tuberculosis.* 2005;85:259–67.
 159. Dubaniewicz A, Moszkowska G, Szczerkowska Z, Hoppe A. Analysis of DQB1 allele frequencies in pulmonary tuberculosis: preliminary report. *Thorax.* 2003;58:890–1.
 160. Sato H, Grutters JC, Pantelidis P, Mizzon AN, Ahmad T, van Houte A-J i wsp. HLA-DQB1* 0201: a marker for good prognosis in British and Dutch patients with sarcoidosis. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2002;27:406–12.
 161. Naruse TK, Matsuzawa Y, Ota M, Katsuyama Y, Matsumori A, Hara M i wsp. HLA-DQB1*0601 is primarily associated with the susceptibility to cardiac sarcoidosis. 2000; 56: 52–7.
 162. Iannuzzi MC, Maliarik MJ, Poisson LM, Rybicki BA. Sarcoidosis susceptibility and resistance HLA-DQB1 alleles in African Americans. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003;167:1225–31.
 163. Iannuzzi MC, Rybicki BA. Genetics of sarcoidosis: candidate genes and genome scans. *Proc Am Thorac Soc.* 2007;4:108–16.
 164. Dubaniewicz A, Jamieson SE, Dubaniewicz-Wybieralska M, Fakiola M, Miller EN, Blackwell JM. Association between SLC11A1 (formerly NRAMPI) and the risk of sarcoidosis in Poland. *Eur J Hum Genet.* 2005;13:829.
 165. Vidal S, Tremblay ML, Govoni G, Gauthier S, Sebastiani G, Malo D i wsp.

- The Ity/Lsh/Bcg locus: natural resistance to infection with intracellular parasites is abrogated by disruption of the *Nramp1* gene. *J Exp Med*. 1995;182:655–66.
166. Lang T, Prina E, Sibthorpe D, Blackwell JM. *Nramp1* transfection transfers Ity/Lsh/Bcg-related pleiotropic effects on macrophage activation: influence on antigen processing and presentation. *Infect Immun. Am Soc Microbiol*; 1997;65:380–6.
 167. Blackwell JM, Goswami T, Evans CAW, Sibthorpe D, Papo N, White JK i wsp. *SLC11A1* (formerly *NRAMP1*) and disease resistance: Microreview. *Cell Microbiol*. 2001;3:773–84.
 168. Maliarik MJ, Chen KM, Sheffer RG, Rybicki BA, Major ML, Popovich Jr J i wsp. The natural resistance-associated macrophage protein gene in African Americans with sarcoidosis. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2000;22:672–5.
 169. Gao P, Fujishima S, Mao X, Remus N, Kanda M, Enomoto T i wsp. Genetic variants of *NRAMP1* and active tuberculosis in Japanese populations. *Clin Genet*. 2000;58:74–6.
 170. Ryu S, Park Y-K, Bai G-H, Kim S-J, Park S-N, Kang S. 3' UTR polymorphisms in the *NRAMP1* gene are associated with susceptibility to tuberculosis in Koreans. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2000;4:577–80.
 171. Bellamy R, Ruwende C, Corrah T, McAdam KP, Whittle HC, Hill A V. Variations in the *NRAMP1* gene and susceptibility to tuberculosis in West Africans. *N Engl J Med*. 1998;338:640–4.
 172. Hoal EG, Lewis LA, Jamieson SE, Tanzer F, Rossouw M, Victor T i wsp. *SLC11A1* (*NRAMP1*) but not *SLC11A2* (*NRAMP2*) polymorphisms are associated with susceptibility to tuberculosis in a high-incidence community in South Africa. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2004;8:1464–71.
 173. Cervino ACL, Lakiss S, Sow O, Hill AVS. Allelic association between the *NRAMP1* gene and susceptibility to tuberculosis in Guinea-Conakry. *Ann Hum Genet*. 2000;64:507–12.
 174. Li HT, Zhang TT, Zhou YQ, Huang QH, Huang J. *SLC11A1* (formerly *NRAMP1*) gene polymorphisms and tuberculosis susceptibility: a meta-analysis. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2006;10:3–12.
 175. Li X, Yang Y, Zhou F, Zhang Y, Lu H, Jin Q i wsp. *SLC11A1* (*NRAMP1*) polymorphisms and tuberculosis susceptibility: updated systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2011;6:e15831.
 176. Zorzetto M, Bombieri C, Ferrarotti I, Medaglia S, Agostini C, Tinelli C i wsp. Complement receptor 1 gene polymorphisms in sarcoidosis. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2002;27:17–23.
 177. Fitness J, Floyd S, Warndorff DK, Sichali L, Malema S, Crampin AC i wsp. Large-scale candidate gene study of tuberculosis susceptibility in the Karonga district of northern Malawi. *Am J Trop Med Hyg*. 2004;71:341–9.
 178. Ferguson JS, Voelker DR, McCormack FX, Schlesinger LS. Surfactant protein D binds to *Mycobacterium tuberculosis* Bacilli and Lipoarabinomannan via carbohydrate-lectin interactions resulting in reduced phagocytosis of the bacteria by macrophages1. *J Immunol*. 1999;163:312–21.
 179. Watford WT, Wright JR, Hester CG, Jiang H, Frank MM. Surfactant protein A regulates complement activation. *J Immunol*. 2001;167:6593–600.
 180. Bogunia-Kubik K, Koscińska K, Suchnicki K, Lange A. HSP70-hom gene single nucleotide (+ 2763 G/A and+ 2437 C/T) polymorphisms in sarcoidosis. *Int J Immunogenet*. 2006;33:135–40.
 181. Veltkamp M, Wijnen PAHM, Van Moorsel CHM, Rijkers GT, Ruven HJT, Heron M i wsp. Linkage between Toll-like receptor (TLR) 2 promotor and intron polymorphisms: functional effects and relevance to sarcoidosis. *Clin Exp Immunol*. 2007;149:453–62.
 182. Oğus AC, Yoldas B, Ozdemir T, Uguz A, Olcen S, Keser I i wsp. The Arg753Gln polymorphism of the human toll-like receptor 2 gene in tuberculosis disease. *Eur Respir J*. 2004;23:219–23.

183. Ben-Ali M, Barbouche M-R, Bousnina S, Chabbou A, Dellagi K. Toll-like receptor 2 Arg677Trp polymorphism is associated with susceptibility to tuberculosis in Tunisian patients. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2004;11:625–6.
184. Thuong NTT, Hawn TR, Thwaites GE, Chau TTH, Lan NTN, Quy HT i wsp. A polymorphism in human TLR2 is associated with increased susceptibility to tuberculous meningitis. *Genes Immun.* 2007;8:422–8.
185. Chen Y-C, Hsiao C-C, Chen C-J, Chin C-H, Liu S-F, Wu C-C i wsp. Toll-like receptor 2 gene polymorphisms, pulmonary tuberculosis, and natural killer cell counts. *BMC Med Genet.* 2010;11:17.
186. Dalgic N, Tekin D, Kayaalti Z, Soylemezoglu T, Cakir E, Kilic B i wsp. Arg753Gln polymorphism of the human Toll-like receptor 2 gene from infection to disease in pediatric tuberculosis. *Hum Immunol.* 2011;72:440–5.
187. Pabst S, Baumgarten G, Stremmel A, Lennarz M, Knüfermann P, Gillissen A i wsp. Toll-like receptor (TLR) 4 polymorphisms are associated with a chronic course of sarcoidosis. *Clin Exp Immunol.* 2006;143:420–6.
188. Najmi N, Kaur G, Sharma SK, Mehra NK. Human Toll-like receptor 4 polymorphisms TLR4 Asp299Gly and Thr399Ile influence susceptibility and severity of pulmonary tuberculosis in the Asian Indian population. *Tissue Antigens.* 2010;76:102–9.
189. Hizawa N, Yamaguchi E, Furuya KEN, Jinushi E, ITO A, Kawakami Y. The role of the CC chemokine receptor 2 gene polymorphism V64I (CCR2-64I) in sarcoidosis in a Japanese population. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999;159:2021–3.
190. Mishra G, Poojary SS, Raj P, Tiwari PK. Genetic polymorphisms of CCL2, CCL5, CCR2 and CCR5 genes in Sahariya tribe of North Central India: an association study with pulmonary tuberculosis. *Infect Genet Evol.* 2012;12:1120–7.
191. Petrek M, Drabek J, Kolek V, Zlamal J, Welsh KI, Bunce M i wsp. CC chemokine receptor gene polymorphisms in Czech patients with pulmonary sarcoidosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;162:1000–3.
192. Mamtani M, Mummidi S, Ramsuran V, Pham M-H, Maldonado R, Begum K i wsp. Influence of variations in CCL3L1 and CCR5 on tuberculosis in a northwestern Colombian population. *J Infect Dis.* 2011;203:1590–4.
193. Pacheco AG, Cardoso CC, Moraes MO. IFNG+ 874T/A, IL10-1082G/A and TNF-308G/A polymorphisms in association with tuberculosis susceptibility: a meta-analysis study. *Hum Genet.* 2008;123:477–84.
194. Shibasaki M, Yagi T, Yatsuya H, Okamoto M, Nishikawa M, Baba H i wsp. An influence of Interferon- γ gene polymorphisms on treatment response to tuberculosis in Japanese population. *J Infect.* 2009;58:467–9.
195. Cooke GS, Campbell SJ, Sillah J, Gustafson P, Bah B, Sirugo G i wsp. Polymorphism within the interferon- γ /receptor complex is associated with pulmonary tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006;174:339–43.
196. Ding S, Li F, Wang J, Xu K, Li L. Interferon gamma receptor 1 gene polymorphism in patients with tuberculosis in China. *Scand J Immunol.* 2008;68:140–4.
197. Akahoshi M, Ishihara M, Remus N, Uno K, Miyake K, Hirota T i wsp. Association between IFNA genotype and the risk of sarcoidosis. *Hum Genet.* 2004;114:503–9.
198. Hutyrova B, Pantelidis P, Drabek J, Zurkova M, Kolek V, Lenhart K i wsp. Interleukin-1 gene cluster polymorphisms in sarcoidosis and idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;165:148–51.
199. Amirzargar AA, Rezaei N, Jabbari H, Danesh A-A, Khosravi F, Hajabdolbaghi M i wsp. Cytokine single nucleotide polymorphisms in Iranian patients with pulmonary tuberculosis. *Eur Cytokine Netw.* 2006;17:84–9.
200. Hamzeh NY, MacPhail K, Silveira LJ, Maier L. Association of polymorphisms

