



Universidad de Oviedo

PROGRAMA DE DOCTORADO: INVESTIGACIÓN EN MEDICINA

**“Variación en los genes de las interleukinas 12/23
y riesgo de Psoriasis Vulgaris”**

Noemí Eirís Salvado



Universidad de Oviedo

PROGRAMA DE DOCTORADO: INVESTIGACIÓN EN MEDICINA

**“Variación en los genes de las interleukinas 12/23
y riesgo de Psoriasis Vulgaris”**

Noemí Eirís Salvado



RESUMEN DEL CONTENIDO DE TESIS DOCTORAL

1.- Título de la Tesis	
Español/Otro Idioma: Variación en los genes de las interleukinas 12 / 23 y riesgo de Psoriasis Vulgaris	Inglés: Analysis of gene variation in interleukins 12 / 23 and Psoriasis vulgaris risk.
2.- Autor	
Nombre: Noemí Eiris Salvado	DNI/Pasaporte/NIE: _____
Programa de Doctorado: Investigación en Medicina	
Órgano responsable: Comisión Académica del programa de Doctorado en Investigación en Medicina	

RESUMEN (en español)

Introducción

La psoriasis vulgaris posee una fisiopatogenia compleja y gran variabilidad genética. Además de *PSORS1* (correspondiendo al alelo HLA-Cw6), se han identificado variaciones en múltiples genes de la barrera cutánea, inmunidad innata y adaptativa. Las interleucinas 12/23 implicadas en la diferenciación de LTh1 y especialmente Lth17, han adquirido un papel fundamental en la fisiopatogenia de la psoriasis. Las variaciones en *IL12B*, *IL23R* e *IL23A* han demostrado influir en el riesgo de psoriasis, aunque de forma variable. Así mismo, existe escasa evidencia de su papel en la presentación clínica de la psoriasis y su relación con factores de riesgo cardiovascular.

Objetivos

Describir la influencia de las variaciones de los genes de la vía IL12/23 en el riesgo de psoriasis. Secundariamente, determinar si esas variaciones pueden tener un efecto sobre la expresión clínica de la enfermedad, los principales factores de riesgo cardiovascular y la respuesta a fármacos biológicos.

Sujetos y Métodos

Estudio transversal observacional de 405 casos de psoriasis del Hospital Universitario Central de Asturias frente a 426 controles sanos procedentes del área de Asturias. Pacientes y controles fueron genotipados para las variables *IL12Brs3212227*, *IL12Brs6887695*, *IL12Brs2082412*, *IL23Rrs11209026*, *IL23Rrs2201841* e *IL23Ars2066808*. En el grupo de pacientes se determinaron además características clínicas (edad de inicio, PASI, antecedentes familiares, afectación ungueal, artritis psoriásica), presencia de comorbilidades (HTA, DM tipo 1, DM tipo 2, DL, cardiopatía isquémica, presencia de síndrome metabólico) y variables de farmacogenética (respuesta a fármacos biológicos en pacientes *naïve* en la semana 24 post inducción).

Resultados

El genotipo *IL12Brs6887695-GG* se asocia a un riesgo incrementado de psoriasis ($p < 0.01$, OR 1.5 (1.14-1.97)) y a una mayor gravedad de la enfermedad (PASI ≥ 10 , $p = 0.04$, Exp β 1.53 (1.02-2.31)), mientras que *IL12Brs6887695-CC* se asocia a la presencia de diabetes mellitus tipo 2 ($p = 0.02$, Exp β 3.22 (1.20-8.67)).

IL23Rrs11209026-GG condiciona un aumento del riesgo de psoriasis y artritis psoriásica conjunta en sus portadores frente a controles sanos ($p = 0.03$ Exp β 2.76 (1.14-6.69)), además de un incremento del riesgo de una enfermedad más grave (PASI ≥ 10 , $p = 0.044$ Exp β 1.93 (1.02-3.65)) frente a portadores del alelo A. Existe una asociación significativa a psoriasis en *IL23Rrs2201841-AA* determinada por la artritis psoriásica concomitante ($p = 0.02$ OR 1.75 (1.11-2.76)), mientras que el genotipo *IL23Rrs2201841-GG* conlleva un incremento significativo del riesgo de padecer diabetes mellitus de tipo 2 en los pacientes ($p = 0.02$, Exp β 3.11 (1.23-7.85)).

IL23Ars2066808-AA también determina un incremento del riesgo de psoriasis en los pacientes con artritis psoriásica ($p = 0.02$ OR 3.04 (1.19-7.78)), aunque no en los pacientes sin afectación articular ($p = 0.82$ OR 0.93 (0.62-1.4)), y un aumento significativo de la afectación ungueal ($p = 0.03$ Exp β 1.91 (1.07-3.45)).



En el estudio farmacogenético se observó asociación entre el genotipo *IL12Brs6887695-GG* y una mayor frecuencia de respuesta PASI75 tras la fase de inducción en pacientes tratados con fármacos biológicos independientemente del estatus HLA-Cw6 (p 0.030, Exp β 2.46 (1.09-5.51)).

Conclusiones

En el grupo de población estudiada, la variación en el SNP *IL12Brs6887695* condiciona aspectos de la enfermedad psoriásica como un aumento de la susceptibilidad para su desarrollo, su gravedad y la respuesta a fármacos biológicos. A su vez, *IL23Rrs2201841* e *IL23Rrs11209026* también intervienen en el riesgo de padecer psoriasis, mientras que *IL23Ars2066808* asocia aumento de riesgo para el desarrollo de psoriasis aunque de forma exclusiva en los pacientes con afectación articular, y una mayor probabilidad de afectación ungueal. Variaciones en *IL12Brs6887695* e *IL23Rrs2201841* también condicionan un aumento del riesgo de desarrollo de diabetes mellitus tipo 2 en los pacientes con psoriasis.

RESUMEN (en Inglés)

Introduction

Psoriasis vulgaris has a complex physiopathology and high genetic variability. Apart from *PSORS1* (corresponding to the HLA-Cw6 allele), there have been identified variations in multiple genes related to the cutaneous barrier, innate and adaptative immunity. Interleukins 12/23, involved in LTh1 and specially LTh17 differentiation, have acquired a fundamental role in the physiopathology of psoriasis over the last years. While variations in *IL12B*, *IL23R* and *IL23A* have been shown to influence psoriasis risk, results are varied. Moreover, there is little evidence of their role in the clinical presentation of psoriasis and development of cardiovascular risk factors.

Objectives

To assess the influence of genetic variation in the *IL12/23* pathway on psoriasis risk. Secondly, to determine if those variations might have an effect on the clinical presentation of the disease, presence of main cardiovascular risk factors or response to biological therapy.

Subjects and Methods

Observational cross-sectional study of 405 psoriasis cases from the Hospital Universitario Central de Asturias versus 426 healthy controls from the Asturias region. Subjects were genotyped for the variants *IL12Brs3212227*, *IL12Brs6887695*, *IL12Brs2082412*, *IL23Rrs11209026*, *IL23Rrs2201841* and *IL23Ars2066808*. Clinical features (age at onset, PASI, familial history, nail disease, psoriatic arthritis), cardiovascular risk factors (HT, type 1 DM, type 2 DM, ischemic cardiomyopathy, metabolic syndrome) and pharmacogenetic variables (week 24 post induction response data in naïve patients for biologic therapies) were also recorded in psoriasis patients.

Results

IL12Brs6887695-GG genotype is associated to an increased risk of psoriasis (p <0.01, OR 1.5 (1.14-1.97)) and a more severe form of disease (PASI \geq 10, p 0.04, Exp β 1.53 (1.02-2.31)), while *IL12Brs6887695-CC* is significantly associated to type 2 diabetes mellitus (p 0.02, Exp β 3.22 (1.20-8.67)).

IL23Rrs11209026-GG also determines a higher risk of psoriasis and psoriatic arthritis for its carriers versus controls (p 0.03 Exp β 2.76 (1.14-6.69)), with a higher degree of severity (PASI \geq 10, p 0.044, Exp β 1.93 (1.02-3.65)) compared to carriers of the A allele. There is a significant association to psoriasis in *IL23Rrs2201841-AA* carriers in those with concomitant psoriatic arthritis (p 0.02 OR 1.75 (1.11-2.76)), while the *IL23Rrs2201841-GG* genotype significantly increases the odds of developing type 2 diabetes mellitus in psoriasis patients (p 0.02, Exp β 3.11 (1.23-7.85)).

IL23Ars2066808 also determines an increased risk of psoriasis in AA genotype carriers that suffer from concomitant psoriatic arthritis (p 0.02 OR 3.04 (1.19-7.78)) but not in those without joint involvement (p 0.82 OR 0.93 (0.62-1.4)), and a significant increase of the odds of psoriatic nail disease (p 0.03 Exp β 1.91 (1.07-3.45)).

A pharmacogenetic study revealed a significant association between the *IL12Brs6887695-GG* genotype and a higher rate of PASI75 response after induction phase in patients treated with biological therapy, not influenced by HLA-Cw6 status (p 0.030, Exp β 2.46 (1.09-5.51)).



Conclusions

In the study population, SNP *IL12Brs6887695* variation influences several psoriasis aspects such as disease susceptibility, severity and response to biologic therapy. *IL23Rrs2201841* and *IL23Rrs11209026* also determine psoriasis risk, while *IL23Ars2066808* is associated to psoriasis susceptibility in patients with psoriatic arthritis, and a higher incidence of nail involvement. Genetic variation in *IL12Brs6887695* and *IL23Rrs2201841* also determine a susceptibility to diabetes mellitus type 2 in psoriatic patients.

SR. DIRECTOR DE DEPARTAMENTO DE MEDICINA/

SR. PRESIDENTE DE LA COMISIÓN ACADÉMICA DEL PROGRAMA DE DOCTORADO EN INVESTIGACIÓN EN MEDICINA

ÍNDICE

ÍNDICE.....	3
1 ABREVIATURAS.....	12
2 ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS.....	14
3 INTRODUCCIÓN.....	16
3.1 CONCEPTO.....	17
3.2 EPIDEMIOLOGÍA.....	18
3.3 FORMAS CLÍNICAS.....	18
3.4 ARTRITIS PSORIÁSICA.....	21
3.5 HISTOPATOLOGÍA.....	22
3.6 COMORBILIDADES.....	23
3.7 FISIOPATOGENIA DE LA PSORIASIS VULGAR.....	24
3.7.1 FACTORES DESENCADENANTES.....	24
3.7.2 INMUNOPATOGENIA.....	25
3.7.3 EJE IL23/LTh17 EN INFLAMACIÓN CRÓNICA, AUTOINMUNIDAD Y PSORIASIS.....	27
3.7.4 BASES GENÉTICAS DE LA PSORIASIS VULGAR.....	30
3.7.4.1 ESTUDIOS DE LIGAMIENTO Y ASOCIACIÓN GENÉTICA.....	31
3.7.4.2 ESTUDIOS <i>GENOME-WIDE ASSOCIATION</i> (GWAS).....	33
3.7.4.3 ESTUDIOS GWAS EN PSORIASIS.....	33
3.7.5 <i>IL12B</i> Y PSORIASIS VULGAR.....	36
3.7.6 <i>IL23R</i> Y PSORIASIS VULGAR.....	37
3.7.7 <i>IL23A</i> Y PSORIASIS VULGAR.....	37
3.8 FARMACOGENÉTICA EN LA VÍA IL12/23.....	38
4 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	39
5 MATERIAL Y MÉTODOS.....	42
5.1 DISEÑO DEL ESTUDIO.....	43
5.2 SELECCIÓN DE LOS PACIENTES E INCLUSIÓN EN EL ESTUDIO.....	43
5.3 SELECCIÓN Y RECOGIDA DE DATOS EN EL GRUPO CONTROL.....	43
5.4 PROTOCOLO DE ESTUDIO Y HOJA DE RECOGIDA DE DATOS.....	44

5.5 RECOGIDA DE MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS.....	44
5.6 EVALUACIÓN Y DETERMINACIÓN DE COMORBILIDADES	45
5.7 RECOGIDA DE DATOS FENOTÍPICOS Y CÁLCULO DEL PASI	45
5.8 RESPUESTA A TRATAMIENTOS BIOLÓGICOS.....	46
5.9 TÉCNICAS DE GENÉTICA MOLECULAR	46
5.9.1 OBTENCIÓN Y PROCESADO DE LAS MUESTRAS.....	46
5.9.2 AMPLIFICACIÓN Y GENOTIPADO DEL ADN.....	46
5.9.3 DIGESTIÓN Y GENOTIPADO POR ENZIMAS DE RESTRICCIÓN	47
5.9.4 GENOTIPADO MEDIANTE PCR EN TIEMPO REAL.....	48
3.9.5 GENOTIPADO DE HLA-Cw6.....	48
5.9.6 SECUENCIACIÓN DE FRAGMENTOS DE PCR	50
5.9.7 SECUENCIACIÓN DE IL12B.....	50
5.10 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	51
6 RESULTADOS	52
6.1 ESTUDIO DESCRIPTIVO	53
6.2 ANÁLISIS GENÉTICO	54
6.2.1 PSORIASIS Y HLA-CW6.....	54
6.2.2 PSORIASIS Y GEN <i>IL12B</i>	54
6.2.2.1 POLIMORFISMOS <i>IL12Brs3212227</i> E <i>IL12Brs6887695</i> Y RELACIÓN CON FENOTIPO PS/FRCV	55
6.2.2.2 SECUENCIACIÓN DE <i>IL12B</i> Y ESTUDIO DE LOS SNP HALLADOS.....	57
6.2.3 PSORIASIS Y GEN <i>IL23R</i>	58
6.2.3.1 POLIMORFISMOS <i>IL23Rrs11209026</i> E <i>IL23Rrs2201841</i> Y RELACIÓN CON FENOTIPO PS/FRCV	58
6.2.4 PSORIASIS Y GEN <i>IL23A</i>	61
6.3 FARMACOGENÉTICA: RESPUESTA A TRATAMIENTO BIOLÓGICO	62
7 DISCUSIÓN	64
7.1 CARACTERÍSTICAS ANTROPOMÉTRICAS.....	65
7.2 CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS DE LA PS.....	66
7.3 FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR	68
7.4 HLA-Cw6 Y PSORIASIS.....	69

7.5 VARIACIÓN EN <i>IL12B</i> Y PSORIASIS.....	69
7.5.1 VARIACIÓN EN <i>IL12Brs3212227</i>	70
7.5.2 VARIACIÓN EN <i>IL12Brs6887695</i>	72
7.6 VARIACIÓN EN <i>IL23R</i> Y PSORIASIS.....	74
7.6.1 VARIACIÓN EN <i>IL23Rrs2201841</i>	75
7.6.2 VARIACIÓN EN <i>IL23Rrs11209026</i>	76
7.7 VARIACIÓN EN <i>IL23A</i> Y PSORIASIS	79
7.8 FARMACOGENÉTICA.....	81
7.9 LIMITACIONES.....	83
8 CONCLUSIONES.....	85
9 BIBLIOGRAFÍA.....	88
10 ANEXOS.....	104
ANEXO 1 – CONSENTIMIENTO INFORMADO.....	105
ANEXO 2 - AUTORIZACIÓN DEL CEIC.....	106
ANEXO 3 – CUESTIONARIO DE RECOGIDA DE DATOS.....	107
ANEXO 4 – CÁLCULO DEL PASI.....	108
ANEXO 5 – VARIABLES RECOGIDAS EN BASE DE DATOS	109
ANEXO 6 – ARTICULOS Y COMUNICACIONES DERIVADOS DEL TRABAJO	110

1

ABREVIATURAS

ADN o DNA: Ácido desoxirribonucleico

AF: Antecedentes familiares

APs: Artritis Psoriásica

AR: Artritis reumatoide

ARN-m: Ácido ribonucleico de tipo mensajero

CI: Cardiopatía isquémica

DDC: células dendríticas de la dermis

DL: Dislipemia

DM: Diabetes Mellitus

EA: Espondilitis Anquilosante

EC: Enfermedad de Crohn

ECV: Enfermedad Cardiovascular

EII: Enfermedad Inflamatoria Intestinal

FRCV: Factores de riesgo cardiovascular

GWAS: *Genome-wide association studies*

HDL: Lipoproteína de alta densidad

HLA: antígeno leucocitario humano

HLA-Cw6: Abreviatura habitual de HLA-CW*0602

HTA: Hipertensión arterial

HUCA: Hospital Universitario Central de Asturias

IC: Intervalo de confianza

Ig: Immunoglobulina

IFN: Interferon

IL: Interleucina

IL(n)R: Receptor de la IL n

IMC: Índice de masa corporal

IMID: Enfermedades inflamatorias mediadas inmunológicamente

Kb: kilopar de bases

KIR: Killer Ig-like receptor: receptor tipo Ig de las células NK

LD: Desequilibrio de ligamiento.

