



**МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ-ПЛЕВЕН**  
**Факултет Фармация**

**Катедра „Химия и Биохимия“**  
**Борислав Цветанов Димитров**

**АНАЛИЗ РОЛЯТА НА ГЕНЕТИЧНИ ВАРИАНТИ НА**  
**ТРОМБОФИЛИЧНИ ФАКТОРИ В ПАТОЛОГИЯТА НА**  
**ПСОРИАЗИС ВУЛГАРИС**

**Автореферат на дисертационен труд**  
**за придобиване на ОНС „Доктор“**

за придобиване на образователната и научна степен „Доктор“

Област на висше образование: 4. Природни науки, математика и информатика

Професионално направление 4.3. „Биологически науки“

Докторска програма „Биохимия“

**Научни ръководители:**

Проф. Регина Комса-Пенкова, д.б.н.

Проф. д-р Димитър Константинов Господинов, д.м.н.

**Официални рецензенти:**

Проф. Татяна Иванова Влайкова, д.б.

Проф. Мария Атанасова Раданова, д.б.

**Плевен 2025**

Дисертационният труд е представен на 149 стандартни машинописни страници. Съдържа 38 таблици и 34 фигури и 3 приложения.

Библиографията обхваща 414 литературни източника, от които 410 на латиница и 4 на кирилица.

Дисертационният труд е обсъден и насочен за публична защита на Разширен катедрен съвет на катедра „Химия/Биохимия“ при Медицински Университет - Плевен.

Изследванията по дисертационния труд са извършени в клиниката по кожни и венерически болести УМБАЛ “Д-р Георги Странски” гр. Плевен и в сектор „Биохимия“, Медицински Университет - Плевен.

Докторантът работи като преподавател в сектор „Биохимия“ при Медицински Университет - Плевен.

Официалната защита на дисертационния труд ще се състои на 27.02.2025 г. от 12:00 ч. в зала „Амброаз Парев“ в Медицински Университет - Плевен.

Материалите по защитата на дисертационния труд са публикувани на страницата на МУ - Плевен - [www.mu-pleven.bg](http://www.mu-pleven.bg).

# СЪДЪРЖАНИЕ

<b>1. ВЪВЕДЕНИЕ</b> .....	стр.6
<b>2. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ</b> .....	стр.7
2.1. Цел.....	стр.7
2.2. Задачи.....	стр.7
<b>3. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ</b> .....	стр.8
3.1. Изследвани групи индивиди. Подбор и клинични критерии за включване в изследването .....	стр.8
3.1.1. Подбор на пациенти с псориазис.....	стр.8
3.1.2. Селекция на контролна група.....	стр.9
3.2. Клиничен метод.....	стр.9
3.2.1. Критерии за диагноза на метаболитен синдром.....	стр.10
3.3. ДНК анализ.....	стр.10
3.3.1. Извличане на геномна ДНК от венозна кръв по метода на солевата екстракция.....	стр.10
3.3.2. Използване на Полимеразна верижната реакция (PCR) за анализ на носителството на полиморфизми <i>SND -675 ID 4G/5G</i> в гена на <i>PAI-1</i> , <i>677 C&gt;T</i> вариант в <i>MTHFR</i> , <i>PLA1/A2</i> в гена на тромбоцитен гликопротеин <i>IIb/IIIa (rs5918ITGB3)</i> , <i>FVL (rs6025)</i> , <i>FII 20210 G&gt;A (rs1799963)</i> мутация в протромбиновия ген.....	стр.11
3.3.3. Диагностичен ДНК анализ. Методи за откриване на известни полиморфизми.....	стр.11
3.3.3.1. Рестрикционен анализ.....	стр.11
3.3.3.2. Алел – специфичен PCR.....	стр.11
3.3.3.3. Визуализация на резултатите от алел специфичен PCR и рестрикционния анализ чрез агарозна гел електрофореза.....	стр.12
3.3.3.4. Използване на кит Strip Assay (Cardiovascular diseases (CVD) на ViennaLab Diagnostics) анализ на носителството на полиморфизъм <i>1298A&gt;C</i> вариант в <i>MTHFR</i> .....	стр.12
3.4. Анализ на носителството на полиморфизми <i>SND - 675 ID 4G/5G</i> в гена на <i>PAI-1</i> , <i>PLA1/A2 (rs5918ITGB3)</i> в гена на тромбоцитен интегрин <i>B3</i> , <i>677 C&gt;T MTHFR (rs5918ITGB3)</i> в гена на <i>MTHFR</i> , <i>FII 20210 G&gt;A (rs1799963)</i> в гена на коагулационен <i>FII</i> и <i>FVL (rs6025)</i> в гена на фактор <i>V</i> при пациенти с псориазис и контроли.....	стр.12
3.4.1. Анализ на връзката между носителството на петте тромбофилични полиморфизма и клинични и лабораторни данни за пациенти с псориазис.....	стр.13
3.5. Определяне серумните нива на <i>PAI-1</i> чрез ELISA (ензимно-свързан имуносорбентен анализ) .....	стр.13
3.6. Статистически методи.....	стр.13
<b>4. РЕЗУЛТАТИ</b> .....	стр.15
4.1. Антропометрични и клинични данни.....	стр.15
4.2. Носителство на <i>SND -675 ID, 4G/5G</i> в гена на <i>PAI-1</i> при пациенти с псориазис.....	стр.16
4.2.1. Клинични и лабораторни данни при пациенти с псориазис, носители на <i>SND -675 ID 4G/4G</i> генотип.....	стр.17
4.3. Носителство на полиморфизъм <i>MTHFR 677C&gt;T (rs1801133)</i> при пациенти с псориазис.....	стр.17
4.3.1. Клинични и лабораторни данни.....	стр.21

4.4. Носителство на генотиповете С/С, С/Т и Т/Т на <i>PLA1/A2</i> полиморфизъм ( <i>rs5918 (C)</i> ) в гена на <i>ITGB3</i> и алелно разпределение, OR, $\chi^2$ , 95% CI и точен тест на Fisher при пациенти с псориазис спрямо контроли.....	стр.23
4.4.1. Клинични и лабораторни данни.....	стр.25
4.5. Носителство на полиморфизъм <i>FVL 1691(G&gt;A) (rs6025)</i> при пациенти с псориазис.....	стр.27
4.5.1. Клинични и лабораторни данни.....	стр.28
4.6. Носителство на полиморфизъм <i>FII 20210 (G&gt;A) SNP (rs1799963)</i> при пациенти с псориазис.....	стр.30
4.6.1. Клинични и лабораторни данни.....	стр.31
<b>5. ДИСКУСИЯ.....</b>	стр.33
5.1. Носителство на полиморфизъм <i>SND -675 ID, 4G/5G</i> в гена на PAI-1 сред пациенти с псориазис.....	стр.34
5.1.1. Връзка на генотип <i>4G/4G</i> с метаболитни показатели и коморбидности.....	стр.35
5.2. Полиморфизъм <i>MTHFR 677C&gt;T</i> като рисков фактор за псориазис и коморбидности.....	стр.37
5.2.1. Връзка на псориазис с полиморфизъм <i>677C&gt;T (rs1801133)</i> ТТ генотип при пациенти с псориазис.....	стр.37
5.2.2. Връзка на <i>MTHFR 677TT (rs1801133)</i> полиморфизъм с метаболитни показатели и коморбидности.....	стр.38
5.2.3. Носителството на <i>MTHFR 677C&gt;T</i> ТТ генотип и захарен диабет, дислипидемии и метаболитен синдром.....	стр.38
5.3. Носителство на <i>ITGB3 rs5918(C)</i> полиморфизъм сред пациенти с псориазис....	стр.40
5.3.1. Носителство на <i>ITGB3 rs5918(C)</i> полиморфизъм при пациенти с псориазис.....	стр.41
5.3.2. Връзка на <i>ITGB3 rs5918(C)</i> полиморфизъм с метаболитни показатели и коморбидности.....	стр.41
5.4. Роля на <i>FVL</i> за развитие на псориазис и коморбидности.....	стр.42
5.4.1. Носителство на <i>FVL</i> полиморфизъм сред пациенти с псориазис.....	стр.43
5.4.2. Връзка на <i>FVL</i> полиморфизъм с метаболитни показатели и коморбидности.....	стр.43
5.5. Полиморфизъм <i>FII 20210 (G&gt;A) SNP (rs1799963)</i> при пациенти с псориазис.....	стр.44
5.5.1. Носителство на <i>FII 20210 G&gt;A</i> полиморфизъм сред пациенти с псориазис.....	стр.44
5.5.2. Връзка на <i>FII 20210 G&gt;A</i> полиморфизъм с метаболитни показатели и коморбидности.....	стр.44
5.6. Връзка на изследваните протромботични мутации с метаболитните показатели и коморбидностите при пациенти с псориазис.....	стр.45
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЯ И ИЗВОДИ.....</b>	стр.46
<b>ПРИНОСИ.....</b>	стр.48
<b>СПИСЪК НА НАУЧНА ПРОДУКЦИЯ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИЯТА...стр.49</b>	
<b>ДОПЪЛНИТЕЛНИ МАТЕРИАЛИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД.....</b>	стр.50

## Използвани съкращения

<b>MC</b>	-	Метаболитен синдром
<b>АН</b>	-	Артериално налягане
<b>ССЗ</b>	-	Сърдечно-съдови заболявания
<b>ДВТ</b>	-	Дълбока венозна тромбоза
<b>БТЕ</b>	-	Белодробен тромбемболизъм
<b>SD</b>	-	Стандартно отклонение
<b>CI</b>	-	Доверителен интервал
<b>OR</b>	-	Съотношение на шансовете
<b>IL-6</b>		Интерлевкин-6
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	-	Фактор на туморна некроза- $\alpha$
<b>SNP</b>	-	Еднонуклеотиден полиморфизъм
<b>PASI</b>	-	Psoriasis Area and Severity Index
<b>BMI</b>	-	Body mass index, Индекс на телесна маса
<b>CRP</b>	-	C-реактивен протеин
<b>PAI-1</b>	-	Плазминоген активатор инхибитор тип 1
<b>SND</b>	-	Делеция на единичен нуклеотид
<b>tPA</b>	-	Тъканен плазминоген активатор
<b>uPA</b>	-	Урокиназа
<b>GP</b>	-	Гликопротеин
<b>FV</b>		Фактор V
<b>FVL</b>	-	Фактор V Leiden
<b>PII</b>	-	Протромбин/Фактор II
<b>MTHFR</b>	-	Метилен Тетрахидрофолат Редуктаза
<b>THF</b>		Тетрахидрофолат
<b>MI</b>	-	Инфаркт на миокарда
<b>PCR</b>	-	Полимеразна Верижна Реакция
<b>GP1b/IIIa</b>	-	Гликопротеин 1b/IIIa
<b>GP1b</b>	-	Гликопротеин 1b
<b>SAM</b>	-	S-аденозилметионин
<b>HDL</b>	-	Липопротеини с висока плътност
<b>ADP</b>	-	Аденозин дифосфат
<b>HWE</b>	-	Уравнение на Харди-Вайнберг
<b>NAFLD</b>	-	Неалкохолна мастна чернодробна болест
<b>VWF</b>	-	Фактор на фон Вилебранд

## 1. ВЪВЕДЕНИЕ

Псориазис е широко разпространена хронично-рецидивираща дерматоза, която обхваща около 1-5% от населението в развитите държави. Патологичната епидермална хиперпролиферация и паракератозата са основните хистологични характеристики на псориазиса. Повишеното освобождаване на провъзпалителни цитокини и хроничното активиране на вродената и адаптивна имунна система водят до дългосрочно увреждане на множество тъкани и органи на пациентите. Псориазисът е системен процес, свързан с множество съпътстващи заболявания, като псориаатичен артрит, Болест на Крон, рак, артериална хипертония, сърдечно-съдови заболявания (ССЗ), хронична обструктивна белодробна болест, неалкохолна мастна чернодробна болест (NAFLD), депресия и др.

Все по-голям брой клинични проучвания потвърждават, че псориазисът често е свързан с кардиометаболитни фактори като затлъстяване, захарен диабет, хиперлипидемия, инсулинова резистентност и метаболитен синдром (МС). Тези кардиометаболитни фактори директно повишават риска от ССЗ, артериални и венозни тромбози и водят до преждевременна смъртност при пациенти с псориазис, като по този начин значително намаляват продължителността на живота им. Ето защо е изключително важно да се разберат механизмите и факторите, които са в основата на връзката между псориазис и коморбидностите. Въпреки че не е установена окончателна причинно-следствена връзка, комбинацията от генетични фактори, общи сигнални пътища и фактори на околната среда би могла да доведе до метаболитни аномалии при пациенти с псориазис.

Като имуновъзпалително заболяване псориазисът се характеризира с Т хелпери тип 1 и Т хелпери тип 17 - опосредствано възпаление, при което се установява забележимо припокриване с възпалителни маркери и медиатори на атеросклерозата. Освен това, патологичната ангиогенеза, ендотелната дисфункция и нарушената коагулация са чести както при псориазис, така и при сърдечно-метаболитни заболявания, което предполага връзка в тяхната патогенеза.

Тези данни могат да обяснят отчасти, свързания с псориазиса риск от атеротромботични сърдечно-съдови инциденти, например остър инфаркт на миокарда (МИ) и сърдечно-съдова смъртност. Атеротромботични събития са съпроводени с повишени маркери за хиперкоагулация, включително активиране на тромбоцитите и хиперхомоцистеинемия.

Данните за потенциалното въздействие на псориазиса върху риска от венозни тромботични инциденти и в частност венозен тромбемболизъм (ВТЕ) са ограничени. Има данни, че рискът от венозна тромбоза и други нежелани сърдечно-съдови събития е повишен при пациенти с псориазис. Според мета-анализ на пет проучвания от 2021 година показва, че рискът за ВТЕ при пациенти с псориазис е повишен, макар и несигнификантно в сравнение със здрави контроли. Доказано е, че хроничното възпаление при автоимунните заболявания, насърчава коагулационната каскада, нарушава антикоагулационния път и инхибира фибринолитичния процес –

компонентите на триадата на Вирхов. При пациенти с псориазис е документирана ендотелната дисфункция. Въпреки тези данни, не е ясно защо пациентите с псориазис имат по-висок риск от коморбидностите с възпалителен и протромботичен произход. Необходими са още изследвания за определяне на рисковите подгрупи (напр. пациенти в по-млада възраст, носители на определени генетични фактори, начин на живот и метаболитни показатели) за развитие на коморбидностите.

Същевременно, псориазис притежава мултифакторна генетична основа доказана от епидемиологични проучвания и фамилни истории, включващи различни полиморфни алели.

Тези факти ни навеждат на мисълта, че специфичните полиморфизми свързани с риск от провъзпалителни и протромботични състояния, могат да допринесат и за по-висок риск от развитие на съпътстващи заболявания в хода на псориазисната болест.

## 2. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

### 2.1. Цел

Изследване ролята на полиморфизмите: PAI-1 (-675 ID, (4G/5G), PL A1/A2(rs5918ITGB3), MTHFR C667C>T (rs1801133), FVL (rs 6025) и FII 20210 G>A (rs179996) като рискови фактори за развитие на Псориазис вулгарис и съпътстващи заболявания

### 2.2. Задачи

1. Генотипиране на пациенти с плакатна форма на псориазис и на контролна група от здрави доброволци по отношение на полиморфизъм (-675 ID, (4G/5G), в гена на плазминоген активатор инхибитор тип 1 (PAI-1) и проучване връзката между носителство на този полиморфизъм и определяне риска за развитие на това заболяване, както и значението му за евентуални коморбидности, в т.ч.: ССЗ, диабет тип 2, хиперлипидемии, затлъстяване и МС, проявяваща се при носителите на този полиморфизъм.
2. Генотипиране на пациенти с плакатна форма на псориазис и на контролна група от здрави доброволци по отношение на полиморфизъм C667C>T в гена на Метилен Тетрахидрофолат Редуктаза (MTHFR) и проучване връзката между носителство на този полиморфизъм и определяне риска за развитие на това заболяване, както и значението му за евентуални коморбидности, в т.ч.: ССЗ, диабет тип 2, хиперлипидемии, затлъстяване и МС, проявяваща се при носителите на този полиморфизъм.
3. Генотипиране на пациенти с плакатна форма на псориазис и на контролна група от здрави доброволци по отношение на полиморфизъм PLA1/A2 (rs5918ITGB3) в гена на тромбоцитния интегрин 3В и проучване връзката между носителство на този полиморфизъм и определяне риска за развитие на това заболяване, както и значението

му за евентуални коморбидности, в т.ч.: ССЗ, диабет тип 2, хиперлипидемии, затлъстяване и МС, проявяваща се при носителите на този полиморфизъм.

4. Генотипиране на пациенти с плакатна форма на псориазис и на контролна група от здрави доброволци по отношение на полиморфизъм Фактор V Leiden (*FVL*) (*rs6025*) в гена на Фактор V (*FV*) и проучване връзката между носителство на този полиморфизъм и определяне риска за развитие на това заболяване, както и значението му за евентуални коморбидности, в т.ч.: ССЗ, диабет тип 2, хиперлипидемии, затлъстяване и МС, проявяваща се при носителите на този полиморфизъм.

5. Генотипиране на пациенти с плакатна форма на псориазис и на контролна група от здрави доброволци по отношение на полиморфизъм *FII 20210 G>A* (*rs179996*) в гена на Фактор II/протромбин (*FII*) и проучване връзката между носителство на този полиморфизъм и определяне риска за развитие на това заболяване, както и значението му за евентуални коморбидности, в т.ч.: ССЗ, диабет тип 2, хиперлипидемии, затлъстяване и МС, проявяваща се при носителите на този полиморфизъм.

### **3. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ**

#### **3.1. Изследвани групи индивиди. Подбор и клинични критерии за включване в изследването.**

##### **3.1.1. Подбор на пациенти с псориазис**

Обект на проучването са пациенти с псориазис от европейската/кавказка раса, на възраст над 18 години, провеждащи стационарно лечение в клиниката по кожни и венерически болести УМБАЛ “Д-р Георги Странски” Плевен, България в периода 2015-2021 г.

Проучването е клинично-лабораторно, защото се прави в момент, в който пациентите са в болницата и беше извършено върху 82 мъже и 27 жени, общо 109 пациента (таблица 3.1.).

Пациентите с дерматозата са хоспитализирани съгласно Наредбата на НЗОК за клиничните пътеки. Селектиране на подходящите за изследване пациенти с плакатна форма на псориазис е осъществено от лекуващите лекари в клиниката от общо 940 хоспитализирани пациенти с дерматологично заболяване за същия период от време.

Подборът бе направен на базата на анамнеза и специално разработени анкетни карти, съдържащи информация за вида на псориазисът, възраст на изява, наличие на рискови фактори, фамилна обремененост, хранителни навици, физическа активност. Пациентите нямаха кръвнородствена връзка помежду си. В изготвянето на анкетните карти са взели участие специалисти в областта на дерматологията, биохимията и медицинската генетика, като са използвани най-новите публикувани данни по проблема.



### 3.1.2. Селекция на контролна група

Контролната група включва 181 здрави индивиди на възраст над 18 години (77 мъже и 104 жени) (таблица 3.1.). Индивидите от контролните групи нямат кръвно-родствена връзка по между си и са от европейската/кавказка раса. Всички участници на контролната група са подписали информирано съгласие.

**Таблица 3.1.** Брой и демографска характеристика на пациентите с псориазис и контролната група здрави индивиди

Изследвани индивиди	Пациенти с псориазис	Контролна група
Брой (n)	109	181
Мъже брой n (%)	82 (75)	77 (42.55)
Жени брой n (%)	27 (25)	104 (57.45)
Възраст ( $\bar{X} \pm SD$ ) обсег	53.87 ( $\pm 12.60$ ) (20-87)	41.14 ( $\pm 12.01$ ) (17-71)
Възраст мъже ( $\bar{X} \pm SD$ ) обсег	54.67 ( $\pm 11.68$ ) (30-87)	39.62 ( $\pm 11.95$ ) (21-71)
Възраст жени ( $\bar{X} \pm SD$ ) обсег	51.48 ( $\pm 15.02$ ) (20-77)	42.21 ( $\pm 11.98$ ) (17-71)

### 3.2. Клиничен метод

Данните за анамнеза, физикален и дерматологичен статус, лабораторни изследвания, данни за наследственост, стрес, инфекции и други провокиращи фактори; минали и настоящи заболявания; както и провеждана терапия (за метотрексат, системни и локални стероиди, ретиноиди, фототерапия et al.); вредни навици – тютюнопушене, прием на стимуланти, злоупотреба с алкохол са взети от болничната документация (Епикриза) и са нанесени в изработен за нуждите на проучването входящ фиш. Клиничните данни бяха предоставени от клиниката по кожни и венерически болести УМБАЛ “Д-р Георги Странски” Плевен.

Антропометрични данни бяха взети от клиничните картони на пациентите: височина (в cm) и тегло (в kg) и бе изчислен индекс на телесна маса (BMI), като теглото (kg) върху височината (m) на квадрат ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ).

Следните биохимични показатели са изследвани в клиничната лаборатория на УМБАЛ - Плевен: кръвна захар на гладно (mmol/l), триглицериди (mmol/l), липопротеини с висока плътност (HDL)-холестерол (mmol/l), общ холестерол (mmol/l), С-реактивен протеин (CRP) (mg/l), пикочна киселина.

(Клиничната лаборатория на УМБАЛ – Плевен се сертифицира на всеки две седмици по правилата за сертификация.)

Пациенти с хипергликемия, триглицеридемия, с нисък HDL,

хиперхолестеролемия, дислипидемия, високо CRP бяха анализирани статистически по групи.

Данните за тежестта на заболяването на пациентите включват Psoriasis Area Severity Index (PASI). Този индекс варира в диапазона от нула до седемдесет и два, и отразява степента на засягане на кожата повърхност както и определя тежестта на заболяването. Тежестта на заболяването според оценката на PASI се разграничава както следва: лек псориазис (PASI < 3), умерен псориазис (PASI 3-10), тежък псориазис (PASI 10-20) и много тежък псориазис (PASI > 20)

Следните данни за съпътстващите заболявания бяха взети от клиничните картони на пациентите за статистически анализ: наличие на съпътстващи заболявания като: хипертония, диабет тип 2, псориазисен артрит, ССЗ без хипертония, ССЗ + хипертония, чернодробни заболявания, тромбози, МС, МС + BMI > 30. Част от пациентите притежаваха картони с непълни данни за съпътстващите заболявания. По тази причина не са били включени в анализ на съпътстващи заболявания.

### 3.2.1. Критерии за диагноза на МС

Наличието на МС е диагностицирано по критериите на IDF (International Diabetes Federation) и NCEP: АТPIII (National Cholesterol Education Program: Adult Treatment Panel III). Диагнозата се поставя при наличие на първия критерий, който е затлъстяване и още два от следващите 4 критерия.

1. Обезитет III – IV степен. Определен с размера на обиколката на талията съобразно Европейските норми за централно затлъстяване (задължителен компонент) – за европейската раса – обиколка на талията  $\geq 94$  cm при мъжете и  $\geq 80$  cm при жените и по-голям от  $30 \text{ kg/m}^2$ .
2. Повишени нива на триглицериди  $\geq 1.7 \text{ mmol/l}$  ( $\geq 150 \text{ mg/dl}$ ) или специфично лечение поради това липидно нарушение.
3. Нисък HDL-холестерол (HDL)  $\leq 1.04 \text{ mmol/l}$  ( $40 \text{ mg/dl}$ ) при мъжете и  $1.30 \text{ mmol/l}$  при жените.
4. Хипергликемия  $> 6.1 \text{ mmol/l}$  или диагностициран вече диабет тип 2.

Хипертензия, повишено артериално налягане (АН) – систолно АН  $\geq 130 \text{ mm Hg}$  или диастолно АН  $\geq 85 \text{ mm Hg}$ , или лечение на диагностицирана преди това хипертензия.

### 3.3. ДНК анализ.

Този раздел включва: методи за екстракция и характеристика на количеството и качеството на екстрахираната ДНК, ДНК размножаване и анализ.

#### 3.3.1. Извличане на геномна ДНК по метода на солева екстракция

За екстракцията на геномна ДНК от венозна кръв се лизират бели кръвни клетки с ядра и се отстраняват хистоновите и нехистоновите протеини, свързани с геномната ДНК. ДНК добивът е  $\sim 30\text{-}60 \text{ }\mu\text{g/ml}$ .