- in the IL-2 promoter and gene with sarcoidosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011;A4511–A4511.
201. Grutters JC, Sato H, Pantelidis P, Ruven HJ, McGrath DS, Wells AU i wsp. Analysis of IL6 and IL1A gene polymorphisms in UK and Dutch patients with sarcoidosis. *Sarcoidosis Vasc Diffus Lung Dis.* 2003;20:20–7.
202. Mao X, Ke Z, Liu S, Tang B, Wang J, Huang H i wsp. IL-1 β + 3953C/T,– 511T/C and IL-6– 174C/G polymorphisms in association with tuberculosis susceptibility: a meta-analysis. *Gene.* 2015;573:75–83.
203. Vasakova M, Sterclova M, Kolesar L, Slavcev A, Skibova J, Striz I. Cytokine gene polymorphisms in sarcoidosis. *Sarcoidosis Vasc Diffus Lung Dis.* 2010;27:70–5.
204. Oral HB, Budak F, Uzaslan EK, Baştürk B, Bekar A, Akalın H i wsp. Interleukin-10 gene polymorphism as a potential host susceptibility factor in tuberculosis. *Cytokine.* 2006;35:143–7.
205. Takada T, Suzuki E, Morohashi K, Gejyo F. Association of single nucleotide polymorphisms in the IL-18 gene with sarcoidosis in a Japanese population. *Tissue Antigens.* 2002;60:36–42.
206. Zhou C, Ouyang N, Li QH, Luo SX, He Q, Lei H i wsp. The-137G/C single nucleotide polymorphism in IL-18 gene promoter contributes to tuberculosis susceptibility in Chinese Han population. *Infect Genet Evol.* 2015;36:376–80.
207. Seitzer U, Swider C, Stüber F, Suchnicki K, Lange A, Richter E i wsp. Tumour necrosis factor alpha promoter gene polymorphism in sarcoidosis. *Cytokine.* 1997;9:787–90.
208. Grutters JC, Sato H, Pantelidis P, Lagan AL, McGrath DS, Lammers J-WJ i wsp. Increased frequency of the uncommon tumor necrosis factor –857T allele in British and Dutch patients with sarcoidosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;165:1119–24.
209. Scola L, Crivello A, Marino V, Gioia V, Serauto A, Candore G i wsp. IL-10 and TNF- α polymorphisms in a sample of sicilian patients affected by tuberculosis: implication for ageing and life span expectancy. *Mech Ageing Dev.* 2003;124:569–72.
210. Anoosheh S, Farnia P, Kargar M. Association between TNF-alpha (-857) gene polymorphism and susceptibility to tuberculosis. *Iran Red Crescent Med J.* 2011;13:243.
211. Fan H-M, Wang Z, Feng F-M, Zhang K-L, Yuan J-X, Sui H i wsp. Association of TNF-alpha -238G/A and 308 G/A gene polymorphisms with pulmonary tuberculosis among patients with coal worker’s pneumoconiosis. *Biomed Environ Sci BES.* 2010;23:137–45.
212. Sharma S, Rathored J, Ghosh B, Sharma SK. Genetic polymorphisms in TNF genes and tuberculosis in North Indians. *BMC Infect Dis.* Springer; 2010;10:165.
213. Zhang Z, Zhu H, Pu X, Meng S, Zhang F, Xun L i wsp. Association between tumor necrosis factor alpha-238G/a polymorphism and tuberculosis susceptibility: a meta-analysis study. *BMC Infect Dis.* 2012;12:328.
214. Yamaguchi E, Itoh A, Hizawa N, Kawakami Y. The gene polymorphism of tumor necrosis factor- β , but not that of tumor necrosis factor- α , is associated with the prognosis of sarcoidosis. *Chest.* 2001;119:753–61.
215. Jonth AC, Silveira L, Fingerlin TE, Sato H, Luby JC, Welsh KI i wsp. TGF- β 1 variants in chronic beryllium disease and sarcoidosis. *J Immunol.* 2007;179:4255–62.
216. Kruit A, Grutters JC, Ruven HJT, van Moorsel CHM, Weiskirchen R, Mengsteab S i wsp. Transforming growth factor- β gene polymorphisms in sarcoidosis patients with and without fibrosis. *Chest.* 2006;129:1584–91.
217. Ohchi T, Shijubo N, Kawabata I, Ichimiya S, Inomata S, Yamaguchi A i wsp. Polymorphism of Clara cell 10-kD protein gene of sarcoidosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004;169:180–6.
218. Spagnolo P, Sato H, Grutters JC, Renzoni EA, Marshall SE, Ruven HJT i wsp. Analysis of BTNL2 genetic polymorphisms in British and Dutch patients with sarcoidosis. *Tissue*

Antigens. 2007;70:219–27.

219. Lian Y, Yue J, Han M, Liu J, Liu L. Analysis of the association between BTNL2 polymorphism and tuberculosis in Chinese Han population. *Infect Genet Evol.* 2010;10:517–21.

220. Hofmann S, Fischer A, Till A, Müller-Quernheim J, Häsler R, Franke A i wsp. A genome-wide association study reveals evidence of association with sarcoidosis at 6p12.1. *Eur Respir J.* 2011;38:1127–35.

221. Hofmann S, Franke A, Fischer A, Jacobs G, Nothnagel M, Gaede KI i wsp. Genome-wide association study identifies *ANXA11* as a new susceptibility locus for sarcoidosis. *Nat Genet.* 2008;40:1103.

222. Tanabe T, Ishige I, Suzuki Y, Aita Y, Furukawa A, Ishige Y i wsp. Sarcoidosis and NOD1 variation with impaired recognition of intracellular *Propionibacterium acnes*. *Mol Basis Dis.* 2006;1762:794–801.

223. Mekonnen E, Bekele E, Stein CM. Novel polymorphisms in TICAM2 and NOD1 associated with tuberculosis progression phenotypes in Ethiopian populations. *Glob Health Epidemiol Genom.* 2018;3:e1.

224. Niimi T, Tomita H, Sato S, Kawaguchi H, Akita K, Maeda H i wsp. Vitamin D receptor gene polymorphism in patients with sarcoidosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999;160:1107–9.

225. Wu Y, Yang X, Wang X, Qiu M-T, You Y, Zhang Z i wsp. Association of vitamin D receptor BsmI gene polymorphism with risk of tuberculosis: a meta-analysis of 15 studies. *PLoS One.* 2013;8:e66944.

226. Fischer A, Schmid B, Ellinghaus D, Nothnagel M, Gaede KI, Schürmann M i wsp. A novel sarcoidosis risk locus for Europeans on chromosome 11q13.1. *Am J Respir Crit Care Med.* 2012;186:877–85.

227. Hofmann S, Fischer A, Nothnagel M, Jacobs G, Schmid B, Wittig M i wsp. Genome-wide association analysis reveals 12q13. 3–q14. 1 as new risk locus for sarcoidosis. *Eur Respir J.* 2013;41:888–900.

228. Adrianto I, Lin CP, Hale JJ, Levin AM, Datta I, Parker R i wsp. Genome-wide association study of African and European Americans implicates multiple shared and ethnic specific loci in sarcoidosis susceptibility. *PLoS One.* 2012;7:e43907.

229. Zhang J, Jiao L, Bai H, Wu Q, Wu T, Liu T i wsp. A Notch4 missense mutation is associated with susceptibility to tuberculosis in Chinese population. *Infect Genet Evol.* 2020;78:104-145.

230. Bombieri C, Luisetti M, Belpinati F, Zuliani E, Beretta A, Baccheschi J i wsp. Increased frequency of CFTR gene mutations in sarcoidosis: a case/control association study. *Eur J Hum Genet.* 2000;8:717–20.

231. Furuya K, Yamaguchi E, Itoh A, Hizawa N, Ohnuma N, Kojima J i wsp. Deletion polymorphism in the angiotensin I converting enzyme (ACE) gene as a genetic risk factor for sarcoidosis. *Thorax.* 1996;51:777–80.

232. Morohashi K, Takada T, Omori K, Suzuki E, Gejyo F. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms in Japanese patients with sarcoidosis. *Chest.* 2003;123:1520–6.

233. Abdallah A, Sato H, Grutters JC, Veeraraghavan S, Lympany PA, Ruven HJT i wsp. Inhibitor kappa B-alpha ($\text{I}\kappa\text{B-}\alpha$) promoter polymorphisms in UK and Dutch sarcoidosis. *Genes Immun.* 2003;4:450–4.

234. Newman LS, Rose CS, Bresnitz EA, Rossman MD, Barnard J, Frederick M i wsp. A case control etiologic study of sarcoidosis: environmental and occupational risk factors. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004;170:1324–30.

235. Chen ES, Moller DR. Etiology of Sarcoidosis. *Clin Chest Med.* 2008;29:365–77.

236. Morimoto RI, Tissières A. The biology of heat shock proteins and molecular chaperones.

Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor. 1994.

237. Milman N, Andersen CB, Burton CM, Iversen M. Recurrent sarcoid granulomas in a transplanted lung derive from recipient immune cells. *Eur Respir J.* 2005;26:549–52.
238. Siltzbach LE. The Kveim test in sarcoidosis: a study of 750 patients. *JAMA.* 1961;178:476–82.
239. Nikoskelainen J, Hannuksela M, Palva T. Antibodies to Epstein-Barr virus and some other herpesviruses in patients with sarcoidosis, pulmonary tuberculosis and erythema nodosum. *Scand J Infect Dis.* 1974;6:209–16.
240. Israel HL, DeLamater E, Sones M, Willis WD, Mirmelstein A. Chronic disseminated histoplasmosis: an investigation of its relationship to sarcoidosis. *Am J Med.* 1952;12:252–60.
241. Clarke EL, Lauder AP, Hofstaedter CE, Hwang Y, Fitzgerald AS, Imai I i wsp. Microbial Lineages in Sarcoidosis. A Metagenomic Analysis Tailored for Low-Microbial Content Samples. *Am J Respir Crit Care Med.* 2018;197:225–34.
242. Hua B, Li QD, Wang FM, Ai CX, Luo WC. *Borrelia burgdorferi* infection may be the cause of sarcoidosis. *Chin Med J (Engl).* 1992;105:560–3.
243. Popper HH. Epithelioid cell granulomatosis of the lung: new insights and concepts. *Sarcoidosis, Vasc Diffus Lung Dis.* 1999;16:32–46.
244. Raich RA, Casey F, Hall WH. Pulmonary and cutaneous nocardiosis: the significance of the laboratory isolation of *Nocardia*. *Am Rev Respir Dis.* 1961;83:505–9.
245. Jansson E, Hannuksela M, Eklund H, Halme H, Tuuri S. Isolation of a mycoplasma from sarcoid tissue. *J Clin Pathol.* 1972;25:837–42.
246. Abe C, Iwai K, Mikami R, Hosoda Y. Frequent isolation of *Propionibacterium acnes* from sarcoidosis lymph nodes. *Medizinische Mikrobiol Infekt und Parasitol.* 1984;256:541–7.
247. Esteves T, Aparicio G, Garcia-Patos V. Is there any association between sarcoidosis and infectious agents?: a systematic review and meta-analysis. *BMC Pulm Med.* 2016;16:165.
248. Parsons V. Awareness of family and contact history of tuberculosis in generalized sarcoidosis. *Br Med J.* 1960;2:1756.
249. Brett GZ. Epidemiological trends in tuberculosis and sarcoidosis in a district of London between 1958 and 1963. *Tubercle.* 1965;46:412–6.
250. Gupta D, Agarwal R, Aggarwal AN, Jindal SK. Molecular evidence for the role of mycobacteria in sarcoidosis: a meta-analysis. *Eur Respir J.* 2007;30:508–16.
251. Zhou Y, Li HP, Li QH, Zheng H, Zhang RX, Chen G i wsp. Differentiation of sarcoidosis from tuberculosis using real-time PCR assay for the detection and quantification of *Mycobacterium tuberculosis*. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis.* 2008;25:93.
252. Drake WP, Dhasan MS, Nadaf M, Shepherd BE, Vadivelu S, Hajizadeh R i wsp. Cellular recognition of *Mycobacterium tuberculosis* ESAT-6 and KatG peptides in systemic sarcoidosis. *Infect Immun.* 2007;75:527–30.
253. Hajizadeh R, Sato H, Carlisle J, Nadaf MT, Evans W, Shepherd BE i wsp. *Mycobacterium tuberculosis* Antigen 85A induces Th-1 immune responses in systemic sarcoidosis. *J Clin Immunol.* 2007;27:445–54.
254. Dubaniewicz A, Kalinowski L, Dudziak M, Kalinowska A, Singh M. Peroxynitrite in Sarcoidosis: Relation to *Mycobacterium* Stationary Phase BT - Noncommunicable Diseases. Springer International Publishing; 2015;41–9.
255. Dubaniewicz A, Hołownia A, Singh M. Mycobacterial heat shock proteins in circulating immune complexes in blood from sarcoidosis patients. *Int Immunol.* 2010;22:i131.
256. Bos KI, Harkins KM, Herbig A, Coscolla M, Weber N, Comas I i wsp. Pre-Columbian mycobacterial genomes reveal seals as a source of New World human tuberculosis. 2014;514:494.
257. Virella G. *Mikrobiologia i choroby zakaźne.* PZWL, Wrocław. 2000;191-200.
258. Warner DF, Koch A, Mizrahi V. Diversity and disease pathogenesis in *Mycobacterium*