LDL: Lipoproteína de baja densidad

LT: Linfocito T

LTh: Linfocito T helper

LTct: Linfocito T citorregulador (tóxico)

NAFLD: Enfermedad hepática grasa no alcohólica

MAF: Minor allele frequency ó frecuencia del alelo menor.

MHC: Complejo mayor de histocompatibilidad.

n: número de pacientes o controles

NK: células natural killer

OR: Odds Ratio

ρ : nivel de significación estadística.

PASI: Psoriasis Area and Severity Index

PASI50/75/90: mejoría del 50%/75%/90% con respecto al PASI basal

pb: par de bases ADN

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa

Ps: Psoriasis (salvo añadido, se refiere a la forma clínica vulgar)

RFLP: Polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción

TGF: Tissue Growth Factor ó factor de crecimiento tisular

TNF: Tumor Necrosis Factor: factor de necrosis tumoral

SM: Síndrome metabólico

SNP: single nucleotide polymorphism: Polimorfismo de un único nucleótido.

STAT: signal transducer and activator of transcription

vs: versus

2

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

TABLAS

1 - Criterios CASPAR	22
2 - Resumen de los PSORS 1-13, localización y genes identificados	32
3 - Biológicos aprobados para su uso en Ps en España	38
4 - Criterios para inclusión/exclusión en base de datos del estudio	43
5 - Método y cebadores empleados para la amplificación de ADN	47
6 - Enzimas de digestión y tamaño de los fragmentos de la PCR-RFLP	47
7 - Cebadores utilizados en el genotipado con Taqman® Real Time PCR	48
8 - Cebadores, temperatura de hibridación y tamaño de fragmentos de <i>IL12B</i> secuenciados	51
9 - Resumen de las características de los pacientes del estudio.....	53
10 - Estudio de la asociación del alelo HLA-Cw6 y variables clínicas de Ps.....	54
11 - Distribución de las MAF de los SNPs de <i>IL12B</i> estudiados en la muestra y población caucásica	55
12 - <i>IL12Brs3212227</i> : distribución según características clínicas y FRCV	55
13 - <i>IL12Brs6887695</i> : distribución según características clínicas y FRCV	56
14 - Distribución de los haplotipos de <i>IL12Brs3212227</i> e <i>IL12Brs6887695</i>	57
15 - Asociación entre variables de estudio en <i>IL12B</i> : diferencias según cálculo realizado.....	57
16 - Distribución de MAF de <i>IL23Rrs11209026</i> e <i>IL23Rrs2201841</i> en la muestra y población caucásica.....	58
17 - <i>IL23Rrs11209026</i> : distribución según características clínicas y FRCV	59
18 - <i>IL23Rrs2201841</i> : distribución según características clínicas y FRCV.....	60
19 - Asociación entre variables de estudio en <i>IL23R</i> : diferencias según cálculo realizado.....	60
20 - <i>IL23Ars2066808</i> : distribución según características clínicas y FRCV	61
21 - Asociación entre variables de estudio en <i>IL23A</i> : diferencias según cálculo realizado.....	62
22 - Distribución de la respuesta PASI75 tras la fase de inducción.....	62

23 - SNPs de <i>IL12B</i> , <i>IL23R</i> e <i>IL23A</i> y respuesta a tratamiento en semana 24	63
24 - Resultados de los estudios iniciales sobre <i>IL12Brs3212227</i>	71
25 - Resultados de los estudios iniciales sobre <i>IL12Brs6887695</i>	72
26 - Resultados de los estudios sobre <i>IL23Rrs2201841</i> en población caucásica	75
27 - Resultados de los estudios iniciales sobre <i>IL23Rrs11209026</i>	77
28 - Resultados de los estudios sobre <i>IL23Ars2066808</i>	80
29 - Fórmula para el cálculo manual del PASI	108
30 – Variables recogidas en base de datos	109

FIGURAS

1 - Placas de Ps vulgar en área dorsal y extremidades	19
2 - Diferentes formas clínicas de Ps	20
3 - Artritis mutilante en paciente con Ps	21
4 - Imagen histológica de Ps	22
5 - Modelo fisiopatogénico de la Ps	26
6 - Estructura de <i>IL12</i> , <i>IL23</i> y sus respectivos receptores heterodímeros	28
7 - Diferenciación de LTh, citocinas implicadas y producidas por los LTh.....	29
8 - Variación genética en la región <i>IL23R</i>	34
9 - Modelo de la estructura de la proteína p40	36
10 - Taqman® real time PCR de <i>IL12Brs6887695</i>	48
11 - Comprobación en gel de agarosa del genotipado PCR-RFLP de HLA-Cw6.....	49
12 - Secuenciación automática Sanger de PCR-RFLP HLA-Cw6 de dos pacientes	49
13 - Secuenciación automática Sanger PCR de <i>IL12Brs3212227</i> en tres pacientes.....	50
14 - Mapa de <i>IL12B</i>	57
15 - Secuenciación automática Sanger del SNP en 3'UTR <i>IL12Brs1368439</i>	58
16 - Localización de <i>rs3213120</i> y <i>rs3213119</i> sobre representación de <i>IL12B</i>	70
17 - Representación del posible splicing alternativo en <i>IL23Rrs11209026</i>	78

3

INTRODUCCIÓN

El conocimiento, diagnóstico y manejo de la Psoriasis (Ps) permanece como uno de los retos de la práctica diaria en Dermatología. En 1936 Behçet denominó a la Ps “el antídoto para el ego de los dermatólogos” [Glickman, 1986], y casi un siglo después el avance en el conocimiento de sus bases inmunogenéticas ha revolucionado el estudio de las características epidemiológicas, clínicas y terapéuticas de la Ps, así como de sus comorbilidades sistémicas.

La palabra Psoriasis deriva del vocablo griego “*psora*,” utilizado en la antigüedad para agrupar a las enfermedades cutáneas con intenso prurito. Paradójicamente, la Ps no se encontraba entre ellas, ya que los cuadros clínicos con descamación cutánea se agruparon bajo la denominación común de lepra, con las consiguientes implicaciones médicas y sociales para los afectados [Glickman, 1986]. No fue hasta comienzos del siglo XIX que diferentes autores comenzaron a marcar claras diferencias entre la Ps y la lepra, aunque dicho término (asociado a adjetivos secundarios como *vulgaris*), continuase en uso hasta prácticamente la entrada del siglo XX. El conocimiento médico de su fisiopatología inició su desarrollo en el siglo XX mediante la descripción de histopatología fundamental de la enfermedad, para pasar en sus últimas décadas de la investigación de la biología celular funcional a la vertiente genética y molecular.

Dichos avances han ido de la mano del desarrollo de las ciencias básicas durante la segunda mitad del siglo XX y primera década del siglo XXI. De los estudios inmunohistoquímicos que definieron los infiltrados inflamatorios en los tejidos afectados y el bosquejo inicial del papel de las moléculas de señalización intercelular [Braun-Falco y Christophers, 1974; Bos *et al*, 1983], se ha pasado al estudio de los genes implicados en su patogenia [Bowcock y Krueger, 2005], el análisis de los polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) [Hewett *et al*, 2002; Veal *et al*, 2002], los estudios de asociación del genoma completo (Genome-Wide Association Studies o GWAS) [Cargill *et al*, 2007; Liu *et al*, 2008; Nair *et al*, 2009] y nuevos trabajos sobre regulación de la expresión genética mediante análisis del transcriptoma y microRNA [Sonkoly *et al*, 2008; Pivarcsi *et al*, 2014; Swindell *et al*, 2014]. Esto ha convertido a la investigación sobre Ps en una de las áreas de mayor desarrollo científico dentro de la Dermatología. En el trabajo que se presenta a continuación se pretende estudiar la influencia de la variación genética en la vía inflamatoria IL12/23 no sólo en el riesgo de padecer Ps sino también en la expresión de otras manifestaciones de la enfermedad y la respuesta a fármacos biológicos.

3.1 CONCEPTO

La Ps es una enfermedad de curso crónico y manifestaciones clínicas de diversa morfología e intensidad que afecta aproximadamente a un 2% de la población mundial. Su etiología es compleja, interviniendo factores ambientales y genéticos [Gudjonsson y Elder, 2009; Griffiths, 2010]. La manifestación clínica más frecuente son placas bien delimitadas con eritema y un grado variable de hiperqueratosis con descamación blanco-nacarada, lo que refleja un aumento de la tasa de recambio celular de los queratinocitos locales. Es frecuente además la asociación de clínica a nivel osteoarticular (hasta 10-30% pacientes) [Mease, 2011] y mayor morbilidad por asociación con otras patologías, tanto mediadas inmunológicamente como la

enfermedad de Crohn (EC) [Lee *et al*, 1990], la diabetes (DM) [Armesto *et al*, 2012; Armstrong *et al*, 2012; Coto-Segura *et al*, 2013], el síndrome metabólico (SM) o la enfermedad cardiovascular (ECV) [Gelfand *et al*, 2006; Sommer *et al*, 2006; Armesto *et al*, 2012; Armstrong *et al*, 2012; Hugh *et al*, 2014].

Constituye uno de los motivos más frecuentes de consulta en dermatología, ocasionando tanto un importante gasto económico a nivel sociosanitario por la necesidad de terapéutica a largo plazo así como importantes costes secundarios relacionados con una menor calidad de vida de los pacientes [Horn *et al*, 2007]. El estigma social, la cronicidad, el coste de los tratamientos y la limitación para algunas ocupaciones laborales hacen común su asociación con síndromes ansioso-depresivos o reactivos [Kurd *et al*, 2010].

3.2 EPIDEMIOLOGÍA

La prevalencia media en la población mundial se ha calculado en un 2%, aunque varía de forma marcada, siendo mayor en poblaciones caucásicas de países alejados del ecuador [Hellgren, 1967; Campalani y Barker, 2005], menor en poblaciones de origen africano y asiático (1.3% y 0.4%, respectivamente) y excepcionalmente rara en los Inuits [Gudjonsson y Elder, 2009]. En España existen dos estudios epidemiológicos realizados hasta la fecha. En el primero de ellos, en 2001, se estimó una prevalencia de un 1.17-1.47%, lo que correspondería a unos 500000 pacientes con Ps en nuestro país [Ferrandiz *et al*, 2001]. Sin embargo, esta prevalencia muestra un claro incremento (2.3%) en un nuevo estudio en 2014 [Ferrandiz *et al*, 2014].

En la literatura parece existir un ligero predominio en varones (55% frente a 45% mujeres), con una edad de inicio ligeramente inferior en éstas [Griffiths, 2010]. Un estudio epidemiológico publicado en 1985 caracterizó a los pacientes en dos grupos: inicio temprano (debut de la enfermedad antes de los 40 años) e inicio tardío [Henseler y Christophers, 1985]. El denominado “de inicio temprano” o Ps tipo I muestra una afectación clínica más intensa y mayor prevalencia de antecedentes familiares de Ps [Stuart *et al*, 2002] que el grupo “de inicio tardío” o Ps tipo II. Los estudios genéticos realizados muestran además una mayor asociación del inicio temprano con el Antígeno Leucocitario Humano HLA**Cw0602* (HLA-Cw6) [Mallon *et al*, 1997; Lu *et al*, 2013].

3.3 FORMAS CLÍNICAS

La lesión típica es una placa eritematosa con bordes bien delimitados y cuya superficie está cubierta de escamas de color blanco y espesor variable [Gudjonsson y Elder, 2009]. Con tamaño variable, se localizan en cualquier parte de la superficie cutánea aunque existe tendencia a una disposición simétrica en la cara externa de las extremidades y área lumbosacra. Si se retira la escama, se observa un eritema homogéneo con pequeños puntos de sangrado (signo de Auspitz) que traduce una dilatación de los capilares en dermis suprapapilar y adelgazamiento de la epidermis a ese nivel. En ocasiones, puede estar rodeada de un anillo de piel hipocrómico (halo de Woronoff) que refleja la vasoconstricción periférica.

Otra característica es la existencia de respuesta isomórfica o fenómeno de Köebner en las zonas cutáneas sometidas a traumatismos, donde tras un intervalo de una a dos semanas aparecen lesiones psoriasiformes, habiendo sido asociado a la presencia de la variante HLA-Cw6 [Gudjonsson *et al*, 2002]. Ello podría explicar el desencadenamiento inicial postraumático de la Ps en pacientes con una predisposición psoriásica latente [Griffiths, 2010].

La principal forma clínica [Griffiths y Barker, 2007; Gudjonsson y Elder, 2009; Griffiths, 2010] es la Ps vulgar o Ps crónica en placas (Figura 1), presente hasta en el 90% de los pacientes. Presenta la morfología y localización previamente descritas, aunque puede también expresarse en cualquier parte de la superficie cutánea, incluyendo tronco, genitales, área facial y cuero cabelludo.



Figura 1 - Placas de Ps vulgar en área dorsal y extremidades

Otras formas (Figura 2) están determinadas por la localización, intensidad de la enfermedad o su expresión, como:

Ps guttata o eruptiva: Frecuente en la edad infantil y adolescencia, con aparición más o menos aguda de múltiples placas o pápulas de pequeño tamaño (0.5 a 1.5 cm de diámetro) de predominio en tronco y raíz de extremidades. También asociada con HLA-Cw6, se ha observado hasta en un 73% de pacientes con Ps guttata frente a un 46% con Ps vulgar [Gudjonsson y Elder, 2009; Roberson y Bowcock, 2010]. Suele tener como desencadenante previo una infección orofaríngea por *Streptococcus*.