### **3.3.2. Използване на Полимеразна верижната реакция (PCR) за анализ на носителството на полиморфизми *SND -675 ID 4G/5G* в гена на *PAI-1*, *677 C>T* вариант в *MTHFR(rs1801133)*, *PLA1/A2* в гена на тромбоцитен гликопротеин Пб/Ша (*rs5918ITGB3*), *FVL (rs6025)*, *FII 20210 G>A (rs1799963)* мутация в протромбиновия ген**

Полимеразната верижната реакция представлява *in vitro* репликация на избран регион от ДНК, чрез използване на праймери (къси ДНК последователности), разпознаващи изследвания участък. Синтезата на ДНК копията се осъществява от *Taq* полимераза, която представлява термостабилна ДНК полимераза. В резултат на PCR се получават милиони копия от ДНК от изследвания регион, които след това се използват в качествени реакции за откриване на полиморфизми. Самата реакция PCR може да бъде използвана и директно като алел-специфичен диагностичен метод за откриване на генетични полиморфизми.

### **3.3.3. Диагностичен ДНК анализ. Методи за откриване на известни полиморфизми**

В този труд са използвани три методики за директен ДНК анализ на полиморфизми: Алел – специфичен PCR, Рестрикционен анализ и Strip assay.

#### **3.3.3.1. Рестрикционен анализ.**

Тази методика се използва за потвърждаване или отхвърляне на наличието на мутация, където PCR продуктите се инкубират с рестрикционна ендонуклеаза. Ензимът е избран така, че разпознава специфична ДНК последователност и я разрязва на два по-малки фрагмента. Наличието на мутация в анализирания ДНК регион създава/премахва специфичната последователност разпознавана от рестриктазата. PCR продуктът съдържащ полиморфизма се различава по дължина в сравнение с PCR продукт без полиморфизма, което води до различна електрофоретична подвижност.

Рестрикционният анализ е използван в дисертационния труд за потвърждаване носителството на рецесивния алел *677 T* на полиморфизъм *677 C>T* в гена на *MTHFR*, доминантния алел *1691A* на *FVL* полиморфизъм на фактор *FV* и доминантния алел *20210A* на полиморфизъм (*FII 20210 G>A*) гена на коагулационния *FII*.

#### **3.3.3.2. Алел – специфичен PCR**

Алел – специфичен PCR представлява модификация на стандартния PCR, в която за да се постигне висока специфичност се използва алел-специфичен праймер, който хибридира само при наличие или отсъствие на мутация в ДНК.

За всяка ДНК проба се извършват два паралелни PCR – единият с праймер за нормален алел и другият с праймер за мутантен алел. И в двете реакционни смеси се поставят т. нар. конституитивни праймери, чрез които се намножава ДНК секвенция извън изследвания регион. Продуктът получен в резултат на хибридизацията на конституитивни праймери е гаранция че PCR реакцията е протекла. Намножените продукти от двете паралелни реакции се тестват едновременно върху гел електрофореза. Наличието на продукт в съответната PCR реакция показва носителство на съответния алел (мутантен или нормален). Наличието на продукт и в двете PCR реакции означава

хетерозиготно носителство.

Алел – специфичния PCR бе използван за определяне носителство на рецесивния алел 4G на *SND -675 ID 4G/5G* в гена на PAI-1.

### **3.3.3.3. Визуализация на резултатите от алел специфичния PCR и рестрикциозния анализ чрез агарозна гел електрофореза**

Агарозната гел електрофореза се използва за разделяне на ДНК последователности върху агарозен гел, поради различната им електрофоретична подвижност в зависимост от тяхната дължина, при пропускане на прав ток с напрежение 140-160 V. Подвижността на ДНК фрагментите в гела се поддържа чрез електрофоретичен буфер. За да бъде накапаната ДНК ограничена в ямките на агарозния гел, се налага смесване с багрилото ксилен цианол, който служи и за визуален маркер за движението на ДНК в гела (2 µl ксилен цианол се смесва с 10-15 µl от ДНК продукта). Преди да полимеризира към охлаждащата се агароза се добавя етидиев бромид (интеркалиращо се в спиралата на ДНК багрило). При движението си през агарозния гел ДНК е белязана с етидиев бромид и може да бъде наблюдавано на UV светлина. Проявяването на разделените ДНК последователности се извършва чрез UV-трансилюминатор.

### **3.3.3.4. Използване на кит Strip Assay (Cardiovascular diseases (CVD) на ViennaLab Diagnostics) анализ на носителството на полиморфизъм *1298A>C* вариант в *MTHFR***

Strip Assay Cardiovascular diseases (CVD) на ViennaLab Diagnostics е кит за определяне на носителството на следните полиморфизми: Фактор V Leiden, *H1299R* в гена за Фактор V, *V34L* в гена за Factor XIII, *20210 G>A (rs179996)* в гена на протромбин, *A1/A2 (rs5918ITGB3)* в гена за GPIIb/IIIa, полиморфизъм *SND -675 ID 4G/5G* в гена на PAI- 1, полиморфизъм *A1298C* в гена на *MTHFR*, полиморфизъм *677* в гена за *MTHFR*, *R3500Q* в гена за Аполипопротеин В, Аполипопротеин Е (Аро Е) *E2/E3/E4, -455 G>A* в гена на Бета-Фибриноген, инсерция/делеция (I/D) на позиция 287 bp в гена на Ангиотензин-Конвертиращ Ензим. Състои се от мултиплексен PCR и прецизна селективна хибридизация на специфични секвенции (форма на саутърн блот).

### **3.4. Анализ на носителството на полиморфизми *SND - 675 ID 4G/5G* в гена на PAI-1, *PL A1/A2 (rs5918ITGB3)* в гена на тромбоцитен интегрин В3, *677C>T* в *MTHFR (rs5918ITGB3)* в гена на *MTHFR*, *FII 20210 G>A (rs1799963)* в гена на коагулационен FII и *FVL (rs6025)* в гена на FV при пациенти с псориазис и контроли.**

Направен е асоциативен анализ на хетерозиготните и хомозиготните генотипове по вариантите (мутантни) алели [определени са съотношение на шансовете (OR), 95% доверителен интервал (CI) и p], които са оценявани спрямо хомозиготните генотипове на по-честия (common) алел, възприеман като референтен генотип, респективно референтен алел, чийто OR е 1 (Адитивен модел). Така за всеки полиморфизъм ясно се вижда рисковата или протективна роля на вариантния алел и на генотиповете, включващи вариантния алел.

За рецесивния модел анализът се извършва [NN] vs. [MM+MN (реф)]. Той е използван за анализ на алела 4G на *SND -675 ID 4G/5G* в гена на PAI-1 и алела 677 T в гена на MTHFR.

За доминантния алел, анализът се извършва на [NN+MN ] vs. [MM (реф)]; останалите три полиморфизма: *PL A1/A2 (rs5918ITGB3)*, *FII 20210 G>A (rs1799963)* и *FVL (rs6025)* се изчислява за доминантния алел.

### **3.4.1. Анализ на връзката между носителството на петте тромбофилични полиморфизма и клинични и лабораторни данни за пациенти с псориазис.**

За да се оцени значението на носителството на генотип 4G/4G върху клиничните и лабораторни данни на пациенти с псориазис, носителите на този генотип, бяха първоначално сравнени с група от неносителите на генотип 4G/4G в гена на PAI-1.

На втория етап връзката на носителството на генотип 4G/4G с клиничните и лабораторни данни на пациенти с псориазис, бе изследвана спрямо група на неносителите както на този генотип така и неносителите на други тромбофилични полиморфизми, изследвани в този дисертационен труд както следва: *SND -675 ID 4G/5G; 677 C>T* в MTHFR, (*rs1801133*) полиморфизъм в гена на MTHFR, полиморфизъм (*rs5918ITGB3*) *PL A1/A2* в гена на интегрин  $\beta 3$ , *FVL* полиморфизъм (*rs6025*) в гена на фактор V и (*rs179996*) полиморфизъм на *FII 20210 G>A*. След изваждането на пациентите, носители на гореспоменатите пет рискови полиморфизма за артериална или венозна тромбоза, е получена група от 44 пациенти, която е използвана като референтна за анализ на коморбидностите на носителите на всеки един полиморфизъм спрямо неносителите на тромбофилични мутации.

Аналогично е изследвана връзката на останалите четири тромбофилични полиморфизма с клинични и лабораторни данни на пациентите с псориазис спрямо неносители на мутантния алел, както и неносителите на петте полиморфизма.

### **3.5. Определяне серумните нива на PAI-1 чрез ELISA (ензимно-свързан имуносорбентен анализ)**

PAI-1 концентрацията в серум бе измерена с ензимно-свързан имуносорбентен анализ (ELISA) с кит на BioVendor R&D.

### **3.6. Статистически методи**

Събраната информация беше въведена и обработена със статистическия пакет за социални науки (SPSS) версия 23.0. и EXCEL. За ниво на значимост, при което се отхвърля нулевата хипотеза, бе избрано  $p < 0.05$ .

Резултатите са описани чрез таблици графики и числови величини: проценти, коефициенти, средни величини, стандартно отклонение (SD) и др.

Оценката на статистическата достоверност в проучваните групи се осъществява посредством стойността на „ $\chi^2$ “ за намереното значение на chi-square ( $\chi^2$ ), като за значими се приемат разликите при ниво на значимост  $p < 0.05$

### **Вариационен анализ**

За измерване на варирането са използвани следните описателни числови характеристики: размах (обсег) на вариационния ред - разликата между екстремалните стойности (максималната и минималната),  $SD$  - средното отклонение на резултатите от средната аритметична.

### **Параметрични методи за проверка на хипотези**

Приложими само при количествени величини при нормално или близко до нормалното разпределение

За анализ на параметрични данни е използван ANOVA тест.

**Непараметрични методи за проверка на хипотези** - приложими при количествени и качествени променливи независимо от формата на разпределението.

За анализ на непараметрични данни са използвани критерият на Pearson  $\chi^2$  и критерият на Kruskal - Wallis.

## 4. РЕЗУЛТАТИ

### 4.1 Антропометрични и клинични данни

Първичните антропометрични и клинични данни на пациенти (109) и контроли (181) са представени в таблица 4.1.

Средната възраст на пациентите и контролите имат близки стойности. Индексът на телесна маса е по-висок при пациентите  $28.97 \text{ kg/m}^2$  в сравнение с контролите  $24.35 \pm 3.9$  и като цяло групата на пациентите е с наднормено тегло, близко до затлъстяване. Средната стойност на PASI на цялата група пациенти е 26.62 ( $> 20$ ), което я поставя в категорията "много тежък псориазис". Пациентите имат следните съпътстващи заболявания: хипертония 58.7.0%, МС 45.0%, ССЗ 31.19%, псориаатичен артрит 36.0% и Диабет тип 2 18.34%.

**Таблица 4.1.** Антропометрични и клинични данни: BMI, PASI, ССЗ, хипертония, Диабет тип 2, ССЗ, псориаатичен артрит и МС на пациенти, включени в проучването. Средна възраст и BMI на контролите.

Параметри	Пациенти $\bar{X} \pm SD$	Контроли $\bar{X} \pm SD$	
Брой на субектите	109	181	
Средна възраст (години)	$54.07 \pm 12.70$	$52.40 \pm 14.82$	$P > 0.05$
Възраст на диагноза (години)	$36.56 \pm 15.80$		
BMI ( $\text{kg/m}^2$ )	$28.97 \pm 5.56$	$24.35 \pm 3.90$	$P > 0.05$
PASI	$26.62 \pm 9.69$		
Хипертония (n, %)	64 (58.7)		
Диабет Тип II (n, %)	20 (18.34)		
ССЗ (n, %)	34 (31.19)		
МС (n, %)	49 (45.0)		
Псориаатичен артрит (n, %)	39 (36.0)		
Чернодробни заболявания, включително (NAFLD) (n, %)	13 (11.9)		
Тромбози (ДВТ), Белодробен Тромбоемболизъм (n, %)	6 (5.50)		

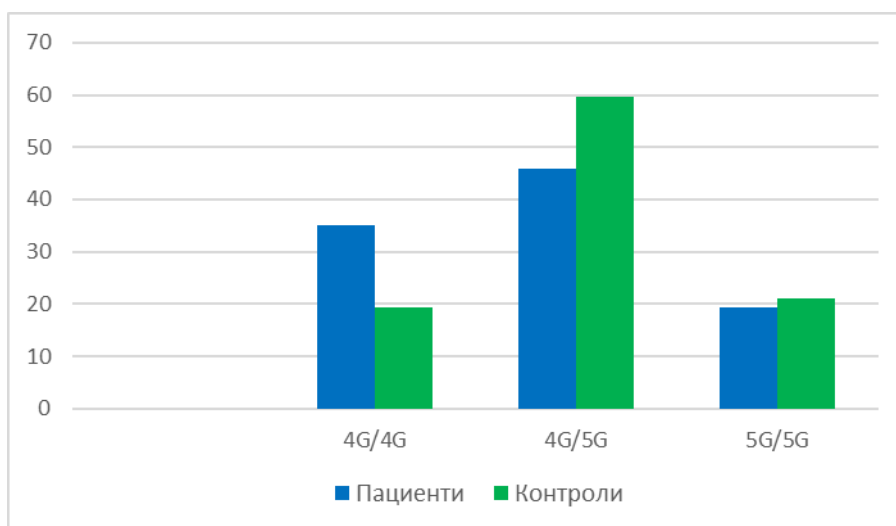
#### 4.2. Носителство на *SND -675 ID, 4G/5G* в гена на *PAI-1* при пациенти с псориазис

Резултатите от ДНК анализа за носителството на генотипове 4G/4G, 4G/5G 5G/5G и алелни честоти, OR,  $\chi^2$ , 95% CI и точен тест на Фишер са представени в таблица 4.2 и и фигура 4.1.

**Таблица 4.2.** Носителство на генотипите 4G/4G, 4G/5G и 5G/5G на *SND -675 ID, 4G/5G* в гена на *PAI-1*, предствени за двата модела (адитивен и рецесивен), алелно разпределение, OR,  $\chi^2$ , 95 % CI и точен тест на Фишер на пациенти и контроли.

PAI-1 4G/5G	Пациенти с псориазис 109 n (%)	Контроли 181 n (%)	OR	95 % CI	$\chi^2$	P
<b>Аддитивен модел</b>						
5G/5G (реф)	21 (19.26)	38(21)	1	0.446-1.787	0.101	0.750
4G/5G	50 (45.87)	108(59.66)	0.838	0.448-1.564	0.304	0.581
<b>4G/4G</b>	38(35 )	35(19.33)	1.956	0.976-3.953	3.577	0.059
<b>Рецесивен модел</b>						
5G/5G +4G/5G (Реф)	71 (65)	146 (80.67 )	1	0.230-0.842	6.287	0.013
4G/4G	38(35)	35(19.33)	2.232	1.301-3.830	8.705	0.003*
<b>Алелно разпределение</b>						
5G	92(42.20)	184(50.83)	1	0.412-1.264	1.299	0.254
4G	126 (57.80)	178 (49.17)	1.415	0.009-1.986	4.059	0.043*

Сигнификантните стойности са обозначени с\*



**Фигура 4.1.** Носителство на генотипове 4G/4G, 4G/5G и 5G/5G на *SND -675 ID, 4G/5G* в гена на *PAI-1*, предствено с рецесивен, за пациенти и контроли.

\* Статистическите данни са представени в таблица 4.2.

Честотата на носителството на 4G/4G генотип е значително по-висока при пациенти с псориазис в сравнение с контролната група: 35.0% спрямо 19.3%, OR = 2.32 и  $\chi^2 = 8.705$ , имат много високи стойности, което показва, че рискът за развитие на заболяването е значително по-голям при носителите. Алелните честоти за 4G алел са



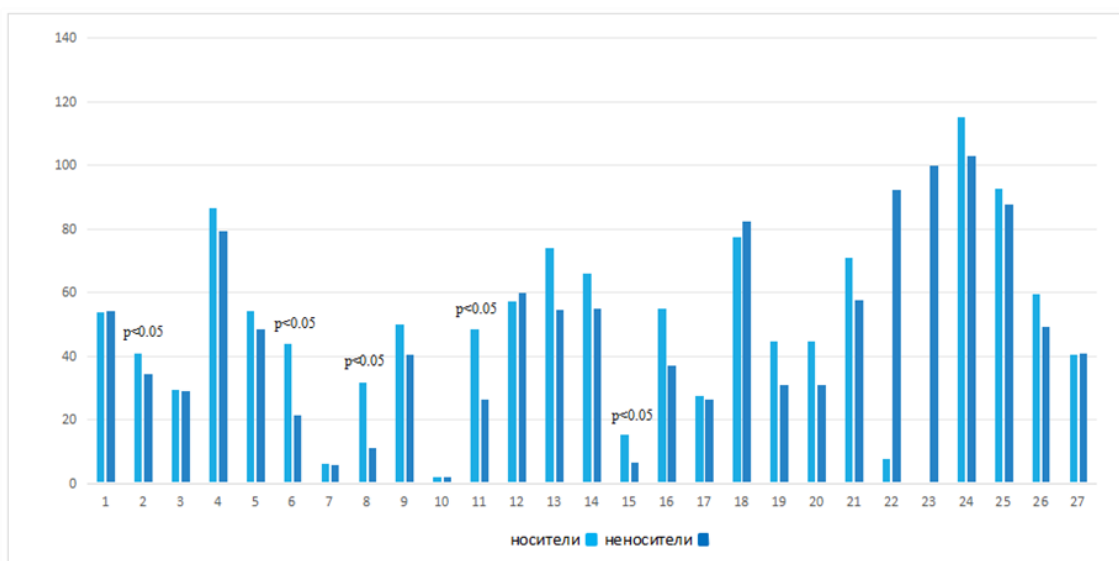
57.80% за пациенти и 49.17% за контроли. Алелните честоти за 5G алел за пациентите са 42.20%, а за контролите са 50.83%. Алелната честота ( $p = 0.043$ ) сигнификантно (таблица 4.2.) се различава при пациентите в сравнение с контролите.

#### 4.2.1. Клинични и лабораторни данни при пациенти с псориазис, носители на **SND - 675 ID 4G/4G** генотип

Носителите и неносителите на полиморфизъм -675 ID, 4G в гена на PAI-1 генотип 4G/4G имат много високи и почти идентични стойности на телесно тегло с BMI ( $29.25 \text{ kg/m}^2$  спрямо  $28.82 \text{ kg/m}^2$ ,  $p > 0.05$ ), близка средна възраст (53.6 спрямо 54.32,  $p > 0.05$ ), но възрастта на първия инцидент на псориазис се различава сигнификантно в полза на носителите на полиморфизма.

Броят на пациентите с висока кръвна захар са значително по-високи при носителите на изследвания генотип 4G/4G в сравнение с тези на неносителите (41.2% спрямо 16.2%,  $p < 0.05$ ), както и броят на пациентите с диабет тип 2 (32.4% спрямо 11.8%,  $p < 0.05$ ). Нивата на кръвна захар на гладно (6.28 спрямо 5.59,  $p = 0.059$ ) са по-високи при носителите на изследвания генотип в сравнение с тези на неносителите, но не сигнификантно.

Броят на пациентите носители на генотип 4G/4G с високи триглицериди е по-висок (32.4%), но не е сигнификантно, в сравнение с този на неносителите (23.5%). Броят на пациентите с дислипидемия също е несигнификантно по-висок сред носителите на изследвания генотип. Сигнификантно ниски нива на HDL са открити сред 14.7% от носителите на генотипа спрямо 2.9% от неносителите (фигура 4.2. и таблица 1Д)(таблицы 1Д-10Д са представени в допълнителни материали на дисертационния труд). Висок общ холестерол се открива при над 57% от носителите и 60% неносителите. Честотата на метаболитният синдром не е значително по-висока сред носителите на генотип 4G/4G в сравнение с неносителите както и хипертонията, исхемичната болест на сърцето, сърдечната недостатъчност и псориазичният артрит.



**Фигура 4.2.** Клинико-лабораторни данни и коморбидности при пациенти с псориазис, носители на генотип 4G/4G на SND -675 ID, 4G/5G в гена на PAI-1 спрямо неносителите.

1. Средна възраст (години); 2. Средна възраст на първа изява (години); 3. BMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ); 4. Пациенти с BMI  $\geq 25$  ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) (%); 5. Пациенти с BMI  $\geq 30$  ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) (%); 6. Пациенти с хипергликемия (%); 7. Кръвна захар на гладно ( $\text{mmol}/\text{l}$ ); 8. Пациенти с Диабет тип 2 (%); 9. Пациенти с триглицеридемия (%); 10. Триглицериди ( $\text{mmol}/\text{l}$ ); 11. Пациенти с нисък HDL (%); 12. Пациенти с хиперхолестеролемия (%); 13. Пациенти с дислипидемия (%); 14. Пациенти с Хипертония (%); 15. CRP ( $\text{mg}/\text{l}$ ); 16. Пациенти с високо CRP (%); 17. PASI; 18. Пациенти с PASI  $> 20$  (%); 19. Пациенти с псориатичен артрит (%); 20. Пациенти с ССЗ без хипертония (%); 21. Пациенти с ССЗ + хипертония (%); 22. Пациенти с чернодробни болести (%); 23. Пациенти с тромбози (%); 24. PAI-1  $\text{ng}/\text{ml}$ ; 25. Пациенти с високи PAI-1 стойности (%); 26. Пациенти с MC (%); 27. Пациенти с MC + BMI  $> 30$  (%);

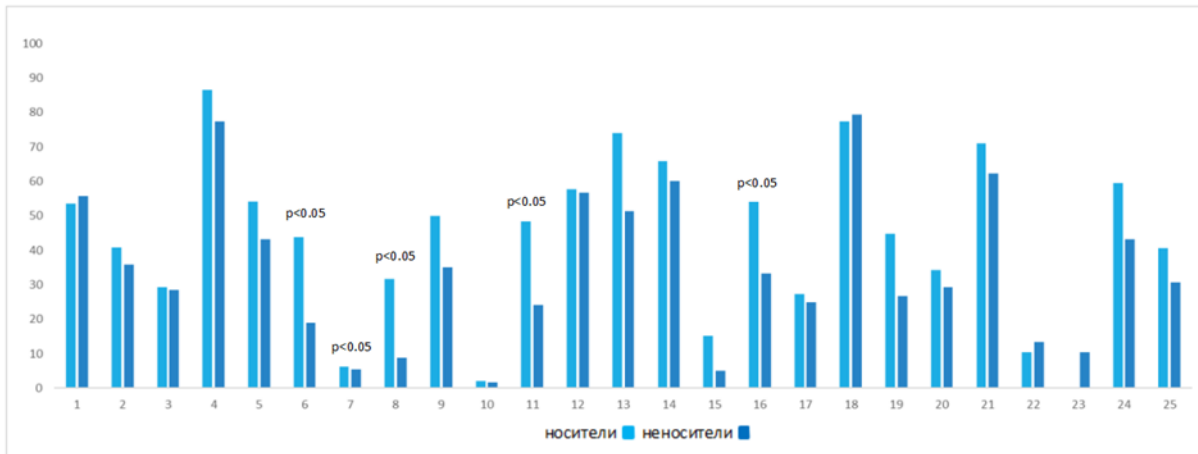
\* Статистическите данни са представени в таблица 1Д.

\*Референтни стойности, използвани за статистически анализ: глюкоза на гладно 3.60-6.20  $\text{mmol}/\text{l}$ , холестерол 2.50-5.20  $\text{mmol}/\text{l}$ , триглицериди: 0.50-1.7  $\text{mmol}/\text{l}$ , CRP 0-5.0  $\text{mg}/\text{l}$ , пикочна киселина 80-420  $\text{mmol}/\text{l}$ , HDL- холестерол мъже  $> 0.75$   $\text{mmol}/\text{l}$ , жени  $> 0.91$   $\text{mmol}/\text{l}$ , PAI-1 2-46  $\text{ng}/\text{ml}$

Стойностите на PASI (28.74 спрямо 24.90,  $p > 0.05$ ) са несигнификантно по-високи (Фигура 4.2.), както и броят на пациентите с висок PASI ( $> 20$ ) е по-висок сред носителите на генотип 4G/4G в сравнение с неносителите (92.9% спрямо 73.3%). Стойностите на CRP са сигнификантно по-високи при пациентите носители на генотип 4G/4G в сравнение с неносителите (15.14  $\text{mg}/\text{l}$  спрямо 6.40  $\text{mg}/\text{l}$ ,  $p > 0.05$ ). Стойностите на PAI-1 са много високи при всички пациенти с псориазис, с по-високи стойности при пациентите носители на генотип 4G/4G в сравнение с неносителите (115.2  $\text{mg}/\text{l}$  спрямо 103.7  $\text{mg}/\text{l}$ ,  $p > 0.05$ ).