- tuberculosis. *Trends Microbiol.* 2015;23:14–21.
259. Gagneux S, DeRiemer K, Van T, Kato-Maeda M, De Jong BC, Narayanan S i wsp. Variable host–pathogen compatibility in *Mycobacterium tuberculosis*. *Proc Natl Acad Sci.* 2006;103:2869–73.
260. Albanna AS, Reed MB, Kotar K V, Fallow A, McIntosh FA, Behr MA i wsp. Reduced transmissibility of East African Indian strains of *Mycobacterium tuberculosis*. *PLoS One.* 2011;6:e25075.
261. Fenner L, Gagneux S, Helbling P, Battegay M, Rieder HL, Pfyffer GE i wsp. *Mycobacterium tuberculosis* transmission in a country with low tuberculosis incidence: role of immigration and HIV infection. *J Clin Microbiol.* 2012;50:388–95.
262. Behr MA, Wilson MA, Gill WP, Salamon H, Schoolnik GK, Rane S i wsp. Comparative genomics of BCG vaccines by whole-genome DNA microarray. *Science.* 1999;284:1520–3.
263. Abdallah AM, Van Pittius NCG, Champion PAD, Cox J, Luirink J, Vandembroucke-Grauls CMJE i wsp. Type VII secretion—mycobacteria show the way. *Nat Rev Microbiol.* 2007;5:883.
264. Simeone R, Bobard A, Lippmann J, Bitter W, Majlessi L, Brosch R i wsp. Phagosomal rupture by *Mycobacterium tuberculosis* results in toxicity and host cell death. *PLoS Pathog.* 2012;8:e1002507.
265. Arend SM, van Meijgaarden KE, de Boer K, de Palou EC, van Soolingen D, Ottenhoff THM i wsp. Tuberculin skin testing and in vitro T cell responses to ESAT-6 and culture filtrate protein 10 after infection with *Mycobacterium marinum* or *M. kansasii*. *J Infect Dis.* 2002;186:1797–807.
266. Selwyn PA, Hartel D, Lewis VA, Schoenbaum EE, Vermund SH, Klein RS i wsp. A prospective study of the risk of tuberculosis among intravenous drug users with human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med.* 1989;320:545–50.
267. Suthar AB, Lawn SD, Del Amo J, Getahun H, Dye C, Sculier D i wsp. Antiretroviral therapy for prevention of tuberculosis in adults with HIV: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Med.* 2012;9:e1001270.
268. Jeon CY, Murray MB. Diabetes mellitus increases the risk of active tuberculosis: a systematic review of 13 observational studies. *PLoS Med.* 2008;5.
269. Patra J, Jha P, Rehm J, Suraweera W. Tobacco smoking, alcohol drinking, diabetes, low body mass index and the risk of self-reported symptoms of active tuberculosis: individual participant data (IPD) meta-analyses of 72,684 individuals in 14 high tuberculosis burden countries. *PLoS One.* 2014;9.5:e96433.
270. Leung CC, Lam TH, Chan WM, Yew WW, Ho KS, Leung G i wsp. Lower risk of tuberculosis in obesity. *Arch Intern Med.* 2007;167:1297–304.
271. Sumpter C, Chandramohan D. Systematic review and meta-analysis of the associations between indoor air pollution and tuberculosis. *Trop Med Int Heal.* 2013;18:101–8.
272. Lin H-H, Ezzati M, Murray M. Tobacco smoke, indoor air pollution and tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Med.* 2007;4.1: e20.
273. Slama K, Chiang CY, Enarson DA, Hassmiller K, Fanning A, Gupta P i wsp. Tobacco and tuberculosis: a qualitative systematic review and meta-analysis. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2007;11:1049–61.
274. Imtiaz S, Shield KD, Roerecke M, Samokhvalov A V, Lönnroth K, Rehm J. Alcohol consumption as a risk factor for tuberculosis: meta-analyses and burden of disease. *Eur Respir J.* 2017;50.
275. Oren E, Winston CA, Pratt R, Robison VA, Narita M. Epidemiology of urban tuberculosis in the United States, 2000–2007. *Am J Public Health.* 2011;101:1256–63.
276. Stead WW, Lofgren JP, Warren E, Thomas C. Tuberculosis as an endemic and nosocomial infection among the elderly in nursing homes. *N Engl J Med.* 1985;312:1483–7.

277. Cohen T, Murray M. Incident tuberculosis among recent US immigrants and exogenous reinfection. *Emerg Infect Dis.* 2005;11:725.
278. Kozińska M, Augustynowicz-Kopec E. The incidence of tuberculosis transmission among family members and outside households. *Advances in Respiratory Medicine.* 2016;84.5: 271-277.
279. Oxlade O, Murray M. Tuberculosis and poverty: why are the poor at greater risk in India? *PLoS One.* 2012; 7.11:e47533.
280. Agrawal R, Kee AR, Ang L, Tun Hang Y, Gupta V, Kon OM i wsp. Tuberculosis or sarcoidosis: Opposite ends of the same disease spectrum? *Tuberculosis (Edinb).* 2016;98: 21–6.
281. Nimmerjahn F. Activating and inhibitory Fcγ receptors in autoimmune disorders. *Springer Semin Immunopathol.* 2006;28:305–19.
282. Takeuchi O, Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell.* Elsevier; 2010;140:805–20.
283. van Lookeren Campagne M, Wiesmann C, Brown EJ. Macrophage complement receptors and pathogen clearance. *Cell Microbiol. Wiley Online Library;* 2007;9:2095–102.
284. Bournazos S, Woof JM, Hart SP, Dransfield I. Functional and clinical consequences of Fc receptor polymorphic and copy number variants. *Clin Exp Immunol.* 2009;157:244–54.
285. Hogarth PM, Pietersz GA. Fc receptor-targeted therapies for the treatment of inflammation, cancer and beyond. *Nat Rev Drug Discov.* 2012;11:311–31.
286. Nimmerjahn F, Ravetch J V. Fcγ receptors as regulators of immune responses. *Nat Rev Immunol.* 2008;8:34–47.
287. Galon J, Gauchat J-F, Mazières N, Spagnoli R, Storkus W, Lötze M i wsp. Soluble Fcγ receptor type III (FcγRIII, CD16) triggers cell activation through interaction with complement receptors. *J Immunol.* 1996;157:1184–92.
288. Chuang FYS, Sassaroli M, Unkeless JC. Convergence of Fcγ receptor IIA and Fcγ receptor IIIB signaling pathways in human neutrophils. *J Immunol.* 2000;164:350–60.
289. Fernandes MJG, Rollet-Labelle E, Paré G, Marois S, Tremblay M-L, Teillaud J-L i wsp. CD16b associates with high-density, detergent-resistant membranes in human neutrophils. *Biochem J.* 2006;393:351–9.
290. Pricop L, Redecha P, Teillaud J-L, Frey J, Fridman WH, Sautès-Fridman C i wsp. Differential modulation of stimulatory and inhibitory Fcγ receptors on human monocytes by Th1 and Th2 cytokines. *J Immunol.* 2001;166:531–7.
291. Grattage LP, McKenzie IANFC, Hogarth PM. Effects of PMA, cytokines and dexamethasone on the expression of cell surface Fc receptors and mRNA in U937 cells. *Immunol Cell Biol.* 1992;70:97–105.
292. Rudge EU, Cutler AJ, Pritchard NR, Smith KGC. Interleukin 4 reduces expression of inhibitory receptors on B cells and abolishes CD22 and FcγRII-mediated B cell suppression. *J Exp Med.* 2002;195:1079–85.
293. Guillemins M, Bruhns P, Saeys Y, Hammad H, Lambrecht BN. The function of Fcγ receptors in dendritic cells and macrophages. *Nat Rev Immunol.* 2014;14:94–108.
294. Nimmerjahn F, Gordan S, Lux A. FcγR dependent mechanisms of cytotoxic, agonistic, and neutralizing antibody activities. *Trends Immunol.* 2015;36:325–36.
295. Titus JA, Perez P, Kaubisch A, Garrido MA, Segal DM. Human K/natural killer cells targeted with hetero-cross-linked antibodies specifically lyse tumor cells in vitro and prevent tumor growth in vivo. *J Immunol.* 1987;139:3153–8.
296. Pearse RN, Kawabe T, Bolland S, Guinamard R, Kurosaki T, Ravetch J V. SHIP recruitment attenuates FcγRIIB-induced B cell apoptosis. *Immunity.* 1999;10:753–60.
297. Brauweiler AM, Cambier JC. Autonomous SHIP-dependent FcγR signaling in pre-B cells leads to inhibition of cell migration and induction of cell death. *Immunol Lett.* 2004;92:75–81.