Ps invertida o flexural: Cuando se localiza en áreas de pliegue cutáneo (axilas, ingles, región submamaria, interglútea...), predomina eritema sin descamación, con placas de bordes claramente definidos. Algunos incluyen en esta categoría a la Ps genital, frecuentemente asociada a la afectación flexural.

Ps eritrodérmica: Generalización progresiva y estable de la enfermedad o aparición de forma súbita afectando a más del 90% del tegumento cutáneo, sin desencadenante claro o por intolerancia/retirada brusca de un tratamiento previo. Eritema intenso generalizado sobre el cual se produce una formación de escamas finas y superficiales, con intensa inflamación cutánea generalizada y alteraciones en la

termorregulación corporal. Además, puede producirse una pérdida aumentada de agua e iones por alteración de la barrera cutánea y edemas en áreas de declive por pérdida de proteínas debida al hipermetabolismo cutáneo y malabsorción intestinal (enteropatía dermatogénica).

Ps pustulosa: Variantes donde además del eritema y la descamación, aparecen pústulas estériles: formas generalizadas (tipo von Zumbusch), exantemáticas, anulares y localizadas como la Ps acropustulosa de Hallopeau (acrodermatitis continua) en dedos [Mrowietz, 2009]. Los pacientes afectos de estas variantes han mostrado en estudios recientes alteraciones específicas de genes para receptores de citocinas antiinflamatorias como IL36 [Puig *et al*, 2014].

Ps palmoplantar: Cuando las lesiones se localizan en palmas y plantas de las manos, adoptan una apariencia similar al eccema crónico de manos o el liquen crónico. La variante pustulosa parece presentar también una base genética y patológica diferente por lo que existe cierto debate sobre su inclusión en el espectro clínico de la Ps [Elder, 2009; Mrowietz, 2009].

Ps ungueal: Ocurre hasta en un 40% de los pacientes, siendo sin embargo rara como única manifestación clínica de Ps [Gudjonsson y Elder, 2009]. Dependiendo de la localización de la inflamación (lecho ungueal o matriz ungueal) puede adoptar forma de lesiones puntiformes en la lámina ungueal de tipo múltiple (piqueado ungueal o *pitting*), onicodistrofia con leuconiquia (lesiones en mancha de aceite), parches asalmonados subungueales, hemorragias lineales subungueales o hiperqueratosis subungueal. Se relaciona con mayor incidencia de artritis psoriásica (APs) y con otras comorbilidades, como en un estudio sobre 661 pacientes realizado por nuestro grupo de trabajo [Armesto *et al*, 2011].



Figura 2 - Diferentes formas clínicas de Ps. De izquierda a derecha, fila superior: Ps gutatta, Ps invertida, Ps eritrodérmica. Fila inferior: Ps pustulosa anular, Ps palmoplantar, Ps ungueal

3.4 ARTRITIS PSORIÁSICA

La APs es una inflamación inmunológicamente mediada del sistema musculoesquelético en personas con Ps o antecedentes familiares, manifestación de un daño osteomuscular producido por la infiltración y activación de linfocitos T (LT) en la entesis (área fibrocartilaginosa de unión de los ligamentos, fascias y tendones al hueso en las articulaciones) y la sinovial de las articulaciones.

Se describe hasta en el 25-30% de los psoriásicos [Mease, 2011; Boehncke *et al*, 2014], aunque los datos de prevalencia muestran una enorme variabilidad entre estudios y series de casos [Zachariae *et al*, 2002; Boehncke *et al*, 2014]. Aparece tanto de forma posterior al inicio cutáneo (50-80% de APs comienzan tras un promedio de 10-12 años de Ps), concomitante o incluso precediendo a la enfermedad cutánea hasta en un 15-20% de los pacientes [Huynh y Kavanaugh, 2015; Winchester, 2009].

A nivel fisiopatogénico, existen datos que orientan hacia un solapamiento de enfermedades inmunológicamente mediadas (Ps, APs, enfermedad inflamatoria intestinal (EII), artritis reumatoide (AR), síndrome SAPHO, etc) a través de una base genética parcialmente compartida que produciría mecanismos similares fisiopatológicos [McGonagle *et al*, 2011; Tsoi *et al*, 2012; Winchester, 2009]. Tradicionalmente la APs se ha atribuido a una inflamación inmunológicamente mediada muy similar a la cutánea, con una disregulación inmunológica condicionada por factores genéticos y mediada por una respuesta predominantemente LT [Winchester, 2009]. Sin embargo, la evidencia [Pitzalis *et al*, 1996; McGonagle *et al*, 2010; McGonagle *et al*, 2011; McGonagle *et al*, 2012] ha mostrado diferencias significativas tanto a nivel genético como histológico, y se ha propuesto el complejo enteso-sinovial como punto inicial, conteniendo no solo LT, sino también mastocitos, neutrófilos, macrófagos y células dendríticas [McGonagle *et al*, 2012]. Esta respuesta innata local a fenómenos externos (microtrauma y otros factores de estrés mecánico) produciría un exceso de factores solubles inflamatorios (TNF- α , IL23) [Boehncke *et al*, 2014; Sherlock *et al*, 2015], resorción ósea y destrucción de cartílago en individuos genéticamente susceptibles [McGonagle *et al*, 2012; Boehncke *et al*, 2014].



Figura 3 - Artritis mutilante en paciente con Ps

Su inicio ocurre de forma predominante entre los 30 y 50 años de edad, generalmente de forma insidiosa [Huynh y Kavanaugh, 2015]. Clásicamente, se han definido cinco formas clínicas de APs: periférica con afectación predominante interfalángica, simétrica poliarticular tipo AR, oligoasimétrica, axial y una forma poco frecuente mutilante con osteolisis muy intensa (Figura 3), aunque esta clasificación no puede aplicarse de forma estricta al existir cuadros mixtos [Torre Alonso *et al*, 1991].

La afectación ungueal secundaria a la inflamación de

la matriz ungueal es frecuente, apareciendo en más del doble de pacientes con APs que en Ps (29.7% vs 11.5%) [Armesto *et al*, 2011]. A pesar del solapamiento de la etiopatogenia de Ps y APs, la relación entre la intensidad de ambas no siempre es lineal, aunque existe cierta tendencia a una mayor gravedad si afectación intensa de la otra [Haroon *et al*, 2015].

Moll y Wright establecen en 1973 criterios para el diagnóstico de la APs [Moll y Wright, 1973] en base a la presencia de artritis inflamatoria, Ps y factor reumatoide seronegativo. Sin embargo, dichos criterios fueron sufriendo posteriormente modificaciones para aumentar su especificidad hasta llegar a los criterios CASPAR (Classification Criteria for Psoriatic ARthritis, Tabla 1) [Taylor *et al*, 2006] establecidos en 2006, que alcanzan una sensibilidad y una especificidad mayores al 98% [Tillett *et al*, 2012].

Tabla 1 - Criterios CASPAR [Taylor *et al*, 2006]

		Puntos
a	Presencia actual de Ps evaluada por un reumatólogo o dermatólogo	2
	Antecedentes de Ps en la hª clínica del paciente.	1
	Antecedentes de Ps en familiares de 1º o 2º grado.	1
b	Distrofia psoriásica ungueal, observados en la exploración actual	1
c	Factor reumatoide negativo	1
d	Hª actual de dactilitis o antecedentes de dactilitis observada por un reumatólogo	1
e	Evidencia radiográfica de neoformación ósea yuxtaarticular cerca de los márgenes de la articulación (manos y pies)	1

Presencia de enfermedad inflamatoria articular (periférica, espinal o entesis), con 3 o más puntos obtenidos de la suma resultante de las categorías descritas en la tabla

3.5 HISTOPATOLOGÍA

La histología depende tanto de la forma clínica de Ps y como del estadio en el cual la biopsia es realizada. En Ps vulgar [McKee PH, 2005; Gudjonsson y Elder, 2009; Griffiths, 2010; Elston, 2009] se observa una acantosis regular de la epidermis, con columnas con base aplanada que se alternan con papilas dérmicas elongadas con una parte superior de mayor tamaño que contiene vasos dilatados y tortuosos (Figura 4).

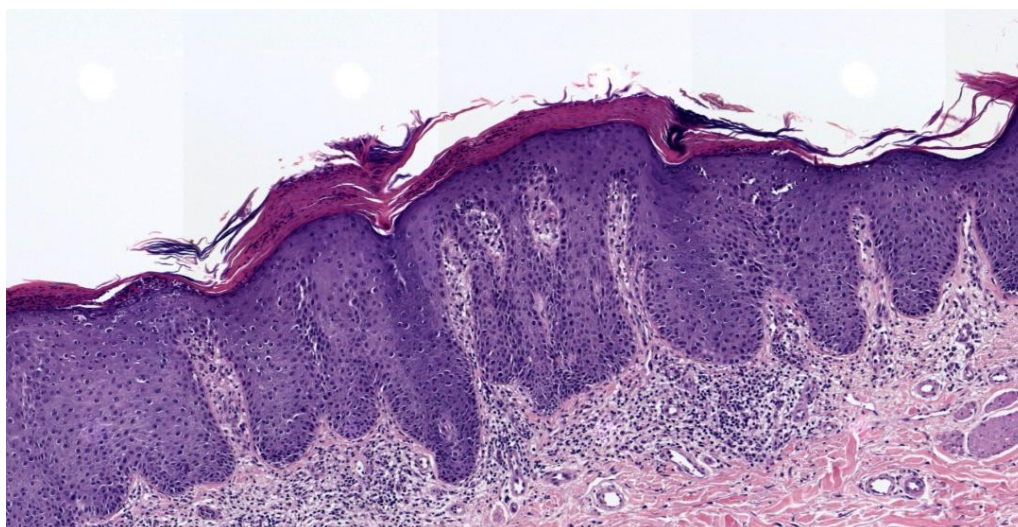


Figura 4 - Imagen histológica de Ps. H-E 40x, acantosis epidérmica, elongación papilar e infiltrado inflamatorio linfocítico dérmico

Esta acantosis (3 a 5 veces el espesor normal) es la expresión histológica de la hiperproliferación queratinocítica, con casi la totalidad de los queratinocitos basales en fase de actividad replicativa frente al 10% que suele observarse en piel normal [Gudjonsson y Elder, 2009]. Sobre el área de las papilas dérmicas se observa sin embargo un adelgazamiento de la epidermis, que además presenta hiperqueratosis con paraqueratosis asociada con una reducción o pérdida de la capa granulosa. Existe también un infiltrado inflamatorio tanto a nivel dérmico, de tipo linfocítico perivascular, como a nivel epidérmico, donde se producen los acúmulos de neutrófilos tipo “microabscesos de Munro” (estrato córneo) y “pústulas espongiiformes de Kogoj” (capa espinosa) [McKee PH, 2005]. Otras formas pueden presentar variaciones en su morfología histológica, como la Ps guttata (mínima acantosis pero con acúmulos de neutrófilos por encima de las zonas con paraqueratosis), o la Ps palmoplantar/Ps invertida, con un fondo de espongiosis en piel adyacente habitualmente no presente en Ps vulgar [Elston, 2009].

3.6 COMORBILIDADES

La Ps presenta una asociación a otras comorbilidades y enfermedades sistémicas, al igual que otras enfermedades inflamatorias inmunológicamente mediadas [Davidovici *et al*, 2010]. En primer lugar, se ha asociado en diferentes estudios a mayor incidencia de obesidad [Wang *et al*, 2008; Langan *et al*, 2012] y DM [Ucak *et al*, 2006; Armesto *et al*, 2012; Armstrong *et al*, 2012; Coto-Segura *et al*, 2013], condicionando por sí misma un mayor riesgo de ECV. En segundo lugar, los pacientes con Ps, comparados con controles emparejados por sexo y edad, tienden a presentar mayores cifras absolutas de glucemia basal, colesterol total, lipoproteína de baja densidad (LDL) y triglicéridos (TG), junto con menor lipoproteína de alta densidad (HDL) [Armesto *et al*, 2012; Langan *et al*, 2012; Bacaksiz *et al*, 2013; Barrea *et al*, 2015].

Sin embargo, el estudio de las comorbilidades metabólicas (HT, DM, DL) asociadas a Ps se ve necesariamente condicionado por las enormes variaciones poblacionales por factores no relacionados con la Ps. Este obstáculo se ha superado mediante la realización de estudios epidemiológicos a gran escala en población caucásica que han demostrado asociación significativa independiente con éstas y otros factores de riesgo cardiovascular (FRCV) como obesidad (englobándose en el concepto general de SM), sexo y edad [Armstrong *et al*, 2012; Langan *et al*, 2012; Jacobi *et al*, 2013; Yeung *et al*, 2013; Danielsen *et al*, 2015].

El SM (obesidad, resistencia a la insulina, alteración del metabolismo de la glucosa, hipertensión arterial (HTA) y dislipemia (DL)) [Grundy *et al*, 2004] puede afectar hasta a casi un 40% de los pacientes [Langan *et al*, 2012; Belinchon *et al*, 2015]. Un metanálisis reciente incluyendo más de 40000 pacientes de Europa, Asia y Norteamérica [Armstrong *et al*, 2013] ha demostrado una mayor prevalencia de SM que la población general y el riesgo de ésta se incrementa según la gravedad e intensidad de la Ps, con Odds Ratio (OR) que difieren entre 1.22 para Ps leve y 1.98 para Ps grave.

Finalmente, la ECV parece ser el escalón final de este proceso, ya que múltiples estudios observacionales parecen sugerir que los pacientes con Ps presentan mayores tasas de aterosclerosis,

insuficiencia cardiaca, enfermedad cerebrovascular y cardiopatía isquémica (CI), aunque los OR varían de forma importante [Gelfand *et al*, 2006; Yeung *et al*, 2013; Coumbe *et al*, 2014]. Por otro lado, un metanálisis reciente en Ps y APs ha mostrado resultados no concluyentes en enfermedad cerebrovascular, no logrando tampoco demostrar aumento significativo en la mortalidad cardiovascular [Horreau *et al*, 2013].

Se ha propuesto la existencia de una base genética poligénica común que incrementaría el riesgo de un estado proinflamatorio crónico en Ps, con mediadores inflamatorios celulares que producirían un efecto pleiotrópico tanto a nivel cutáneo, como en diversas funciones celulares como la angiogénesis, la respuesta celular a la insulina, el metabolismo lipídico y células circulantes del sistema inmune. De forma inversa, dichas comorbilidades podrían influenciar en la patogénesis de la Ps mediante el favorecimiento del estado proinflamatorio en otras localizaciones y la generación de mediadores intercelulares, lo que incrementaría la susceptibilidad al desarrollo de Ps o la gravedad de la Ps preexistente [Davidovici *et al*, 2010; Boehncke *et al*, 2011; Su *et al*, 2013; Hugh *et al*, 2014]. Por ello, se comienza a desarrollar el concepto de “marcha psoriásica” [Boehncke *et al*, 2011] englobando estas comorbilidades dentro de la evolución de la enfermedad psoriásica, y la localización de genes comunes es un campo de gran relevancia actual, incluyéndose en los objetivos de este trabajo.