За да се оцени значението на носителството на генотип 4G/4G върху клиничните и лабораторни данни на пациенти с псориазис, носители на този генотип, бяха сравнени с група от четиридесет и четири пациенти, както неносители на генотип 4G/4G, така и неносители на други тромбофилични полиморфизми, изследвани в тази работа: (*rs1801133*) полиморфизъм в гена на MTHFR, полиморфизъм (*rs5918ITGB3*) *PL A1/A2* в гена на интегрин  $\beta 3$ , *FVL* полиморфизъм (*rs6025*) и полиморфизъм *FII 20210 G>A(rs179996)* (Групата е получена след изваждането на пациентите, носители на прокоагуланти и рискови полиморфизми за артериална и венозна тромбози).

Данните за честота на коморбидностите: затлъстяване (BMI  $\geq 30$ ), хипергликемия, триглицеридемия, нисък HDL, хиперхолестеролемия, дислипидемия, хипертония, висок CRP, PASI  $> 20$ , ССЗ, MC и общи съпътстващи заболявания при пациенти с псориазис, носители на генотип 4G/4G спрямо неносители на петте тромбофилични полиморфизма представени на фигура 4.3. и таблица 2Д не се различават значително от тези, анализирани само спрямо неносителите на генотип 4G/4G (фигура 4.2. и таблица 1Д). Сигнификантна разлика при пациенти с псориазис носители спрямо неносители се наблюдава само за стойностите на кръвната захар, броя на пациентите с хипергликемия и Диабет тип 2, пациенти с нисък HDL дислипидемия и високи CRP ( $\text{mg}/\text{l}$ ) стойности. Сравнително висок процент от пациентите носители са имали чернодробна стеатоза (30.8%), но са по-малко от неносителите.



**Фигура 4.3.** Клинико-лабораторни данни и коморбидности при пациенти с псориазис, носители на, генотип 4G/4G на SND -675 ID, 4G/5G в гена на PAI-1 спрямо неносители на петте тромбофилични полиморфизма. 1. Средна възраст (години); 2. Средна възраст на първа изява (години); 3. BMI (kg/m<sup>2</sup>); 4. Пациенти с BMI ≥ 25 (kg/m<sup>2</sup>) (%); 5. Пациенти с BMI ≥ 30 (kg/m<sup>2</sup>) (%); 6. Пациенти с хипергликемия (%); 7. Кръвна захар на гладно (mmol/l); 8. Пациенти с Диабет тип 2 (%); 9. Пациенти с триглицеридемия (%); 10. Триглицериди (mmol/l); 11. Пациенти с нисък HDL (%); 12. Пациенти с хиперхолестеролемия (%); 13. Пациенти с дислипидемия (%); 14. Пациенти с Хипертония (%); 15. CRP (mg/l); 16. Пациенти с високо CRP (%); 17. PASI; 18. Пациенти с PASI > 20 (%); 19. Пациенти с псориаичен артрит (%); 20. Пациенти със ССЗ без хипертония (%); 21. Пациенти със ССЗ + хипертония (%); 22. Пациенти с чернодробни болести (%); 23. Пациенти с тромбози (%); 24. Пациенти с МС (%); 25. Пациенти с МС + BMI > 30 (%); \* Статистическите данни са представени в таблица 2Д.

### 4.3. Носителство на полиморфизъм *MTHFR* 677C>T (*rs1801133*) при пациенти с псориазис

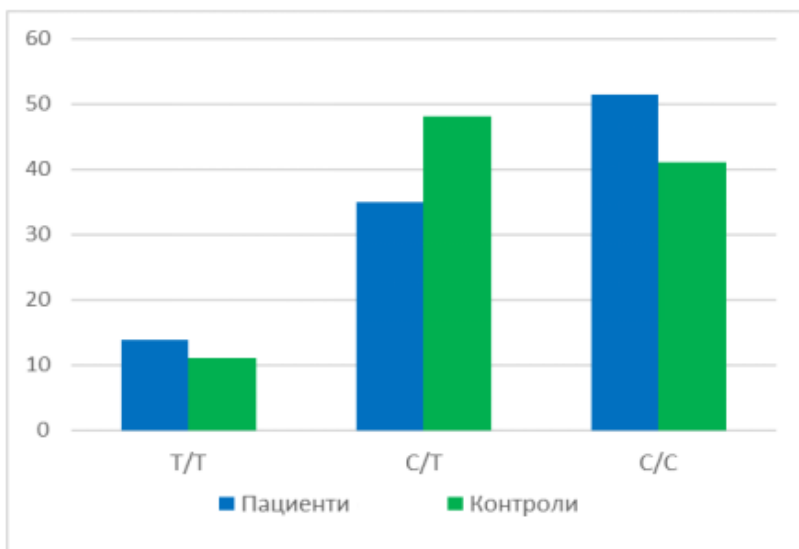
Резултатите от ДНК анализа за носителството на полиморфизъм *MTHFR* 677C>T за двата модела (адитивен и рецесивен) и алелни честоти, OR,  $\chi^2$ , 95% CI и точен тест на Фишер спрямо контроли са представени в таблица 4.3. и фигура 4.4.

**Таблица 4.3.** Носителството на генотиповете T/T, C/T и C/C на *MTHFR* 677 C>T в гена на *MTHFR*, предствени за двата модела (адитивен и рецесивен), алелно разпределение, OR,  $\chi^2$ , 95%, CI и точен тест на Fisher при пациенти с псориазис спрямо контроли.

Носителство на <i>MTHFR</i> 677C>T	Пациенти 109 n (%)	Контроли 181 n (%)	OR	95 % CI	$\chi^2$	p
<b>Адитивен модел</b>						
T/T	15(13.76)	20(11.06)	1.284	0.627-2.629	0.471	0.492
C/T	38 (34.87)	87 (48.06)	0.578	0.354 - 0.944	4.836	0.027*
C/C (Реф)	56 (51.37)	74 (40.88)	1	0.856-2.619	2.012	0.155
<b>Рецесивен модел</b>						
T/T	15(13.76)	20(11.06)	1.317	0.566-3.061	0.411	0.522

C/T + C/C (Реф)	94 (86.24)	161 (88.94)	1	0.326-1.764	0.411	0.522
<b>Алелно разпределение</b>						
T	68 (31.20)	127(35.08)	0.838	0.586 -1.200	0.922	0.337
C	150 (68.80)	235(64.92)	1	0.664-2.162	0.361	0.547

Сигнификантните стойности са обозначени с \*



**Фигура 4.4.** Носителството на генотипове T/T, C/T, C/C полиморфизъм *MTHFR 677 C>T (rs1801133)* в гена на *MTHFR* на пациенти с псориазис спрямо контроли.

\*Статистическите данни са представени в таблица 4.3.

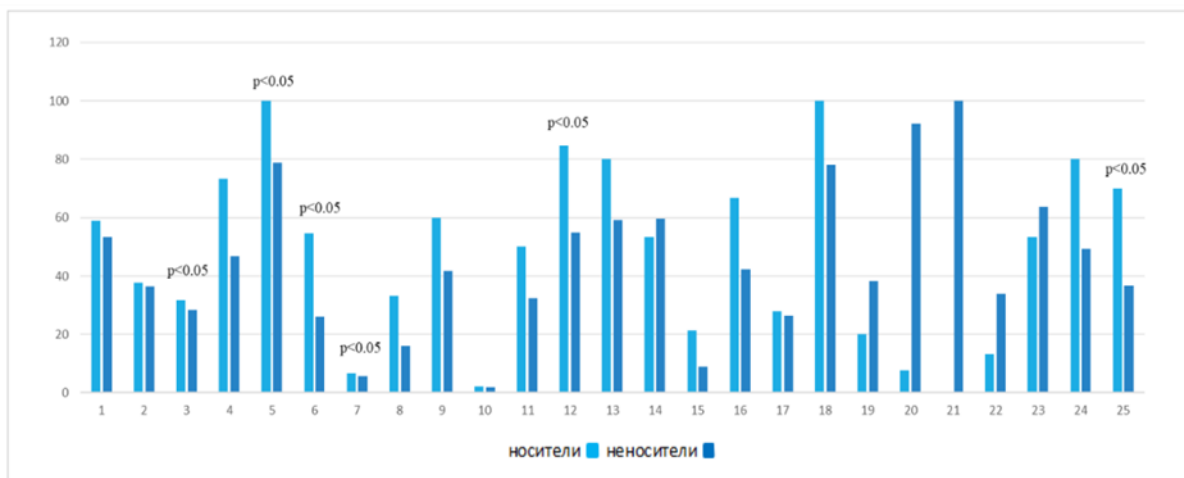
Носителството на генотип T/T в гена на *MTHFR* с полиморфизъм *677 C>T (rs1801133)* е незначително по-високо при пациенти с псориазис в сравнение с контролната група: 13.76% спрямо 11.06%,  $p > 0.05$  (таблица 4.3.) което показва, че носителството на този генотип не е рисков фактор за развитието на заболяването. Трябва да се отбележи, че носителството на хетерозиготен генотип е сигнификантно по-ниско при пациенти спрямо контроли.

Честотите на (C) и (T) алелите в групата пациенти в сравнение с тези в контролната група бяха изчислени чрез уравнението на Харди-Вайнберг (HWE) и бяха съответно при пациенти (*rs1801133*)(T) 31.20% и при контролите 35.08%, а за (*rs1801133*)(C) при пациенти 68.80% и при контролите 64.92% (таблица 4.3), което потвърждава, че носителството на *MTHFR 677 T* алел не е рисков фактор за псориазис.

Съгласно информацията на Gnom database ID (1-11856378-G-A), тоталната честота на SNP е 0.3085 (30.85%); European (Non-Finnish) честота е 0.3380 (33.80%); ClinVar (3520); ClinGen Allele Registry (CA170990).

### 4.3.1. Клинични и лабораторни данни

Резултати от лабораторни и клинични данни за пациенти носители на полиморфизъм (*rs1801133*) генотип Т/Т при пациенти спрямо неносители са представени във фигура 4.5. и таблица 3Д Носителите и неносителите на полиморфизъм *677C>T* (*rs1801133*) в гена на *MTHFR* имат сигнификантно по-високи стойности на ВМІ в сравнение с неносителите, (31.92 kg/m<sup>2</sup> спрямо 28.75 kg/m<sup>2</sup>;  $p < 0.05$ ). Може да се отбележи, че те имат най-високия ВМІ индекс в сравнение с всички други групи носителство (фигура 4.5. и таблица 3Д). Броят на пациентите със затлъстяване в двете групи се различава сигнификантно 73.3% в групата на носителите спрямо 46.7% на неносителите ( $p < 0.05$ ).



**Фигура 4.5.** Клинично-лабораторни данни и съпътстващи заболявания при пациенти с псориазис, носители на генотип Т/Т на полиморфизъм *MTHFR 677C>T* в гена на *MTHFR* спрямо неносители на генотип Т/Т.

1. Средна възраст (години); 2. Средна възраст на първа изява (години); 3. ВМІ (kg/m<sup>2</sup>); 4. Пациенти с ВМІ ≥ 30 (kg/m<sup>2</sup>) (%); 5. Пациенти с ВМІ ≥ 25 (kg/m<sup>2</sup>) (%); 6. Пациенти с хипергликемия (%); 7. Кръвна захар на гладно (mmol/l); 8. Пациенти с Диабет тип 2 (%); 9. Пациенти с триглицеридемия (%); 10. Триглицериди (mmol/l); 11. Пациенти с нисък HDL (%); 12. Пациенти с хиперхолестеролемия (%); 13. Пациенти с дислипидемия (%); 14. Пациенти с Хипертония (%); 15. CRP (mg/l); 16. Пациенти с високо CRP (%); 17. PASI; 18. Пациенти с PASI > 20 (%); 19. Пациенти с псориатичен артрит (%); 19. Пациенти с чернодробни болести (%); 20. Пациенти с тромбози (%); 22. Пациенти със ССЗ без хипертония (%); 23. Пациенти със ССЗ + хипертония (%); 24. Пациенти с МС (%); 25. Пациенти с МС + ВМІ > 30 (%);

\* Статистическите данни са представени в таблица 3Д.

Пациентите в двете групи имат сравнително близки стойности на средната възраст и възрастта на първата изява на заболяването. Те са по-високи при носителите, но не сигнификантно.

Нивата на кръвна захар на гладно на носителите на генотип Т/Т са значително по-високи от тези на неносителите (6.76 mM спрямо 5.7 mM,  $p < 0.05$ ). Броят на пациентите с висока кръвна захар е сигнификантно по-висок (54.54 % спрямо 20.26 %,  $p < 0.05$ ), както и броят на пациентите с Диабет тип 2 (33.3% спрямо 16.7%,  $p > 0.05$ ) е по-висок, но несигнификантно.

Сигнификантно висок е общия холестерол, той се открива при 84.6% от носителите и 55.0% при неносители. Броят на пациентите с дислипидемия е значително, но несигнификантно по-висок сред носителите на изследвания полиморфизъм (80.0%

спрямо 59.3%), както и нивата на HDL, 50.0% при носителите на полиморфизма спрямо 32.3% при неносителите (фигура 4.5 и таблица 3Д).

Броят на пациентите носители на генотип Т/Т с високи триглицериди е по-висок (32.4%), но не значително, в сравнение с този на неносителите (23.5%).

Честотата на метаболитният синдром е значително по-висока сред носителите на полиморфизма (80.4%) в сравнение с неносителите (49.4%), докато хипертонията, исхемичната болест на сърцето, сърдечната недостатъчност и псориатичният артрит са повишени, но несигнификантно.

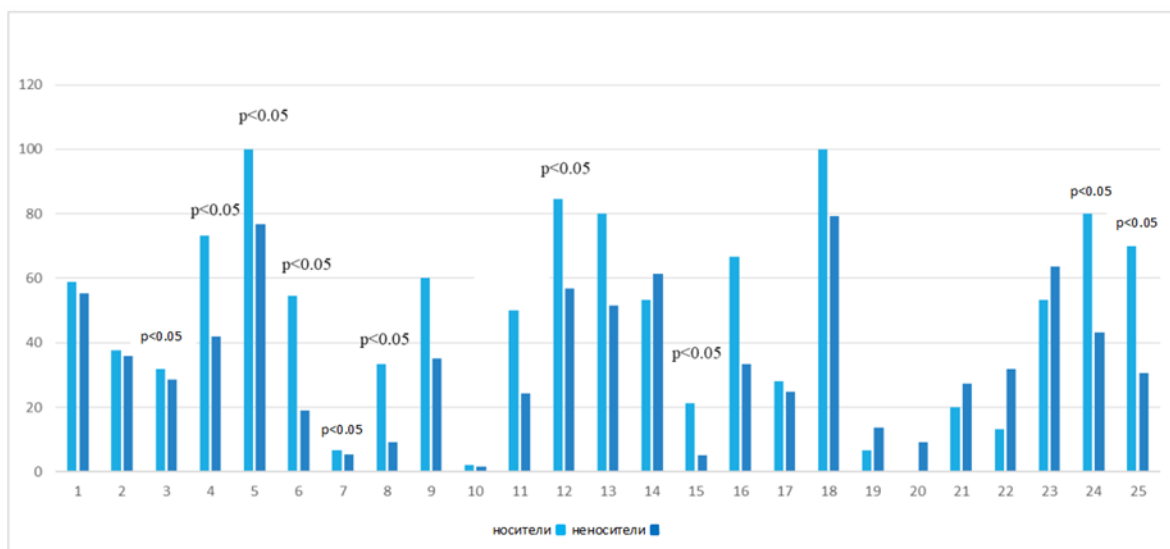
Стойностите на PASI (27.96 спрямо 26.44,  $p > 0.05$ ) са несигнификантно по-високи (фигура 4.5 и таблица 3Д), както и процентът на пациентите с висок PASI е по-висок сред носителите на генотип Т/Т в сравнение с неносителите (100% спрямо 78.0%). За отбелязване е фактът, че всички носители на тази мутация имат PASI > 20.

За да се оцени значението на носителството на полиморфизъм  $677C>T$  в гена ни с групата от 44 пациенти без полиморфизми, както неносители на генотип Т/Т, така и неносители на други тромбофилични полиморфизми изследвани в тази работа: SND (-675 ID, (-) 4G/5G полиморфизъм в гена на PAI-1, полиморфизъм (*rs59181*) на MTHFR върху клиничните и лабораторни данни на пациенти с псориазис, включително и съпътстващите заболявания носители на генотип Т/Т, бяха сравнени TGB3) PL A1/A2 в гена на интегрин  $\beta 3$ , FVL полиморфизъм (*rs 6025*) и (*rs179996*) полиморфизъм на FII 20210 G>A. (Тази група е получена след изваждането на пациентите, носители на прокоагуланти и рискови полиморфизми за артериална и венозна тромбози).

Клиничните и лабораторни данни за пациенти с псориазис, носители на генотип Т/Т спрямо неносители на тромбофилични полиморфизма са представени във фигура 4.6. и таблица 4Д.

Носителите на генотип Т/Т, анализирани спрямо неносители на петте тромбофилични мутации (фигура 4.6. и таблица 4Д) притежават близки показатели с тези анализирани спрямо неносителството на генотип Т/Т (фигура 4.5 и таблица 3Д). Те имат сигнификантна разлика за затлъстяване ( $BMI \geq 30$ ), хипергликемия, броя на пациенти със затлъстяване, хипергликемия и диабет, триглицеридемия, нисък HDL, хиперхолестеролемия, дислипидемия и МС.

Допълнително, стойностите на CRP са сигнификантно по-високи при пациентите носители на генотип Т/Т в сравнение с неносители на петте тромбофилични полиморфизма (21.29 mg/l спрямо 5.05 mg/l,  $p > 0.05$ ).



**Фигура 4.6.** Клинико-лабораторни данни и съпътстващи заболявания при пациенти с псориазис, носители на генотип Т/Т на полиморфизъм *MTHFR 677C>T* в гена на *MTHFR* спрямо неносители на петте тромбофилични полиморфизма

1. Средна възраст (години); 2. Средна възраст на първа изява (години); 3. ВМІ (kg/m<sup>2</sup>); 4. Пациенти с ВМІ ≥ 30 (kg/m<sup>2</sup>) (%); 5. Пациенти с ВМІ ≥ 25 (kg/m<sup>2</sup>) (%); 6. Пациенти с хипергликемия (%); 7. Кръвна захар на гладно (mmol/l); 8. Пациенти с Диабет тип 2 (%); 9. Пациенти с триглицеридемия (%); 10. Триглицериди (mmol/l); 11. Пациенти с нисък HDL (%); 12. Пациенти с хиперхолестеролемия (%); 13. Пациенти с дислипидемия (%); 14. Пациенти с Хипертония (%); 15. CRP (mg/l); 16. Пациенти с високо CRP (%); 17. PASI; 18. Пациенти с PASI > 20 (%); 19. Пациенти с чернодробни болести (%); 20. Пациенти с тромбози (%); 21. Пациенти с псориаичен артрит (%); 22. Пациенти със ССЗ без хипертония (%); 23. Пациенти със ССЗ + хипертония (%); 24. Пациенти с МС (%); 25. Пациенти с МС + ВМІ > 30 (%);

\*Статистическите данни са представени в таблица. 4Д.

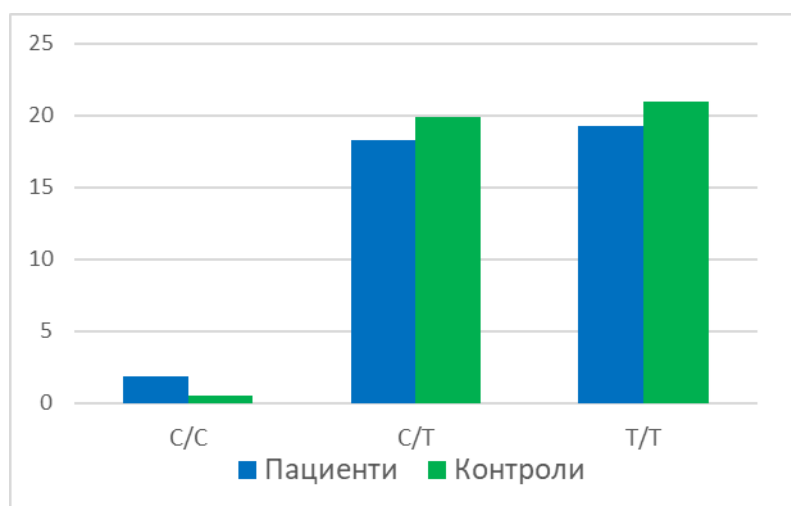
Данните за хипертония, PASI > 20, ССЗ и общи съпътстващи заболявания при пациенти с псориазис, носители на генотип Т/Т представени във фигура 4.6. и таблица 4Д не показват сигнификантна разлика спрямо неносители на петте тромбофилични полиморфизма и не се различават значително от тези анализирани само спрямо неносителите на генотип Т/Т (фигура 4.5. и таблица 3Д). Само един пациент с чернодробно заболяване намерихме сред носителите на генотип Т/Т и нито един с тромбози.

#### 4.4. Носителство на генотиповете С/С, С/Т и Т/Т на *PLA1/A2* полиморфизъм (*rs5918* (С) в гена на *ITGB3* и алелно разпределение, OR, $\chi^2$ , 95% CI и точен тест на Fisher при пациенти с псориазис спрямо контроли

Резултатите от ДНК анализа за носителството на полиморфизъм *rs5918* (С) в гена на *ITGB3* и алелни честоти, OR,  $\chi^2$ , 95 % CI и точен тест на Фишер спрямо контроли са представени в таблица 4.4. и фигура 4.7.

**Таблица 4.4.** Носителство на генотиповете (С/С, С/Т и Т/Т на *PLA1/A2* полиморфизъм (*rs5918* (С) в гена на *ITGB3* и алелно разпределение, OR,  $\chi^2$ , 95% CI и точен тест на Fisher при пациенти с псориазис спрямо контроли.

Генотипи и Алелно разпределение на <i>ITGB3 T&gt;C</i>	Пациенти n(%) 109	Контроли n(%) 181	OR	95% CI	$\chi^2$	p
<b>Адитивен модел</b>						
C/C	2(1.83)	1(0.55)	3.364	0.301 - 37.549	1.092	0.295
C/T	20(18.34)	36(19.88)	0.905	0.493 -1.660	0.103	0.747
T/T(Реф)	87(19.26)	144(21)	1			
<b>Доминантен модел</b>						
C/T + C/C	22 (20.6)	18 (18.6)	0.245	0.570 -2.325	1.246	p > 0.05
T/T (Реф)	87(19.26)	144(21)	1	0.592-1.957	0.058	0.808
<b>Алелно разпределение</b>						
<i>rs5918 C</i>	24 (11.1)	38 (10.5)	1.054	0.614 -1.812	0.037	0.846
<i>rs5918T</i>	194 (88.9)	324 (89.5)	0.948	0.551 - 1.628	0.037	0.846



**Фигура 4.7** Носителство на генотипове (C/C, C/T и T/T) на полиморфизъм PLA1/A2 (*rs5918(C)*) в гена на *ITGB3* при пациенти с псориазис спрямо контроли.

\*Статистическите данни са представени в таблица 4.4.

Хомозиготния мутантен генотип е рядък в общата популация, той е по-малко от 1%. В нашето проучване резултатите от ДНК анализа разкриха двама хомозиготни пациенти с мутантната версия на алела и един в контролите. Това беше причината носителството на полиморфизма *rs5918(C)* да се изчисли и като сума (20.6%) от разпространението на хомозиготни *rs5918(C)* (1.96 %) и хетерозиготни генотипове на *rs5918(T>C)* (18.8%) и представени като обща група носители на C алел. Не открихме разлика в носителството на този полиморфизъм при пациенти и контроли.