298. Lux A, Seeling M, Baerenwaldt A, Lehmann B, Schwab I, Repp R i wsp. A humanized mouse identifies the bone marrow as a niche with low therapeutic IgG activity. *Cell Rep*. 2014;7:236–48.
299. Bredius RG, De Vries CE, Troelstra A, Van Alphen L, Weening RS, Van de Winkel JG i wsp. Phagocytosis of *Staphylococcus aureus* and *Haemophilus influenzae* type B opsonized with polyclonal human IgG1 and IgG2 antibodies. Functional hFc gamma RIIa polymorphism to IgG2. *J Immunol*. 1993;151:1463–72.
300. Floto RA, Clatworthy MR, Heilbronn KR, Rosner DR, MacAry PA, Rankin A i wsp. Loss of function of a lupus-associated FcγRIIb polymorphism through exclusion from lipid rafts. *Nat Med*. 2005;11:1056–8.
301. Su K, Wu J, Edberg JC, Li X, Ferguson P, Cooper GS i wsp. A promoter haplotype of the immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif-bearing FcγRIIb alters receptor expression and associates with autoimmunity. I. Regulatory FCGR2B polymorphisms and their association with systemic lupus erythematosus. *J Immunol*. 2004;172:7186–91.
302. Olfieriev M, Masuda E, Tanaka S, Blank MC, Pricop L. The role of activating protein 1 in the transcriptional regulation of the human *FCGR2B* promoter mediated by the-343 G→C polymorphism associated with systemic lupus erythematosus. *J Biol Chem*. 2007;282:1738–46.
303. Wu J, Edberg JC, Redecha PB, Bansal V, Guyre PM, Coleman K i wsp. A novel polymorphism of FcγRIIIa (CD16) alters receptor function and predisposes to autoimmune disease. *J Clin Invest*. 1997;100:1059–70.
304. Li X, Ptacek TS, Brown EE, Edberg JC. Fcγ receptors: structure, function and role as genetic risk factors in SLE. *Genes Immun*. 2009;10:380–9.
305. Jarrot P-A, Kaplanski G. Pathogenesis of ANCA-associated vasculitis: an update. *Autoimmun Rev*. 2016;15:704–13.
306. McInnes IB, Schett G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis. *N Engl J Med*. 2011;365:2205–19.
307. He L-Y, Huang Y-J, Lai D-B, Zhao M-B, Zhang W-Y, Xu T i wsp. Relationship between polymorphisms of FCGR2B and susceptibility of children idiopathic thrombocytopenic purpura. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*. 2009;17:729–33.
308. Tüzün E, Saini SS, Yang H, Alagappan D, Higgs S, Christadoss P. Genetic evidence for the involvement of Fcγ receptor III in experimental autoimmune myasthenia gravis pathogenesis. *J Neuroimmunol*. 2006;174:157–67.
309. van Sorge NM, van der Pol W-L, Jansen MD, Geleijns KPW, Kalmijn S, Hughes RAC i wsp. Severity of Guillain–Barré syndrome is associated with Fcγ Receptor III polymorphisms. *J Neuroimmunol*. 2005;162:157–64.
310. Myhr K-M, Raknes G, Nyland H, Vedeler C. Immunoglobulin G Fc-receptor (FcγR) IIA and IIIB polymorphisms related to disability in MS. *Neurology*. 1999;52:1771.
311. Typiak M. Polimorfizm genów FCGR w etiopatogenezie sarkoidozy. Rozprawa doktorska, Gdański Uniwersytet Medyczny. Gdańsk. 2013.
312. Typiak M, Rębała K, Dudziak M, Słomiński JM, Dubaniewicz A. Polymorphism of FCGR2A, FCGR2C, and FCGR3B Genes in the Pathogenesis of Sarcoidosis. *Adv Exp Med Biol*. 2016;57-68.
313. Typiak M, Rębała K, Haraś A, Skotarczak M, Słomiński JM, Dubaniewicz A. Copy number variation of FCGR genes in etiopathogenesis of sarcoidosis. *PLoS One*. 2017;12.5:e0177194.
314. Rodriguez ME, van der Pol W-L, Sanders LAM, van de Winkel JGJ. Crucial Role of FcγRIIa (CD32) in Assessment of Functional Anti—*Streptococcus pneumoniae* Antibody Activity in Human Sera. *J Infect Dis*. 1999;179:423–33.
315. Bredius RG, Fijen CA, De Haas M, Kuijper EJ, Weening RS, van de Winkel JG i wsp.

- Role of neutrophil Fc gamma RIIa (CD32) and Fc gamma RIIIb (CD16) polymorphic forms in phagocytosis of human IgG1- and IgG3-opsonized bacteria and erythrocytes. *Immunology*. 1994;83:624–30.
316. Sadki K, Lamsyah H, Rueda B, Akil El, Sadak A, Martin J i wsp. Analysis of MIF, FCGR2A and FCGR3A gene polymorphisms with susceptibility to pulmonary tuberculosis in Moroccan population. *J Genet Genomics*. 2010;37:257–64.
317. Maglione PJ, Xu J, Casadevall A, Chan J. Fc gamma receptors regulate immune activation and susceptibility during *Mycobacterium tuberculosis* infection. *J Immunol*. 2008;180:3329–38.
318. Machado LR, Bowdrey J, Ngaimisi E, Habtewold A, Minzi O, Makonnen E i wsp. Copy number variation of Fc gamma receptor genes in HIV-infected and HIV-tuberculosis co-infected individuals in sub-Saharan Africa. *PLoS One*. 2013;8:e78165.
319. Alemán OR, Mora N, Rosales C. The Antibody Receptor Fc Gamma Receptor IIIb Induces Calcium Entry *via* Transient Receptor Potential Melastatin 2 in Human Neutrophils. *Front Immunol*. 2021;12:657393.
320. Rosales C. Fcγ Receptor Heterogeneity in Leukocyte Functional Responses. *Front Immunol*. 2017;8:280.
321. Caron E, Hall A. Identification of two distinct mechanisms of phagocytosis controlled by different Rho GTPases. *Science*. 1998;282:1717–21.
322. Lahiri DK, Nurnberger JI. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Res*. 1991;19:5444.
323. Jiang X-M, Arepally G, Poncz M, McKenzie SE. Rapid detection of the FcγRIIA-HR131 ligand-binding polymorphism using an allele-specific restriction enzyme digestion (ASRED). *J Immunol Methods*. 1996;199:55–9.
324. Leppers-Van de Straat FGJ, Van der Pol WL, Jansen MD, Sugita N, Yoshie H, Kobayashi T i wsp. A novel PCR-based method for direct Fcγ receptor IIIa (CD16) allotyping. *J Immunol Methods*. 2000;242:127–32.
325. Bux J, Stein E-L, Bierling P, Fromont P, Clay M, Stroncek D i wsp. Characterization of a new alloantigen (SH) on the human neutrophil Fcγreceptor IIIb. *Blood*. 1997;89:1027–34.
326. Breunis WB, Mirre E Van, Bruin M, Geissler J, Boer M De, Peters M i wsp. Copy number variation of the activating FCGR2C gene predisposes to idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood*. 2008;111:1029–39.
327. Edberg JC, Langefeld CD, Wu J, Moser KL, Kaufman KM, Kelly J i wsp. Genetic linkage and association of Fcγ receptor IIIA (CD16A) on chromosome 1q23 with human systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2002;46:2132–40.
328. Siriboonrit U, Tsuchiya N, Sirikong M, Kyogoku C, Bejrachandra S, Suthipinittharm P i wsp. Association of Fcγ receptor IIB and IIIb polymorphisms with susceptibility to systemic lupus erythematosus in Thais. *Tissue Antigens*. 2003;61:374–83.
329. Custom TaqMan SNP Genotyping Assay Protocol. Applied Biosystems. 2009.
330. Van Den Berg L, Myhr K, Kluge B, Vedeler CA. Fcγ receptor polymorphisms in populations in Ethiopia and Norway. *Immunology*. 2001;104:87–91.
331. Fahsold R, Hoffmeyer S, Mischung C, Gille C, Ehlers C, Kückceylan N i wsp. Minor lesion mutational spectrum of the entire NF1 gene does not explain its high mutability but points to a functional domain upstream of the GAP-related domain. *Am J Hum Genet*. 2000;66:790–818.
332. Hessner MJ, Curtis BR, Endean DJ, Aster RH. Determination of neutrophil antigen gene frequencies in five ethnic groups by polymerase chain reaction with sequence-specific primers. *Transfusion*. 1996;36:895–9.
333. Hessner MJ, Shivaram SM, Dinauer DM, Curtis BR, Endean DJ, Aster RH. Neutrophil antigen (FcγRIIIB) SH gene frequencies in six racial groups. *Blood*. 1999;93:1115–6.

334. Rodriguez S, Gaunt TR, Day INM. Hardy-Weinberg equilibrium testing of biological ascertainment for Mendelian randomization studies. *Am J Epidemiol.* 2009;169:505–14.
335. Willcocks LC, Smith KGC, Clatworthy MR. Low-affinity Fc γ receptors, autoimmunity and infection. *Expert Rev Mol Med.* 2009;11:e24.
336. Junior MED, Ferreira LC, Freire-Neto FP, Jeronimo SMB. No association between FCGR2A and FCGR3A polymorphisms in Guillain-Barré Syndrome in a Brazilian population. *J Neuroimmunol.* 2016;298:160–4.
337. Wang D, Hu S-L, Cheng X-L, Yang J-Y. FCGR2A rs1801274 polymorphism is associated with risk of childhood-onset idiopathic (immune) thrombocytopenic purpura: evidence from a meta-analysis. *Thromb Res.* 2014;134:1323–7.
338. Nowakowski S. Analiza polimorfizmu genów FCGR2A, FCGR2B, FCGR2C, FCGR3A, FCGR3B w reumatoidalnym zapaleniu stawów i w toczniu rumieniowatym układowym. Rozprawa doktorska, Gdański Uniwersytet Medyczny. Gdańsk. 2016.
339. Manger K, Repp R, Jansen M, Geisselbrecht M, Wassmuth R, Westerdal NAC i wsp. Fc γ receptor IIa, IIIa, and IIIb polymorphisms in German patients with systemic lupus erythematosus: association with clinical symptoms. *Ann Rheum Dis.* 2002;61:786–92.
340. Haldorsen K, Appel S, Le Hellard S, Bruland O, Brun JG, Omdal R i wsp. No association of primary Sjögren's syndrome with Fc γ receptor gene variants. *Genes Immun.* 2013;14:234–7.
341. Morgan AW, Robinson JI, Barrett JH, Martin J, Walker A, Babbage SJ i wsp. Association of FCGR2A and FCGR2A-FCGR3A haplotypes with susceptibility to giant cell arteritis. *Arthritis Res Ther.* 2006;8:R109.
342. Ji Y-X, Zhang H-Y, Lin S-X. Single nucleotide polymorphism of FCGR2A gene in Han Chinese children with Kawasaki disease. *Chinese J Contemp Pediatr.* 2013;15:196.
343. Schuldt K, Esser C, Evans J, May J, Timmann C, Ehmen C i wsp. FCGR2A functional genetic variant associated with susceptibility to severe malarial anaemia in Ghanaian children. *J Med Genet.* 2010;47:471–5.
344. Chen K i wsp. Endocytosis of soluble immune complexes leads to their clearance by Fc γ RIIB but induces neutrophil extracellular traps via Fc γ RIIA in vivo. *Blood.* 2012;120:4421-4431.
345. Lood C i wsp. TLR7/8 activation in neutrophils impairs immune complex phagocytosis through shedding of Fc γ RIIA. *Journal of Experimental Medicine,* 2017, 214.7: 2103-2119.
346. Zhou X, Lv J, Yu L, Cui Z, Zhao J, Yang R i wsp. FCGR2B gene polymorphism rather than FCGR2A, FCGR3A and FCGR3B is associated with anti-GBM disease in Chinese. *Nephrol Dial Transplant.* 2010;25:97–101.
347. Kyogoku C, Dijstelbloem HM, Tsuchiya N, Hatta Y, Kato H, Yamaguchi A i wsp. Fc γ receptor gene polymorphisms in Japanese patients with systemic lupus erythematosus: contribution of FCGR2B to genetic susceptibility. *Arthritis Rheum.* 2002;46:1242–54.
348. He L-Y, Huang Y-J, Lai D-B, Zhao M-B, Zhang W-Y, Xu T i wsp. Relationship between polymorphisms of FCGR2B and susceptibility of children idiopathic thrombocytopenic purpura. *Zhongguo shi yan xue ye xue za zhi.* 2009;17:729–33.
349. Tsuchiya N, Kobayashi S, Kawasaki A, Kyogoku C, Arimura Y, Yoshida M i wsp. Genetic background of Japanese patients with antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis: association of HLA-DRB1*0901 with microscopic polyangiitis. *J Rheumatol.* 2003;30:1534–40.
350. Biezeveld M, Geissler J, Merkus M, Kuipers IM, Ottenkamp J, Kuijpers T. The involvement of Fc gamma receptor gene polymorphisms in Kawasaki disease. *Clin Exp Immunol.* 2007;147:106–11.
351. Kyogoku C, Tsuchiya N, Matsuta K, Tokunaga K. Studies on the association of Fc γ receptor IIA, IIB, IIIA and IIIB polymorphisms with rheumatoid arthritis in the Japanese:

- evidence for a genetic interaction between HLA-DRB1 and FCGR3A. *Genes Immun.* 2002;3:488–93.
352. Chen JY, Wang CM, Ma CC, Hsu LA, Ho HH, Wu YJJ i wsp. A transmembrane polymorphism in FcγRIIb (FCGR2B) is associated with the production of anti-cyclic citrullinated peptide autoantibodies in Taiwanese RA. *Genes Immun.* 2008;9:680–8.
353. Radstake TRDJ, Franke B, Wenink MH, Nabbe KCAM, Coenen MJH, Welsing P i wsp. The functional variant of the inhibitory Fcγ receptor IIB (CD32B) is associated with the rate of radiologic joint damage and dendritic cell function in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2006;54:3828–37.
354. Clatworthy MR, Willcocks L, Urban B, Langhorne J, Williams TN, Peshu N i wsp. Systemic lupus erythematosus-associated defects in the inhibitory receptor FcγRIIb reduce susceptibility to malaria. *Proc Natl Acad Sci.* 2007;104:7169–74.
355. Willcocks LC, Carr EJ, Niederer HA, Rayner TF, Williams TN, Yang W i wsp. A defunctioning polymorphism in FCGR2B is associated with protection against malaria but susceptibility to systemic lupus erythematosus. *Proc Natl Acad Sci.* 2010;107:7881–5.
356. Hu X-P, Wu J-Q, Zhu L-P, Wang X, Xu B, Wang R-Y i wsp. Association of Fcγ receptor IIB polymorphism with cryptococcal meningitis in HIV-uninfected Chinese patients. *PLoS One.* 2012;7:e42439.
357. Li X, Wu J, Ptacek T, Redden DT, Brown EE, Alarcón GS i wsp. Allelic-dependent expression of an activating Fc receptor on B cells enhances humoral immune responses. *Sci Transl Med.* 2013;5:216ra175.
358. Tsang-A-Sjoe MWP, Nagelkerke SQ, Bultink IEM, Geissler J, Tanck MWT, Tacke CE i wsp. Fc-gamma receptor polymorphisms differentially influence susceptibility to systemic lupus erythematosus and lupus nephritis. *Rheumatology.* 2016; 55.5:939-948.
359. Esin S, Batoni G. Natural killer cells: a coherent model for their functional role in *Mycobacterium tuberculosis* infection. *J Innate Immun.* 2015;7:11–24.
360. Dubaniewicz A, Rękawiecki B, Piprek M, Skotarczak M, Dubaniewicz-Wybieralska M. Monocyte/neutrophil phagocytic activity ratio in differentiating tuberculosis from sarcoidosis. *Eur Respir J.* 2019;54(63):1956.
361. Morgenthau AS, Iannuzzi MC. Recent advances in sarcoidosis. *Chest.* 2011;139:174–82.
362. Choreno Parra JA, Martinez Zuniga N, Jimenez Zamudio LA, Jimenez Alvarez LA, Salinas Lara C, Zúñiga J. Memory of natural killer cells: a new chance against *Mycobacterium tuberculosis*? *Front Immunol.* 2017;8:967.
363. Dubaniewicz A. Apoptoza komórek jednojadrzastych w sarkoidozie. *Pol Merkur Lek.* 2005;563–6.
364. Muefong CN, Sutherland JS. Neutrophils in tuberculosis-associated inflammation and lung pathology. *Frontiers in immunology* 2020;11:962.
365. Morgan AW, Robinson JI, Barrett JH, Martin J, Walker A, Babbage SJ i wsp. Association of FCGR2A and FCGR2A-FCGR3A haplotypes with susceptibility to giant cell arteritis. *Arthritis Res Ther.* 2006; 8.4:1-6.
366. Dijstelbloem HM, Scheepers RH, Oost WW, Stegeman CA, van der Pol WL, Sluiter WJ, i wsp. Fcγ receptor polymorphisms in Wegener's granulomatosis: risk factors for disease relapse. *Arthritis Rheum.* 1999;42:1823–7.
367. Nourse JP, Lea R, Crooks P, Wright G, Tran H, Catalano J i wsp. The KIR2DS2/DL2 genotype is associated with adult persistent/chronic and relapsed immune thrombocytopenia independently of FCGR3A-158 polymorphisms. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2012;23:45–50.
368. Fujimoto TT, Inoue M, Shimomura T, Fujimura K. Involvement of Fc gamma receptor polymorphism in the therapeutic response of idiopathic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol.* 2001;115:125–30.
369. Shrestha S, Wiener H, Shendre A, Kaslow RA, Wu J, Olson A i wsp. Role of activating

- Fc γ R gene polymorphisms in Kawasaki disease susceptibility and intravenous immunoglobulin response. *Circ Cardiovasc Genet*. 2012;5:309–16.
370. Nieto A, Cáliz R, Pascual M, Matarán L, García S, Martín J. Involvement of Fc γ receptor IIIA genotypes in susceptibility to rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2000;43:735–9.
371. Lee YH, Ji JD, Song GG. Associations between FCGR3A polymorphisms and susceptibility to rheumatoid arthritis: a metaanalysis. *J Rheumatol*. 2008;35:2129–35.
372. Liu B, Maier LA, Hamzeh N, MacPhail K, Mroz MM, Liu H i wsp. Polymorphism of FCGR3A gene in chronic beryllium disease. *Genes Immun*. 2019;20:493–9.
373. Chen Z, Freedman MS. Correlation of specialized CD16+ $\gamma\delta$ T cells with disease course and severity in multiple sclerosis. *Journal of neuroimmunology*. 2008;194.1-2: 147-152.
374. Dubaniewicz A, Kalinowski L, Trzonkowski P, Myśliwski A. Nitrate/nitrite productions in serum and supernatant of mycobacterial heat shock proteins-induced peripheral blood mononuclear cells cultures in sarcoidosis and tuberculosis. *Pneumonologia i Alergologia Polska*. 2008;76:297.
375. Morgan AW, Griffiths B, Ponchel F, Montague BMN, Ali M, Gardner PP i wsp. Fc γ receptor type IIIA is associated with rheumatoid arthritis in two distinct ethnic groups. *Arthritis Rheum Off J Am Coll Rheumatol*. 2000;43:2328–34.
376. Shimizu S, Tanaka Y, Tazawa H, Verma S, Onoe T, Ishiyama K i wsp. Fc γ receptor polymorphisms predispose patients to infectious complications after liver transplantation. *Am J Transplant*. 2016;16:625–33.
377. Das LK, Ide K, Tanaka A, Morimoto H, Shimizu S, Tanimine N i wsp. Fc-gamma receptor 3A polymorphism predicts the incidence of urinary tract infection in kidney-transplant recipients. *Hum Immunol*. 2017;78:357–62.
378. Brown EE, Fallin MD, Goedert JJ, Chen R, Whitby D, Foster CB i wsp. A common genetic variant in FCGR3A-V158F and risk of Kaposi sarcoma herpesvirus infection and classic Kaposi sarcoma. *Cancer Epidemiol Prev Biomarkers*. 2005;14:633–7.
379. Meletiadis J, Walsh TJ, Hwa Choi E, Pappas PG, Ennis D, Douglas J i wsp. Study of common functional genetic polymorphisms of FCGR2A, 3A and 3B genes and the risk for cryptococcosis in HIV-uninfected patients. *Med Mycol*. 2007;45:513–8.
380. Brun JG, Madland TM, Vedeler CA. Immunoglobulin G fc-receptor (Fc γ receptor) IIA, IIIA, and IIIB polymorphisms related to disease severity in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 2002;29:1135–40.
381. Radstake TRDJ, Petit E, Pierlot C, van de Putte LBA, Cornelis F, Barrera P. Role of Fc γ receptors IIA, IIIA, and IIIB in susceptibility to rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 2003;30:926–33.
382. Yuan H, Ni J-D, Pan H-F, Li L-H, Feng J-B, Ye D-Q. Lack of association of Fc γ RIIIb polymorphisms with systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. *Rheumatol Int*. 2011;31:1017–21.
383. Pradhan V, Deshpande N, Nadkarni A, Patwardhan M, Surve P, Ghosh K. Fc gamma R IIIB polymorphisms: their association with clinical manifestations and autoantibodies in SLE patients from western India. *Int J Rheum Dis*. 2010;13:138–43.
384. Lee YH, Ji JD, Song GG. Fc γ receptor IIB and IIIB polymorphisms and susceptibility to systemic lupus erythematosus and lupus nephritis: a meta-analysis. *Lupus*. 2009;18:727–34.
385. Vedeler CA, Raknes G, Myhr KM, Nyland H. IgG Fc-receptor polymorphisms in Guillain-Barré syndrome. *Neurology*. 2000;55:705–7.
386. van Sorge NM, van der Pol W-L, Jansen MD, Geleijns KPW, Kalmijn S, Hughes RAC i wsp. Severity of Guillain-Barré syndrome is associated with Fc gamma Receptor III polymorphisms. *J Neuroimmunol*. 2005;162:157–64.