3.7 FISIOPATOGENIA DE LA PSORIASIS VULGAR

La Ps es una enfermedad casi exclusiva del género humano (existen algunos casos esporádicos en primates) y enormemente compleja a nivel tanto de factores intrínsecos implicados en la predisposición, desarrollo y mantenimiento de la respuesta inflamatoria crónica como a nivel de factores ambientales extrínsecos que inician y mantienen dicho estímulo. A la luz de recientes avances en el conocimiento de los genes implicados y vías inflamatorias implicadas, la tendencia actual es clasificar a la Ps dentro del espectro de las IMID (Immune-Mediated Inflammatory Diseases) [Mrowietz *et al*, 2006; Qu *et al*, 2013], como la EC y otras EII, la APs ó la AR y más recientemente la DM tipo I [Costa *et al*, 2010].

3.7.1 FACTORES DESENCADENANTES

Se han propuesto múltiples factores de inicio o exacerbación de la respuesta inmune [Gudjonsson y Elder, 2009; Griffiths, 2010]:

Traumatismos: fenómeno de Köebner [Gudjonsson *et al*, 2002].

Agentes infecciosos: acción de peptidoglicanos u otros péptidos de origen bacteriano (*Streptococcus*) y activación de la respuesta inmune innata a través del CMH de tipo HLA-C en individuos predispuestos [Elder, 2009; Mak *et al*, 2009; Roberson y Bowcock, 2010]. En VIH se asocia a una Ps más intensa [Morar *et al*, 2010], por un posible efecto desencadenante - coestimulador por antígenos de la cápsula viral, descenso del número de LT CD4 reguladores y producción de IFN- γ por LT CD8 activados por el VIH.

Fármacos: sales de litio, antipalúdicos y antiinflamatorios no esteroideos, junto a muchos otros fármacos.

Factores metabólicos: alteraciones de la homeostasis del calcio [Griffiths, 2010].

Factores hormonales: tanto la atenuación de la enfermedad durante el embarazo y cuadros pustulosos se han relacionado con la interacción de estímulos estrogénicos y determinantes genéticos como HLA-Cw6 [Gudjonsson *et al*, 2002].

Factores psicológicos: el stress actúa como factor desencadenante, prolongador de los brotes y peor respuesta al tratamiento [Farber y Nall, 1993].

3.7.2 INMUNOPATOGENIA

La evidencia de las últimas décadas ha permitido sustituir la hipótesis previa de trastorno queratinocítico primario por una mucho más compleja con base genética [Elder *et al*, 2010] de desregulación del sistema inmune junto con alteraciones en la barrera cutánea [Roberson y Bowcock, 2010], modulada en parte por factores ambientales [Nestle *et al*, 2009].

Dentro de la hipótesis patogénica actual, el sistema inmune presenta una gran relevancia, en base al gran número de trabajos publicados sobre la cantidad, características y actividad de las células inmunes a nivel de las lesiones psoriásicas, la existencia de casos donde trasplantados de médula ósea de donante psoriásico desarrollaron posteriormente la enfermedad [Snowden y Heaton, 1997], y en el hecho de que tratamientos farmacológicos con diana en el sistema inmune tengan actividad terapéutica en la Ps [Kirby y Griffiths, 2002], entre otros. No obstante, también las alteraciones a nivel de la barrera cutánea presentan gran interés con múltiples anomalías en genes relacionados con la proliferación y diferenciación de los queratinocitos [Coto *et al*, 2010; Coto *et al*, 2011].

Según un modelo de integración genético-fisiopatogénico [Elder, 2009; Mak *et al*, 2009; Modlin RL, 2009; Nestle *et al*, 2009; Nestle *et al*, 2009; Elder *et al*, 2010; Roberson y Bowcock, 2010], el proceso fisiopatogénico (Figura 5) podría dividirse en:

Fase preclínica o silente: En individuos genéticamente predisuestos (como por ejemplo aquellos con disfunción de la vía *IL12/23* [Nair *et al*, 2008] o del NF- κ B y genes relacionados *TNFAIP3* y *TNIP1* [Nair *et al*, 2009; Elder *et al*, 2010; Gonzalez-Lara *et al*, 2013]), un evento actuaría como desencadenante de una respuesta inflamatoria mantenida cutánea de baja intensidad. Se ha tratado de asociar este evento con una reacción a antígenos circulantes bacterianos (infección estreptocócica orofaríngea), presentados mediante mecanismos HLA como el péptidoglicano bacteriano [Roberson y Bowcock, 2010]. Sin embargo, no siempre es posible demostrar la presencia circulante de estos antígenos, y el ADN citosólico de las propias células podría actuar también como autoantígeno en el contexto de una barrera cutánea alterada (lo que enlazaría con el aumento de riesgo para Ps detectado relación a deleciones en *LCE* [Coto *et al*, 2010]).

El reconocimiento de neoantígenos de uno u otro tipo a nivel cutáneo desencadenaría un mecanismo de ruptura de la tolerancia inmunológica innata mediado por la sobreexpresión de péptidos antimicrobianos con funciones de activación y regulación de la inflamación (como la catelicidina LL37 [Chiliveru *et al*, 2014; Lande *et al*, 2014]) y su combinación con el ADN para su reconocimiento mediante el sistema HLA por LT de la inmunidad adaptativa. También se produciría un aumento de la permeabilidad de la membrana basal debido a la hiperactividad de macrófagos y otras células inflamatorias, permitiendo el paso de mastocitos y fibronectinas a la epidermis e induciendo hiperproliferación de los queratinocitos, mediada por múltiples genes localizados en su mayoría en el loci *PSORS4* [Elder, 2009] y nuevamente una mayor producción de péptidos antimicrobianos [Nestle *et al*, 2009; Elder *et al*, 2010], determinantes en el mantenimiento posterior de la respuesta.

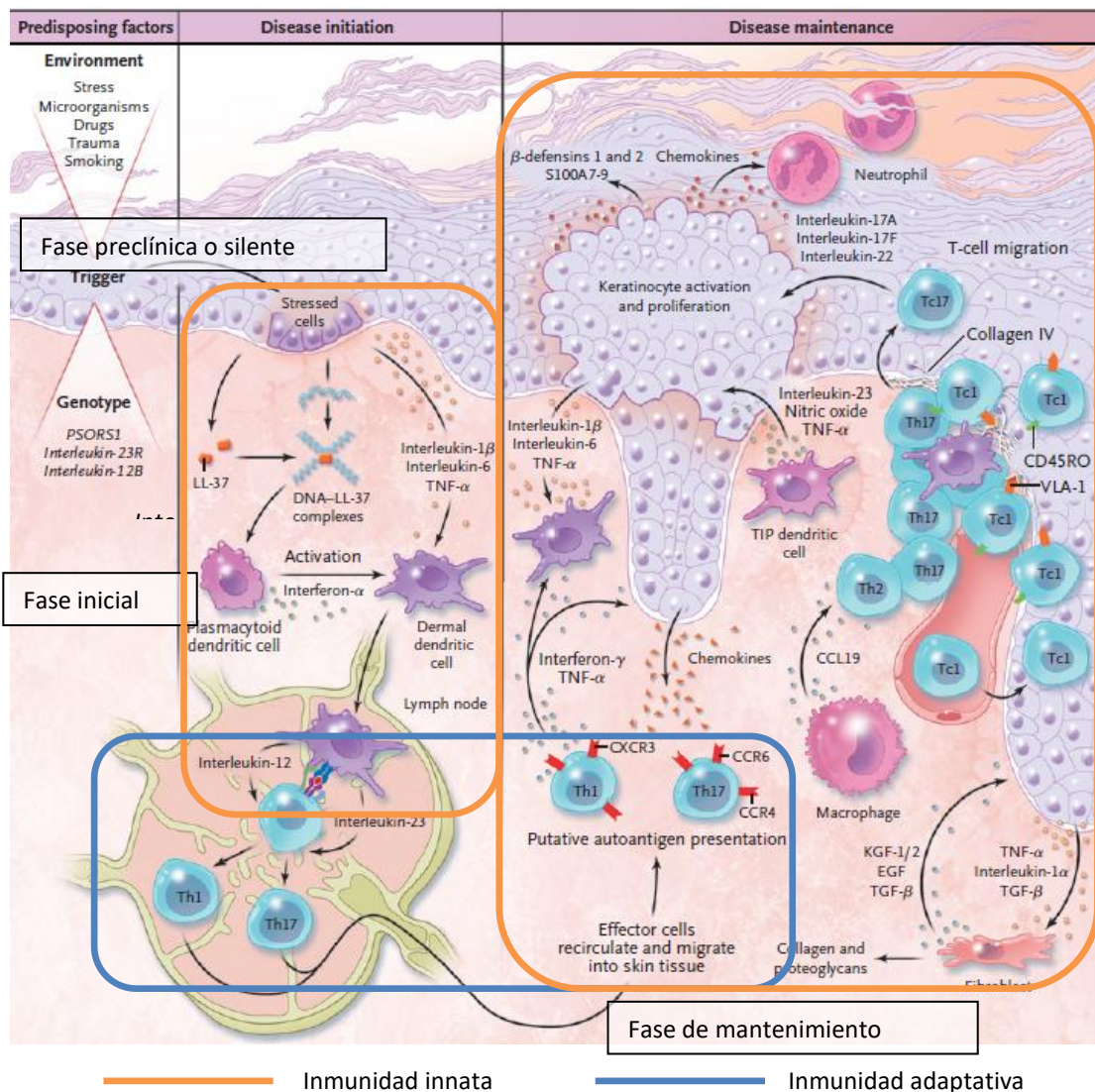


Figura 5 - Modelo fisiopatológico de la Ps. Reproduced with permission from Nestle FO, Kaplan DH y Barker J. Psoriasis. *N Engl J Med*. 2009; 361(5): 496-509 [Nestle *et al*, 2009], Copyright Massachusetts Medical Society. Modificado para establecer las fases de la enfermedad, se remarca la integración de mecanismos y células efectoras tanto de la inmunidad innata (recuadros naranjas) como adaptativa (recuadro azul)

Fase inicial: La exposición a dichos péptidos, en particular al complejo formado por LL-37 y ADN de los queratinocitos dañados, llevaría a la activación por receptores *Toll-like* de células dendríticas plasmocitoides locales [Mak *et al*, 2009]. Éstas comenzarían a secretar de forma masiva IFN- α , produciéndose la activación de células dendríticas mieloides de la dermis (DDC) [Nestle *et al*, 2009] y emigración a ganglios linfáticos regionales. Allí, el subgrupo principal de LT se diferenciaría hacia un fenotipo Th17/LTct17 debido a la influencia de IL23 [Lee *et al*, 2004; Chan *et al*, 2006] e IL1 y a la regulación negativa de la vía Th2. Ello enlaza con las alteraciones detectadas en la vía *IL12B/IL23R* (sugiriendo posible hiperproducción de IL23 ó hiperactivación de su receptor) e *IL4* y *IL13* (cuya hipofunción favorecería la vía Th1 e IFN- γ , estimulando la producción de IL23) [Williams IR, 2009; Elder *et al*, 2010].

Sin embargo, las células dendríticas plasmocitoides locales no son las únicas células implicadas, otros tipos celulares también pueden secretar citocinas proinflamatorias que contribuirían a la activación de las DDC y a la inflamación local, como los propios queratinocitos (IL1 β , IL6, TNF- α), las NK (IFN- γ), las células dendríticas tipo TIP (IL23, óxido nítrico y TNF- α), los macrófagos (TNF- α) [Nestle *et al*, 2009] o los neutrófilos (IL17A) [Reich *et al*, 2015].

Fase de mantenimiento: Una vez diferenciados linfocitos efectores en los ganglios simpáticos locales, éstos expresarían receptores de asentamiento en la piel (CLA) y se incorporarían al torrente circulatorio, abandonándolo gracias a la interacción de receptores específicos (CCR6, CCR10, CCR4, CXCR3, integrinas y otros) [Hwang, 2009] de sustancias quimiotácticas (selectinas, moléculas de adhesión intercelular de las células endoteliales y células vasculares) expresadas por los vasos activados de la lesión psoriásica [Nestle *et al*, 2009; Elder *et al*, 2010].

Ya en la dermis, estos LT-CLA se unirían a autoantígenos y favorecidos por el ambiente proinflamatorio local, tanto linfocitos T helper (LTh) en dermis como linfocitos T citorreguladores (LTct) en epidermis (donde emigran por la interacción de la integrina VLA-1 y el colágeno tipo IV) comenzarían la secreción de diversos mediadores. Estas sustancias, incluyendo TNF- α e IFN- γ (LT1) o IL17A, IL17F e IL22 (LT17), actuarían sobre los queratinocitos produciendo una proliferación masiva y activación, con la consiguiente secreción de más interleucinas, citocinas (TNF α , IL8, CCL20...), factores de crecimiento [Detmar *et al*, 1994] y péptidos antimicrobianos, contribuyendo al mantenimiento crónico de la reacción inflamatoria [Nestle *et al*, 2009; Elder *et al*, 2010]. Además, dentro de este complejo proceso también otras células tanto de tipo inmune como constitutivas del tejido cutáneo (macrófagos, LTh2, NK, neutrófilos, células endoteliales, fibroblastos...) jugarían un papel importante mediante la secreción de diversos mediadores intercelulares [Nestle *et al*, 2009; Reich *et al*, 2015].

3.7.3 EJE IL23/LTh17 EN INFLAMACIÓN CRÓNICA, AUTOINMUNIDAD Y PSORIASIS

En 1989, Mosmann y colaboradores describieron dos tipos de LTh (LTh1 y LTh2) según el patrón de secreción de citocinas y las propiedades funcionales asociadas [Mosmann y Coffman, 1989], lo que provocó el análisis del patrón predominante de expresión de citocinas en las diversas enfermedades con componente

inflamatorio y su clasificación según el LTh predominante. En Ps, durante años la inmunopatogenia se clasificó como LTh1, debido a la observación de infiltrados inflamatorios con abundantes LTh1 CD4+ y secreción predominante de IFN- α en las lesiones. Sin embargo, esta secreción, que junto con la de IFN- γ , IL2 y TNF- α ocurre únicamente tras su diferenciación, precisaba de la acción de una citoquina específica, IL12 [Williams IR, 2009].

Hasta el año 2000, IL12 se encontraba en una categoría morfológica aparte del resto de citocinas conocidas por ser un heterodímero de p35 (proteína específica, similar morfológicamente a la IL6 y el G-CSF) e IL12p40 (p40) [Lupardus y Garcia, 2008]. Producida por las células presentadoras de antígeno y algunos linfocitos de tipo B (LB) en respuesta a antígenos bacterianos, tiene funciones inmunorreguladoras contra patógenos bacterianos intracelulares y estimula la actividad antitumoral y de las NK. Sin embargo, en ese año es descubierta una nueva molécula denominada p19 (similar a p35 pero con receptores homólogos a gp130) [Oppmann *et al*, 2000] que junto a p40 formaba un nuevo heterodímero denominado IL23. Producido también por células dendríticas activadas, mostraba una actividad parcialmente superponible a IL12 aunque añadía una capacidad inductora de proliferación de LT de memoria (CD45RO). A su vez, su receptor específico (IL23R) morfológicamente también es un heterodímero que comparte subunidad (IL12R β 1) con IL12R (Figura 6).