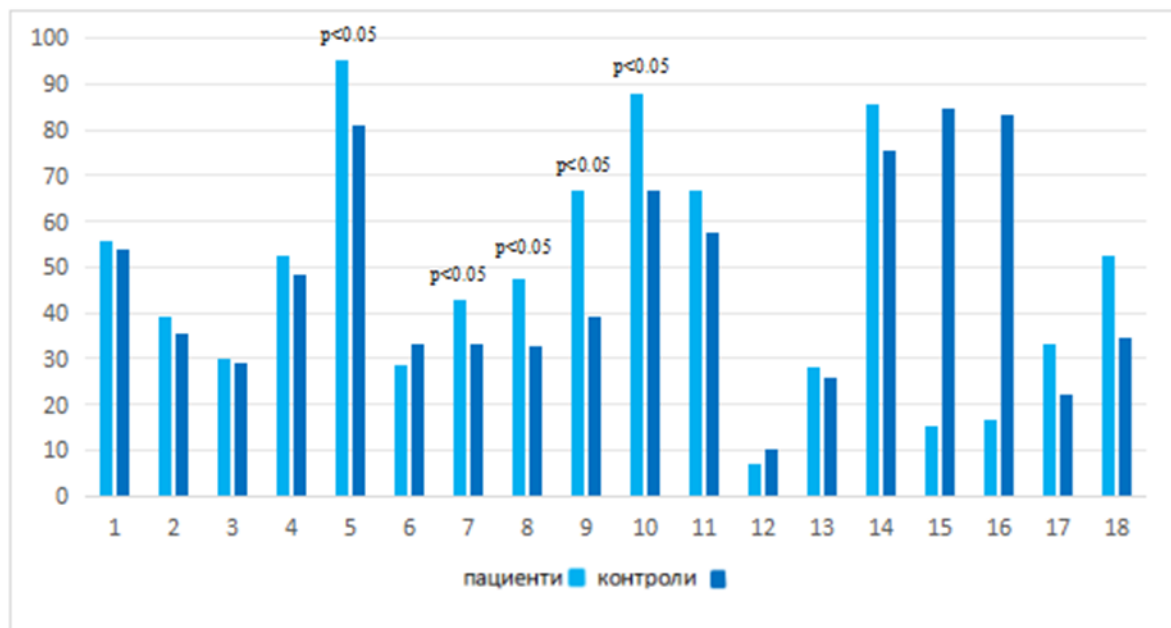
Честотите на (C) и (T) алелите в групата пациенти в сравнение с тези в контролната група бяха изчислени чрез уравнението на HWE и бяха съответно при пациентите *rs5918(C)* 11.1% и контролите 10.5%, за пациенти *rs5918(T)* 89.5% и в



контролите 88.9% (фигура 4.7. и таблица 4.4.). Честотата на алел *rs5918(C)* според базата данни на gnomAD за общата популация е 0.1223 (12.23%).

#### 4.4.1. Клинични и лабораторни данни

Резултати от лабораторни и клинични данни за този полиморфизъм са представени във фигура 4.8., фигура 4.9., таблиците 5Д и 6Д



**Фигура 4.8.** Клинично-лабораторни данни и съпътстващи заболявания при пациенти с псориазис, носители на мутантния алел A2 на полиморфизъм *PLA1/A2 (rs5918(C))* в гена на *ITGB3* спрямо неносителите.

1. Средна възраст (години); 2. Средна възраст на първа изява (години); 3. BMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ); 4. Пациенти с BMI  $\geq 30$  ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) (%); 5. Пациенти с BMI  $\geq 25$  ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) (%); 6. Пациенти с хипергликемия (%); 7. Пациенти с триглицеридемия (%); 8. Пациенти с нисък HDL (%); 9. Пациенти с хиперхолестеролемия (%); 10. Пациенти с дислипидемия (%); 11. Пациенти с Хипертония (%); 12. CRP ( $\text{mg}/\text{l}$ ); 13. PASI; 14. Пациенти с PASI > 20 (%); 15. Пациенти с чернодробни болести (%); 16. Пациенти с тромбози (%); 17. Пациенти със ССЗ (%); 18. Пациенти с МС (%);

\* Статистическите данни са представени в таблица 5Д.

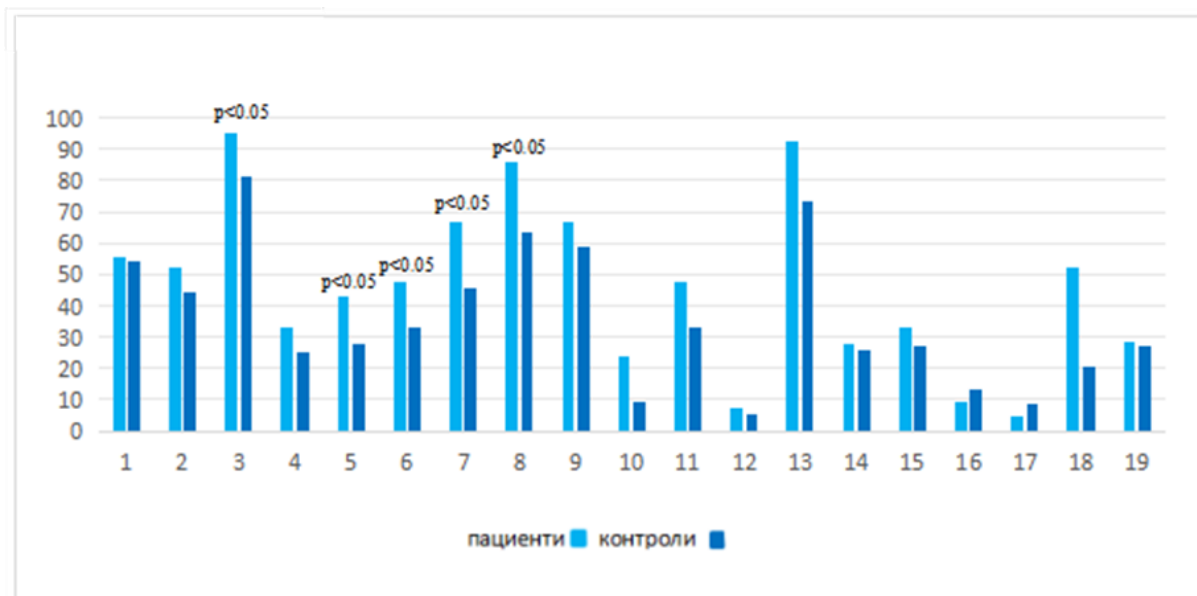
Носителите и неносителите на полиморфизъм *ITGB3 rs5918(C)* не се различават значимо по възраст на диагностициране, нива на кръвна захар на гладно (фигура 4.8. и таблица 5Д) и BMI ( $29.94 \text{ kg}/\text{m}^2$  спрямо  $28.97 \text{ kg}/\text{m}^2$ ,  $p > 0.05$ ). Пациентите, носители на *ITGB3 rs5918(C)* алелът, показват несигнификантно повишен PASI (28.03 спрямо 25.90,  $p > 0.05$ ) (фигура 4.8. и таблица 5Д). Броят на пациентите с висок PASI (> 20) е по-висок сред носителите на *ITGB3 rs5918(C)* алела в сравнение с неносителите (85.5% спрямо 75.3%). Чернодробните заболявания се срещат само при двама носители, а тромбози само при един.

Броят на пациентите с хиперлипидемия е значително по-висок сред носителите на изследвания полиморфизъм. Броят на пациентите носители на *rs5918(C)* с високи триглицериди е значително по-висок (42.9%), отколкото сред неносителите (33.3%). Висок общ холестерол се открива при 66.7% от носителите спрямо 45.0 % от неносителите. Нисък HDL е открит сред 47.2% от носителите на полиморфизъм на *rs5918*

(C) спрямо 32.8 % при носителите (Фигура 4.8. и 5Д). Общият брой на пациентите с дислипидемия е значително по-висок при носители на *rs5918 (C)* спрямо носители (88.0% спрямо 63.6%). Честотата на метаболитният синдром не е значително по-висока сред носителите на полиморфизма (52,4%) в сравнение с носителите (34.6%). Хипертонията, исхемичната болест на сърцето, сърдечната недостатъчност и псориатичният артрит също са повишени несигнификантно.

За да се оцени значението на полиморфизъм *ITGB3 rs5918T>C* върху съпътстващите заболявания и особено сърдечно съдовия риск и метаболитния синдром, клиничните и лабораторни данни на пациенти с псориазис, носители на алел *ITGB3 rs5918T>C*, бяха сравнени с групата от четиридесет и четири пациенти без носителство на петте изследвани полиморфизма. (Групата е получена след изваждането на пациентите, носители на петте изследвани полиморфизми за тромбози).

Клиничните и лабораторни данни за пациенти с псориазис, носители на *ITGB3 rs5918(C)* алел спрямо носители на петте тромбофилични полиморфизми (включително и на *ITGB3 rs5918(C)*) са представени във фигура 4.9. и таблица 6Д.



**Фигура 4.9.** Клинично-лабораторни данни и съпътстващи заболявания при пациенти с псориазис, носители на мутантния алел A2 на полиморфизъм *PLA1/A2 (rs5918(C))* в гена на *ITGB3* спрямо носителите. носителитена петте тромбофилични полиморфизма.

1. Средна възраст (години); 2. Пациенти с  $BMI \geq 30$  ( $kg/m^2$ ) (%); 3. Пациенти с  $BMI \geq 25$  ( $kg/m^2$ ) (%); 4. Пациенти с хипергликемия (%); 5. Пациенти с триглицеридемия (%); 6. Пациенти с нисък HDL (%); 7. Пациенти с хиперхолестеролемия (%); 8. Пациенти с дислипидемия (%); 9. Пациенти с Хипертония (%); 10. Пациенти с Диабет тип 2 (%); 11. Пациенти с високо CRP (%); 12. CRP (mg/l); 13. Пациенти с PASI > 20 (%); 14. PASI; 15. Пациенти със ССЗ (%); 16. Пациенти с чернодробни болести (%); 17. Пациенти с тромбози (%); 18. Пациенти с МС (%); 19. Пациенти с псориатичен артрит (%);

\* Статистическите данни са представени в таблица 6Д.

Данните за честотата на коморбидности и лабораторни данни: затлъстяване ( $BMI \geq 30$ ), хипергликемия, триглицеридемия, нисък HDL, хиперхолестеролемия, дислипидемия, хипертония, висок CRP, PASI > 20, ССЗ, МС и общи съпътстващи заболявания при пациенти с псориазис, носители на *ITGB3 rs5918(C)* алел спрямо

неносители на петте тромбофилични полиморфизма представени във фигура 4.9. и таблица 6Д, като в по-голямата си част не се различават значително от тези, анализирани само спрямо неносителите на *ITGB3 rs5918(C)* (фигура 4.8. и таблица 5Д). Сигнификантна разлика при пациенти с псориазис носители спрямо неносители се наблюдава само за пациентите с триглицеридемия, нисък HDL дислипидемия, хиперхолестеролемия и броят на съпътстващи заболявания свързани със ССЗ.

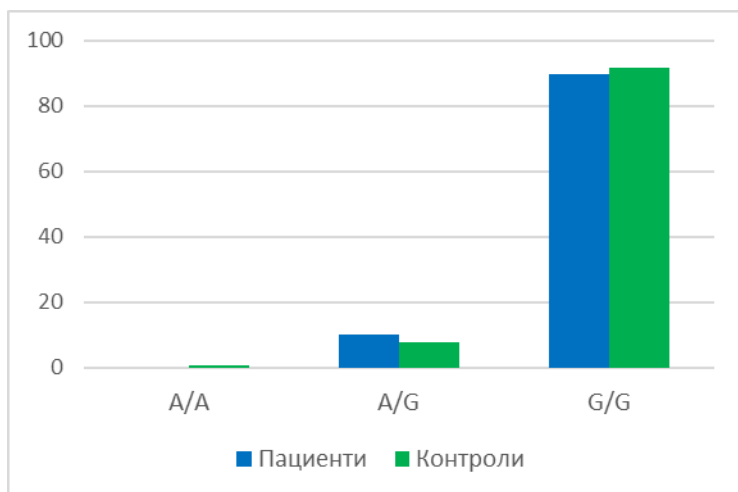
#### 4.5. Носителство на полиморфизъм *FVL 1691(G>A) (rs6025)* при пациенти с псориазис

Резултатите от ДНК анализа за хетерозиготното носителство на *FVL 1691(G>A)* и алелни честоти на *1691(G)* и *1691(A)*, OR,  $\chi^2$ , 95% CI и точен тест на Фишер спрямо контроли са представени в таблица 4.5. и фигура 4.10.

Честотата на хетерозиготно носителство на *FVL 1691(G>A)* полиморфизъм е незначително по-висока при пациенти с псориазис в сравнение с контролната група: 10.10% спрямо 7.73%, което показва, че носителството на *FVL 1691(G>A)* не е рисков фактор за развитие на заболяването. За отбелязване е факта, че в групата на пациентите не е намерено хомозиготно носителство, за разлика от групата на контролите, в която има един носител.

**Таблица 4.5.** Честота на генотипове A/A, A/G и G/G на полиморфизъм *FVL 1691(G>A) (rs6025)* в гена на фактор V, алелно разпределение, OR,  $\chi^2$ , 95% CI и точен тест на Fisher при пациенти с псориазис спрямо контроли.

Носителство на Фактор V Leiden	Пациенти n (%) 109	Контроли n (%) 181	OR	95% CI	$\chi^2$	P
Аддитивен модел						
A/A	0(0)	1(0.55)				
A/G	11 (10.10)	14 (7.73)	1.338	0.584-3.064	0.479	0.488
G/G (Реф)	98 (89.90)	166 (91.72)	0.805	0.355-1.822	0.602	0.271
Доминантен модел						
A/A + A/G	11 (10.10)	15 (8.28)				
G/G (Реф)	98 (89.90)	166 (91.72)				
Алелно разпределение						
A	11 (5.05%)	16 (4.42%)	1.149	0.523 - 2.523	0.120	0.729
G	207 (94.95%)	346 (95.58%)	0.870	0.396-1.911	0.120	0.729



**Фигура 4.10.** Носителство на генотипите на (A/A, A/G и G/G) на полиморфизъм *FVL 1691(G>A) (rs6025)*, в гена на фактор FV при пациенти с псориазис спрямо контроли.

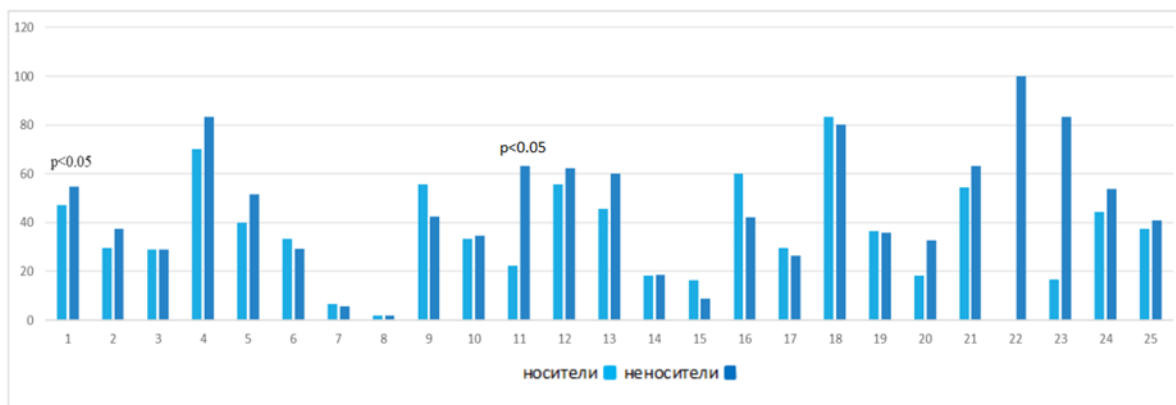
\* Статистическите данни са представени в таблица 4.5.

Носителството на (A) и (G) алелите в групата пациенти в сравнение с тези в контролната група, изчислени чрез уравнението на HWE не се различаваше значимо при пациенти и контроли. - Носителството на *1691(A)* при пациенти беше 5.05%, а при контроли 4.42%, а за *1691(G)* при пациенти 94.95%, а при контроли 95.58% (таблица 4.5.). Съгласно информацията на Gnom database ID (1-11856378-G-A), тоталната честота за дивия алел е 0.98070 (98.07%); A според European (Non-Finnish) честота е 0.974; ClinVar (226007).

#### 4.5.1. Клинични и лабораторни данни

Не беше установена сигнификантна разлика спрямо неносители на този полиморфизъм за следните клинични параметри: затлъстяване ( $BMI \geq 30$ ), хипергликемия, триглицеридемия, нисък HDL, дислипидемия, хипертония, висок CRP, PASI > 20, и коморбидности ССЗ, МС и общи съпътстващи заболявания на пациенти с псориазис, носители на *FVL (rs6025)* (фигура 4.11. и таблица 7Д). Сигнификантна разлика се наблюдава само за средната възраст на пациенти и броя пациенти с хиперхолестеролемия. Интересно е да се отбележи че хиперхолестеролемията се наблюдава при повече пациенти неносители на този полиморфизъм.

Тъй като носителството на *FVL (rs6025)* е сравнително рядко, данните с по-високо OR не дадоха сигнификантна разлика, например високи OR стойности се получиха при триглицеридемия и хипергликемия, CRP и тромбози, обаче несигнификантно ( $p > 0.05$ ). (фигура 4.11. и таблица 7Д). При сравняване на групата пациенти носители, спрямо неносители на тромбофилични мутации, CRP е сигнификантно по-висок при носителите. (фигура 4.12. и таблица 8Д)

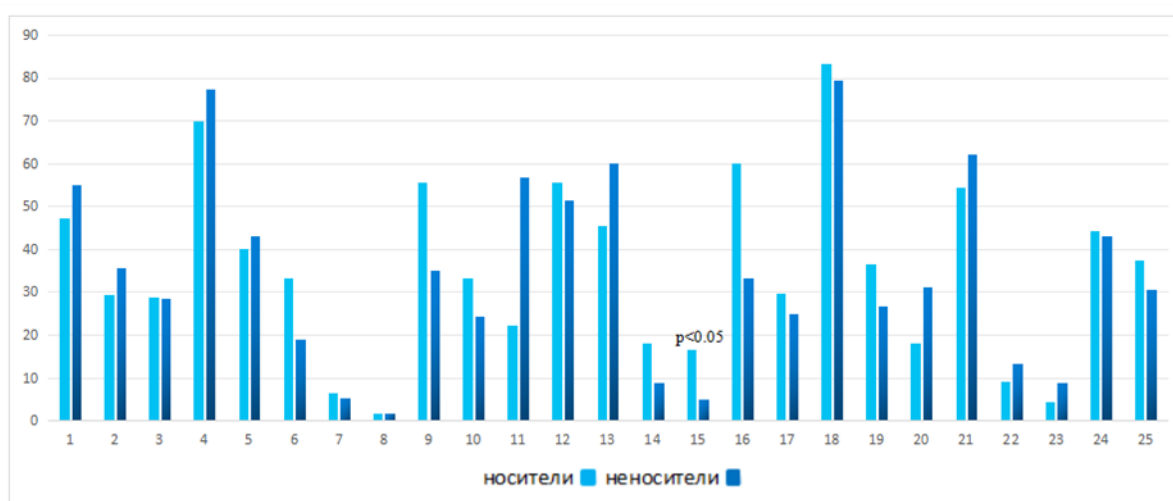


**Фигура 4.11.** Клинико-лабораторни данни и съпътстващи заболявания при пациенти с псориазис, носители на мутантния алел на полиморфизъм *FVL (rs6025)* спрямо неносителите

1. Средна възраст (години); 2. Средна възраст на първа изява (години); 3. BMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ); 4. Пациенти с BMI  $\geq 25$  ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) (%); 5. Пациенти с BMI  $\geq 30$  ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) (%); 6. Пациенти с хипергликемия (%); 7. Кръвна захар на гладно ( $\text{mmol}/\text{l}$ ); 8. Триглицериди ( $\text{mmol}/\text{l}$ ); 9. Пациенти с триглицеридемия (%); 10. Пациенти с нисък HDL (%); 11. Пациенти с хиперхолестеролемия (%); 12. Пациенти с дислипидемия (%); 13. Пациенти с Хипертония (%); 14. Пациенти с Диабет тип 2 (%); 15. CRP ( $\text{mg}/\text{l}$ ); 16. Пациенти с високо CRP (%); 17. PASI; 18. Пациенти с PASI > 20 (%); 19. Пациенти с псориазисен артрит (%); 20. Пациенти със ССЗ без хипертония (%); 21. Пациенти със ССЗ + хипертония (%); 22. Пациенти с чернодробни болести (%); 23. Пациенти с тромбози (%); 24. Пациенти с MC (%); 25. Пациенти с MC + BMI > 30 (%);

\* Статистическите данни са представени в таблица 7Д.

Клиничните и лабораторни данни на пациенти с псориазис носители на мутантния алел *FVL (rs6025)* са анализирани и спрямо неносителите на петте изследвани тромбофилични мутации. Резултатите са сходни с тези получени при анализирането спрямо неносители само на алел *FVL (rs6025)*. Близка до сигнификантна разлика се наблюдава за средната възраст на пациенти. Сигнификантната разлика се наблюдава за стойността на CRP и близка до сигнификантна разлика се наблюдава за стойността на хиперхолестеролемия (фигура 4.12. и таблица 8Д), както и високите стойности на OR на пациенти с хипергликемия, с Диабет тип 2 и пациенти с триглицеридемия.



**Фигура 4.12.** Клинико-лабораторни данни и съпътстващи заболявания при пациенти с псориазис, носители на мутантния алел *FVL (rs6025)* спрямо неносителите на тромбофилични полиморфизми.

1. Средна възраст (години); 2. Средна възраст на първа изява (години); 3. BMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ); 4. Пациенти с BMI  $\geq 25$  ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) (%); 5. Пациенти с BMI  $\geq 30$  ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) (%); 6. Пациенти с хипергликемия (%); 7. Кръвна захар на гладно ( $\text{mmol}/\text{l}$ ); 8. Триглицериди ( $\text{mmol}/\text{l}$ ); 9. Пациенти с триглицеридемия (%); 10. Пациенти с нисък HDL

(%); 11. Пациенти с хиперхолестеролемиа (%); 12. Пациенти с дислипидемиа (%); 13. Пациенти с Хипертония (%); 14. Пациенти с Диабет тип 2 (%); 15. CRP (mg/l); 16. Пациенти с високо CRP (%); 17. PASI; 18. Пациенти с PASI > 20 (%); 19. Пациенти с псориаатичен артрит (%); 20. Пациенти със ССЗ без хипертония (%); 21. Пациенти със ССЗ + хипертония (%); 22. Пациенти с чернодробни болести (%); 23. Пациенти с тромбози (%); 24. Пациенти с МС (%); 25. Пациенти с МС + ВМІ > 30 (%);

\* Статистическите данни са представени в таблица 8Д.

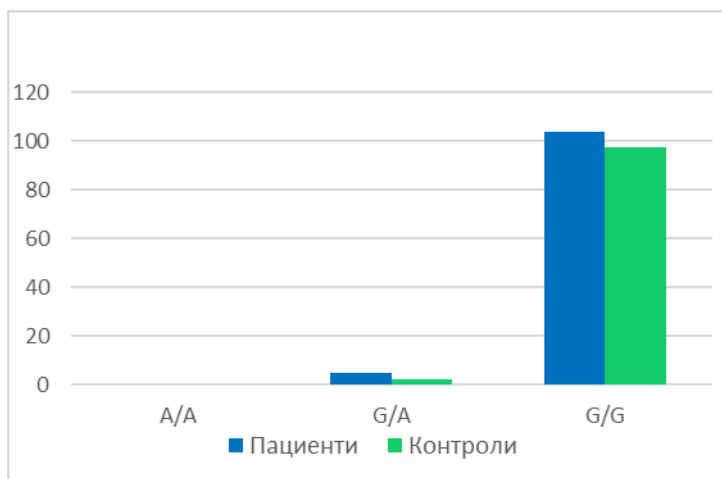
#### 4.6. Носителство на полиморфизъм *FII 20210 (G>A) SNP: rs1799963* при пациенти с псориазис

Резултатите от ДНК анализа за носителството на мутантния алел на полиморфизъм *FII 20210 G>A* и алелни честоти, OR,  $\chi^2$ , 95 %, CI и точен тест на Фишер спрямо контроли са представени в таблица 4.6. и фигура 4.13

Честотата на хетерозиготно носителство на мутантния алел *FII 20210A* е висока при пациенти с псориазис в сравнение с контролната група: 4.58% спрямо 2.21%, OR по-високо от 2, което показва определено значение на този полиморфизъм за развитие на заболяването, обаче връзката е несигнификантна. За отбелязване е факта, че носителството е рядко, ниските бройки на пациенти правят данните несигнификантни. Не е намерено хомозиготно носителство в групата на пациентите, както и в групата на контролите.

**Таблица 4.6.** Носителство на генотипове G/G, G/A и A/A на полиморфизъм *FII 20210 G>A* в гена на FII (*rs179996*), алелна честота, OR,  $\chi^2$ , 95% CI и точен тест на Fisher при пациенти с псориазис спрямо контроли.