387. Sinha S, Prasad KN, Jain D, Nyati KK, Pradhan S, Agrawal S. Immunoglobulin IgG Fc-receptor polymorphisms and HLA class II molecules in Guillain-Barré syndrome. *Acta Neurol Scand.* 2010;122:21–6.
388. Aksu K, Kitapcioglu G, Keser G, Berdeli A, Karabulut G, Kobak S i wsp. FcγRIIIa, IIIa and IIIb gene polymorphisms in Behçet's disease: do they have any clinical implications? *Clin Exp Rheumatol.* 26:S77-83.
389. Bournazos S, Bournazou I, Murchison JT, Wallace WA, McFarlane P, Hirani N i wsp. Fcγ receptor IIIb (CD16b) polymorphisms are associated with susceptibility to idiopathic pulmonary fibrosis. *Lung.* 2010;188:475–81.
390. Foster CB, Zhu S, Erichsen HC, Lehrnbecher T, Hart ES, Choi E i wsp. Polymorphisms in inflammatory cytokines and Fcγ receptors in childhood chronic immune thrombocytopenic purpura: a pilot study. *Br J Haematol.* 2001;113:596–9.
391. Raknes G, Skeie GO, Gilhus NE, Aadland S, Vedeler C. FcγRIIIA and FcγRIIIB polymorphisms in myasthenia gravis. *J Neuroimmunol.* 1998;81:173–6.
392. González-Escribano MF, Aguilar F, Sánchez-Román J, Núñez-Roldán A. FcγRIIIA, FcγRIIIA and FcγRIIIB polymorphisms in Spanish patients with systemic lupus erythematosus. *Eur J Immunogenet.* 2002;29:301–6.
393. Hatta Y, Tsuchiya N, Ohashi J, Matsushita M, Fujiwara K, Hagiwara K i wsp. Association of Fc gamma receptor IIIB, but not of Fc gamma receptor IIA and IIIA polymorphisms with systemic lupus erythematosus in Japanese. *Genes Immun.* 1999;1:53–60.
394. Morgan AW, Barrett JH, Griffiths B, Subramanian D, Robinson JI, Keyte VH i wsp. Analysis of Fcγ receptor haplotypes in rheumatoid arthritis: FCGR3A remains a major susceptibility gene at this locus, with an additional contribution from FCGR3B. *Arthritis Res Ther.* 2006;8.1:1-9.
395. Hughes LB, Criswell LA, Beasley TM, Edberg JC, Kimberly RP, Moreland LW i wsp. Genetic risk factors for infection in patients with early rheumatoid arthritis. *Genes Immun.* 2004;5:641–7.
396. Song GG, Lee YH. Associations between FCGR2A rs1801274, FCGR3A rs396991, FCGR3B NA1/NA2 polymorphisms and periodontitis: a meta-analysis. *Mol Biol Rep.* 2013;40:4985–93.
397. Wu J, Li Y, Guan W, Viken K, Perlman DM, Bhargava M. FCGR3A and FCGR3B copy number variations are risk factors for sarcoidosis. *Hum Genet.* 2016;135:715–25.
398. Lv J, Yang Y, Zhou X, Yu L, Li R, Hou P i wsp. FCGR3B copy number variation is not associated with lupus nephritis in a Chinese population. *Lupus.* 2010;19:158–61.
399. Robinson JI, Carr IM, Cooper DL, Rashid LH, Martin SG, Emery P i wsp. Confirmation of association of FCGR3B but not FCGR3A copy number with susceptibility to autoantibody positive rheumatoid arthritis. *Hum Mutat.* 2012;33:741–9.
400. Chen J, Wang C, Chang S, Cheng C, Wu YJ, Lin J i wsp. Association of FCGR3A and FCGR3B copy number variations with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis in Taiwanese patients. *Arthritis Rheumatol.* 2014;66:3113–21.
401. Lee YH, Bae S-C, Seo YH, Kim J-H, Choi SJ, Ji JD i wsp. Association between FCGR3B copy number variations and susceptibility to autoimmune diseases: a meta-analysis. *Inflamm Res.* 2015;64:983–91.
402. Zhou X, Lv J, Bu D, Yu L, Yang Y, Zhao J i wsp. Copy number variation of FCGR3A rather than FCGR3B and FCGR2B is associated with susceptibility to anti-GBM disease. *Int Immunol.* 2010;22:45–51.
403. Yuan J, Zhao D, Wu L, Xu X, Pang Y, Zhang J i wsp. FCGR 3B copy number loss rather than gain is a risk factor for systemic lupus erythematosus and lupus nephritis: a meta-analysis. *Int J Rheum Dis.* 2015;18:392–7.
404. Morris DL, Roberts AL, Witherden AS, Tarzi R, Barros P, Whittaker JC i wsp. Evidence

- for both copy number and allelic (NA1/NA2) risk at the FCGR3B locus in systemic lupus erythematosus. *Eur J Hum Genet.* 2010;18:1027–31.
405. Molokhia M, Fanciulli M, Petretto E, Patrick AL, McKeigue P, Roberts AL i wsp. FCGR3B copy number variation is associated with systemic lupus erythematosus risk in Afro-Caribbeans. *Rheumatology.* 2011;50:1206–10.
406. Nossent JC, Rischmueller M, Lester S. Low copy number of the Fc- γ receptor 3B gene FCGR3B is a risk factor for primary Sjögren's syndrome. *J Rheumatol.* 2012;39:2142–7.
407. McKinney C, Fanciulli M, Merriman ME, Phipps-Green A, Alizadeh BZ, Koeleman BPC i wsp. Association of variation in Fc γ receptor 3B gene copy number with rheumatoid arthritis in Caucasian samples. *Ann Rheum Dis.* 2010;69:1711–6.
408. Franke L, El Bannoudi H, Jansen DTSL, Kok K, Trynka G, Diogo D i wsp. Association analysis of copy numbers of FC-gamma receptor genes for rheumatoid arthritis and other immune-mediated phenotypes. *Eur J Hum Genet.* 2016;24:263–70.
409. McKinney C, Broen JCA, Vonk MC, Beretta L, Hesselstrand R, Hunzelmann N i wsp. Evidence that deletion at FCGR3B is a risk factor for systemic sclerosis. *Genes Immun.* 2012;13:458–60.
410. Bournazos S, Bournazou I, Murchison JT, Wallace WA, McFarlane P, Hirani N i wsp. Copy number variation of FCGR3B is associated with susceptibility to idiopathic pulmonary fibrosis. *Respiration.* 2011;81:142–9.
411. Wang L, Yang X, Cai G, Xin L, Xia Q, Zhang X i wsp. Association study of copy number variants in FCGR3A and FCGR3B gene with risk of ankylosing spondylitis in a Chinese population. *Rheumatol Int.* 2016;36:437–42.
412. Wu Y, Zhang Z, Tao L, Chen G, Liu F, Wang T i wsp. A high copy number of FCGR3B is associated with psoriasis vulgaris in Han Chinese. *Dermatology.* 2014;229:70–5.
413. Makowsky R, Wiener HW, Ptacek TS, Silva M, Shendre A, Edberg JC i wsp. Fc γ R gene copy number in Kawasaki disease and intravenous immunoglobulin treatment response. *Pharmacogenet Genomics.* NIH Public Access; 2013;23:455.
414. Willcocks LC, Lyons PA, Clatworthy MR, Robinson JI, Yang W, Newland SA i wsp. Copy number of FCGR3B, which is associated with systemic lupus erythematosus, correlates with protein expression and immune complex uptake. *J Exp Med.* 2008;205:1573–82.

9. STRESZCZENIE

Sarkoidoza jest chorobą ziarniniakową o nieznannej etiologii. Wśród potencjalnych przyczyn SA wymieniane są czynniki genetyczne, środowiskowe – infekcyjne i nieinfekcyjne oraz autoimmunizacja. Ze względu na podobieństwo obrazu klinicznego, radiologicznego i histopatologicznego sarkoidozy do gruźlicy (TB) najczęściej rozważany jest udział antygenów *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), np. białek szoku termicznego (Mtb-hsp) w etiopatogenezie SA.

We wcześniej przeprowadzonych badaniach u naszych chorych na sarkoidozę i TB, wykazano różnice w obecności Mtb-hsp w węzłach chłonnych, w surowicy oraz w krążących kompleksach immunologicznych (KI). W przeciwieństwie do TB, w SA udokumentowano większą immunokompleksemię pomimo podwyższonej aktywności fagocytarnej monocytów krwi obwodowej oraz zwiększonego odsetka tych komórek z receptorami dla fragmentu Fc immunoglobuliny G (FcγR). Receptory FcγRI, II i III pełnią kluczową rolę w usuwaniu w/w KI, co przy przetrwałej immunokomplekseмии może świadczyć o dysfunkcji tych receptorów w SA. Zaburzony klirens KI przez FcγR może wynikać z polimorfizmu genów kodujących te receptory: *FCGR2A*, *FCGR2B*, *FCGR2C*, *FCGR3A*, *FCGR3B* i/lub z nieprawidłowej liczby kopii tych genów. Wstępne wyniki w/w badań molekularnych mogą potwierdzać taki mechanizm w sarkoidozie, natomiast dotychczas nie przeprowadzono kompleksowej analizy polimorfizmów i liczby kopii genów *FCGRs* w gruźlicy. Różnice w częstościach występowania poszczególnych alleli oraz genotypów i/lub kopii badanych genów w SA i TB mogłyby być także pomocne w znalezieniu molekularnego markera różnicującego te dwie choroby, a tym samym uniknięciu pomyłkowej diagnozy.

W związku z powyższym, celem niniejszej pracy była analiza funkcjonalnego polimorfizmu genów *FCGR2A* (H131R), *FCGR2B* (I232T), *FCGR2C* (X57Q), *FCGR3A* (F158V) i *FCGR3B* (NA1/NA2/SH) oraz liczby kopii w/w genów u chorych na sarkoidozę płuc, gruźlicę płuc i u zdrowych ochotników.

Badania przeprowadzono w homogennej etnicznie populacji kaukaskiej z terenu północnej Polski. Do badania włączono niespokrewnione osoby dorosłe, obojga płci, w różnym wieku, u których w wywiadzie rodzinnym nie stwierdzono zachorowań na sarkoidozę, gruźlicę, ani choroby autoimmunizacyjne. Materiał badawczy stanowiła obwodowa krew żylna od 154 chorych na sarkoidozę płuc z histopatologicznym

potwierdzeniem choroby, 179 pacjentów z aktywną gruźlicą płuc potwierdzoną na podstawie standardowych kryteriów bakteriologicznych oraz 148 zdrowych ochotników.

Do genotypowania zastosowano łańcuchową reakcję polimerazy (PCR) z użyciem starterów specyficznych do poszczególnych alleli genu (*FCGR2A*, *FCGR2C*, *FCGR3A* i *FCGR3B*) oraz reakcji PCR w czasie rzeczywistym (*FCGR2B* oraz liczba kopii genów *FCGR2A*, *FCGR2B*, *FCGR2C*, *FCGR3A* i *FCGR3B*). Do oceny różnic w częstości występowania poszczególnych alleli/genotypów w badanych grupach zastosowano dokładny test Fischera. Jako miarę względnego ryzyka rozwoju sarkoidozy i gruźlicy obliczono iloraz szans i jego 95% przedziały ufności. Za miarę istotności statystycznej uznawano wartość $p \leq 0,05$.