Los estudios iniciales en ratones genéticamente modificados para presentar deficiencia de IL23 ó IL12 mostraron que animales deficitarios en IL23 eran altamente resistentes al desarrollo de enfermedades autoinmunes e inflamación [Cua *et al*, 2003], mientras que la pérdida de IL12 no mostraba dicho efecto [Murphy *et al*, 2003]. Además, otros estudios donde se trató de asociar Ps y mayor producción sérica de IL12 en respuesta a antígenos bacterianos (LPS) no encontraron evidencia significativa de este hecho, lo que contribuyó a consolidar la hipótesis acerca del papel predominante de IL23 [Litjens *et al*, 2004].

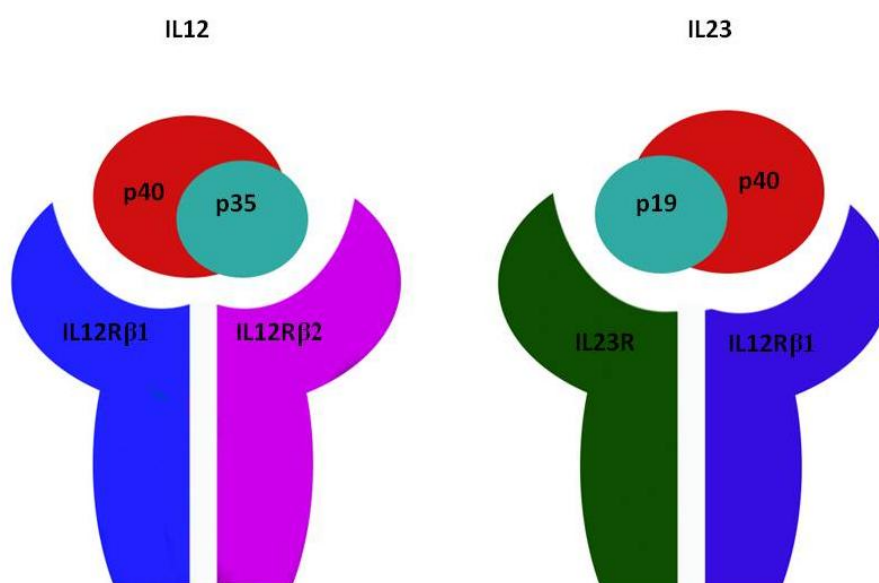


Figura 6 - Estructura de IL12, IL23 y sus respectivos receptores heterodímeros

Al profundizar en el estudio de IL23 y los LTh diferenciados bajo su influencia, se observó que pertenecían a un subgrupo de células (LTh17) descubiertas en 1995 por Yao [Yao *et al*, 1995], con producción predominante de IL17 y que éstas se relacionaban con procesos de autoinmunidad e inflamación en modelos animales. Sin embargo, la diferenciación a este fenotipo es compleja, dado que los modelos animales no poseen IL23R y precisan de varios pasos intermedios mediados por TNF- β e IL6 [Veldhoen *et al*, 2006], mientras que en humanos también se ha detectado un pequeño subgrupo de LT precursor LT CD161+ [Romagnani *et al*, 2009], que expresa IL23R pero necesita de IL1 β e IL23 para diferenciarse a LTh17.

IL23 (Figura 7) induce producción de IL17A, IL17F [Nozato *et al*, 2011], IL21 (amplificadora de la respuesta Th17 junto a TGF- β), IL22 e IL26 [Di Cesare *et al*, 2009]. Además, IL23 también produce una supresión de la vía Th1 al regular IL10 e IFN- γ , estabilizando el fenotipo Th17 [Di Cesare *et al*, 2009; Miossec *et al*, 2009], mientras que IL17E (renombrada IL25 y secretada por LTh2) [Di Cesare *et al*, 2009] actúa como uno de los factores de autorregulación negativa de esta vía.

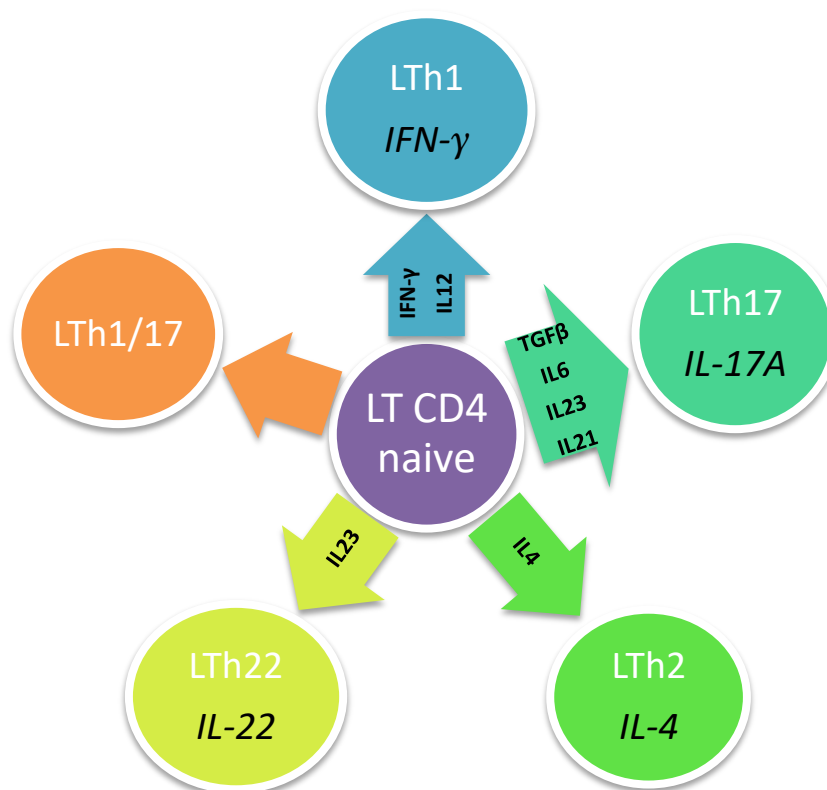


Figura 7 - Diferenciación de LTh, citocinas implicadas y producidas por los LTh (negrita cursiva)

IL17 produce una respuesta inflamatoria neutrofílica local rápida ante estímulos bacterianos extracelulares y fúngicos [Di Cesare *et al*, 2009; Mak *et al*, 2009]. Sin embargo, aunque la producción de IL17 se realiza predominantemente por la vía IL23/IL17 – Lth17, también se han identificado LTh de fenotipo mixto Th1-17 que producen IFN- γ e IL17 [Annunziato *et al*, 2007; Di Cesare *et al*, 2009] y otras células del sistema inmune (LT CD8+, NK...) con capacidad de secreción de IL17A [Di Cesare *et al*, 2009].

En la patogenia de Ps y APs la vía IL12/23 ha demostrado tener un rol crucial, con modelos experimentales murinos donde la inyección de IL23 o la sobreexpresión de IL12/23p40 en queratinocitos de ratón provocaban la formación de eritema, induración y crecimiento vascular dérmico de morfología psoriasiforme [Kopp *et al*, 2003; Chan *et al*, 2006] y la demostración en humanos del aumento de IL23 en las lesiones cutáneas de Ps (procedente en su mayor parte de células dendríticas a ese nivel aunque podría existir cierta secreción queratinocítica [Lee *et al*, 2004; Piskin *et al*, 2006]). La prueba de concepto final ha sido el efecto de los tratamientos sobre los niveles locales de IL23 en pacientes con Ps [Piskin *et al*, 2004; Gottlieb *et al*, 2005], y el desarrollo de moléculas dirigida a inhibir la vía IL12/IL23/IL17, denominadas Ustekinumab (anti p40) [Kauffman *et al*, 2004; Papp *et al*, 2008] y Secukinumab/Ixekizumab (anti IL17A) [Paul *et al*, 2015; Gordon *et al*, 2016], ya comercializadas, junto a otras moléculas terapéuticas de próxima aprobación (actualmente en fases II y III) que enfocan como dianas terapéuticas como IL17R (Brodalumab), IL23 (Guselkumab, Tildrakizumab, BI 655066) [Crow, 2012], entre otras.

En APs, también se ha demostrado sobreexpresión de IL23 en la entesis de modelos animales y en pacientes [Sherlock *et al*, 2012; Marinoni *et al*, 2014], provocando una expresión aumentada de IL17 e IL22 a dicho nivel [Noordenbos *et al*, 2012; Benham *et al*, 2013]. El bloqueo de IL17 parece también una diana prometedora en APs, aunque solo muy recientemente se han comenzado a describir las poblaciones celulares moduladas por IL23 implicadas en la patogenia a nivel de la entesis [Sherlock *et al*, 2012; Sherlock *et al*, 2015] y con la aprobación de esta indicación en un fármaco anti IL17 en el año 2016 [Kavanaugh *et al*, 2016].

3.7.4 BASES GENÉTICAS DE LA PSORIASIS VULGAR

Los estudios poblacionales realizados durante los años 60-70 del siglo XX mostraron que la incidencia de Ps vulgar era mayor entre sujetos relacionados que en población general (7.8% en familiares de primer grado frente a 3.14% en controles) [Campalani y Barker, 2005]. A su vez, también se realizaron estudios de concordancia en gemelos y mellizos [Farber *et al*, 1974], observándose una mayor concordancia en la presentación de la enfermedad en hermanos monocigóticos frente a hermanos dicigóticos (dos a tres veces mayor), lo que apoyaba la teoría de una base genética. Posteriormente en la década de los 80 se estimaría este riesgo relativo de Ps en la unidad familiar, donde para un recién nacido las probabilidades de padecer Ps a lo largo de la vida serían de un 14% si un progenitor estaba afecto, del 41% si ambos estaban afectados y del 6% si un hermano padecía Ps, frente a la prevalencia de un 2% en población general [Griffiths, 2010].

Sin embargo, hechos como la imposibilidad de hallar un patrón de herencia monogénico simple en los estudios de agregación familiar y la heredabilidad que también aumentaba a medida que existían más parientes afectados de Ps incluso en hermanos dicigóticos, orientaban hacia un origen complejo multigénico junto con un componente ambiental [Campalani y Barker, 2005].

Los primeros métodos de estudio genético utilizados en Ps fueron el análisis de ligamiento genético en unidades familiares, los *allele-sharing methods* (incluyendo el análisis de *sib pairs*) y modelos

experimentales en animales, que permitían localizar de manera aproximada las zonas de mayor variabilidad posiblemente relacionada con la enfermedad (genética posicional) [Lander y Schork, 1994].

3.7.4.1 ESTUDIOS DE LIGAMIENTO Y ASOCIACIÓN GENÉTICA

Las primeras investigaciones se centraron inicialmente en los genes del sistema HLA. La región MHC (complejo mayor de histocompatibilidad) se localiza en el brazo p del cromosoma 6 y contiene más de 250 genes relacionados con el funcionamiento del sistema inmune humano, siendo una de las de mayor variabilidad de todo el genoma humano. Sin embargo, presenta un gran desequilibrio de ligamiento (LD), lo que permitió su estudio temprano mediante métodos serológicos y estudios de asociación genética en dicha área [Cardon y Bell, 2001].

El primer trabajo relacionado con la variabilidad genética de la Ps fue un estudio de ligamiento de 1978 sobre la relación entre variantes HLA y la edad de inicio de la Ps [Brenner *et al*, 1978]. Sin embargo, el estudio clásico más conocido es el de Henseler de 1985 [Henseler y Christophers, 1985] sobre las diferencias entre la Ps tipo 1 y la Ps tipo 2 donde se estratificó a más de 2000 pacientes según la edad de inicio y analizó los alelos HLA en una muestra randomizada de 185 de ellos, observando una mayor presencia de pacientes HLA-Cw6 en el grupo de inicio temprano. Posteriormente dicho hallazgo fue replicado en diferentes poblaciones, describiéndose una mayor intensidad y agrupación familiar de la enfermedad junto con una mayor incidencia de Ps guttata [Ferrandiz *et al*, 2002]. En Ps tipo 2 también se describieron asociaciones menos intensas con otros tipos de HLA (Cw2, B27, Cw5), aunque la mayoría no mantuvieron esa asociación en posteriores estudios [Campalani y Barker, 2005]. Esta asociación del HLA-C con la Ps se ha atribuido predominantemente a su papel en la respuesta inmune mediante la presentación de antígenos a los LT CD8 epidérmicos de las lesiones psoriásicas [Elder, 2009], pero además también juega otro papel como puente entre la inmunidad innata y adquirida mediante su unión a las NK, productoras de IFN.

En APs, aunque de forma posterior, también se ha observado asociación a genes HLA-C, pero diversos estudios sobre HLA-Cw6 no han mostrado aumento de la asociación significativa de este alelo una vez estratificado para el tipo de Ps cutánea [Filer *et al*, 2008; Elder, 2009]. Sin embargo, la variante HLA-B27 (presente en el 90-95% de los pacientes con espondilitis anquilosante (EA) [Sherlock *et al*, 2015]), aunque no se encuentra significativamente aumentada de forma global con respecto a controles en los pacientes con APs, sí se ha asociado a una mayor incidencia de afectación axial y a una aparición precoz de los síntomas de APs axial en los pacientes HLA B27+, de forma similar a la asociación de Ps y HLA-Cw6 [Queiro *et al*, 2016]. Ello se cree en parte a que dicha variante del HLA es proclive a cometer errores en su plegamiento produciendo homodímeros que desencadenan la producción de IL23 y la expansión de clones de LTh17 altamente sensibles a IL23, aunque estos hallazgos han sido demostrados en AR y pudieran no ser extrapolables en su totalidad a la APs [Sherlock *et al*, 2015].

En los años 90 el uso de los estudios de ligamiento genético llevó a la detección de más áreas de variabilidad del genoma o loci asociados a un incremento del riesgo de Ps, que denominados PSORS y

numerados 1 – 13 [Puig *et al*, 2014]. Permitieron formular hipótesis iniciales sobre los genes que podían estar asociados a un incremento de riesgo para la Ps, aunque no permitiesen diferenciar entre los genes contenidos en dichos loci y que se heredan de forma agrupada. Por ello, aunque los PSORS 1-9 y algunos de los genes localizados en ellos fueron establecidos mediante los estudios de ligamiento-asociación, hubo de esperarse al desarrollo de las técnicas de asociación genética para la detección del resto de PSORS y una identificación más precisa de genes candidatos (Tabla 2).