Носителство на <i>rs179996 FII G20210G&gt;A</i>	Пациенти n (%)109	Контроли n (%)181	OR	95% CI	$\chi^2$	p
Адитивен модел						
A/A	0(0)	0(0)				
G/A	5 (4.58)	4 (2.21)	2.127	0.558 - 8.099	1.278	0.258
G/G (Реф)	104 (95.42)	177(97.79)	1			
Доминантен модел						
G/A + GG	5 (4.58)	4 (2.21)				
G/G (Реф)	104 (95.42)	177(97.79)	1			
Алелно разпределение						
A	5(2.30)	4(1.10)	2.100	0.558 - 7.909	1.258	0.272
G	213(97.70)	358(98.90)	1			



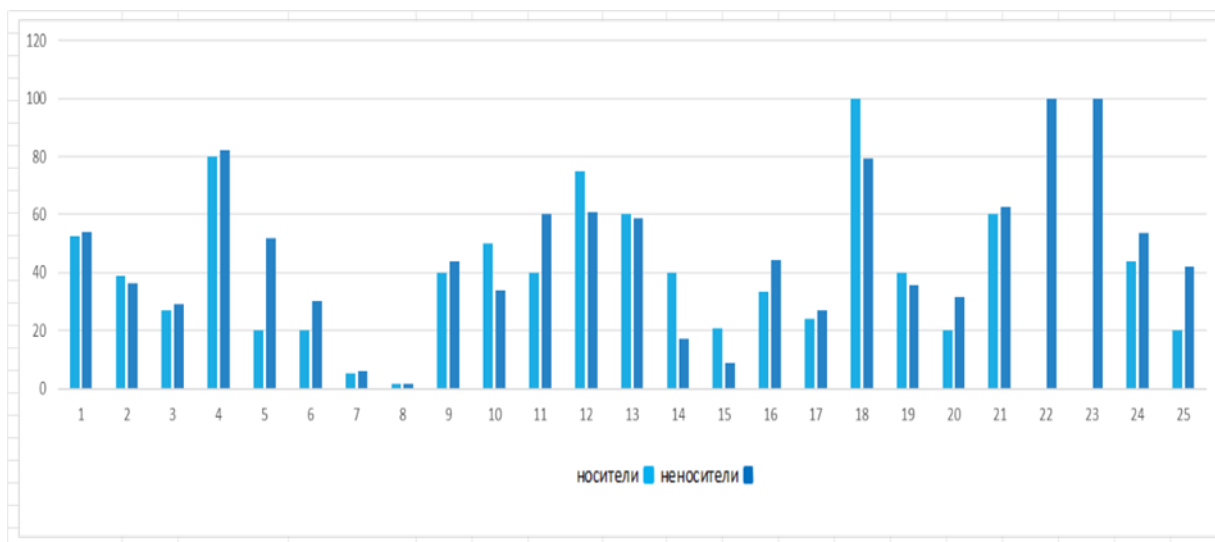
**Фигура 4.13.** Носителство на генотипове G/G, G/A и A/A на полиморфизъм *FII 20210 G>A (rs179996)* в гена на FII при пациенти с псориазис спрямо контроли.  
\* Статистическите данни са представени в таблица 4.6.

Честотите на (A) и (G) алелите в групата пациенти в сравнение с тези в контролната група бяха изчислени чрез уравнението на HWE и бяха съответно при пациенти *20210A* 2.30% и при контроли 1.10%, а за *20210 G* при пациенти 97.70% и при контроли 98.90% (таблица 4.6.). Съгласно информацията на GnomAD database ID тотална честота е 0.008441; European (Non-Finnish) честота е 0.01245; ClinGen Allele Registry (CA325636). Резултати от ДНК анализ за изчисляване на алелните честоти *FII 20210 G>A*, (SNP: *rs1799963*) са представени в таблица 4.6.

#### 4.6.1. Клинични и лабораторни данни

Клиничните и лабораторни данни за затлъстяване ( $BMI \geq 30$ ), хипергликемия, триглицеридемия, нисък HDL, дислипидемия, хипертония, CRP, PASI > 20, диабет тип 2, ССЗ, МС и общи съпътстващи заболявания на пациенти с псориазис, носители на *FII 20210 A* не показват сигнификантна разлика спрямо неносители на този полиморфизъм (фигура 4.14. и таблица 9Д).

Носителството на *FII 20210 A* е много рядко, броят на пациенти носители е малък, по тази причина при сравнение на резултатите само с групата на неносители на този алел, получихме данни с по-високи стойности на OR (1.9 - 2.4), но без сигнификантна разлика. Например, такива са резултатите за пациенти с нисък HDL, пациенти с дислипидемии, диабет тип 2 и високи PASI стойности (фигура 4.14 и таблица 9Д).



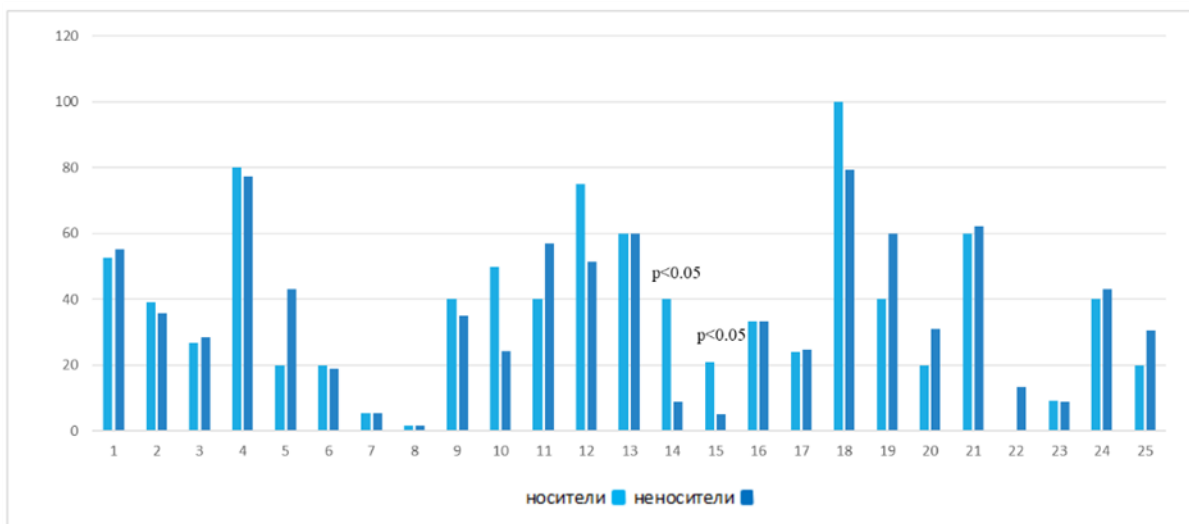
**Фигура 4.14.** Клинико-лабораторни данни и съпътстващи заболявания при пациенти с псориазис, носители на мутантния алел *FII 20210A* на полиморфизъм *FII 20210 G>A (rs179996)* спрямо неносителите на този алел.

1. Средна възраст (години); 2. Средна възраст на първа изява (години); 3. BMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ); 4. Пациенти с BMI  $\geq 25$  ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) (%); 5. Пациенти с BMI  $\geq 30$  ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) (%); 6. Пациенти с хипергликемия (%); 7. Кръвна захар на гладно ( $\text{mmol}/\text{l}$ ); 8. Триглицериди ( $\text{mmol}/\text{l}$ ); 9. Пациенти с триглицеридемия (%); 10. Пациенти с нисък HDL (%); 11. Пациенти с хиперхолестеролемия (%); 12. Пациенти с дислипидемия (%); 13. Пациенти с Хипертония (%); 14. Пациенти с Диабет тип 2 (%); 15. CRP ( $\text{mg}/\text{l}$ ); 16. Пациенти с високо CRP (%); 17. PASI; 18. Пациенти с PASI > 20 (%); 19. Пациенти с псориатичен артрит (%); 20. Пациенти със ССЗ без хипертония (%); 21. Пациенти със ССЗ + хипертония (%); 22. Пациенти с чернодробни болести (%); 23. Пациенти с тромбози (%); 24. Пациенти с МС (%); 25. Пациенти с МС + BMI > 30 (%);

\* Статистическите данни са представени в таблица 9Д.

Клиничните и лабораторни данни на пациенти с псориазис носители на мутантния алел *FII 20210 A* на полиморфизъм *FII 20210 G>A* са анализирани спрямо неносители на всички изследвани тромбофилични мутации (*FII 20210 G>A (rs1799963)*, *SND -675 ID, 4G/5G* в гена на PAI-1, *677C>T* вариант в гена на MTHFR, *PLA1/A2* в гена на тромбоцитен гликопротеин Пв/Пвa (*rs5918ITGB3*) и *FVL (rs6025)*). Резултатите са сходни с тези получени при анализирането спрямо неносители само на алел *FII 20210 A* (фигури 4.14 4.15. и таблица 9Д и 10Д). Обаче при този анализ получихме сигнификантност за пациенти с Диабет тип 2 и CRP, докато останалите параметри: пациенти с нисък HDL, дислипидемии и високи PASI стойности и псориатичен артрит са останали несигнификантни (фигура 4.15. и таблица 10Д).





**Фигура 4.15.** Клинико-лабораторни данни и съпътстващи заболявания при пациенти с псориазис, носители на мутантния алел *FII 20210A* на полиморфизъм *FII 20210 G>A(rs179996)* спрямо неносителите на петте тромбофилични полиморфизма

1. Средна възраст (години); 2. Средна възраст на първа изява (години); 3. BMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ); 4. Пациенти с BMI  $\geq 25$  ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) (%); 5. Пациенти с BMI  $\geq 30$  ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) (%); 6. Пациенти с хипергликемия (%); 7. Кръвна захар на гладно ( $\text{mmol}/\text{l}$ ); 8. Триглицериди ( $\text{mmol}/\text{l}$ ); 9. Пациенти с триглицеридемия (%); 10. Пациенти с нисък HDL (%); 11. Пациенти с хиперхолестеролемия (%); 12. Пациенти с дислипидемия (%); 13. Пациенти с Хипертония (%); 14. Пациенти с Диабет тип 2 (%); 15. CRP ( $\text{mg}/\text{l}$ ); 16. Пациенти с високо CRP (%); 17. PASI; 18. Пациенти с PASI > 20 (%); 19. Пациенти с псориаичен артрит (%); 20. Пациенти със ССЗ без хипертония (%); 21. Пациенти със ССЗ + хипертония (%); 22. Пациенти с чернодробни болести (%); 23. Пациенти с тромбози (%); 24. Пациенти с МС (%); 25. Пациенти с МС + BMI > 30 (%);

\* Статистическите данни са представени в таблица 10Д.

## 5. ДИСКУСИЯ

Псориазис вулгарис е сложно мултифакторно дерматологично заболяване с различни генетични фактори и фактори от околната среда, участващи в отключването и прогресирането му агравирани от съпътстващите го заболявания.

Епидемиологичните и генетичните изследвания потвърждават, че псориазисът е заболяване причинено от полигенни взаимодействия между различни геномни локуси и рискови фактори от околната среда, които допринасят не само за развитието на заболяването, но и за специфични съпътстващи коморбидности на псориазиса. Те са свързани с възпалителната компонента и ендотелна дисфункция, водеща до кардиометаболитни патологии.

В многобройни проучвания е показано, че освен класическите коморбидности на псориазис, като псориаичния артрит, неалкохолна чернодробна стеатоза и болестта на Крон, които споделят генетично базирани патомеханизми, пациентите с псориазис са изложени на по-висок риск от развитие на кардиометаболитни заболявания - коронарна артериална болест, остър МИ, инсулт, диабет и МС с характерни хипертония, дислипидемия, хиперхолестеролемия, затлъстяване и инсулинова резистентност.

Етиологията на риска от кардиометаболитни заболявания при пациенти с псориазис продължава да бъде обект на многобройни изследвания. Потенциален

механизъм на тази връзка може да бъде компрометиран метаболитен статус, който активира възпалителни медиатори и прокоагулантни фактори, участващи в развитието на псориазис и съдова патогенеза, допринасяйки за съпътстващите състояния при тези пациенти.

Нашето проучване има за цел да изследва носителството на тромбофилични фактори, допринасящи за проинфламаторно и протромботично състояние - причина за артериални и венозни тромбози при пациенти с псориазис, за да хвърли светлина върху въздействието им както за развитието на псориазис така и за съпътстващите го кардиометаболитни заболявания, свързани със сърдечно-съдовия риск, диабет и метаболитния синдром.

Поставихме си задача да разберем до каква степен носителството на тромбофилични прокоагулантни мутации повлиява развитието на заболяването псориазис и проявата на коморбидностите. Изследването на тромбофилични генетични маркери ще подпомогне за по-добро разбиране на връзката между коморбидностите на псориазиса, като диабет, ССЗ и МС, но също така и ще проправи път за прецизиране на съществуващи и потенциално нови подходи за превенция и лечение.

За да изпълним тази задача, ние изследвахме пет протромботични полиморфизма при 109 пациенти с диагноза псориазис и 181 здрави контроли, като и двете групи са от кавказката раса.

### **5.1. Носителство на *SND -675 ID, 4G/5G* в гена на *PAI-1* полиморфизъм сред пациенти с псориазис**

Един от първите генетични фактори, които изследвахме бе *4G/5G* полиморфизъм в гена на *PAI-1*, основен физиологичен инхибитор на плазминогенните активатори (РА) от тъканен тип (tРА) и урокиназен тип (uРА), и следователно важен инхибитор на системата плазминоген/плазмин. Плазминогенния активатор инхибитор тип 1 е бързодействащ инхибитор на tРА и е важен регулатор на фибринолизата. Чрез инхибиране на uРА и взаимодействието с биологични лиганди, като витронектин и рецептори на клетъчната повърхност, функциите на *PAI-1* се разширяват и до перичелуларна протеолиза, тъканно ремоделиране и други процеси, включително и клетъчната миграция.

Значително по-малко са изследванията за приноса на повишените нива на *PAI-1* за развитието на болестта псориазис, а данните за връзката на този полиморфизъм с псориазис липсват в световната литература.

А) Нашите резултати показаха че носителството на *SND -675 ID*, генотип *4G/4G* в гена на *PAI-1* е значително по-високо при пациенти с псориазис в сравнение с контролната група: 35.0% спрямо 19.3%; (OR 2.32;  $\chi^2 = 8.705$ ) (Таблица 4.2.). Високите стойности на OR и  $\chi^2$  показва, че рискът за развитието на заболяването е значително по-голям при носителите на *4G/4G* генотип. Алелната честота сигнификантно се различава при пациенти в сравнение с контроли (за *4G* алел са 57.80% за пациенти и 49.17% за контроли)(Таблица 4.2.). Това е един от най-значимите резултати на нашето изследване.

В) Плазминоген активатор инхибитор тип 1 (*PAI-1*) се синтезира от различни клетки, включително ендотелни клетки, хепатоцити, адипоцити и тромбоцити. Неговият

синтез се влияе от фактори като възпалението. Цитокини като интерлевкин-6 (IL-6) и фактор на туморната некроза- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) директно повишават нивата на PAI-1. Инсулинът също има пряко въздействие върху синтеза на PAI-1, свързвайки метаболитните пътища с регулацията. Клетки носещи *SND -675 ID*, 4G алела в гена на PAI-1 произвеждат до 6 пъти по-повече иРНК *in vitro*. *In vivo*, повишените нива на PAI-1 са свързани с различни патологични състояния: хипофибринолитично състояние, което допринася за тромботични усложнения, с повишена фиброза и възпаление, нарушена регенерация и функция на тъканите. В скелетните мускули високите нива на PAI-1 могат да доведат до намалена мускулна маса и нарушена регенерация, допринасяйки за състояния като мускулна дистрофия, диабет и свързана с възрастта мускулна патология. Значително по-малко са изследванията за принос на повишените нива на PAI-1 за развитието на болестта псориазис.

### 5.1.1. Връзка на генотип 4G/4G с метаболитни показатели и коморбидности

При анализиране на коморбидностите на носителите на 4G/4G генотип спрямо носителите на 4G/5G+5G/5G, установихме определени разлики както в метаболитните показатели така и в коморбидностите.

а. Значението на носителството на 4G/4G генотип в гена на PAI-1 върху клиничните и лабораторни данни на пациенти с псориазис, бе определено по два начина. Носителите на този генотип, бяха сравнени с група на неносителите, както и с друга група от четиридесет и четири пациенти, включваща както неносители на (*SND-675 ID*, 4G/4G генотип в гена на PAI-1, така и неносители на други тромбофилични полиморфизми изследвани в тази работа: (*rs1801133*) полиморфизъм в гена на MTHFR, полиморфизъм (*rs5918ITGB3*) *PL A1/A2* в гена на интегрин  $\beta 3$ , *FVL* полиморфизъм (*rs 6025*) и (*rs179996*) полиморфизъм на *FII 20210 G>A* (Групата е получена след изваждането на пациентите, носители на прокоагулантни и тромбофилични полиморфизми).

б. От изследваните метаболитни показатели при двата вида анализирани групи (носители на 4G/4G спрямо неносителите на този генотип, както и спрямо неносителите на петте тромбофилични полиморфизма), сигнификантната разлика се получи за нивата на кръвна захар на гладно, както и броят на пациентите с висока кръвна захар и броят на пациентите с диабет тип 2 (32.4% спрямо 11.8%) (таблица. 1Д.). са сигнификантно по-високи при носителите. И трите показателя дават сигнификантна връзка между псориазис и диабет при носителите на този генотип, което показва, че носителството на този генотип допринася за инсулинова резистентност и диабет тип 2 при пациенти с псориазис.

в. При изследване на липидни метаболитни показатели установихме сигнификантно ниски нива на HDL сред хомозиготните носители спрямо неносителите, както и спрямо неносителите на петте тромбофилични мутации. Висок общ холестерол се открива при носителите и неносителите на генотип 4G/4G в гена на PAI-1. Подобни отклонения в липидните профили са забелязани при псориазисни пациенти и в други изследвания, които не анализират генетичния фактор.

d. Стойностите на CRP са сигнификантно по-високи при пациентите носители на генотип 4G/4G в гена на PAI-1 в сравнение с неносителите (15.14 mg/l спрямо 6.40 mg/l,  $p < 0.05$ ) (таблица. 1Д.). Известно е, че PAI-1 влияе върху процесите на възпалението, клетъчната пролиферация на гладкомускулните клетки, миграцията на клетките и в частност кератиноцитите, увеличава ангиогенезата, ремоделирането на извънклетъчния матрикс в посока повишаване на риска от тромбоза. Това са все фактори които присъстват и в патологията на псориазис.

e. Стойностите на PAI-1 са много високи при всички пациенти с псориазис, обаче пациентите носители на генотип 4G/4G в гена на PAI-1 са с по-високи стойности в сравнение с неносителите (115.2 mg/l спрямо 103.7 mg/l,  $p > 0.05$ ) (таблица. 1Д.). Увеличените стойности на CRP и PAI-1 са маркери на по-високо възпалително ниво при пациенти, носители на 4G/4G генотип.

f. При пациенти с псориазис нивата на PAI-1 са по-високи в сравнение със здрави контроли. Това повишаване на експресията на PAI-1 вероятно е свързано с хиперпролиферация на кератиноцити, миграция на възпалителни клетки и ангиогенеза - процеси, които играят решаваща роля в патогенезата на псориазиса. Получените от Rubina et al морфологични резултати показват, че uPA, урикиназен тип плазминогенен активаторен рецептор, tPA и PAI-1 присъстват в епидермиса на псориазисната кожа, докато в нормалния епидермис те са неоткриваеми в повечето случаи, или са в пренебрежимо малки количества. Трябва да се отбележи, че плазмените нива на PAI-1 намаляват след лечението на псориазис и по време на периода на възстановяване.

g. Многобройните изследвания доказват, че наследяването на генотип 4G/4G води до повишен риск от инцидент на инсулт, исхемична болест на сърцето включително повишен риск за коронарна болест на сърцето. В нашето изследване пациентите с псориазис артрит, хипертония, исхемична болест на сърцето, сърдечна недостатъчност и МС са с по-висока честота сред носителите на генотип 4G/4G в сравнение с неносителите, но не сигнификантно. Това е логично следствие от по-тежкия инфламаторен статус на тази група пациенти. Тежестта на заболяването, измерена като PASI индекс, е също по-висока при носителите на този генотип.

Интересен е фактът, че 59.4% от носителите на генотип 4G/4G в гена на PAI-1 са с МС, но тъй като той е с висока честота и при неносителите на тромбофилични мутации (43.2%), въпреки сравнително високата стойност на OR (1.92) не се наблюдава сигнификантна разлика (таблица. 2Д.). Отделните компоненти на метаболитният синдром като хипергликемия, пациенти с диабет и липидемия (нисък HDL) са увеличени сигнификантно, но не и затлъстяването, основният компонент на метаболитния синдром.

Коморбидностите на пациенти с псориазис, носители на 4G/4G генотип, имат по-изразена значима разлика при сравнение с групата пациенти без тромбофилични мутации, отколкото при сравнение с неносители само на 4G/4G генотип, тъй като по този начин се елиминира приноса на другите мутации към коморбидностите.

Повишените нива на PAI-1 се свързват с различни патологични състояния - абдоминално затлъстяване, инсулинова резистентност, хипертриглицеридемия, тромбоза и ССЗ - чести съпътстващи заболявания на псориазиса.

При нашите пациенти ССЗ без хипертония са сравнително не висок процент и са близки по стойностите при носители и неносители на 4G/4G генотип (34.2% спрямо

29.2%,  $p > 0.05$ ) (таблица. 2Д.), т.е. приноса на носителството не е голям. Може да се отбележи за пациенти с хипертония, че броят е много по-голям, 71.1% при носителите на 4G/4G генотип спрямо 62.2% при неносителите, разликата обаче не е сигнификантна ( $p > 0.05$ )(таблица. 2Д.).

От друга страна, затлъстяването, диабет тип 2 и МС често се свързват с хронично състояние на възпаление, което се характеризира със свръхекспресия на възпалителни адипокини, като IL-6 и TNF- $\alpha$ , които индуцират експресия на PAI-1 в мастната тъкан. Тези повишени нива на PAI-1 допълнително допринасят за развитието на възпаление в мастната тъкан чрез увеличаване на броя на възпалителните макрофаги, които инфилтрират тъканта.

## **5.2. Полиморфизъм *MTHFR 677C>T* като рисков фактор за псориазис и коморбидности.**

Метилентетрахидрофолат редуказата (MTHFR) е ключов ензим за процесите на едновъглероден метаболизъм, включващ метаболизма на фолат и хомоцистеин. Този ензим катализира необратимото превръщане на 5,10-метилтен тетраhydroфолат (THF) в 5-метил THF чрез редукцията на метиленовата до метиловата група, която участва в генерирането на S-аденозил метионин (SAM) в метиониновия цикъл от хомоцистеина и освобождаване на THF от метиловата група. S-аденозил метионинът е необходим за синтеза на биологично важни молекули като адреналин, холин, бетаин, тимин. Участва и в биотрансформационни процеси при инактивиране на ендо- и ксено-биотици, както и THF за пренос на едновъглеродни атомни групи в метаболизма на аминокиселини и нуклеотиди. Друга важна функция на SAM и метиониновия цикъл е участието в процесите на метилирането на генома, което е част от регулаторна система на генната експресия и епигенетично адаптивно моделиране, процеси, повлияващи клетъчното развитие и клетъчните функции. Многообразните функции предполагат, че нарушаването на един от компонентите в системата на метилирането ще предизвика определени функционални нарушения и болестни процеси.

Полиморфизъм *MTHFR 677C>T*, водещ до замяна на валин в аланин при кодон 222, намалява активността на този ензим до 50 - 70% при хомозиготното носителство на тази мутация (677 TT) и съответно по-високи нива на хомоцистеин, докато хетерозиготното носителство (677 CT) дава леко повишени нива на хомоцистеин в сравнение с носители на (677 CC) здрави контроли.

Хиперхомоцистеинемията е рисков фактор за ССЗ и туморни заболявания. Има изследвания показващи връзката на този полиморфизъм със затлъстяване, захарен диабет, невродегенеративни и други разстройства.

### **5.2.1. Връзка на псориазис с полиморфизъм *677C>T (rs1801133)* TT генотип при пациенти с плакатен псориазис**

а. Нашите изследвания за носителство на 677 TT генотип на полиморфизъм *MTHFR 677C>T (rs1801133)* в гена на MTHFR показваха, че носителството на този генотип е незначително по-високо при пациенти с псориазис в сравнение с контролната група: 13.76% спрямо 11.06%, (OR 1.24,  $p > 0.05$ )(таблица 4.3.). Този

факт доказва, че носителството на генотип 677 TT не е рисков фактор за развитието на заболяването в групата на пациентите. Интересен е фактът, че хетерозиготното носителство на C/T бе сигнификантно по-ниско при пациенти с псориазис ( $p = 0.027$ ).