W obecnej pracy stwierdzono, że zwiększone ryzyko zachorowania zarówno na SA czy TB występowało u nosicieli allelu 57Q i heterozygot 57XQ genu *FCGR2C*, a zmniejszone u nosicieli allelu 57X i homozygot 57XX genu *FCGR2C*. Ponadto rozwój TB był także związany z częstą obecnością heterozygot NA1/NA2 genu *FCGR3B*. Zmniejszone ryzyko rozwoju SA występowało także u nosicieli heterozygot 158FV genu *FCGR3A*, a w TB u nosicieli allelu SH i genotypów NA2/NA2, NA1/SH genu *FCGR3B*. Analiza porównawcza częstości występowania polimorfizmów genów *FCGR* w poszczególnych fazach sarkoidozy wykazała we wczesnych stadiach choroby przewagę alleli i genotypów, kodujących mniej funkcjonalne receptory FcγRIIa, FcγRIIc, FcγRIIIb w porównaniu z zaawansowanymi jej fazami. U ogółu pacjentów z SA, jak i w poszczególnych jej stadiach, w porównaniu do chorych na TB wykazano różnice w częstości polimorfizmów genów *FCGR2C*, *FCGR3A* i *FCGR3B*. Liczba kopii poszczególnych genów *FCGR* nie miała wpływu na zwiększone ryzyko zachorowania na sarkoidozę i gruźlicę płuc oraz nie różniła się między tymi dwoma chorobami.

Przedstawione powyżej wyniki badań pozwoliły na przedłożenie wniosków, iż wykazany u pacjentów z sarkoidozą polimorfizm genów *FCGR2C* i *FCGR3A* może być związany ze zwiększonym ryzykiem rozwoju choroby. Częstsze występowanie bardziej funkcjonalnych receptorów FcγRIIc i mniej funkcjonalnych FcγRIIIa może tłumaczyć stwierdzoną wcześniej zwiększoną immunokompleksemię przy jednoczesnym wzroście odsetka monocytów z FcγR oraz dysfunkcję komórek NK u tych samych chorych. Analiza porównawcza częstości występowania polimorfizmów genów *FCGR* w poszczególnych fazach SA wykazała odmienną genetyczną wczesnych i zaawansowanych stadiów SA, podkreślając komponentę autoimmunizacyjną, zwłaszcza początkowych stadiów choroby. We wczesnych stadiach choroby (I, II, I/II) przewaga alleli i genotypów, kodujących mniej funkcjonalne

receptory FcγRIIa, FcγRIIc, FcγRIIIb w porównaniu z zaawansowanymi jej stadiami (III, IV, III/IV) może skutkować obniżoną fagocytozą KI/Ag i immunokompleksemią w początkowych fazach SA.

W TB zwiększone ryzyko zachorowania było związane z obecnością polimorfizmów genów *FCGR2C* oraz *FCGR3B* i występowaniem bardziej funkcjonalnych receptorów FcγRIIc oraz FcγRIIIb, które zwiększają klirens KI/Ag/Mtb i powodują mniejszą immunokompleksemię u tych chorych.

Porównawcza analiza polimorfizmów w/w genów *FCGR* w SA, jej poszczególnych fazach oraz w TB, potwierdziła częstsze występowanie mniej funkcjonalnych receptorów FcγRIIc, FcγRIIIa i FcγRIIIb w SA niż w gruźlicy. Może to być przyczyną obniżenia klirensu KI/Ag i większej immunokompleksii w sarkoidozie niż w gruźlicy, wykazanej w badaniach wcześniejszych u tych samych chorych. Ponadto częstsze występowanie alleli i genotypów, kodujących funkcjonalne FcγR w TB, w porównaniu do SA oraz osób zdrowych, może również skutkować nadmierną aktywacją neutrofilii i NETozą, która może utrudniać fagocytozę Mtb i przyczyniać się do rozwoju gruźlicy.

Wykazane różnice w częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów między SA i TB, a zwłaszcza w zakresie genów *FCGR3A* (genotyp 158FV) oraz *FCGR3B* (genotyp NA1/NA2), mogą stać się pomocne w różnicowaniu tych dwóch chorób, jednak wymagają potwierdzenia na większych grupach badanych.

Liczba kopii poszczególnych genów *FCGR* nie miała wpływu na zwiększone ryzyko zachorowania na sarkoidozę i gruźlicę płuc oraz nie różniła się między tymi dwoma chorobami.

10. SUMMARY

Sarcoidosis (SA) is a granulomatous disease of unknown etiology. In its etiopathogenesis, genetic, environmental (infectious, non-infectious) and autoimmunological factors are considered. Due to the similarities of the clinical, radiological and histopathological images of sarcoidosis to tuberculosis (TB), the participation of *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) antigens, e.g., heat shock proteins (Mtb-hsp) in the etiopathogenesis of SA, is most often considered.

In previous studies in our patients with sarcoidosis and TB, differences were found in the presence of Mtb-hsp in the lymph nodes, sera and circulating immune complexes (IC). Unlike TB, in SA, greater immunocomplexemia was documented despite increased phagocytic activity of peripheral blood monocytes and an increased percentage of cells with receptors for the Fc fragment of immunoglobulin G (FcγR). FcγRI, II and III receptors play a key role in the removal of the above-mentioned KI, which in the case of persistent immunocomplexemia may indicate dysfunction of these receptors in SA. Impaired KI clearance by FcγR may result from the polymorphism of the genes encoding these receptors: *FCGR2A*, *FCGR2B*, *FCGR2C*, *FCGR3A*, *FCGR3B* and/or from an abnormal copy number of these genes. Preliminary results of the above-mentioned molecular tests may confirm such a mechanism in sarcoidosis, but so far, a comprehensive analysis of the polymorphisms and the copy number of the *FCGRs* genes was not performed in tuberculosis. Differences in the frequencies of the particular alleles and genotypes and/or copies of the studied genes in SA and TB could also be helpful in finding a molecular marker differentiating these two diseases and thus avoiding a misdiagnosis.

Therefore, the goal of that study was the analysis of functional polymorphism and copy numbers of genes: *FCGR2A* (H131R), *FCGR2B* (I232T), *FCGR2C* (X57Q), *FCGR3A* (F158V) and *FCGR3B* (NA1/NA2/SH) in SA, TB and healthy volunteers.

The study was performed on ethnically homogenous Caucasians living in north Poland. The study included unrelated adults, both sexes, in different ages, without family history of sarcoidosis, tuberculosis, or any autoimmunological disease. The material was peripheral venous blood from 154 patients with sarcoidosis confirmed histopathologically, 179 patients with active tuberculosis confirmed by standard bacteriological criteria and 148 healthy volunteers.

Genotyping was performed by polymerase chain reaction (PCR) with the use of specific primers to particular alleles of genes (*FCGR2A*, *FCGR2C*, *FCGR3A* and *FCGR3B*) and real-time PCR (*FCGR2B* and copy number of genes *FCGR2A*, *FCGR2B*, *FCGR2C*, *FCGR3A*

and *FCGR3B*). Fischer's exact test was used to assess the differences in the frequency of particular alleles and genotypes in the studied groups. The odds ratio and its 95% confidence intervals were calculated as a measure of the relative risk of developing sarcoidosis and tuberculosis. The value was taken as the measure of statistical significance $p \leq 0.05$.

In the present study, it was found that an increased risk of developing both SA and TB occurred in carriers of the 57Q allele and 57XQ genotype of the *FCGR2C* gene, and decreased risk in carriers of the 57X allele and 57XX genotype of the *FCGR2C* gene. Moreover, the development of TB with more common presence of NA1/NA2 heterozygotes of the *FCGR3B* gene. However, a reduced risk of developing SA was observed in carriers of the 158FV heterozygotes of the *FCGR3A* gene, and TB in carriers of the SH allele and NA2/NA2, NA1/SH genotypes of the *FCGR3B* gene. Comparative analysis of the frequency of *FCGR* polymorphisms in particular stages of sarcoidosis showed in the early stages of the disease more frequent presence of alleles and genotypes encoding less functional Fc γ RIIIa, Fc γ RIIc, Fc γ RIIIb receptors compared to its advanced stages. Differences in the frequency of *FCGR2C*, *FCGR3A* and *FCGR3B* polymorphisms were found in all patients with SA and at its particular stages, compared to patients with TB. The number of copies of individual *FCGR* genes did not influence the increased risk of developing sarcoidosis and pulmonary tuberculosis, and did not differ between these two diseases.

The research results presented above allowed us to submit conclusions, that the polymorphism of *FCGR2C* and *FCGR3A* genes demonstrated in patients with sarcoidosis maybe associated with an increased risk of developing the disease. The higher prevalence of more functional Fc γ RIIc receptors and less functional Fc γ RIIIa receptors may explain the previously observed increased immunocomplexemia with a concomitant increase in the percentage of monocytes with Fc γ R and NK cell dysfunction in the same patients. A comparative analysis of the frequency of the *FCGR* gene polymorphisms in particular stages of SA showed a genetic difference in the early and advanced stages of SA, emphasizing the autoimmune component, especially in the initial stages of the disease. In the early stages of the disease (I, II, I/II), the predominance of alleles and genotypes encoding less functional Fc γ RIIIa, Fc γ RIIc, Fc γ RIIIb receptors compared to its advanced stages (III, IV, III/IV) may result in decreased KI/Ag phagocytosis and immunocomplexemia in the early stages of SA.

In TB, the increased risk of the disease development was associated with the presence of *FCGR2C* and *FCGR3B* polymorphisms and the presence of more functional Fc γ RIIc

and FcγRIIIb receptors, which increase KI/ Ag/Mtb clearance and cause less immunocomplexemia in these patients.

Comparative analysis of the polymorphisms of the above-mentioned *FCGR* genes in SA, its individual phases and in TB, confirmed the more frequent occurrence of less functional FcγRIIc, FcγRIIIa and FcγRIIIb receptors in SA than in tuberculosis. This may be the reason for a decreased KI/Ag clearance and greater immunocomplexemia in sarcoidosis than in tuberculosis, demonstrated in previous studies in the same patients. In addition, more frequent occurrence of alleles and genotypes encoding functional FcγRs in TB compared to SA and healthy subjects may also result in excessive activation of neutrophils and NETosis, which may impede phagocytosis of Mtb and contribute to the development of tuberculosis.

The differences in the frequency of the occurrence of individual alleles and genotypes between SA and TB, especially in terms of *FCGR3A* (158FV genotype) and *FCGR3B* (NA1/NA2 genotype) gene, may be helpful in differentiating these two diseases, but require confirmation in larger groups of subjects.

Copy numbers of individual *FCGR* genes did not affect the increased risk of developing sarcoidosis and pulmonary tuberculosis, and did not differ between these two diseases.