Tabla 2 - Resumen de los PSORS 1-13, localización y genes identificados

Locus	Localización	OMIM	Genes asociados
PSORS 1	6p21.3	612410	<i>HLA-C, CDSN, CCHR1, HERV-K, HCG27, PSORIC23, POU5F1, TCF19, LMP, SEEK1, SPR1</i>
PSORS 2	17q24-25	607211	<i>CARD14, SLC9A3R1, NAT9, RAPTOR</i>
PSORS 3	4q34	601454	<i>IRF-2</i>
PSORS 4	1q21	603935	<i>S100, SPRR, PGLYRP3, PGLURP4, LCE, filagrina, loricrina y otros genes del complejo de diferenciación epidérmica</i>
PSORS 5	3q21	604316	<i>SLC12A8, cistatina A, ZNF148</i>
PSORS 6	19p13-q13	605364	<i>JunB</i>
PSORS 7	1p35-p34	605606	<i>PTPN22, IL23R</i>
PSORS 8	16q	610707	<i>CX3CL1, CX3R1, NOD2/CARD15</i>
PSORS 9	4q31	607857	<i>IL15</i>
PSORS10	18p11	612410	
PSORS 11	5q31-q33	612599	<i>IL12B</i>
PSORS 12	20q13	612950	<i>ZNF313/RNF114, ubiquitina ligasa E3</i>
PSORS 13	6q21	614070	<i>TRAF3IP2</i>

Adaptado de Puig *et al* [Puig *et al*, 2014] y Duffin *et al* [Duffin y Krueger, 2009]

Los estudios de asociación, que aplicaron los descubrimientos de las técnicas previas con enfoque familiar a una estructura caso-control que compare individuos no relacionados afectos o no por una determinada enfermedad o característica, tienen como objetivo el estudio de la presencia de un alelo en un gen de interés o gen candidato asociado a una frecuencia significativamente mayor en individuos afectados [Roberson y Bowcock, 2010]. Sin embargo, seguían siendo una aproximación limitada en el estudio de entidades genéticas complejas como la Ps [Lander y Schork, 1994], debido en parte al pequeño tamaño de las cohortes utilizadas por los estudios de asociación genética, que no permitía la potencia estadística en muchos loci para identificar de forma conclusiva el gen [Smith *et al*, 2009; Tsoi *et al*, 2012].

PSORS1 es el locus más importante [Nair *et al*, 2006], y responsable del aproximadamente 35-50% de la heredabilidad de la enfermedad al contener *HLA-C*. Corresponde a una sección de aproximadamente 220 kb (kilopares de bases) en el cromosoma 6p, localizada dentro del MHC en la región telomérica del *HLA-C*. Contiene cerca de 10 genes, tres de los cuales han sido relacionados con la Ps mediante el estudio de sus polimorfismos genéticos [Griffiths, 2010]: *HLA-C* (variante *HLA-Cw6*), *CCHCR1* (variante *WWCC*, *Coiled coil x-helical rod protein 1*, sobreexpresada en epidermis psoriásica) y *CDSN* (variante alelo 5, responsable de la corneodesmosina, proteína de la capa granulosa y córnea sobreexpresada en Ps). Sin embargo, *PSORS1* presenta heterogeneidad genética en las diferentes variantes clínicas, con una importante influencia en Ps guttata y en Ps tipo I mientras que muy escasa o nula influencia en Ps tipo II, en poblaciones no caucásicas y en Ps pustulosa palmoplantar [Christophers, 2003; Elder, 2009].

En relación al resto de loci, pueden destacarse *PSORS4*, localizado en la región del complejo de diferenciación epidérmica (1q21), que contiene genes como la involucrina [Chen *et al*, 2009], *S100* y *LCE* [Coto *et al*, 2010]; y *PSORS8*, que muestra un solapamiento con el locus relacionado con la EC en 16q [Nair *et al*, 1997].

3.7.4.2 ESTUDIOS GENOME-WIDE ASSOCIATION (GWAS)

La realización de un GWAS consiste en el análisis de miles de variantes de alelos de múltiples puntos a lo largo del genoma en grandes cohortes de pacientes y controles [Pearson y Manolio, 2008]. Permiten detectar variantes genéticas con escaso peso (a diferencia de las técnicas de asociación genética previas) en la carga genética de enfermedades de origen complejo, pero no dónde está el defecto causal de la enfermedad, precisando estudios funcionales posteriores. Desde el primer GWAS sobre degeneración macular de la retina en 2005 [Klein *et al*, 2005], ya se han analizado los genomas de cientos de miles de individuos en más de 200 enfermedades [Johnson y O'Donnell, 2009] y han sido hallados cerca de 5000 SNPs.

Con respecto a su metodología, en los GWAS se utiliza un enfoque caso-control con grandes grupos de pacientes afectados por una enfermedad determinada y un grupo de controles sanos, genotipando en todos los individuos un gran número de SNPs (existiendo actualmente una base de datos de varios millones obtenidos de proyectos colectivos como el HapMap [International HapMap *et al*, 2007]). Una vez realizado, se analiza cada uno de ellos para ver si la frecuencia del alelo es significativamente diferente en el grupo de pacientes frente a los controles, mediante el cálculo de la OR y significación estadística (p). Generalmente se realiza en dos etapas, ya que una vez hallados un gran número de SNPs en el estudio inicial, suele realizarse una segunda fase del estudio para la validación y cribado de los SNPs asociados en una nueva cohorte de pacientes. Este gran volumen de datos y material genético a analizar exige unos requerimientos técnicos complejos, por lo que han sido necesarios múltiples avances tecnológicos y científicos previos (creación de biobancos, microarrays para genotipado simultáneo de múltiples SNPs, la creación en 2003 del International HapMap [International HapMap, 2003]) para la expansión actual de esta técnica.

Debido al enfoque Common Disease Common Variant [Oka *et al*, 2012] utilizado hasta ahora, las OR obtenidas suelen ser significativas pero de escasa magnitud [Manolio, 2010]. Por ello la mayoría de los SNPs detectados se asocian con muy escaso incremento del riesgo de enfermedad, por lo que por el momento no pueden ser utilizados con valor pronóstico en la práctica clínica habitual. La mayor limitación de los GWAS es la selección de la muestra, resultando necesaria una adecuada estratificación (por sexo, edad, características fenotípicas...) y también etnia y localización geográfica, lo que hace necesaria la realización de estudios de validación por otros investigadores.

3.7.4.3 ESTUDIOS GWAS EN PSORIASIS

La realización de GWAS en Ps durante la década pasada ha tenido una gran relevancia identificando nuevos loci donde se encuentran genes relacionados con la patogenia de la Ps, cambiando radicalmente la

concepción existente de los mecanismos patogénicos de la enfermedad y estimulando el desarrollo de nuevos enfoques terapéuticos.

En el primer estudio con metodología GWAS a gran escala se identificó la primera zona asociada a Ps no HLA, en la región 3' del *IL12B*. Aunque no propiamente un GWAS pero de mucha mayor amplitud y complejidad que los estudios de asociación previos, fue publicado en el año 2007 por Cargill y colaboradores [Cargill *et al*, 2007]. Se evaluaron alrededor de 25000 SNPs en 1446 pacientes con Ps caucásicos del estado de Utah, en tres fases: descubrimiento (467 pacientes y 500 controles) y replicación 1 (498 pacientes y 498 controles), detectando una asociación significativa de *IL12Brs3212227* e *IL12Brs6887695*; y finalmente una segunda fase de replicación (481 pacientes y 424 controles) confirmando la asociación. Poco después, otro estudio realizado de forma paralela con similar metodología pero menor número de pacientes (318 frente a 288 controles) [Capon *et al*, 2007] también confirmó la asociación de variantes genéticas en *IL12B* con la Ps. A partir de entonces, los descubrimientos se suceden de forma vertiginosa y un tercer GWAS en 2008 [Liu *et al*, 2008] no solo confirma la asociación de los genes *IL12B* e *IL23R* con la Ps sino también con la APs (Figura 8).

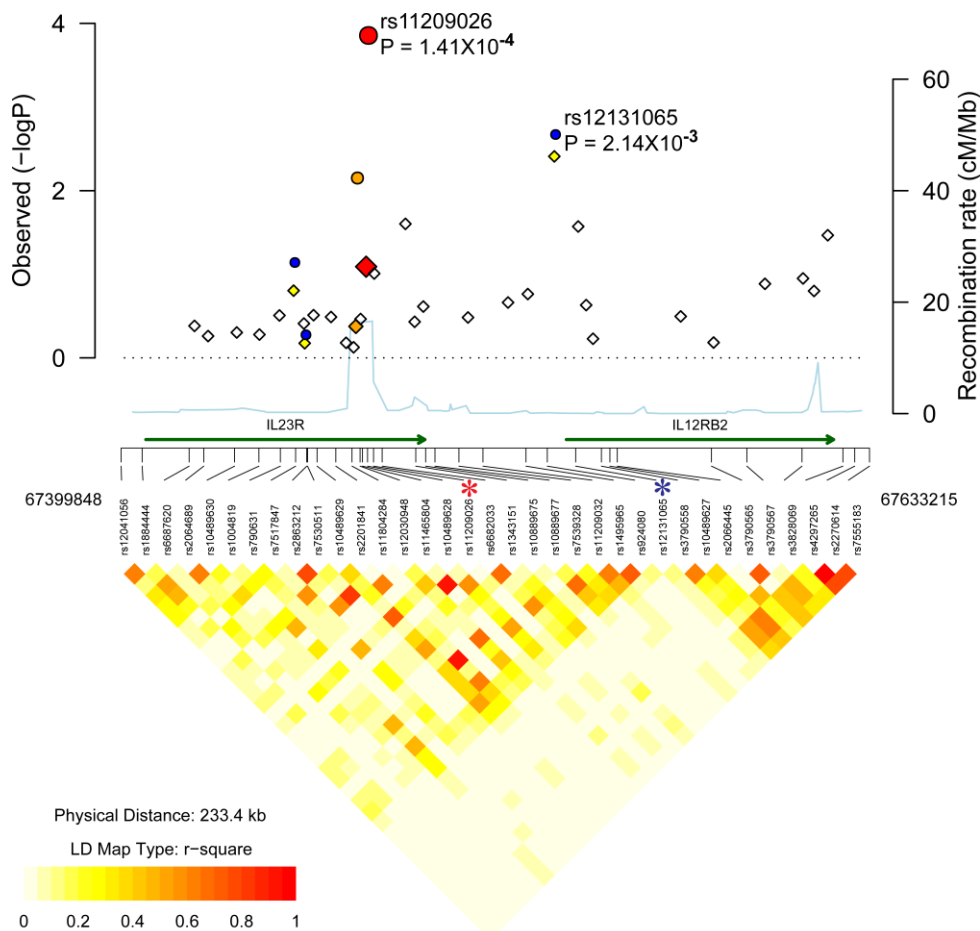


Figura 8 – Variación genética en la región *IL23R*. Resultados del estudio de Liu y colaboradores [Liu *et al*, 2008]: En la parte superior, SNPs de la fase de descubrimiento (rombos) junto con los valores correspondientes a la suma de resultados de las fases de descubrimiento y replicación en aquellos estudiados en la siguiente fase. Los más asociados (*rs11209026* y *rs12131065*) se indican con un asterisco en la representación figurada de su localización en el gen. En la parte inferior: representación gráfica del desequilibrio de ligamiento (LD) de los genotipos estudiados. Reproducido siguiendo la licencia creativa disponible para esta imagen (doi:10.1371/journal.pgen.1000041.g003)

Entre 2009 y 2010 se publican múltiples GWAS que analizan el papel de la variación genética en la región del CMH, la vía IL12/23 y la inmunidad adaptativa, la inmunidad innata (sobre todo relacionada con la vía NF κ B) y la barrera cutánea [Chen *et al*, 2009; Elder, 2009; Feng *et al*, 2009; Huffmeier *et al*, 2009; Nair *et al*, 2009; Zhang *et al*, 2009; Ellinghaus *et al*, 2010; Nair *et al*, 2010; Strange *et al*, 2010; Stuart *et al*, 2010; Sun *et al*, 2010]. Sus resultados incrementan de manera muy importante el número de genes identificados y permiten la realización de los primeros modelos de integración genético-patogénica de la Ps [Nestle *et al*, 2009]. A destacar también es el Collaborative Association Study of Psoriasis (CASPs) de 2009 [Nair *et al*, 2009] donde se identificaron genes de la inmunidad innata NF κ B (*TNFAIP3* y *TNIP1*), previamente relacionados con lupus eritematoso o AR.

Además, los GWAS comienzan a incluir otras fuentes de variabilidad genética, como análisis de la variación genética por número de copias [Zhang *et al*, 2009], identificación de mecanismos epistáticos (interacciones complejas entre genes al expresar un carácter fenotípico debido a la modificación de su acción por otros genes) entre CMH, LCE e *IL12B* [Zheng *et al*, 2011], entre otras.

En los últimos cinco años la detección de genes candidatos con estos estudios y su posterior confirmación mediante genotipado y secuenciación ha añadido genes como *STAT3*, *DDX58*, *MBD2*, *CARM1* [Tsoi *et al*, 2012], *eNOS* [Coto-Segura *et al*, 2011], *Leptin1* [Abdel Hay y Rashed, 2011] o *CARD14* [Tsoi *et al*, 2012; Gonzalez-Lara *et al*, 2013]. En 2012, Tsoi y colaboradores describen 15 nuevos loci relacionados con la Ps, contabilizándose entonces 34 loci que alcanzaban significación [Tsoi *et al*, 2012]. Tan solo cuatro años después, ya son 41 los loci descritos en población caucásica relacionados con Ps [Das *et al*, 2015; Tsoi *et al*, 2015] (aunque hay autores que aumentarían este número hasta 70 [Stuart *et al*, 2015]) implicando un gran número de genes de inmunidad adaptativa, barrera epidérmica, inmunidad innata y asociación con otras enfermedades como los polimorfismos en *IL12B* e *IL23R* con la EC [Capon *et al*, 2007] o *CDKAL1* con EC y DM tipo I [Smith *et al*, 2009].

Sin embargo, solo algunos de estos genes, entre los que se incluyen *IL12B* e *IL23R*, además de *HLA-C*, *TNIP* y *TRAF3IP2*, han logrado alcanzar significación GWAS tanto en Ps como en APs en población caucásica. Ello indica una importante variabilidad genética-fenotípica geográfica en estas enfermedades y exige validación de resultados en diferentes poblaciones.

Aunque el riesgo relativo de cada uno de dichos genes por separado sea bajo (un 0.045% en el caso de *IL23Rrs11209026*, por poner un ejemplo [Chen *et al*, 2011]), estos loci aportarían aproximadamente el 14% de la variación en el riesgo genético de la Ps [Das *et al*, 2015]. La importancia del estudio de dichos genes reside en la identificación y mejor conocimiento de las vías patogénicas que se activan en la Ps, como la vía IL12/23; junto con el análisis de posibles interacciones o sinergias entre todos estos genes que puedan justificar cambios en la susceptibilidad a la enfermedad [Duffin y Krueger, 2009]. Y a su vez, aún persiste una importante fuente de variabilidad genética no conocida en Ps, que podría deberse a variantes raras o a regiones intergénicas, aunque los avances en la secuenciación del exoma completo que ya comienzan a

realizarse en otras patologías [Kosmicki *et al*, 2016] o la combinación de resultados de GWAS en metanálisis [Tsoi *et al*, 2015; Yin *et al*, 2015] posiblemente ayuden a despejar esta incógnita en un futuro cercano.