б. Данните за връзката на носителството на генотип 677 TT в гена на MTHFR с псориазис в различни региони на света са доста противоречиви. Значителна връзка между носителството на MTHFR 677 TT генотип и псориазиса бе открита както в по-ранните доклади за китайското население от Baiqiu и др. 2000, така и при изследване на пациенти с псориазис на турските етнически групи от Izmirli M. Данните им показват значително увеличение на носителството на TT генотип при пациенти с псориазис (CC 35.4%, CT 47.9%, и TT 16.7%) докато разпределението в контролната група е както следва CC 50.6%, CT 45.5% и TT 3.9%.

с. Изследването от Weger за австрийското население показва, че хомозиготния генотип TT не е по чест при пациентите с псориазис, (15.2% спрямо 11.7%,  $p = 0.24$ ). Носителство на генотип MTHFR TT е по-рядко сред пациенти с плакетен псориазис (10.5%) от Чешката република Vasku (2009)) в сравнение с контроли (11.8%). Резултатите, установени за кавказката раса, са в съответствие с нашата констатация за българската популация, че разликата между носителството на хомозиготния генотип 677 TT при пациенти с псориазис и контролната група не е сигнификантна. Подобни са и резултатите на Liew др., за населението на Малайзия.

Наскоро публикувано ново изследване в арабския регион отново потвърди връзката между носителството на генотип MTHFR 677 TT и псориазиса при пациенти в Саудитска Арабия, като се предполага, че разликата в етническата принадлежност обяснява тези противоречиви констатации относно ролята на генотип MTHFR 677 TT и псориазис.

### **5.2.2. Връзка на носителство на MTHFR 677C>T (rs1801133) полиморфизъм с метаболитни показатели и коморбидности**

Изследванията ни върху връзката на носителството на генотип MTHFR 677 TT с метаболитни показатели, както и коморбидностите показаха сигнификантни промени както в стойностите на метаболитните показатели, така и в коморбидностите.

За да се оцени тежестта на носителството на генотип MTHFR 677 TT върху клиничните и лабораторни данни на пациенти с псориазис, включително и съпътстващите заболявания, носителите на генотип 677 TT, бяха сравнени както с групата на неносителите на този генотип в гена на MTHFR, така и с групата от 44 пациенти без други тромбофилични полиморфизми. Групата на неносителите на тромбофиличните полиморфизми имат по-високи OR стойности и по-сигнификантни по изследваните показатели.

### **5.2.3. Носителството на MTHFR 677C>T TT генотип и захарен диабет, дислипидемии и МС**

а. Нивата на кръвната захар на гладно, броят на пациентите с хипергликемия и с Диабет тип 2 са сигнификантно по-високи при носителите на 677 TT генотип на полиморфизъм 677C>T (rs1801133) в гена на MTHFR и се характеризират с високи OR стойности ( $OR \geq 5.0$ ,  $p < 0.05$ ).

б. Въпреки че връзката между *MTHFR* 677 ТТ генотипа и риска за диабет тип 2 е широко изследвана, все още остават противоречиви заключения. Носителството на мутантния алел е значително корелира с диабета сред арабското население според, а също така и в китайската популация Zhang et al., 2014. В метаанализ от Meng включващ данните за население от кавказка, африканска и азиатска популации, аторите намират връзка между 677 ТТ генотипа и диабет тип 2, само за арабската популация.

Връзка между носителство на 677 ТТ генотипа при псориазиците с диабет е забелязана от Vasku в чешката популация. В някои други публикации от последните години се посочва връзката между носителството на *MTHFR* 677 ТТ генотип, инсулиновата резистентност и диабет при субекти без псориазис, като някои от изследванията съобщават за корелации и с дислипидемии.

В нашето изследване е демонстрирана сигнификантна връзка между носителството на 677 ТТ генотип и диабет тип 2 при пациенти с псориазис.

с. Другият важен фактор, който се коментира при носители на *MTHFR* 677 ТТ генотип са дислипидемии. В нашето проучване са изследвани общия холестерол, HDL холестерол, общи липиди. Сигнификантно по-висока бройка ( $p < 0.05$ ) на пациенти с хиперхолестеролия (84.6%) открихме при носителите спрямо неносителите (55.0%). Броят на пациентите с хиперлипидемия е по-висок, но несигнификантно сред носителите на генотип 677 ТТ (80.0%) спрямо неносителите (59.3%) (таблица. 3Д.). Нивата на HDL са ниски при 50.0% от носителите на генотипа спрямо 32.3% при неносителите (таблица 3Д). Стойностите на OR на всички липидни показатели са високи между 2.7 - 4.2, но само за холестерола, стойностите са сигнификантни ( $p < 0.05$ ) (таблица. 3Д.).

д. Всички изследвани пациенти, носители на генотип 677 ТТ, са със затлъстяване ( $BMI > 30 \text{ kg/m}^2$ ) и като следствие от този факт, честотата на метаболитният синдром е значително по-висока сред носителите на полиморфизма (80.4%) в сравнение с неносителите (49.4%) (таблица. 3Д.). Затлъстяване, хипергликемия/диабет тип 2 и хиперхолестеролия са трите най-съществени параметра за дефиниране на метаболитния синдром.

е. Метаболитният синдром представлява комплекс от взаимно свързани рискови фактори за развитието на захарен диабет и ССЗ. Тези фактори включват хипергликемия, дислипидемия, хипертония и висцерален тип затлъстяване. В настоящото изследване броят на пациентите със затлъстяване, хипергликемия, диабет и хиперхолестеролия, е значително по-висок при носителите на *MTHFR* 677 ТТ генотип и като следствие от тези наблюдения намерихме, че има и сигнификантна връзка между носителството на ТТ генотип и метаболитния синдром.

ф. Средните стойности на CRP са сигнификантно по-високи при пациентите носители на ТТ генотип в сравнение с неносителите (таблица. 4Д.), което е маркер на системно възпаление при затлъстяване и диабет тип 2. Добре известно е, че възпалението на тъканите играе критична роля за инсулиновата резистентност, която е в основата както за развитието на диабет тип 2, както и за МС.

г. Хиперхомоцистеинемията, която се наблюдава при хомозиготно носителство на ТТ алели в гена на *MTHFR* е рисков фактор за различни ССЗ като коронарна болест на сърцето и също така е свързано с повишен риск от развитие на исхемичен инсулт в европейската и азиатска популация. Има данни че, носителството на генотип 677 ТТ е

свързан с повишен риск от (MI) в различни популации представен в скорошен метаанализ на Samii et al. За наша изненада, най-често коментиратите за тази рецесивна мутация патологии като хипертония, коронарна болест на сърцето, сърдечна недостатъчност и псориатичният артрит не са сигнификантно повишени в изследваната група, което се среща и в други изследвания.

h. Подобни резултати вероятно се дължат на протектиращата антикоагулантна и антиагрегантна терапия, а също така суплементация с фолиева киселина (витамин В9) и витамин В12 при нашите пациенти. Тези хранителни препоръки с добавянето на витамините В9 и В12 коригират нивото на плазмения хомоцистеин, което при лица с *MTHFR 677C>T* TT генотип е по-високо и определя значително по-висок риск от коронарна болест на сърцето и други съпътстващи заболявания.

ДНК метилирането е от съществено значение за регулирането на експресията на гена на *MTHFR* и за функцията на клетките. При анализиране на епителни тъкани от пациенти с псориазис и здрави контроли, сравнявайки моделите на метилиране на промотора на туморния супресорен ген, хипометилирането бе наблюдавано по-често в хомозиготния *MTHFR 677C>T* TT генотип в сравнение с дивия вариант.

В литературата се откриват противоречиви данни за тежестта на псориазиса и връзката му с носителството на *MTHFR 677* TT генотип. Karabacak и др. съобщават за корелация на полиморфизма на *MTHFR 677C>T* с тежестта на псориазиса при носителите на CC генотип спрямо TT. В нашето проучване, стойностите на PASI [27.96 за TT спрямо 26.44 (TT+CT),  $p > 0.05$ ] са с малка разлика (таблица 3Д), както и процента на пациентите с висок PASI е по-висок сред носителите на генотип TT в сравнение с неносителите (100% спрямо 78.0%). За отбелязване е фактът, че всички носители на тази мутация имат PASI > 20.

Пациентите в двете анализирани групи за това носителство имат сравнително близки стойности на средна възраст както и възрастта на изява на първи инцидент.

Връзките и причините за повишения метаболитен и сърдечно съдов риск при пациенти с псориазис са обект на интензивни изследвания, което показва, че хроничните възпалителни процеси и високите метаболитни показатели като хипергликемия и хиперлипидемии водят до преждевременна атеросклероза чрез споделени имунопатогенни механизми при пациенти с псориазис.

Въпреки широко мащабните проучвания за връзката между генетичните и външните рискови фактори, механизмите, лежащи в основата на връзката между псориазис и диабет, дислипидемии и метаболитния синдром остават неуточнени, както в общата популация, така и сред носители на генотип *677* TT. Псориазис има мултифакторна генетична основа доказана от епидемиологични проучвания и фамилни рецидиви, включващи различни полиморфни алели на наследствено предразположение.

### **5.3. Носителство на *ITGB3 rs5918(C)* полиморфизъм сред пациенти с псориазис**

Един друг кардиометаболически полиморфизъм, жизненоважен елемент на тромбоцитната агрегация и кръвосъсирването е *rs5918T > C* в гена на *ITGB3*. Интегрин В3 (*ITGB3*) е бета субединица на гликопротеин  $\alpha\text{IIb}\beta_3$ , който се намира в голямо



количество на повърхността на тромбоцитната мембрана (~80 000 копия), служеща като рецептор за фибриноген и фактор VonWillebrand (VWF). Първоначалното адхезивно взаимодействие с извънклетъчни повърхности, като фибринов съсирек, предизвиква активиране на тромбоцитите чрез  $\alpha$ IIb $\beta$ 3 интегриновия рецептор. Активирането на тромбоцитите от външни стимули (ADP, тромбин, адреналин, VWF) води до експресия на по-голям брой молекули  $\alpha$ IIb $\beta$ 3 върху клетъчната повърхност и конформационни промени, които повишават неговия афинитет за свързване с фибриногена.

### **5.3.1. Носителство на *ITGB3 rs5918(C)* полиморфизъм при пациенти с псориазис**

Носителството на мутантния алел на полиморфизма *rs5918* (CC+CT), като хомозиготни и хетерозиготни варианти е приблизително 15% в здрава популация. Този полиморфизъм се дължи на заместване на тимин с цитозин (T>C) на позиция 1565 в екзон 2 на гена *ITGB3*, което води до заместване на левцин с пролин. Дори в хетерозиготно състояние полиморфизмът *rs5918 (C)* променя *ITGB3* конформацията и ориентацията на лиганд-свързващия регион и допринася за повишения риск от ССЗ. *ITGB3* като субединица на гликопротеин IIb/IIIa, е ключов рецептор на тромбоцитите, свързан с фибриноген медирана тромбоцитна агрегация и кръвосъсирване.

Не установихме разликата по отношение носителството на мутантния алел на полиморфизъм *ITGB3 rs5918(C)* между пациенти с псориазис и контроли, което свидетелства за липса на влиянието му върху развитието на болестта.

### **5.3.2. Връзка на *ITGB3 rs5918 (C)* полиморфизъм с метаболитни показатели и коморбидности**

Следващ обект на нашето проучване е влиянието на мутантния алел *ITGB3 rs5918(C)* върху метаболитните показатели и наличието на съпътстващи заболявания при пациенти с псориазис. При изследвани 109 пациенти установихме статистически значима връзка на полиморфизма със следните метаболитни параметри

а. Статистическият анализ показва връзка на носителството на мутантния алел *rs5918(C)* със случаите на триглицеридемия, хиперхолестеролемия и ниските стойности на HDL, фактори допринасящи за развитието на ССЗ и МС, при пациенти с псориазис.

б. Броят на пациентите носители на *rs5918 (C)* с триглицеридемия (42.9%), е значително по-висок ( $p < 0.05$ ) отколкото сред неносителите (27.5%)(таблица. 6Д.). Високият брой пациенти с хиперхолестеролемия се открива при 66.7% от носителите на мутантния алел спрямо 45.0% от неносителите (таблица. 6Д.). Ниският HDL е открит сред 47.2% от носителите на мутантния алел на *rs5918 (C)* спрямо 32.8% при неносителите (таблица 6Д). Общият брой на пациентите с дислипидемия е значително по-висок при носители на *rs5918 (C)* спрямо неносителите (85.7% спрямо 63.6%)(таблица 6Д).

с. Въпреки че броят на пациентите с хипергликемия и хипертония не е достигнал нивото на статистическа сигнификантност, комбинацията на тези фактори с хиперлипидемичните и дислипидемичните фактори и ВМІ води до по-висок, но не сигнификантен риск от МС при носители на алел *rs5918(C)* в сравнение с неносителите в групата на нашите пациенти.

d. Високата триглицеридемия, хиперхолестеролемия и хипергликемия заслужава специално внимание, тъй като те са рискови фактори и за други заболявания, освен метаболитния синдром, а именно ССЗ, диабет тип 2, невродегенеративни заболявания, усложнения при бременност и други.

e. Честотата на метаболитният синдром не е значително по-висока сред носителите на полиморфизма (52.4%) в сравнение с неносителите (20.5%). Същото важи и за хипертонията, исхемичната болест на сърцето, сърдечната недостатъчност и псориатичният артрит (таблица 6Д).

f. Не сигнификантно увеличение на сърдечно-съдовите събития при пациентите, носещи мутантния алел *rs5918(C)*, се оказва неочаквано, защото научната литература показва висока честота на ССЗ при пациенти с псориазис и от наличие на този полиморфизъм при пациенти със ССЗ (таблица 5Д и таблица 6Д).

Връзката между носителството на *ITGB3 rs5918(C)* и кардиометаболитния риск е изследвана в множество проучвания с противоречиви резултати. Например, разпространението на този полиморфизъм при пациенти с МІ е установено със стойности на OR в интервала 0.570 - 5.935. Носителството на мутантния генотип *rs5918* (СС+СТ) допринася за повишен риск от коронарна болест, тромбоза на коронарния стент, МІ, инсулт и е по-устойчив на антитромботичните ефекти на аспирин.

Установено е, че носителството на мутантния алел *PLA2(rs5918(C))* в гена на *ITGB3* е сигнификантно свързано с остра коронарна тромбоза, особено при пациенти, диагностицирани с внезапна сърдечна смърт, като повишена корелация се наблюдава при пациенти под 60-годишна възраст. Тези данни показват, че носителството на *rs5918(C)* има повишена връзка с опосредствани от тромбоцити, тромботични сърдечни събития, което е от съществено значение за нашата група пациенти, тъй като повечето от тях (70%) са под 60 години.

Трябва да отчетем, че пациентите с псориазис са изправени пред по-висок риск от дислипидемия и МС. Рискът от ССЗ при пациенти носители на *ITGB3 rs5918(C)* е несигнификантно по-висок.

Носителите на алела *ITGB3 rs5918(C)* представиха по-висок PASI (таблица 5Д и таблица 6Д) в сравнение с неносителите, но не сигнификантно.

В настоящото проучване за носителството на алела *ITGB3 rs5918(C)* някои резултати (триглицеридемия, хиперхолестеролемия, хипергликемия, МС и др. (таблица 5Д таблица 6Д) не достигат статистическа сигнификантност и е невъзможно да се реши окончателно дали те имат значение. Смятаме, че осведомеността за рисковите фактори за ССЗ и МС и техния генетичен произход са важни при лечението на пациенти с псориазис.

#### **5.4. Роля на *FVL* за развитие на псориазис и коморбидности**

Фактор V Leiden (*FVL*) се смята за основен тромбофиличен фактор свързан с риска от дълбока венозна тромбоза (ДВТ) и белодробен тромбоемболизъм (БТЕ). Изследването на мутацията започва след първото съобщение за връзка на тази мутация с ДВТ и БТЕ през 1994 г.

#### 5.4.1. Носителство на *FVL* полиморфизъм сред пациенти с псориазис

В групата на изследваните от нас пациенти, честотата на носителството на мутантния алел на *FVL 1691(A)* бе по-висока при пациенти с псориазис в сравнение с контролната група (10.10% спрямо 7.73%,  $p > 0.05$ ), но незначително (таблица 4.5.). Изчисленият относителен риск има ниска стойност (OR 1.38,  $p > 0.05$ ) което показва, че носителството мутантния алел *FVL* не е рисков фактор за развитието на заболяването. Носителството на мутантния алел *FVL* варира в широки граници (от 0.7 до 7%) различните раси, в българската популация е около 7-9%. В групата на пациенти не бе намерено хомозиготно носителство.

#### 5.4.2. Връзка на *FVL* полиморфизъм с метаболитни показатели и коморбидности

Клиничните данни за затлъстяване, хипергликемия, триглицеридемия, HDL, дислипидемия, хипертония, CRP и PASI при носители на мутантния алел *FVL* не показват сигнификантна разлика спрямо неносители на този полиморфизъм, както и спрямо неносителите на петте тромбофилични мутации (фигура 4.11. и таблица 7Д и фигура 4.12. таблица 8Д).

а. Ситуацията с коморбидностите: хипертония, ССЗ, диабет, псориаатричен артрит, чернодробни заболявания, МС на пациенти с псориазис при носители на мутантния алел *FVL* е подобна, тъй като не се открива сигнификантна разлика спрямо неносители на мутантния алел и другите тромбофилични мутации (фигура 4.11., таблица 7Д, фигура 4.12. и таблица 8Д). Установен беше само един случай на тромбоемболизъм при пациент с псориазис, носител на *FVL*.

В литература връзката между псориазис, ДВТ и венозния тромбоемболизъм е представена като значима. Изследването на Ogdie et. al. за ВТЕ при пациенти с псориазис и псориаатричен артрит, показва че рискът е значително повишен и остава повишен след корекция по възраст, пол и установени рискови фактори за ВТЕ (обща хирургия, голяма травма, обездвижване или орални контрацептиви). Описват се и отделни клинични случаи на пулмонарен емболизъм и псориазис. Метаанализ за изследване на риска от ВТЕ при пациенти с псориазис в сравнение със здрави контроли на направен от Hillari et al, през 2021 година потвърждава, че рискът е увеличен, но не достига сигнификантна значимост. Несъответствие между различни изследвания предполага, че тежестта на псориазиса, възрастта, полът и/или съпътстващите заболявания могат да повлияят на риска от ВТЕ в подгрупите от популацията с псориазис.

б. Високите OR стойности и сигнификантната разлика ( $p < 0.05$ ) (Таблица 8Д) получени за CRP при пациенти с псориазис показват по-значимо провъзпалително и протромботично състояние на тези пациенти,

с. За хипергликемия и липидемия, също са получени високи OR стойности, обаче несигнификантни (Таблица 8Д). Тъй като носителството на *FVL (rs6025A)* е сравнително рядко, и групата е ограничена (109 пациента) данните ни са несигнификантни и не позволяват да правим заключение за риска. За отбелязване е и фактът, че при носителите средната възраст на пациенти е значително по-ниска (разликата е близка до сигнификантна).

През последното десетилетие са направени много проучвания за значението на *FVL* полиморфизъм в развитието на ВТЕ. Представени са данни за риск от ВТЕ по-висок от 3 до 10 пъти при носители на *FVL* (OR 9.7, 95% CI: 3.4-27.3) в сравнение с неносители на мутацията.

Важно е да се отбележи фактът, че един от двамата пациенти с пулмонарния емболизъм е хетерозиготен носител на *FVL*.

## **5.5. Полиморфизъм *FII 20210 G>A SNP (rs1799963)* при пациенти с псориазис**

Еднонуклеотидната замяна *20210 G>A* в гена на протромбина е втория по значение тромбофиличен фактор свързан с повишен риск от венoзни тромбози.

### **5.5.1. Носителство на *FII 20210 G>A* полиморфизъм сред пациенти с псориазис**

Честотата на мутантния алел *20210 A* на *FII 20210 G>A* полиморфизъм е висока, макар и несигнификантно, при пациенти с псориазис в сравнение с контролната група: 4.58% спрямо 2.21%, OR по-високо от 2 (OR 2.13), което показва определено значение на този полиморфизъм за развитието на заболяването (таблица 4.6.). За отбелязване е фактът, че носителството е рядко и вероятно малкият брой пациенти, носители на този алел, правят данните несигнификантни. Не е намерено хомозиготно носителство в групата на пациентите, както и в групата на контролите.

Първото изследване на полиморфизъм *FII 20210 G>A* е представено от Poort и сътр. през 1996 г. за връзка на развитието на тромбози и ВТЕ при носители на мутацията. Същите автори установяват, че носителството на мутантния алел *20210A* води до почти двойно по-високи нива на протромбин в плазмата, в сравнение с нивото на протромбин при неносители на мутацията. Метаанализ на проучвания върху пациенти от Индоевропейската раса установява около четири пъти по-висок риск от развитие на ВТЕ при носителство на *FII 20210A* (OR 3.8 95% CI: 3.0 - 4.9). Хомозиготното носителство на алел *20210 A* е много рядко явление Bosler и сътр.

### **5.5.2. Връзка на *FII 20210 G>A* полиморфизъм с метаболитни показатели и коморбидности**

Клиничните и лабораторни данни на пациенти с псориазис носители на мутантния алел *FII 20210A* на полиморфизъм *FII 20210 G>A* са анализирани спрямо неносителите на този алел, както и спрямо неносителите на други тромбофилични мутации ( Таблица 9Д и Таблица 10Д).

а. Резултатите от статистическия анализ показаха че носителството на мутантния алел *FII 20210A* сигнификантно увеличава риска за развитие за диабет тип 2 (OR 6.83,  $p < 0.05$ ) ( Таблица 10Д).

б. Сигнификантно високи CRP стойности при пациенти с псориазис носители на *FII 20210A* алел ( $p < 0.05$ ) (Таблица 10Д) показват приноса на носителството към провъзпалително състояние на пациентите. Повишените нива на CRP са свързани с хронично възпаление, включително и сърдечно-съдов риск. С-реактивния протеин (CRP) е острофазов белтък, който се синтезира в черния дроб в отговор на възпаление. Хроничното възпаление (повишения CRP) може да допринесе за ендотелна дисфункция и да насърчи протромботично състояние, което допълнително засилва тази протромботична тенденция на мутацията *FII 20210G>A*.

в. Високи OR стойности (между 2-3), но несигнификантни получихме за пациенти с нисък HDL и пациенти с дислипидемии, високи PASI стойности и псориазисен артрит, при носителите на мутантния алел *FII20210A* на протромбина (Таблица 10Д).

Тези данни показаха приноса (несигнификантно) на носителството на мутантния алел *FII20210A*, за развитието на заболяването и коморбидностите.

Резултатите от статистическия анализ са значително по-високи при сравнение на носителите на алел *FII 20210A* с групата на неносители на тромбофилични мутации, отколкото неносителите само на мутантния алел.

Данните за връзката на този полиморфизъм и псориазис липсват в литературата.

### **5.6. Връзка на изследваните протромботични мутации с метаболитни показатели и коморбидности при пациенти с псориазис.**

В научната литература вече съществува голямо количество данни за псориазиса и неговите съпътстващи заболявания. Все още обаче не е ясно как това знание ще се превърне в рутинна клинична практика за превенция и лечение на съпътстващите заболявания на псориазис. В няколко проучвания е показано, че пациентите с псориазис и с риск от ССЗ са с по-малък шанс да получат кардиопротективна терапия в сравнение с пациентите с типичен риск само за ССЗ и МС. Като се има предвид това, от решаващо значение е за пациентите с псориазис, особено на по-млада възраст, да се изследват за риск от ССЗ с широк панел от полиморфизми, за да се оценят потенциалните рискови фактори, които биха могли да допринесат за по-висока заболеваемост от съпътстващи заболявания.

Етиологията на риска от ССЗ и метаболитния синдром при пациенти с псориазис продължава да бъде обект на многобройни изследвания. Потенциален механизъм на тази връзка може да бъде компрометиран метаболитен статус, който активира възпалителни медиатори и прокоагулантни фактори, участващи в псориазиса и съдовата патогенеза, допринасяйки за съпътстващите състояния при тези пациенти. Има доказателства за наличието на системно възпаление при псориазис и връзката на псориазис с ранна коронарна артериална болест. Псориазисът притежава мултифакторна генетична основа, доказана от епидемиологични проучвания и фамилни рецидиви, включващи различни полиморфни алели на наследствено предразположение. Тези факти стимулираха нашият интерес към ролята на специфични полиморфизми, свързани с риск от провъзпалителни и протромботични състояния, които могат да допринесат за по-високия риск от развитие на псориазис и да повлияят и неговите съпътстващи заболявания.