11. SPIS TABEL

Tabela 1.	Przyczyny powstawania ziarniniaków	20
Tabela 2.	Postacie sarkoidozy	22
Tabela 3.	Postacie gruźlicy.....	27
Tabela 4.	Kryteria rozpoznania gruźlicy wg WHO i ECDC.....	30
Tabela 5.	Wpływ antygenów HLA klasy I i II na ryzyko rozwoju, przebieg i postacie sarkoidozy (SA) oraz gruźlicy (TB).....	38
Tabela 6.	Wpływ polimorfizmów genów spoza układu HLA na rozwój, przebieg i postacie sarkoidozy (SA) i gruźlicy (TB).....	44
Tabela 7.	Charakterystyka kliniczna chorych na sarkoidozę (SA), gruźlicę płuc (TB) oraz zdrowych ochotników (C)	60
Tabela 8.	Wykaz odczynników chemicznych używanych w badaniach.....	63
Tabela 9.	Zestawy odczynników chemicznych używanych w badaniach nad SNP <i>FCGR2B</i>	64
Tabela 10.	Zestawy odczynników chemicznych używanych w badaniach nad CNV genów <i>FCGR</i>	65
Tabela 11.	Skład buforów i mieszanin używanych w badaniach.....	65
Tabela 12.	Sekwencje i długość starterów używanych w przeprowadzanych reakcjach PCR-SNP i RT-PCR.....	67
Tabela 13.	Sekwencje starterów użytych w reakcjach RT-PCR w celu określenia liczby kopii badanych genów	78
Tabela 14.	Częstość występowania poszczególnych alleli genu <i>FCGR2A</i> w badanych grupach	83
Tabela 15.	Częstość występowania poszczególnych genotypów genu <i>FCGR2A</i> w badanych grupach	83
Tabela 16.	Częstość występowania poszczególnych alleli genu <i>FCGR2B</i> w badanych grupach	90
Tabela 17.	Częstość występowania poszczególnych genotypów genu <i>FCGR2B</i> w badanych grupach	90
Tabela 18.	Częstość występowania poszczególnych alleli genu <i>FCGR2C</i> w badanych grupach	94
Tabela 19.	Częstość występowania poszczególnych genotypów genu <i>FCGR2C</i> w badanych grupach	94
Tabela 20.	Częstość występowania poszczególnych alleli genu <i>FCGR3A</i> w badanych grupach	104
Tabela 21.	Częstość występowania poszczególnych genotypów genu <i>FCGR3A</i> w badanych grupach	104
Tabela 22.	Częstość występowania poszczególnych alleli genu <i>FCGR3B</i> w badanych grupach	111
Tabela 23.	Częstość występowania poszczególnych genotypów genu <i>FCGR3B</i> w badanych grupach	112
Tabela 24.	Częstość występowania liczby kopii poszczególnych genów <i>FCGR</i> u chorych na sarkoidozę, gruźlicę oraz u osób zdrowych.....	120

12. SPIS RYCIN

Rycina 1A:	śródpiersiowy węzeł chłonny z licznymi niezlewającymi się ziarniakami nieserowaciejącymi u pacjenta z rozpoznaną sarkoidozą	25
Rycina 1B:	śródpiersiowy węzeł chłonny z ziarniakami z martwicą u pacjenta z rozpoznaną sarkoidozą	25
Rycina 2A:	śródpiersiowy węzeł chłonny z ziarniakiem serowaciejącym u pacjenta z rozpoznaną gruźlicą	29
Rycina 2B:	śródpiersiowy węzeł chłonny z ziarniakami nieserowaciejącymi u pacjenta z rozpoznaną gruźlicą	29
Rycina 3.	Etiopatogeneza sarkoidozy	33
Rycina 4.	Przykładowy wynik amplifikacji fragmentu genu <i>FCGR2A</i> i wewnętrznej kontroli reakcji PCR-SSP dla allelu 131H.	81
Rycina 5.	Przykładowy wynik amplifikacji fragmentu genu <i>FCGR2A</i> i wewnętrznej kontroli reakcji PCR-SSP dla allelu 131R	82
Rycina 6.	Analiza porównawcza częstości występowania poszczególnych alleli genu <i>FCGR2A</i> u ogółu pacjentów chorych na sarkoidozę, gruźlicę płuc i osób zdrowych	84
Rycina 7.	Analiza porównawcza częstości występowania poszczególnych genotypów genu <i>FCGR2A</i> u ogółu pacjentów chorych na sarkoidozę, gruźlicę płuc i osób zdrowych	84
Rycina 8.	Analiza porównawcza częstości występowania alleli genu <i>FCGR2A</i> pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy płucnej a osobami zdrowymi	85
Rycina 9.	Analiza porównawcza częstości występowania genotypów genu <i>FCGR2A</i> pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy płucnej a osobami zdrowymi	85
Rycina 10.	Analiza porównawcza częstości występowania alleli genu <i>FCGR2A</i> pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy płucnej	86
Rycina 11.	Analiza porównawcza częstości występowania genotypów genu <i>FCGR2A</i> pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy płucnej	87
Rycina 12.	Analiza porównawcza częstości występowania alleli genu <i>FCGR2A</i> pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy płucnej a chorymi na gruźlicę	87
Rycina 13.	Analiza porównawcza częstości występowania genotypów genu <i>FCGR2A</i> pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy płucnej a chorymi na gruźlicę	88
Rycina 14.	Przykładowy wynik reakcji qPCR genu <i>FCGR2B</i> dla genotypu 232TT	89
Rycina 15.	Przykładowy wynik reakcji qPCR genu <i>FCGR2B</i> dla genotypu 232IT	89
Rycina 16.	Analiza porównawcza częstości występowania poszczególnych alleli genu <i>FCGR2B</i> w badanych grupach	91
Rycina 17.	Analiza porównawcza częstości występowania poszczególnych genotypów genu <i>FCGR2B</i> w badanych grupach	91

Rycina 18.	Przykładowy wynik amplifikacji fragmentu genu <i>FCGR2C</i> i wewnętrznej kontroli reakcji PCR-SSP dla allelu 57X	93
Rycina 19.	Przykładowy wynik amplifikacji fragmentu genu <i>FCGR2C</i> i wewnętrznej kontroli reakcji PCR-SSP dla allelu 57Q	93
Rycina 20.	Analiza porównawcza częstości występowania poszczególnych alleli genu <i>FCGR2C</i> u ogółu pacjentów chorych na sarkoidozę, gruźlicę płuc i osób zdrowych	95
Rycina 21.	Analiza porównawcza częstości występowania poszczególnych genotypów genu <i>FCGR2C</i> u ogółu pacjentów chorych na sarkoidozę, gruźlicę płuc i osób zdrowych	96
Rycina 22.	Analiza porównawcza częstości występowania alleli genu <i>FCGR2C</i> pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy płucnej i w połączonych grupach chorych w stadiach I/II oraz III/IV SA a osobami zdrowymi.....	97
Rycina 23.	Analiza porównawcza częstości występowania genotypów genu <i>FCGR2C</i> pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy i w połączonych grupach chorych w stadiach I/II oraz III/IV SA a osobami zdrowymi.....	98
Rycina 24.	Analiza porównawcza częstości występowania alleli genu <i>FCGR2C</i> pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy płucnej i w połączonych grupach chorych w stadiach I/II oraz III/IV SA	99
Rycina 25.	Analiza porównawcza częstości występowania genotypów genu <i>FCGR2C</i> pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy płucnej i w połączonych grupach chorych w stadiach I/II oraz III/IV SA	100
Rycina 26.	Analiza porównawcza częstości występowania alleli genu <i>FCGR2C</i> pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy płucnej i w połączonych grupach chorych w stadiach I/II oraz III/IV SA a chorymi na gruźlicę.....	101
Rycina 27.	Analiza porównawcza częstości występowania genotypów genu <i>FCGR2C</i> pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy płucnej i w połączonych grupach chorych w stadiach I/II oraz III/IV SA a chorymi na gruźlicę.....	102
Rycina 28.	Przykładowy wynik amplifikacji fragmentu genu <i>FCGR3A</i> i wewnętrznej kontroli reakcji PCR-SSP dla allelu 158F.....	103
Rycina 29.	Przykładowy wynik amplifikacji fragmentu genu <i>FCGR3A</i> i wewnętrznej kontroli reakcji PCR-SSP dla allelu 158V	103
Rycina 30.	Analiza porównawcza częstości występowania poszczególnych alleli genu <i>FCGR3A</i> u ogółu pacjentów chorych na sarkoidozę, gruźlicę płuc i osób zdrowych	105
Rycina 31.	Analiza porównawcza częstości występowania poszczególnych genotypów genu <i>FCGR3A</i> u ogółu pacjentów chorych na sarkoidozę, gruźlicę płuc i osób zdrowych	105
Rycina 32.	Analiza porównawcza częstości występowania genotypów genu <i>FCGR3A</i> pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy	

	płucnej i w połączonych grupach chorych w stadiach I/II oraz III/IV SA a osobami zdrowymi	106
Rycina 33.	Analiza porównawcza częstości występowania alleli genu <i>FCGR3A</i> pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy płucnej.....	107
Rycina 34.	Analiza porównawcza częstości występowania genotypów genu <i>FCGR3A</i> pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy płucnej.....	108
Rycina 35.	Analiza porównawcza częstości występowania alleli genu <i>FCGR3A</i> pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy płucnej i w połączonych grupach chorych w stadiach I/II oraz III/IV SA a chorymi na gruźlicę.....	109
Rycina 36.	Analiza porównawcza częstości występowania genotypów genu <i>FCGR3A</i> pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy płucnej i w połączonych grupach chorych w stadiach I/II oraz III/IV SA a chorymi na gruźlicę.....	110
Rycina 37.	Przykładowy wynik amplifikacji fragmentów genu <i>FCGR3B</i>	111
Rycina 38.	Analiza porównawcza częstości występowania poszczególnych alleli genu <i>FCGR3B</i> u ogółu pacjentów chorych na sarkoidozę, gruźlicę płuc i osób zdrowych	113
Rycina 39.	Analiza porównawcza częstości występowania poszczególnych genotypów genu <i>FCGR3B</i> u ogółu pacjentów chorych na sarkoidozę, gruźlicę płuc i osób zdrowych	114
Rycina 40.	Analiza porównawcza częstości występowania genotypów genu <i>FCGR3B</i> pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy płucnej i w połączonych grupach chorych w stadiach I/II oraz III/IV SA a osobami zdrowymi	115
Rycina 41.	Analiza porównawcza częstości występowania alleli genu <i>FCGR3B</i> pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy płucnej i w połączonych grupach chorych w stadiach I/II oraz III/IV SA	116
Rycina 42.	Analiza porównawcza częstości występowania genotypów genu <i>FCGR3B</i> pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy płucnej i w połączonych grupach chorych w stadiach I/II oraz III/IV SA.....	117
Rycina 43.	Analiza porównawcza częstości występowania alleli genu <i>FCGR3B</i> pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy płucnej i w połączonych grupach chorych w stadiach I/II oraz III/IV SA a chorymi na gruźlicę.....	118
Rycina 44.	Analiza porównawcza częstości występowania genotypów genu <i>FCGR3B</i> pomiędzy chorymi w poszczególnych stadiach sarkoidozy płucnej i w połączonych grupach chorych w stadiach I/II oraz III/IV SA a chorymi na gruźlicę.....	119
Rycina 45.	Częstość występowania liczby kopii poszczególnych genów <i>FCGR</i> u chorych na sarkoidozę, gruźlicę oraz u osób zdrowych.....	121