3.7.5 *IL12B* Y PSORIASIS VULGAR

El estudio de la vía *IL12/23* mediante el uso de GWAS comenzó a finales de la década pasada [Capon *et al*, 2007; Cargill *et al*, 2007], aunque autores como Tsunemi [Tsunemi *et al*, 2002] ya habían publicado estudios de menor extensión sobre polimorfismos en la región promotora de *IL12B* y el riesgo de Ps.

IL12B (Entrez Gene: 3593) se localiza en la región 5q31.1-q33.1 del cromosoma 5 y codifica la subunidad común p40 de *IL12* e *IL23* (Figura 9). Estudios previos habían mostrado que alteraciones en la secuencia de *IL12B* se relacionaban con una forma rara de inmunodeficiencia con susceptibilidad para las infecciones por micobacterias [Cargill *et al*, 2007]. Tiene una longitud de 16605 bases y se compone de 8 exones, aunque el inicial (promotor) y el final no son codificantes.

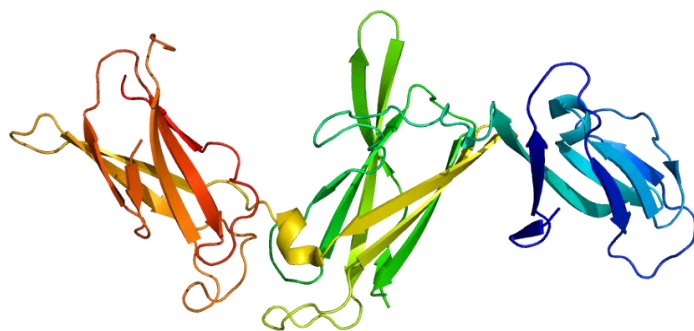


Figura 9 - Modelo de la estructura de la proteína p40. Imagen obtenida de acuerdo a la licencia Creative Commons Attributions-Share Alike 3.0 via Wikimedia Commons, del autor Emw

El resultado más relevante del trabajo de Tsunemi [Tsunemi *et al*, 2002] fue la identificación de un polimorfismo denominado *rs3212227* (A>C), localizado en la región 3'-UTR de *IL12B*, con una asociación altamente significativa a Ps. Este resultado fue posteriormente replicado por Cargill [Cargill *et al*, 2007] y otros autores [Capon *et al*, 2007; Nair *et al*, 2008; Smith *et al*, 2008; Nair *et al*,

2010] reafirmando la asociación del alelo más frecuente de este SNP (*rs3212227-A*) y Ps.

Un genotipado más preciso de *IL12B* reveló que existía otro SNP asociado a un mayor riesgo de Ps a una distancia de 60 kb de *IL12B*, denominado *rs6887695* (G>C) [Cargill *et al*, 2007]. Combinando ambos SNPs, se analizó el efecto del haplotipo *rs3212227-A/rs6887695-G* en individuos homocigotos, observándose una OR de 1.40 ($p = 8.11 \times 10^{-9}$) y confirmándose como un haplotipo de riesgo independiente de HLA-Cw6.

Posteriormente a este trabajo, otros equipos fueron capaces de comprobar la asociación de *rs6887695* y Ps en otras poblaciones, como los publicados por Smith [Smith *et al*, 2008] en pacientes del Reino Unido o Nair en varias muestras de pacientes de Alemania [Nair *et al*, 2008], Estados Unidos [Nair *et al*, 2008] y Tailandia [Nair *et al*, 2010], confirmando que *IL12Brs6887695-G* es más frecuente en Ps y que su alelo menor (C) presenta cierto efecto protector.

Sin embargo, la variabilidad genética en *IL12B* no se fundamenta exclusivamente en *rs3212227* y *rs6887695*. Capon y colaboradores [Capon *et al*, 2007] identificaron otro nuevo SNP secuencia arriba de

IL12B denominado *rs10045431*, no confirmado en estudios posteriores, y el grupo de Elder [Elder, 2009] también identificó otro SNP en *IL12B* (*rs2082412*) con asociación significativa (OR 1.43, p 3.56×10^{-14}). Posteriormente se han ido describiendo nuevos SNPs asociados a Ps en *IL12B* con OR en torno a 1.5 como *rs7709212*, *rs4921493*, *rs2853694* [Yin *et al*, 2015], aunque sin embargo otros (como por ejemplo *rs929779*, *rs1422668*, *rs6898290*, *rs2161357*, *rs6897374* o *rs76896438* [Cargill *et al*, 2007]) han sido desestimados por escasa frecuencia, ligamiento a SNPs ya estudiados, no significación estadística y otros factores.

En APs, aunque *rs3212227* y *rs6887695* también han sido analizados [Filer *et al*, 2008; Jadon *et al*, 2013], y se ha hallado una asociación estadísticamente significativa en ambos, ésta ocurre especialmente en pacientes con enfermedad psoriásica de inicio temprano (APs tipo I).

3.7.6 *IL23R* Y PSORIASIS VULGAR

La asociación de *IL12B* y Ps provocó que se realizase una búsqueda más precisa de otras variantes dentro de la vía *IL12/23*. Cargill [Cargill *et al*, 2007] halló dos polimorfismos dentro del gen de la subunidad específica del receptor de la *IL23* (*IL23R*, localizado en 1p31 y dentro de *PSORS7*), denominados *rs7530511* (alelo de riesgo C) y *rs11209026* (G), con una OR de 1.44 (intervalo de confianza o IC 1.25-1.65, p 3.13×10^{-6}). Ambos fueron replicados en los estudios mencionados en el apartado anterior, aunque sólo *rs11209026* pudo ser replicado en el trabajo de Capon [Capon *et al*, 2007] sin alcanzar significación estadística en varios estudios posteriores. Sin embargo, la evidencia actual sugiere que el haplotipo CG formado por estos SNP en *IL23R* confiere un mayor riesgo de Ps [Nair *et al*, 2008].

Los estudios en APs han mostrado resultados similares a los obtenidos sobre *IL12B*, es decir, una asociación estadísticamente significativa pero que parece estar fundamentada sobre la existencia simultánea de Ps [Filer *et al*, 2008].

3.7.7 *IL23A* Y PSORIASIS VULGAR

IL23A se encuentra localizado en 12q13.3, fuera de los *PSORS* establecidos, y está compuesto por 1532 bases. Se encuentra muy conservado en la mayoría de poblaciones humanas, con escasa variación, lo que sugiere un papel fisiológico complejo preservado evolutivamente [Popa *et al*, 2013]. Codifica p19, parte junto con *IL12Bp40* de un heterodímero para formar *IL23*. Mucho menos estudiado que los otros genes descritos anteriormente de esta vía, el SNP *rs2066808-A* ha sido asociado a Ps [Nair *et al*, 2009; Chen *et al*, 2011] y APs [Bowes *et al*, 2011; Popa *et al*, 2013] en varios estudios previos. No obstante, su variación o la desregulación de los niveles de *IL23* también ha sido relacionada con IMID como la CU [Granlund *et al*, 2013], AR [Wendling *et al*, 2015], Graves Basedow [Jia *et al*, 2015], Behçet [Hou *et al*, 2015] o enfermedad celiaca [Pascual *et al*, 2016].

El interés en el estudio de *IL23*, tanto de su receptor como de p19, crece al demostrarse en 2012 la presencia del receptor de *IL23* en la entesis articular de modelos animales, reproduciendo la entesopatía de la APs al exponerlos a *IL23* [Sherlock *et al*, 2012]. Ello ha llevado a un replanteamiento al alza del papel de la

IL23 [Sherlock *et al*, 2015] en las espondiloartropatías y p19 se ha desarrollado como futura diana terapéutica [Singh *et al*, 2015] mediante anticuerpos monoclonales contra IL23A (Guselkumab®, actualmente en fase III [Gordon *et al*, 2015] y otros [Singh *et al*, 2015]).

3.8 FARMACOGENÉTICA EN LA VÍA IL12/23

El tratamiento de la Ps se ha visto revolucionado en las tres últimas décadas con la introducción de fármacos que bloquean moléculas específicas en contraposición a los fármacos clásicos (metotrexato, ciclosporina, retinoides, fumaratos, fotoquimioterapia...) que poseen un espectro de acción más diverso sobre células de un determinado tipo o procesos fisiológicos celulares. Estos fármacos enfocados a dianas moleculares, surgidos del conocimiento de la fisiopatogenia de la Ps, se suelen denominar terapias biológicas [Puig *et al*, 2013]. Actualmente, se dispone en práctica clínica de tres grupos (anti TNF- α , anti IL12/23 y anti IL17A, características en Tabla 3). Existe además un reciente fármaco antiPDE4 (Apremilast® [Papp *et al*, 2012]), aunque este último no es considerado propiamente una terapia biológica sino el primero de una nueva categoría de fármacos (inhibidores orales de molécula pequeña).

Tabla 3 - Biológicos aprobados para su uso en Ps en España

Fármaco	Nombre(s) comercial(es)	Tipo	Diana	% PASI 75
Infliximab	Remicade®, Inflectra®, Remsima®	Anticuerpo monoclonal IgG1/k	TNF- α	64-74
Adalimumab	Humira®	Anticuerpo monoclonal IgG1	TNF- α	59-67
Etanercept	Enbrel®	Proteína de fusión	TNF- α	38-60
Ustekinumab	Stelara®	Anticuerpo monoclonal IgG1/k	p40 (IL12/23)	69-81
Secukinumab	Cosentyx®	Anticuerpo monoclonal IgG1/k	IL17A	86.7
Ixekizumab	Taltz®	Anticuerpo monoclonal IgG4/k	IL17A	82.6

PASI: Índice de Severidad y Área de la Psoriasis. Datos de eficacia obtenidos de un metanálisis de 2014 [Puig *et al*, 2014] de eficacia a la semana 24. Los datos de Secukinumab provienen del estudio JUNCTURE a la semana 12 [Paul *et al*, 2015]. En Ixekizumab, los datos corresponden al punto de corte de semana 12 del estudio UNCOVER-1 [Gordon *et al*, 2016]

Han comenzado a realizarse estudios de farmacogenética en Ps o APs que cruzan datos de efectividad del fármaco y variantes genéticas como HLA-C [Talamonti *et al*, 2013; Ryan *et al*, 2014; Batalla *et al*, 2015; Prieto-Perez *et al*, 2015; Masouri *et al*, 2016], *CARD14* [Coto-Segura *et al*, 2016], *CDKAL1* [Coto-Segura *et al*, 2015], *LCE* [Batalla *et al*, 2015], *TNFAIP3* [Tejasvi *et al*, 2012; Prieto-Perez *et al*, 2015; Masouri *et al*, 2016], *TRAF3IP2*, *HLA-A* [Masouri *et al*, 2016], *IL6* [Di Renzo *et al*, 2012; Galluzzo *et al*, 2016], *TLR10*, *JAG2*, *ADRA2A* [Nishikawa *et al*, 2016] y otros. El estudio de una posible relación entre las variaciones genéticas localizadas en los genes que codifican esas proteínas diana y la respuesta a estos fármacos ha producido un interés aún mayor, existiendo estudios sobre SNPs de TNF- α [Gallo *et al*, 2012; Vasilopoulos *et al*, 2012; Gallo *et al*, 2013; Julia *et al*, 2013; Batalla *et al*, 2015; Gonzalez-Lara *et al*, 2015; Masouri *et al*, 2016], *IL12B* [Gallo *et al*, 2013; Prieto-Perez *et al*, 2015; Galluzzo *et al*, 2016], e *IL23R* [Gallo *et al*, 2013; Galluzzo *et al*, 2016].

Existe también la posibilidad de reacciones psoriasisiformes paradójicas en quienes reciben antiTNF por otras indicaciones terapéuticas, empeoramiento de las lesiones ya existentes o viraje en el fenotipo clínico a formas pustulosas, existiendo también estudios farmacogenéticos sobre variantes de *IL23R*, *FBXL19*, *CTLA4*, *TAP1*, *SLC128*, etc, que predispondrían a estos efectos [Cabaleiro *et al*, 2016].

4

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

4.1 HIPÓTESIS

La Ps es una enfermedad de origen poligénico, donde la variación en varios genes ejerce un efecto aditivo para el desarrollo de la sintomatología cutánea, articular y a nivel sistémico. Pese a que el HLA-Cw6 continúa siendo el mayor factor genético relacionado con la Ps, otros loci fuera del sistema HLA e implicados en varias vías patogénicas han demostrado contribuir al riesgo genético de desarrollar la enfermedad.

En base a los antecedentes expuestos, formulamos la hipótesis de que los genes *IL12B*, *IL23R* e *IL23A* podrían estar asociados al riesgo de padecer Ps en la población caucásica residente en Asturias, e influir en las características clínicas de la Ps y en el riesgo de manifestar sintomatología cardiovascular.

4.2 OBJETIVOS

OBJETIVO PRINCIPAL

Estudiar y comparar las frecuencias alélicas y genotípicas de las variantes nucleotídicas *IL12Brs3212227*, *IL12Brs6887695*, *IL12Brs2082412*, *IL23Rrs11209026*, *IL23Rrs2201841* e *IL23Ars2066808* en una muestra de pacientes con psoriasis y controles sanos, para definir su contribución al riesgo de desarrollar esta enfermedad.

OBJETIVOS SECUNDARIOS

1. Valorar la influencia de la variación en los genes *IL12B*, *IL23R* e *IL23A* con respecto a características clínico-fenotípicas de los pacientes con Ps: edad de inicio, presencia de antecedentes familiares, gravedad de la enfermedad, psoriasis ungueal y presencia de artritis en los pacientes de la muestra.
2. Determinar el valor de la variación genética en *IL12B*, *IL23R* e *IL23A* sobre el riesgo de manifestar los principales factores de riesgo cardiovascular/comorbilidades (obesidad, hipertensión, diabetes mellitus tipo 2, dislipemia, cardiopatía isquémica y SM) en los pacientes con psoriasis.
3. Determinar si las variaciones genéticas estudiadas pueden tener relación con la respuesta PASI 75 a la semana 24 a tratamientos biológicos (anti-TNF y anti IL12/23).

5

MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio de asociación genética tipo caso-control en los genes *IL12B*, *IL23R* e *IL23A*, sobre 405 pacientes con Ps vulgar y 426 controles sanos, no emparentados. Dentro de los genes estudiados, se seleccionaron en base a la evidencia científica existente los SNPs *IL12Brs3212227*, *IL12Brs6887695*, *IL12Brs2082412*, *IL23Rrs11209026*, *IL23Rrs2201841* e *IL23Ars2066808*, al haber sido identificados en estudios previos de otros autores como variantes con riesgo de desarrollar Ps. Se recogieron además datos clínico-analíticos relacionados con la Ps (datos fenotípicos) o los FRCV y comorbilidades en el grupo de pacientes con Ps para analizar una posible correlación con el perfil genético de los pacientes.

5.2 SELECCIÓN DE LOS PACIENTES E INCLUSIÓN EN EL ESTUDIO

Los pacientes con Ps (n: 405), residentes en la región de Asturias (población aproximada: 1 millón de habitantes) y procedentes de las consultas externas de Dermatología de los hospitales Álvarez Buylla y Universitario Central de Asturias (HUCA), fueron obtenidos de una base de datos genético-epidemiológica creada en el servicio de Dermatología del HUCA, iniciada en 2008 y que continúa en expansión actualmente. Los criterios de inclusión y exclusión para dicha base se recogen en la Tabla 6. En el presente trabajo, iniciado en 2011, fueron incluidos todos los pacientes con Ps vulgar recogidos en dicha base hasta 2012-2013, cuando comenzó el periodo de genotipado, secuenciación y análisis de datos.