Едно от значимите съпътстващи заболявания при носители на протромботични мутации се оказва диабет тип 2. Диабетът нарушава физиологичния баланс между коагулацията и фибринолизата, което води до протромботично състояние, характеризиращо се с тромбоцитна свръхчувствителност, нарушения на коагулационния фактор и хипофибринолиза. Хипергликемията и инсулиновата резистентност повишават броя и агрегацията на тромбоцитите чрез повишаване нивата на vWF фактор и инхибиране на антиагрегационната ефективност на азотния оксид и простагландин I 2. Диабетът също забавя фибринолизата чрез намаляване на tPA, както и чрез увеличаване на PAI-1 и инхибитора на фибринолизата на тромбиновия активатор.

Освен хипергликемията и инсулиновата резистентност, съпътстващите метаболитни нарушения като хипогликемия, затлъстяване, дислипидемия и NAFLD също допринасят за провъзпалителното състояние на пациенти със захарен диабет.

В много проучвания, включително настоящото, определени резултати не достигат статистическа сигнификантност и тогава практически е невъзможно да се реши окончателно дали определена връзка на псориазиса с диабет тип 2, сърдечно-съдова коморбидност и метболитния синдром е значима. Въпреки това подобни резултати не трябва непременно да се пренебрегват. Според нас тези данни трябва да бъдат задълбочено анализирани, за да се определи тяхната биологична значимост. Значението на съпътстващите заболявания трябва да се подчертае, а осведомеността и усилията за търсене на рисковите фактори за тях и техния генетичен произход трябва да бъдат критичен фактор за дерматолозите и другите медицински лица, участващи в лечението и грижите за пациенти с псориазис.

## **6. ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ИЗВОДИ**

### **1. Значение на носителството на генотип 4G/4G на *SND-675 ID*, 4G/5G в гена на PAI-1**

1.1. Установена е сигнификантна разлика на носителството на генотип 4G/4G на полиморфизъм *-675 ID*, 4G/5G в гена на PAI-1 при пациентите с псориазис спрямо контролите, което определя този полиморфизъм като рисков фактор за развитието на заболяването псориазис ( $p < 0.05$ )

1.2. Сигнификантна разлика е доказана за нивата на кръвна захар на гладно, броят на пациентите с висока кръвна захар и броят на пациентите с диабет тип 2 при пациенти носители спрямо неносители на генотип 4G/4G на полиморфизъм *-675 ID* 4G/5G в гена на PAI-1, което показва, че носителството на този генотип допринася за инсулинова резистентност и диабет тип 2 при пациенти с псориазис.

1.3. Установена е сигнификантна разлика в нивата на HDL, броя на пациентите с дислипидемия сред носителите на генотип 4G/4G на полиморфизъм *-675 ID*, 4G/5G спрямо неносителите, както и на неносителите на петте тромбофилични мутации.

1.4. Не е намерена сигнификантна връзка между проява на ССЗ и МС при пациенти с псориазис носители на генотип 4G/4G на *-675 ID*, 4G/5G полиморфизъм.

### **2. Значение на носителството на ТТ генотип на полиморфизъм *677C>T (rs1801133)* в гена на MTHFR**

2.1. Настоящото изследване на полиморфизъм *677C>T (rs1801133)* в гена на MTHFR при пациенти с псориазис показва, че носителството на 677 ТТ генотип е незначително по-високо спрямо контролната група, следователно не допринася за риска на развитието на заболяването.

2.2. Сигнификантна разлика е намерена в стойностите на нивата на кръвната захар на гладно, броят на пациентите с висока кръвна захар, броя на пациентите с диабет тип 2 носители на *677 TT* генотип, което показва, че това носителството допринася за инсулинова резистентност и диабет тип 2 при пациенти с псориазис.

2.3. Сигнификантна разлика е намерена в стойностите на дислипидемии и затлъстяване при пациенти с псориазис носители на генотип *677 TT* спрямо неносителите, както и неносителите на други тромбофилични полиморфизми.

2.4 Сигнификантна разлика е намерена за носителството на генотип *677 TT (rs1801133)* и развитието на МС при пациенти с псориазис.

### **3. Значение на носителството на *rs5918(C)* полиморфизъм в гена на *ITGB3***

3.1. Не е намерена сигнификантна разлика за носителството на мутантния алел на полиморфизъм *rs5918(C)* в гена на *ITGB3* при пациенти с псориазис спрямо контроли, което показва, че това носителство не увеличава риска за развитие на псориазис.

3.2. Носителския статус за мутантния алел *rs5918(C)* показва връзка на носителството със случаите на триглицеридемия, хиперхолестеролемия и ниските стойности на HDL при пациенти с псориазис, фактори допринасящи за развитието на ССЗ и МС.

### **4. Значение на носителството на мутантния алел *FVL (rs6025)***

4.1. Носителството за мутантния алел *FVL (rs6025)* при пациенти с псориазис не допринася за риска от развитието на псориазис.

4.2. Високите OR стойности и сигнификантна разлика за CRP при пациенти с псориазис, носители на мутантния алел на *FVL (rs6025)*, показва по-значимо провъзпалително и протромботично състояние на тези пациенти.

### **5. Значение на носителството на мутантния алел *FII 20210 A***

5.1. Носителството на на полиморфизъм *FII 20210 G>A* при пациенти с псориазис е по-високо в сравнение с контролната група, но несигнификантно, следователно не може да се прави заключение за риска на развитието на заболяването при носителите.

5.2. Носителството на мутантния алел *FII 20210A* сигнификантно увеличава риска за развитие за диабет тип 2.

5.3. Сигнификантно високите CRP стойности при пациенти с псориазис носители на *FII 20210A* алел, предполагат че този мутантен алел има принос към провъзпалителните процеси

5.4. Установени са несигнификантно повишени нива на HDL, брой на пациентите с дислипидемии, брой пациенти с високи PASI стойности и псориазисен артрит, сред носителите на мутантния алел спрямо неносителите, както и неносители на други тромбофилични мутации.

## Приноси

### Оригинални научни приноси

1. За пръв път се проучва носителството на полиморфизъм *PLA1/A2* (-675 ID, (4G/5G), в гена на PAI-1, полиморфизъм *PLA1/A2* (*rs5918ITGB3*) в гена на тромбоцитния интегрин 3B, полиморфизъм 667C>T в гена на MTHFR, полиморфизъм *FVL* (*rs 6025*) в гена на FV и полиморфизъм *FII 20210 G>A* (*rs179996*) в гена на FII при пациенти с псориазис вулгарис като рискови фактори за развитие на дерматозата.
2. За първи път в българската популация е проучена връзката между пациенти с псориазис, носители на гореописаните полиморфизми и развитието на коморбидните състояния ССЗ, диабет тип 2, хиперлипидемии, затлъстяване и МС.

### Научно-теоретични приноси

1. Носителството на генотип 4G/4G на полиморфизъм -675 ID, 4G/5G гена на PAI-1 е рисков фактор за развитието на псориазисната болест.
2. Носителството на генотип 677 TT (*rs1801133*) в гена на MTHFR, мутантния алел *PLA2* (*rs5918ITGB3*) в гена на тромбоцитния интегрин 3B, мутантния алел *FVL* (*rs 6025*) в гена на FV и мутантния алел *FII 20210A* (*rs179996*) в гена на FII при пациенти с псориазис не представляват риск за развитието на дерматозата.

### Научно-практически и потвърдителни приноси

1. При пациенти с псориазис носителството на генотип 4G/4G на полиморфизъм -675 ID, 4G/5G в гена на PAI-1 допринася за инсулинова резистентност и развитие на диабет тип 2.
2. При болни, носители на генотип 677 TT в гена на MTHFR е установена сигнификантно висок брой пациенти с дислипидемии, със затлъстяване и МС.
3. Носителството на мутантния алел *rs5918(C)* в гена на ITGB3 показва връзка с триглицеридемия, хиперхолестеролемия и ниски стойности на HDL – фактори за развитието на ССЗ и МС.
4. Високите стойности на CRP при пациенти с псориазис носители на мутантния алел *FVL* (*rs6025*), показва по-значимо провъзпалително и протромботично състояние на тези пациенти
5. Сигнификантно увеличен риск от развитие на диабет тип 2 съществува и при псориазици, носители на мутантния алел *FII 20210A*.



## СПИСЪК НА НАУЧНА ПРОДУКЦИЯ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИЯТА

### Публикации:

1. Dimitrov BT, Gincheva VH, Simeonova IG, Ivanova AI, Petkova MP, Gospodinov DK, Komsa-Penkova R. Recurrent arterial and venous thrombotic events in a patient with psoriasis. Impact of PAI-1 Polymorphism: A case report. *J Biomed Clin Res*, 2016; 9 (2): 163 – 168. ISSN: 1313-9053(online)
2. Dimitrov B, Ilieva K, Gospodinov D, Komsa-Penkova R. Impact of carriage of 4G/5G PAI-1 and Glycoprotein IIb/IIIa polymorphism on development of Chronic Obstructive Pulmonary Disease in a patient with псориазис вулгарис. *Clinical Case. Journal of IMAB - Annual Proceeding (Scientific Papers)*, 2019, 25(2): 2537-2543; ISSN: 1312-773X. *Web of Science*
3. Dimitrov B, Gospodinov D, Gincheva V, Komsa-Penkova R. Prevalence of MTHFR gene 677c>t polymorphism in the patients with псориазис вулгарис. *Journal of IMAB - Annual Proceeding (Scientific Papers)*, 2021, 27(2): 3707-3711; ISSN: 1312-773X. *Web of Science*
4. Dimitrov B, Georgieva G, Gospodinova K, Tonchev P, Gospodinov D, Stavreva G, Komsa-Penkova R. Platelet polymorphism RS5918T > C in the Integrin B3 Gene modulates comorbidities in patients with psoriasis. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 2023; 37:1, 2212083, ISSN: 1310-2818. *Web of Science, Scopus*.

### Участия в научни форуми:

1. Dimitrov B, Simeonova I, Ivanova A, Petkova M, Gospodinov D, Komsa-Penkova R. Recurrent arterial and venous thrombotic events in patient with psoriasis. Impact of PAI-1 polymorphism. *Clinical Case. XIV Международна медицинска научна конференция за студенти и млади лекари. МУ-Плевен, 10-15 октомври 2016.*
2. Dimitrov BT, Golemanov GM, Gospodinov DK, Komsa-Penkova RS. PAI-1(4G/5G) polymorphism carriage in patients with psoriasis. *Плевенски дни на репродуктивната медицина, Плевен, 28-30 април, 2017.*
3. Dimitrov B, Gospodinov D, Komsa-Penkova R. Носителство на полиморфизма PL(A1)/PL(A2) при пациенти с псориазис. *XVI Международна медицинска научна конференция за студенти и млади лекари. МУ-Плевен. 8-13 октомври 2018.*
4. Dimitrov B, Ilieva K, Gospodinov D, Komsa-Penkova R. Carriage of PAI-1 and glycoprotein IIb/IIIa polymorphism on development of chronic obstructive pulmonary disease in patient with псориазис вулгарис. *Clinical case. 29-th Annual Assembly of IMAB and with the satellite 6-th Meeting of Alumni Club at Medical University Varna, 9 - 12 May 2019.*
5. Komsa-Penkova R, Dimitrov B, Tonchev P, Gospodinova K, Gospodinov D. Place of MTHFR gene polymorphism C677T as a risk factor in obese male patients with psoriasis. *Clinical Nutrition ESPEN* 40(2020).

## Допълнителни материали на дисертационния труд

### „Анализ ролята на генетични варианти на тромбофилични фактори в патологията на псориазис вулгарис“

на Борислав Димитров

**Таблица 1Д.** Честота на клинични данни: затлъстяване (BMI  $\geq$  30), хипергликемия, триглицеридемия, нисък HDL, хиперхолестеролемия, дислипидемия, хипертония, висок CRP, PASI > 20, сърдечно-съдови заболявания, метаболитен синдром и общи съпътстващи заболявания при пациенти с псориазис, носители на генотип 4G/4G на полиморфизъм SND -675 ID в гена на PAI-1 спрямо неносители генотип 4G/4G.

Параметри	Носители $\bar{X} \pm SD$	Неносители $\bar{X} \pm SD$	OR	95% CI	$\chi^2$	p
PAI-1 4G/4G -675 ID, (-)						
Брой на пациенти (n)	38	71				
Средна възраст (години)	53.60 $\pm$ 12.41	54.32 $\pm$ 12.94				0.780
Възраст на първа изява (години)	40.86 $\pm$ 15.17	34.29 $\pm$ 15.75				0.043
BMI kg/m <sup>2</sup>	29.25 $\pm$ 5.62	28.82 $\pm$ 5.56				0.704
Пациенти с BMI $\geq$ 25 kg/m <sup>2</sup> (n, %)	32 (86.48)	54 (79.41)	1.659	0.546 - 5.038	0.809	0.368
Пациенти с BMI $\geq$ 30 kg/m <sup>2</sup> (n, %)	20 (54.05)	33 (48.52)	1.247	0.559 - 2.784	0.293	0.589
Пациенти с хипергликемия (n, %)	14 (43.75)	12 (21.42)	2.851	1.107-7.346	4.874	0.027
Кръвна захар на гладно mmol/l	6.28 $\pm$ 2.207	5.59 $\pm$ 1.172				0.059
Пациенти с Диабет тип 2 (n, %)	12 (31.57)	8 (11.26)	3.634	1.331-9.924	6.815	0.009
Пациенти с триглицеридемия (n, %)	16 (50)	23(40.35)	1.478	0.618 - 3.535	0.775	0.378
Триглицериди mmol/l	1.966 $\pm$ 1.197	1.795 $\pm$ 1.047				0.485
Пациенти с нисък HDL (n, %)	15 (48.4)	14 (26.4)	2.611	1.028 - 6.634	4.177	0.041
Пациенти с хиперхолестеролемия (n, %)	19 (57)	36 (60)	0.904	0.382 - 2.142	0.051	0.819
Пациенти с дислипидемия (n, %)	23 (74)	30 (54.5)	2.395	0.913 - 6.281	3.236	0.072
Пациенти с Хипертония (n, %)	25 (65.78)	39 (55)	1.577	0.696 - 3.572	1.204	0.272
CRP (mg/L)	15.141 $\pm$ 21.86	6.403 $\pm$ 9.061				0.042
Пациенти с високо CRP (n, %)	11(55)	13(37.1)	0.483	0.158-1.476	1.650	0.199
PASI	27.290 $\pm$ 9.12	26.306 $\pm$ 10.4				0.699
Пациенти с пациенти с PASI scores > 20 (n, %)	17 (77.3)	37 (82.2)	1.360	0.387- 4.778	0.231	0.630
Пациенти с псориазисен артрит (n, %)	17 (44.73)	22 (31)	1.803	0.799 - 4.067	2.037	0.154
Пациенти със ССЗ (без хипертония) (n, %)	13 (44.73)	21 (31)	1.238	0.533 - 2.873	0.248	0.619
Пациенти със ССЗ + хипертония (n, %)	27 (71.05)	41 (57.74)	1.796	0.771 - 4.179	1.867	0.171
Пациенти с чернодробни болести (n, %)	1 (7.7)	12 (92.3)	0.488	0.059 - 4.055	0.458	0.498
Пациенти с тромбози (n, %)	0 (0)	6 (100)	1.092	1.018 - 1.172	3.398	0.065
PAI-1 ng/ml	115.2 $\pm$ 21.68	103.0 $\pm$ 17.55				
Пациенти с високи PAI-1 стойности (%)	92.5	87.5				
Пациенти с метаболитен синдром (n, %)	19 (59.4)	28 (49.1)	1.513	0.630 - 3.634	0.864	0.352
Пациенти с метаболитен синдром + BMI > 30 kg/m <sup>2</sup> (n, %)	13 (40.6)	22 (40.7)	0.995	0.408 - 2.423	0.001	0.991

**Таблица 2Д.** Честота на клинични данни: затлъстяване (BMI  $\geq$  30), хипергликемия, триглицеридемия, нисък HDL, хиперхолестеролемия, дислипидемия, хипертония, висок CRP, PASI > 20, сърдечно-съдови заболявания, метаболитен синдром и общи съпътстващи заболявания при пациенти с псориазис, носители на генотип 4G/4G на полиморфизъм SND -675 ID в гена на PAI-1 спрямо неносители на петте тромбофилични полиморфизма.

Параметри	Носители $\bar{X} \pm SD$	Неносители $\bar{X} \pm SD$	OR	95% CI	$\chi^2$	p
-675 ID, PAI-1 4G/4G						
Брой на пациенти (n)	38	44				
Средна възраст (години)	53.60 $\pm$ 12.41	55.08 $\pm$ 13.46				0.606
Средна възраст на първа изява (години)	40.86 $\pm$ 15.17	35.77 $\pm$ 16.75				0.163
BMI kg/m <sup>2</sup>	29.25 $\pm$ 5.62	28.54 $\pm$ 5.63				0.571
Пациенти с BMI $\geq$ 25 kg/m <sup>2</sup> (n, %)	32 (86.48)	34 (77.3)	1.882	0.580 - 6.108	1.131	0.288
Пациенти с BMI $\geq$ 30 kg/m <sup>2</sup> (n, %)	20 (54.1)	19 (43.2)	1.548	0.642 - 3.731	0.952	0.329
Пациенти с хипергликемия (n, %)	14 (43.8)	7 (18.9)	3.333	1.132 - 9.807	4.997	0.025
Кръвна захар на гладно (n, %)	6.27 $\pm$ 2.20	5.42 $\pm$ 0.93				0.036
Пациенти с Диабет тип 2 (n, %)	12 (31.6)	4 (8.9)	4.730	1.377 - 16.244	6.815	0.009
Пациенти със триглицеридемия (n, %)	16 (50)	13 (35.13)	1.846	0.701 - 4.857	1.556	0.212
Триглицериди mmol/l	1.96 $\pm$ 1.19	1.64 $\pm$ 0.86				0.201
Пациенти с нисък HDL (n, %)	15 (48.4)	8 (24.2)	2.929	1.011-8.482	4.047	0.044
Пациенти с хиперхолестеролемия (n, %)	19 (57.6)	21 (56.8)	1.034	0.400 - 2.669	0.005	0.945
Пациенти с дислипидемия (n, %)	23 (74)	18 (51.4)	2.715	0.957 - 7.700	3.621	0.057
Пациенти с Хипертония (n, %)	25 (65.8)	27 (60)	1.282	0.522 - 3.144	0.295	0.587
CRP (mg/L)	15.14 $\pm$ 21.86	5.05 $\pm$ 5.04				0.025
Пациенти с високо CRP (n, %)	11 (55)	9 (33.3)	2.444	0.743 - 8.035	2.206	0.137
PASI scores	27.29 $\pm$ 9.12	24.81 $\pm$ 8.17				0.314
Пациенти с PASI scores > 20 (n, %)	17 (77.3)	23 (79.3)	1.127	0.295 - 4.315	0.031	0.861
Пациенти с псориаичен артрит (n, %)	17 (44.7)	12 (26.7)	2.226	0.887 - 5.583	2.959	0.085
Пациенти със ССЗ без хипертония (n, %)	13 (34.2)	14 (29.2)	1.262	0.506 - 3.151	0.251	0.617
Пациенти със ССЗ + хипертония (n, %)	27 (71.05)	28 (62.2)	1.490	0.591 - 3.756	0.719	0.397
Пациенти с чернодробни болести (n, %)	4 (10.5)	6 (13.3)	0.764	0.199 - 2.938	0.153	0.696
Пациенти с тромбози (n, %)	0 (0)	4 (10.5)	0.119	0.006 - 2.298	3.549	0.060
Пациенти с метаболитен синдром (n, %)	19 (59.4)	16 (43.2)	1.918	0.734 - 5.007	1.787	0.181
Пациенти с метаболитен синдром+BMI > 30 (n, %)	13 (40.6)	11 (30.6)	1.555	0.571 - 4.228	0.752	0.386

**Таблица 3Д.** Честота на клинични данни затлъстяване (BMI  $\geq$  30), хипергликемия, триглицеридемия, нисък HDL, хиперхолестеролемия, дислипидемия, хипертония, CRP, PASI > 20 и коморбидности сърдечно-съдови заболявания, метаболитен синдром и общи съпътстващи заболявания пациенти с псориазис, носители на генотип 677 TT в гена на MTHFR спрямо неносители.

Параметри	TT $\bar{X} \pm SD$	(CT+CC) $\bar{X} \pm SD$	OR	95% CI	$\chi^2$	p
MTHFR 677C>T						
Брой на пациенти (n)	15	94				
Средна възраст (години)	58.86 $\pm$ 6.17	53.30 $\pm$ 13.32				0.116
Средна възраст на изява (години)	37.71 $\pm$ 13.48	36.38 $\pm$ 16.18				0.772
BMI kg/m <sup>2</sup>	31.76 $\pm$ 4.95	28.51 $\pm$ 5.54				0.035

Пациенти с BMI $\geq 30$ kg/m <sup>2</sup> (n, %)	11 (73.3)	42 (46.7)	3.143	0.931 - 10.614	3.657	0.055
Пациенти с BMI $\geq 25$ kg/m <sup>2</sup> (n, %)	15 (100)	71 (78.9)	8.454	0.484 - 147.685	3.866	0.049
Пациенти с хипергликемия (n, %)	6 (54.54)	20 (26)	3.420	0.940 - 12.443	3.774	0.052
Кръвна захар на гладно mmol/L	6.76 $\pm$ 1.48	5.70 $\pm$ 1.12				0.045
Пациенти с Диабет тип 2 (n, %)	5 (33.3)	15(16)	2.633	0.788 - 8.806	2.607	0.106
Пациенти с триглицеридемия (n, %)	6 (60%)	33 (41.77)	2.090	0.546 - 8.000	1.198	0.273
Триглицериди mmol/L	2.091	1.827				0.480
Пациенти с нисък HDL (n, %)	5 (50.0)	24 (32.43)	2.083	0.550 - 7.890	1.203	0.273
Пациенти с хиперхолестеролемия (n, %)	11 (84.61)	44 (55)	4.500	0.936 - 21.624	4.059	0.044
Пациенти с дислипидемия (n, %)	8 (80.0)	45 (59.21)	2.755	0.547 - 13.863	1.615	0.204
Пациенти с Хипертония (n, %)	8 (53.3)	56 (59.6)	0.776	0.259 - 2.318	0.208	0.648
CRP (mg/L)	21.29 $\pm$ 29.87	8.90 $\pm$ 14.43				0.179
Пациенти с високо CRP (n, %)	2 (66.7)	22 (42.3)	2.727	0.232 - 32.008	0.684	0.408
PASI scores	27.96 $\pm$ 7.23	26.44 $\pm$ 10.01				0.682
Пациенти с PASI scores > 20 (n, %)	8 (100)	46 (78.0)	4.935	0.267 - 91.133	2.187	0.139
Пациенти с псориазичен артрит (n, %)	3 (20)	36 (38.3)	0.403	0.106 - 1.526	1.885	0.170
Пациенти с чернодробни болести (n, %)	1 (7.7)	12 (92.3)	0.488	0.059 - 4.055	0.458	0.498
Пациенти с тромбози (n, %)	0 (0)	6 (100)	0.936	0.888 - 0.987	1.013	0.314
Пациенти със ССЗ без хипертония (n, %)	2 (13.3)	32 (34)	0.298	0.063 - 1.402	2.585	0.108
Пациенти със ССЗ+хипертония (n, %)	8 (53.3)	60 (63.8)	0.648	0.216 - 1.942	0.607	0.436
Пациенти с метаболитен синдром (n, %)	8 (80)	39 (49.4)	4.103	0.819 - 20.546	3.342	0.068
Пациенти с метаболитен синдром+BMI > 30 kg/m <sup>2</sup> (n, %)	7 (70)	28 (36.8)	4.000	0.957 - 16.724	4.026	0.045

**Таблица 4Д.** Честота на клинични данни затлъстяване (BMI  $\geq 30$ ), хипергликемия, триглицеридемия, нисък HDL, хиперхолестеролемия, дислипидемия, хипертония, CRP, PASI > 20, и коморбидности сърдечно-съдови заболявания, метаболитен синдром и общи съпътстващи заболявания пациенти с псориазис, носители на генотип 677 TT в гена на MTHFR, спрямо неносители на петте тромбофилични полиморфизма.

Параметри	Носители $\bar{X} \pm SD$	Неносители $\bar{X} \pm SD$	OR	95% CI	$\chi^2$	p
<i>MTHFR 677C&gt;T</i>						
Брой на пациенти (n)	15	44				
Средна възраст (години)	58.86 $\pm$ 6.17	55.18 $\pm$ 13.60				0.317
Средна възраст на изява (години)	37.71 $\pm$ 13.48	35.77 $\pm$ 16.75				0.695
BMI kg/m <sup>2</sup>	31.76 $\pm$ 4.95	28.51 $\pm$ 5.69				0.054
Пациенти с BMI $\geq 30$ kg/m <sup>2</sup> (n, %)	11 (73.3)	18 (41.9)	3.819	1.046 - 13.943	4.406	0.036
Пациенти с BMI $\geq 25$ kg/m <sup>2</sup> (n, %)	15 (100)	33 (76.7)	9.716	0.534 - 176.635	4.215	0.040
Пациенти с хипергликемия (n, %)	6 (54.54)	7 (18.9)	5.143	1.214 - 21.795	5.450	0.020
Кръвна захар на гладно mmol/L	6.76 $\pm$ 1.58	5.42 $\pm$ 0.93				p < 0.001
Пациенти с Диабет тип 2 (n, %)	5 (33.3)	4 (9.1)	5.000	1.131 - 22.102	5.086	0.024
Пациенти със триглицеридемия (n, %)	6 (60)	13 (35.13)	2.769	0.660 - 11.617	3.882	0.144
Триглицериди mmol/L	2.09 $\pm$ 1.21	1.64 $\pm$ 0.86				0.190
Пациенти с нисък HDL (n, %)	5 (50.0)	8 (24.2)	3.125	0.716 - 13.635	2.414	0.120

Пациенти с хиперхолестеролемия (n, %)	11 (84.61)	21 (56.8)	4.190	0.812 - 21.625	3.241	0.048
Пациенти с дислипидемия (n, %)	8 (80)	18 (51.4)	3.778	0.700 - 20.378	2.603	0.107
Пациенти с хипертония (n, %)	8 (53.3)	27 (61.4)	0.720	0.221 - 2.347	0.299	0.585
CRP (mg/L)	21.29 ± 29.87	5.05 ± 5.04				0.008
Пациенти с високо CRP (n, %)	2 (66.7)	9 (33.3)	4.000	0.319 - 50.229	1.292	0.256
PASI scores	27.96 ± 7.23	24.81 ± 8.17				0.332
Пациенти с PASI scores > 20 (n, %)	8 (100)	23 (79.3)	4.702	0.238 - 92.718	1.976	0.160
Пациенти с чернодробни заболявания (n, %)	1 (6.7)	6 (13.6)	0.452	0.050 - 4.099	0.520	0.471
Пациенти с тромбози (n, %)	0 (0)	4 (9.1)	0.290	0.014 - 5.715	1.463	0.226
Пациенти с псориатичен артрит (n, %)	3 (20)	12 (27.3)	0.667	0.160 - 2.782	0.312	0.576
Пациенти със ССЗ без хипертония (n, %)	2 (13.3)	14 (31.8)	0.330	0.065 - 1.663	1.934	0.164
Пациенти със ССЗ + хипертония (n, %)	8 (53.3)	28 (63.6)	0.653	0.200 - 2.138	0.499	0.480
Пациенти с метаболитен синдром (n, %)	8 (80)	16 (43.2)	5.250	0.978 - 28.182	4.256	0.039
Пациенти с метаболитен синдром+BMI > 30 kg/m <sup>2</sup> (n, %)	7 (70)	11 (30.6)	5.303	1.152 - 24.420	5.112	0.024

**Таблица 5Д.** Честота на клинични данни: затлъстяване (BMI ≥ 30), хипергликемия, триглицеридемия, нисък HDL, хиперхолестеролемия, дислипидемия, хипертония, висок CRP, PASI > 20, сърдечно-съдови заболявания, метаболитен синдром и общи съпътстващи заболявания при пациенти с псориазис, носители на *ITGB3 rs5918(C)* ален спрямо неносителите.

Параметри	Носители X ± SD	Неносители X ± SD	χ <sup>2</sup>	OR	P
<i>ITGB3 rs5918</i> (CT + CC)					
Брой на пациенти	21	81			
Средна възраст (години)	55.65 ± 9.96	53.71 ± 13.26			p > 0.05
Средна възраст на изява (години)	39.21 ± 15.23	35.58 ± 15.62			p > 0.05
BMI kg/m <sup>2</sup>	29.94 ± 5.49	28.97 ± 5.71			p > 0.05
Пациенти с BMI ≥ 30 kg/m <sup>2</sup> (n, %)	11 (52.38)	39 (48.15)		1.158	p > 0.05
Пациенти с BMI ≥ 25 kg/m <sup>2</sup> (n, %)	19 (95)	63 (80.8)	4.524	2.360	p < 0.05
Пациенти с хипергликемия (n, %)	6 (28.6)	26 (33.3)			p > 0.05
Пациенти с триглицеридемия (> 1.7) (n, %)	9 (42.9)	25 (33.3)	0.601	1.505	p < 0.05
Пациенти с нисък HDL (n, %)	47.2	32.8	1.195	1.818	p < 0.05
Пациенти с хиперхолестеролемия (n, %)	14 (66.7)	48.2 (39.0)	2.29	2.167	p ≅ 0.05
Пациенти с дислипидемия (n, %)	19 (88.0)	63 (66.7)	6.806		p < 0.05
Пациенти с хипертония (n, %)	14 (66.7)	46 (57.5)	0.701	1.447	p > 0.05
CRP (mg/L)	7.18 ± 7.27	10.11 ± 16.71			p > 0.05
PASI scores	28.03 ± 12.36	25.90 ± 8.33			p > 0.05
Пациенти с PASI > 20 (n, %)	18 (85.5)	62 (75.3)	0.659	1.950	p > 0.05
Пациенти с чернодробни заболявания (n, %)	2 (15.4)	11 (84.6)	0.211	0.691	p > 0.05
Пациенти с тромбози (n, %)	1 (16.7)	5 (83.3)	0.049	0.781	p > 0.05
Пациенти със ССЗ заболявания (n, %)	7 (33.3)	24 (22.2)		1.790	p > 0.05
Пациенти с метаболитен синдром (n, %)	11 (52.4)	28 (34.6)	4.896		p > 0.05

**Таблица 6Д.** Честота на клинични данни затлъстяване ( $BMI \geq 30$ ), хипергликемия, триглицеридемия, нисък HDL, хиперхолестеролемия, дислипидемия, хипертония, висок CRP, PASI >20, и коморбидности сърдечно-съдови заболявания, метаболитен синдром и общи съпътстващи заболявания на пациенти с псориазис, носители на *ITGB3 rs5918*(C) алел спрямо неносители на петте тромбофилични полиморфизма.

Параметри	Носители $\bar{X} \pm SD$	Неносители $\bar{X} \pm SD$	$\chi^2$	(OR)	p
<i>ITGB3 rs5918</i> (CT + CC)					
Брой на пациенти	21	44			
Средна възраст (години)	55.65 ± 9.96	54.27 ± 18.41			p > 0.05
Пациенти с $BMI \geq 30$ kg/m <sup>2</sup> (n, %)	11 (52.4)	19 (44.2)	0.9	1.4	p > 0.05
Пациенти с $BMI \geq 25$ kg/m <sup>2</sup> (n, %)	19 (95)	35 (81.4)	2.1	4.3	p < 0.05
Пациенти с хипергликемия (n, %)	7 (33.3)	11 (25.0)	1.1	1.50	p > 0.05
Пациенти с триглицеридемия (> 1.7) (n, %)	9 (42.9)	11 (27.5)	1.98	1.5	p < 0.05
Пациенти с нисък HDL (n, %)	10 (47.6)	13 (32.8)	3.8	3.4	p < 0.05
Пациенти с хиперхолестеролемия (n, %)	15 (66.7)	20 (45.5)	2.29	2.167	p = 0.05
Пациенти с дислипидемия (n, %)	18 (85.7)	28 (63.6)	3.4	2.7	p < 0.05
Пациенти с хипертония (n, %)	14 (66.7)	26 (59.1)	0.701	1.4	p > 0.05
Пациенти с Диабет тип 2 (n, %)	5 (23.8)	4 (9.1)	2.582	3.125	p > 0.05
Пациенти с високо CRP (n, %)	10 (47.6)	14 (33.3)		1.8.0	p > 0.05
CRP (mg/L)	7.18 ± 7.27	5.05 ± 16.71			p > 0.05
Пациенти с PASI scores > 20 (n, %)	19 (92.5)	32 (73.3)	1.97	4.3	p > 0.05
PASI scores	28.03 ± 12.36	25.90 ± 8.33			p > 0.05
Пациенти със ССЗ (n, %)	7 (33.3)	12 (27.3)		1.20	p > 0.05
Пациенти с чернодробни заболявания (n, %)	2 (9.1)	6 (13.3)	0.650	0.615	p > 0.05
Пациенти с тромбози (n, %)	1 (4.5)	4 (8.9)	0.488	0.525	p > 0.05
Пациенти с метаболитен синдром (n, %)	11 (52.4)	9 (20.5)	6.8	4.3	p > 0.05
Пациенти с псориазисен артрит (n, %)	6 (28.7)	12 (27.3)		1.00	p > 0.05

**Таблица 7Д.** Честота на клинични данни затлъстяване ( $BMI \geq 30$ ), хипергликемия, триглицеридемия, нисък HDL, хиперхолестеролемия, дислипидемия, хипертония, CRP, PASI > 20, и коморбидности сърдечно-съдови заболявания, метаболитен синдром и общи съпътстващи заболявания пациенти с псориазис, носители на мутантния алел на полиморфизъм *FVL (rs6025)* алел спрямо неносители.

Параметри	Носители $\bar{X} \pm SD$	Неносители $\bar{X} \pm SD$	(OR)	95% CI	$\chi^2$	p
Фактор V Leiden						
Брой на пациенти	11	98				
Средна възраст (години)	47.18 ± 13.99	54.84 ± 12.3				0.05
Средна възраст на първа изява (години)	29.40 ± 14.72	37.32 ± 15.79				0.132
BMI kg/m <sup>2</sup>	28.84 ± 7.19	28.99 ± 5.41				0.938
Пациенти с $BMI \geq 25$ kg/m <sup>2</sup> (n, %)	7 (70)	79 (83.2)	0.472	0.110 - 2.025	1.057	0.304
Пациенти с $BMI \geq 30$ kg/m <sup>2</sup> (n, %)	4 (40.0)	49 (51.6)	0.625	0.165 - 2.360	0.485	0.486
Пациенти с хипергликемия (n, %)	3 (33.3)	23 (29.1)	1.217	0.280 - 5.287	0.069	0.793
Кръвна захар на гладно mmol/l	6.49 ± 3.63	5.76 ± 1.27				0.210
Триглицериди mmol/l	1.86 ± 1.16	1.85 ± 1.10				0.980
Пациенти с триглицеридемия (n, %)	5 (55.55)	34 (42.5)	1.691	0.422 - 6.773	0.454	0.560
Пациенти с нисък HDL (n, %)	3 (33.3)	26 (34.7)	0.942	0.217 - 4.078	0.006	0.937
Пациенти с хиперхолестеролемия (n, %)	2 (22.2)	53 (63.1)	0.167	0.032 - 0.855	5.620	0.018
Пациенти с дислипидемия (n, %)	5 (55.6)	48 (62.3)	0.755	0.187 - 3.042	0.156	0.692
Пациенти с Хипертония (n, %)	5 (45.5)	59 (60)	0.550	0.157 - 1.930	0.888	0.346
Пациенти с Диабет тип 2 (n, %)	2 (18.2)	18 (18.4)	0.988	0.196 - 4.967	0.0001	0.988
CRP (mg/L)	16.49 ± 19.49	8.89 ± 15.02				0.298
Пациенти с високо CRP (n, %)	3 (60)	21 (42)	2.071	0.318 - 13.511	0.599	0.439
PASI scores	29.63 ± 13.05	26.33 ± 9.38				0.431

Пациенти с PASI scores > 20 (n, %)	5 (83.3)	49 (80.3)	1.224	0.131 - 11.478	0.032	0.859
Пациенти с псориатичен артрит (n, %)	4 (36.4)	35 (35.7)	1.029	0.281 - 3.759	0.002	0.966
Пациенти със ССЗ без хипертония (n, %)	2 (18.2)	32 (32.7)	0.458	0.093 - 2.246	0.965	0.325
Пациенти със ССЗ + хипертония (n, %)	6 (54.5)	62 (63.3)	0.696	0.198 - 2.446	0.320	0.571
Пациенти с чернодробни заболявания (n, %)	0 (0)	13 (100)	0.275	0.015 - 4.950	1.657	0.198
Пациенти с тромбози (n, %)	1 (16.7)	5 (83.3)	1.860	0.197 - 17.540	0.303	0.582
Пациенти с метаболитен синдром (n, %)	4 (44.4)	43 (53.8)	0.688	0.172 - 2.753	0.281	0.596
Пациенти с метаболитен синдром + BMI > 30 kg/m <sup>2</sup> (n, %)	3 (37.5)	32 (41.0)	0.862	0.192 - 3.868	0.037	0.847

**Таблица 8Д.** Честота на клинични данни затлъстяване (BMI ≥ 30), хипергликемия, триглицеридемия, нисък HDL, хиперхолестеролемия, дислипидемия, хипертония, CRP, PASI > 20 и коморбидности сърдечно-съдови заболявания, метаболитен синдром и общи съпътстващи заболявания пациенти с псориазис, носители на мутантния *FVL (rs6025)* алел спрямо неносители на петте тромбофилични полиморфизма.

Параметри	Носители $\bar{X} \pm SD$	Неносители $\bar{X} \pm SD$	OR	95% CI	$\chi^2$	p
Фактор V Leiden						
Брой на пациенти	11	44				
Средна възраст (години)	47.18 ± 13.99	55.08 ± 13.46			0.050	0.089
Средна възраст на първа изява (години)	29.40 ± 14.72	35.77 ± 16.75				0.273
BMI kg/m <sup>2</sup>	28.84 ± 7.19	28.54 ± 5.63				0.885
Пациенти с BMI ≥ 25 kg/m <sup>2</sup> (n, %)	7 (70)	34 (77.3)	0.686	0.149 - 3.154	0.236	0.627
Пациенти с BMI ≥ 30 kg/m <sup>2</sup> (n, %)	4 (40.0)	19 (43.2)	0.877	0.217 - 3.553	0.034	0.854
Пациенти с хипергликемия (n, %)	3 (33.3)	7 (18.9)	2.143	0.428 - 10.738	0.884	0.347
Кръвна захар на гладно mmol/l	6.49 ± 3.63	5.42 ± 0.93				0.110
Триглицериди mmol/l	1.86 ± 1.16	1.64 ± 0.86				0.519
Пациенти с триглицеридемия (n, %)	5 (55.55)	13 (35.13)	2.307	0.526 - 10.116	1.267	0.260
Пациенти с нисък HDL (n, %)	3 (33.3)	8 (24.2)	1.563	0.316 - 7.726	0.302	0.582
Пациенти с хиперхолестеролемия (n, %)	2 (22.2)	21 (56.8)	0.218	0.040 - 1.192	3.453	0.063
Пациенти с дислипидемия (n, %)	5 (55.6)	18 (51.4)	1.181	0.271 - 5.147	0.049	0.825
Пациенти с Хипертония (n, %)	5 (45.5)	27 (60)	0.556	0.147 - 2.097	0.764	0.382
Пациенти с Диабет тип 2 (n, %)	2 (18.2)	4 (8.9)	2.278	0.360 - 14.405	0.798	0.372
CRP (mg/L)	16.49 ± 19.49	5.05 ± 5.04				0.010
Пациенти с високо CRP (n, %)	3 (60)	9 (33.3)	3.000	0.423 - 21.297	1.280	0.258
PASI scores	29.63 ± 13.05	24.81 ± 8.17				0.246
Пациенти с PASI scores > 20 (n, %)	5 (83.3)	23 (79.3)	1.304	0.127 - 13.372	0.050	0.823
Пациенти с псориатичен артрит (n, %)	4 (36.4)	12 (26.7)	1.571	0.390 - 6.340	0.407	0.523
Пациенти със ССЗ без хипертония (n, %)	2 (18.2)	14 (31.1)	0.492	0.094 - 2.580	0.724	0.395
Пациенти със ССЗ + хипертония (n, %)	6 (54.5)	28 (62.2)	0.729	0.192 - 2.758	0.218	0.640
Пациенти с чернодробни заболявания (n, %)	2 (9.1)	6 (13.3)	0.650	0.120 - 3.518	0.253	0.615
Пациенти с тромбози (n, %)	1 (4.5)	4 (8.9)	0.488	0.051 - 4.647	0.404	0.525
Пациенти с метаболитен синдром (n, %)	4 (44.4)	16 (43.2)	1.050	0.242 - 4.552	0.004	0.948
Пациенти с метаболитен синдром + BMI > 30 kg/m <sup>2</sup> (n, %)	3 (37.5)	11 (30.6)	1.364	0.276 - 6.737	0.146	0.703

**Таблица 9Д.** Честота на клинични данни затлъстяване (BMI ≥ 30), хипергликемия, триглицеридемия, нисък HDL, хиперхолестеролемия, дислипидемия, хипертония, CRP, PASI > 20 и коморбидности сърдечно-съдови заболявания, метаболитен синдром и общи съпътстващи заболявания пациенти с псориазис, носители на *FII 20210A* алел спрямо неносители.

Параметри <i>FII 20210A</i>	Носители $\bar{X} \pm SD$	Неносители $\bar{X} \pm SD$	(OR)	95% CI	$\chi^2$	p
Брой на пациенти	5	104				
Средна възраст (години)	52.60 ± 16.93	54.14 ± 12.57				0.792
Средна възраст на първа изява (години)	39.00 ± 19.86	36.44 ± 15.68				0.726
BMI kg/m <sup>2</sup>	26.80 ± 3.27	29.08 ± 5.64				0.374
Пациенти с BMI ≥ 25 kg/m <sup>2</sup> (n, %)	4 (80)	82 (82)	0.878	0.093 - 8.330	0.013	0.910
Пациенти с BMI ≥ 30 kg/m <sup>2</sup> (n, %)	1 (20.0)	52 (52)	0.231	0.024 - 2.138	1.951	0.163
Пациенти с хипергликемия (n, %)	1 (20)	25 (30.1)	0.580	0.0617 - 5.453	0.232	0.630
Кръвна захар на гладно mmol/l	5.21 ± 1.27	5.87 ± 1.66				0.389
Триглицериди mmol/l	1.63 ± 0.719	1.87 ± 1.12				0.643
Пациенти с триглицеридемия (n, %)	2 (40)	37 (44.04)	0.846	0.134 - 5.334	0.031	0.859
Пациенти с нисък HDL (n, %)	2 (50)	27 (33.8)	1.963	0.262 - 14.709	0.445	0.505
Пациенти с хиперхолестеролемия (n, %)	2 (40)	53 (60.2)	0.440	0.070 - 2.770	0.801	0.371
Пациенти с дислипидемия (n, %)	3 (75)	50 (61)	1.920	0.191 - 19.271	0.317	0.573
Пациенти с Хипертония (n, %)	3 (60)	61 (58.7)	1.057	0.169 - 6.600	0.004	0.952
Пациенти с Диабет тип 2 (n, %)	2 (40)	18 (17.3)	3.185	0.496 - 20.459	1.640	0.200
CRP (mg/L)	20.84 ± 30.17	8.93 ± 14.43				0.196
Пациенти с високо CRP (n, %)	1 (33.3)	23 (44.2)	0.630	0.053 - 7.394	0.137	0.711
PASI scores	23.90 ± 1.92	26.80 ± 9.96				0.565
Пациенти с PASI scores > 20 (n, %)	4 (100)	50 (79.4)	2.405	0.121 - 47.503	1.024	0.312
Пациенти с псориазичен артрит (n, %)	2 (40)	37 (35.6)	1.207	0.193 - 7.553	0.041	0.840
Пациенти със ССЗ без хипертония (n, %)	1 (20)	33 (31.7)	0.538	0.058 - 5.002	0.306	0.580
Пациенти със ССЗ + хипертония (n, %)	3 (60)	65 (62.5)	0.900	0.144 - 5.626	0.013	0.910
Пациенти с чернодробни Заболявания (n, %)	0 (0)	13 (100)	0.616	0.032 - 11.783	0.710	0.400
Пациенти с тромбози (n, %)	0 (0)	6 (100)	0.942	0.899 - 0.988	0.305	0.581
Пациенти с метаболитен синдром (n, %)	2 (44)	45 (53.6)	0.577	0.091 - 3.637	0.349	0.555
Пациенти с метаболитен синдром + BMI > 30 kg/m <sup>2</sup> (n, %)	1 (20)	34 (42.0)	0.346	0.037 - 3.231	0.942	0.332



**Таблица 10Д.** Честота на клинични данни затлъстяване (BMI  $\geq$  30), хипергликемия, триглицеридемия, нисък HDL, хиперхолестеролемия, дислипидемия, хипертония, CRP, PASI > 20 и коморбидности сърдечно-съдови заболявания, метаболитен синдром и общи съпътстващи заболявания пациенти с псориазис, носители на *FII 20210A* алел спрямо неносители на петте тромбофилични полиморфизма.

Параметри <i>FII rs179996</i>	Носители $\bar{X} \pm SD$	Неносители $\bar{X} \pm SD$	(OR)	95% CI	$\chi^2$	P
Брой на пациенти	5	44				
Средна възраст (години)	52.60 $\pm$ 16.93	55.08 $\pm$ 13.46				0.704
Средна възраст на първа изява (години)	39.00 $\pm$ 19.86	35.77 $\pm$ 16.75				0.690
BMI kg/m <sup>2</sup>	26.80 $\pm$ 3.27	28.54 $\pm$ 5.63				0.504
Пациенти с BMI $\geq$ 25 kg/m <sup>2</sup> (n, %)	4 (80)	34 (77.3)	1.176	0.118 - 11.757	0.019	0.890
Пациенти с BMI $\geq$ 30 kg/m <sup>2</sup> (n, %)	1 (20.0)	19 (43.2)	0.329	0.034 - 3.187	0.999	0.318
Пациенти с хипергликемия (n, %)	1(20)	7 (18.9)	1.071	0.103 - 11.130	0.003	0.954
Кръвна захар на гладно (n, %)	5.21 $\pm$ 1.27	5.42 $\pm$ 0.93				0.662
Триглицериди mmol/l	1.63 $\pm$ 0.71	1.64 $\pm$ 0.86				0.983
Пациенти с триглицеридемия (n, %)	2 (40)	13 (35.13)	1.230	0.1818 - 8.330	0.045	0.831
Пациенти с нисък HDL (n, %)	2 (50)	8 (24.2)	3.125	0.377 - 25.918	1.200	0.273
Пациенти с хиперхолестеролемия (n, %)	2 (40)	21 (56.8)	0.508	0.076 - 3.409	0.499	0.480
Пациенти с дислипидемия (n, %)	3 (75)	18 (51.4)	2.833	0.268 - 29.955	0.803	0.370
Пациенти с Хипертония (n, %)	3 (60)	27 (60)	1.000	0.152 - 6.593	0.000	1.000
Пациенти с Диабет тип 2 (n, %)	2 (40)	4 (8.9)	6.833	0.868 - 53.766	4.125	0.042
CRP (mg/L)	20.84 $\pm$ 30.17	5.05 $\pm$ 5.04				0.010
Пациенти с високо CRP (n, %)	1 (33.3 )	9 (33.3)	1.000	0.080 - 12.557	0.000	1.000
PASI scores	23.90 $\pm$ 1.92	24.81 $\pm$ 8.17				0.827
Пациенти с PASI scores > 20 (n, %)	4 (100)	23 (79.3)	2.489	0.118 - 52.467	1.011	0.315
Пациенти с псориазичен артрит (n, %)	2 (40)	3 (60)	1.833	0.272 - 12.347	0.397	0.529
Пациенти със ССЗ без хипертония (n, %)	1 (20)	14 (31.1)	0.554	0.057 - 5.414	0.265	0.607
Пациенти със ССЗ+хипертония (n, %)	3 (60)	28 (62.2)	0.911	0.138 - 6.016	0.009	0.923
Пациенти с чернодробни заболявания (n, %)	0(0)	6 (13.3)	0.264	0.0138 - 5.050	1.643	0.200
Пациенти с тромбози (n, %)	1 (9.1)	4 (8.9)	1.025	0.103 - 10.201	0.000	0.983
Пациенти с метаболитен синдром (n, %)	2 (40)	16 (43.2)	0.875	0.130 - 5.872	0.019	0.891
Пациенти с метаболитен синдром+BMI > 30 kg/m <sup>2</sup> (n, %)	1 (20)	11 (30.6)	0.568	0.057 - 5.685	0.236	0.627