Tabla 4 – Criterios para inclusión/exclusión en la base de datos del estudio

Criterios de inclusión	Criterios de exclusión
Pacientes de edad mayor ó igual a 18 años.	Pacientes con enfermedad mental ó cualquier otra patología que impida la correcta comprensión de los requerimientos del estudio ó la libre disposición de participar en éste.
Raza caucásica.	Pacientes de etnias ó razas diferentes a la caucásica.
Residentes en Asturias.	Enfermedad concomitante que ocasione situación basal desfavorable o esperanza de vida corta.
Obtención del consentimiento informado.	No aceptación del consentimiento informado.
Diagnosticados de Ps por un Dermatólogo en base a criterios clínicos.	Otras formas de Ps diferentes a la Ps vulgar (pustulosa, palmoplantar, eritrodérmica...)
	Presencia de un familiar de primer grado o segundo grado en la base de datos ya enrolado en el estudio actual

Todos los pacientes y controles otorgaron previamente su consentimiento informado (Anexo 1) por escrito para su inclusión en estudios de tipo genético y epidemiológico, siendo dicho estudio aprobado por el comité ético del HUCA (Anexo 2).

5.3 SELECCIÓN Y RECOGIDA DE DATOS EN EL GRUPO CONTROL

El grupo control (n=426) fue seleccionado utilizando muestras pertenecientes a individuos incluidos en una genoteca de donantes sanos (sin antecedentes de Ps, enfermedades autoinmunes, cardiovasculares o neurodegenerativas), utilizado en estudios de asociación genética cardiovascular y renal. La mayoría se reclutaron a través de los centros de salud de atención primaria del área central de Asturias, como parte del estudio RENASTUR [Tavira *et al*, 2013]. En total, 426 individuos de características étnicas y procedencia

geográfica similar a los casos con Ps, y con el rangos de edad y frecuencia de sexos similar a la de los pacientes. En dicho grupo, salvo la caracterización estadística básica (sexo y edad), únicamente se realizó el genotipado de los SNPs estudiados, no siendo tenidas en cuenta otras determinaciones analíticas.

5.4 PROTOCOLO DE ESTUDIO Y HOJA DE RECOGIDA DE DATOS

Se elaboró un cuestionario de recogida de datos (Anexo 3) donde se registraron datos epidemiológicos, medidas antropométricas, determinaciones analíticas (con el objeto de evaluar posibles comorbilidades) y datos clínicos adicionales sobre la Ps de cada paciente. En la visita de inclusión para el estudio de cada paciente, se procedió a:

- Recogida de datos epidemiológicos y antropométricos (edad, sexo, talla, peso, perímetro abdominal). Recogida de información autodeclarada sobre datos de consumo de alcohol y/o tabaco y comorbilidades/FRCV (HTA, DM, DL, CI) junto con una revisión del historial clínico para detectar la presencia de comorbilidades no declaradas y confirmación de las declaradas.

- Exploración dermatológica completa de piel y anejos.

- Recogida de información autodeclarada sobre edad de inicio de la Ps, antecedentes familiares y antecedentes de tratamientos antipsoriásicos sistémicos o biológicos, junto con una revisión del historial clínico. Evaluación de variables fenotípicas de la Ps por el dermatólogo: gravedad de la enfermedad y presencia de Ps ungueal.

- Valoración de la existencia de APs determinada por el reumatólogo.

- Determinación según los datos de la historia clínica de los pacientes a tratamiento biológico del porcentaje de reducción del PASI (índice de severidad y área de la Ps) basal al inicio de cada tratamiento biológico y el valor PASI en semana 24.

- Solicitud de determinaciones analíticas tras ayuno de 12 horas (GOT, GPT, GGT, LDH, Colesterol total, HDL, LDL, TG, glucemia basal) en una muestra de sangre enviada al laboratorio de Bioquímica del HUCA.

- Envío de una muestra de sangre al laboratorio de Genética Molecular del HUCA para su procesamiento, extracción del ADN y almacenamiento.

5.5 RECOGIDA DE MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS

Edad y sexo de los pacientes fueron obtenidos de los datos identificativos hospitalarios de los pacientes. El peso y la talla fueron medidos en la consulta mediante el uso de báscula y tallímetro, mientras que el perímetro abdominal fue obtenido mediante el uso de una cinta métrica tomando como punto de referencia el orificio umbilical. Se calculó el índice de masa corporal (IMC) o índice de Quetelet mediante la

fórmula masa/estatura² y se procedió a la clasificación de los pacientes como obeso/no obeso (IMC $\geq 30,00$ / <30) según la escala propuesta por la OMS [WHO, 2000].

5.6 EVALUACIÓN Y DETERMINACIÓN DE COMORBILIDADES

La existencia de comorbilidades (hipertensión arterial, DL, DM tipo 1 o 2 y CI) se determinó mediante la existencia de un diagnóstico emitido por un médico de atención primaria o el especialista correspondiente, recogido en el historial médico y/o la toma de fármacos antihipertensivos, hipolipemiantes, antidiabéticos o de tipo cardiológico. La definición de SM se hizo de acuerdo a los criterios NCE-ATPIII [Grundy *et al*, 2004].

Los resultados analíticos se registraron en el cuestionario de recogida de datos (Anexo 3) en un segundo tiempo.

5.7 RECOGIDA DE DATOS FENOTÍPICOS Y CÁLCULO DEL PASI

Se recogió la edad de inicio de la Ps, definiéndose como inicio temprano si la enfermedad se había manifestado antes de los 40 años ó de inicio tardío si no había existido clínica hasta una edad posterior a los 40 años. La presencia de antecedentes familiares de Ps fue definida como la existencia autodeclarada de al menos un familiar de primer ó segundo grado con Ps.

La afectación ungueal fue valorada como presente/ausente según hallazgos clínicos de pitting y/o onicolisis ungueal en mancha de aceite en una o varias uñas del paciente, aunque no se recogió la intensidad de la enfermedad al no existir una herramienta validada de afectación psoriásica ungueal en el momento de recogida de los datos.

El antecedente de realización de algún tratamiento sistémico para la Ps fue valorado como la presencia en la historia clínica previa o la afirmación por el paciente de haber realizado con anterioridad o en el momento de la recogida de datos tratamiento con fototerapia y/o fármacos antipsoriásicos vía oral/subcutánea/intravenosa.

La gravedad de la Ps fue determinada en la visita de inclusión al estudio mediante el cálculo del *Psoriasis Area and Severity Index* [Fredriksson y Pettersson, 1978]. Dicha escala evalúa las principales características de las lesiones de Ps (eritema, descamación e infiltración de la inflamación) ponderando según la superficie afectada de las cuatro áreas en que se divide al sujeto (cabeza y cuello, extremidades superiores, extremidades inferiores y tronco). Dicho cálculo puede realizarse de forma manual (Anexo 4) ó mediante el uso de programas de software como la Calculadora PASI de la Academia Española de Dermatología y Venereología (http://aedv.es/grupo_psoriasis/pasi.htm). Siguiendo los criterios habituales en estudios clínicos, se determinó la Ps como grave si el índice PASI era igual ó superaba los 10 puntos, siendo categorizado en PASI <10 / PASI ≥ 10 .

En caso de existir sintomatología osteoarticular y no existir en la historia clínica un diagnóstico de APs por Reumatología, los pacientes fueron derivados a dicho servicio para el establecimiento de un

diagnóstico. La APs fue valorada siguiendo los criterios CASPAR (Classification criteria for Psoriatic ARthritis) [Taylor *et al*, 2006].

5.8 RESPUESTA A TRATAMIENTOS BIOLÓGICOS

En el grupo de pacientes que recibían o habían recibido tratamiento biológico en el momento del estudio se recogieron datos acerca del tratamiento o tratamientos recibidos (tipo de fármaco y estatus naïve/no a tratamiento biológico en ese ciclo de tratamiento) y respuesta al comienzo de la fase de meseta terapéutica, utilizando por consenso la valoración a la semana 24 post inducción. La medición de la respuesta se hizo en base a la reducción del índice PASI al inicio del tratamiento y en la semana 24, según los datos recogidos en el historial clínico, catalogándose como buena respuesta la reducción de un 75% o más del valor inicial (PASI75) del índice PASI, criterio de efectividad ampliamente utilizado por otros autores en la literatura [Vasilopoulos *et al*, 2012; Puig *et al*, 2013; Ryan *et al*, 2014; Gonzalez-Lara *et al*, 2015].

5.9 TÉCNICAS DE GENÉTICA MOLECULAR

Las técnicas de procesado, aislamiento, genotipado y secuenciación del ADN fueron realizadas en el Laboratorio de Genética Molecular del HUCA (área de gestión Laboratorio de Medicina).

5.9.1 OBTENCIÓN Y PROCESADO DE LAS MUESTRAS

Una muestra de 10 ml de sangre venosa periférica fue extraída de cada sujeto del estudio en tubos Vacutainer® EDTA K3, y registrada con un número de identificación personal (Nº DNA). Para la extracción del ADN se siguió el procedimiento de precipitación salina de Miller y Polesky [Miller *et al*, 1988]. Una vez resuspendido en agua se valoró su concentración y calidad mediante medición de la absorbancia a 260 nm en un espectrofotómetro de luz ultravioleta, y se ajustó la concentración de trabajo de cada muestra a 100 ng/μl.

5.9.2 AMPLIFICACIÓN Y GENOTIPADO DEL ADN

Para el genotipado de los polimorfismos de HLA-Cw6, IL12B, IL23R e IL23A se empleó una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con cebadores específicos flanqueantes del cambio nucleotídico correspondiente y dos técnicas: digestión del producto de PCR con un enzima de restricción (PCR-RFLP) cuya diana de corte se ve afectada por el cambio de base, o mediante PCR en tiempo real con sondas TaqMan® (Taqman® Real Time PCR). Los detalles de los cebadores, técnica empleada, temperaturas de hibridación y enzimas de restricción empleados se resumen en la Tabla 5.

Tabla 5 - Método y cebadores empleados para la amplificación de ADN

SNP	Método	Cebador (forward/reverse)	Tª
HLA-CW6	PCR-RFLP	5' -TTG AGG ATT CTC CAC TCC CCTGAG-3 5'- CTG TGC CTG GCG CTT GTA CTT-3	62°C
IL12Brs2082412	PCR-RFLP	5'-ATGGACAACCAAGAAATAGTCATTACAGC-3 5'-AAAGATCAGATTGCAACAAAGCACCTTTG-3	64°C
IL12rs3212227	Taqman® Real Time PCR	ATTGTTTCAATGAGCATTTAGCATC[G/T]AACTATACAAATACAGCAAAGATAT	
IL12rs6887695	Taqman® Real Time PCR	GAGAGAAGCAGTGTAGTGTAGTGGT[C/G]AATAGTCTGGATTACATCTTTGAT	
IL12rs3213120	PCR-RFLP	5'-CACATCAACTTTTGGCATTCTCTTCCC-3 5'-GCAACTTGAGAGCTGGAAAATCTATAC-3	63°C
IL12Brs3213119	PCR-RFLP	5'-GGCTTGTTTTGGGAGAGTATGCATT-3 5'-GTTTCTGATTCTGGCAACTGGGTG-3	63°C
IL23Rrs2201841	Taqman® Real Time PCR	GGCCTATGATTATGCTTTTTCTTGA[A/G]GTCATCATCTTCTATATTAGTTTCC	
IL23Rrs11209026	Taqman® Real Time PCR	ATTGGGATATTTAACAGATCATTCC[A/G]AACTGGGTAGGTTTTGCAGAATTT	
IL23Ars2066808	Taqman® Real Time PCR	AGGGCTCAGTGGTTCAAATGAAATC[A/G]GGAATGGTAGAATAAGCAGAAGCTA	

PCR-RFLP: Reacción en cadena de la polimerasa, restricción enzimática y detección de polimorfismos en el tamaño de los fragmentos de restricción. En los cebadores utilizados en la PCR en tiempo real se indica el sitio y polimorfismo estudiado mediante [nucleótido/nucleótido alternativo]. Tª indica la temperatura de anillado

5.9.3 DIGESTIÓN Y GENOTIPADO POR ENZIMAS DE RESTRICCIÓN

Cada fragmento fue amplificado mediante PCR en un volumen final de 30 µl, conteniendo 3 µl del tampón de reacción (10x), 3 µl de cada cebador (a una concentración de 10 µM), 2 µl del ADN (a 100 ng/ µl), 3 µl de dNTPs (mezcla de 2 mM de dATP, dTTP, dGTP y dCTP) y 1 Unidad de Taq DNA polimerasa (Biotools), añadiendo agua para completar el volumen final. Estas mezclas se colocaron en un termociclador PerkinElmer para la PCR, con una desnaturalización inicial a 95 °C durante 5 minutos, y 32 ciclos de: desnaturalización 30 segundos a 95°C, anillamiento de los primers (60 segundos) a la temperatura de cada pareja, síntesis de las hebras a 72 °C (2 minutos), y una extensión final de 5 minutos a 72 °C. Para comprobar la amplificación se realizó una electroforesis de 5 µl de cada PCR en geles de agarosa al 2%, debiendo ser visible una banda del tamaño del fragmento correspondiente. Posteriormente se realizó la técnica de RFLP [Tazi Ahnini et al, 1999] mediante la digestión de la amplificación con una enzima de restricción cuyo punto de corte se ve afectado debido al cambio polimórfico. Siguiendo el protocolo del suministrador (Fermentas), se utilizaron 20 µl de cada amplificación y 10 unidades de la enzima de restricción correspondiente (Tabla 6). Las soluciones resultantes de la digestión fueron cargadas en gel de agarosa al 3% para realizar una electroforesis (proceso descrito en el apartado previo) y visualizado de las bandas resultantes.

Tabla 6 – Enzimas de restricción y tamaño de los fragmentos de la PCR-RFLP

SNP	Enzima de restricción y tamaño fragmentos de digestión
HLA-Cw6	SmaI → HLA-Cw6-: 348+270 pb // HLA-Cw6: 348+196+74 pb
IL12Brs2082412	HhaI → Alelo A: 169 pb // Alelo B: 139+30 pb
IL12Brs3213120	HinfI → Alelo G: 251 pb // Alelo A: 28+223
IL12Brs3213119	TaqI → Alelo G: 360 pb // Alelo T: 134+226

SNP: polimorfismo de un solo nucleótido, pb: pares de bases

5.9.4 GENOTIPADO MEDIANTE PCR EN TIEMPO REAL

En los SNPs genotipados mediante PCR en tiempo real con sondas Taqman® (Tabla 7), se utilizaron placas de 96 pocillos y un equipo ABI7500 (Life Technologies, www.thermofisher.com). Cada muestra de ADN se amplificó en un volumen total de 12 µl conteniendo el reactivo de genotipado comercial (Taqman genotyping master Mix, Applied Biosystems) y unos 20 ng de ADN. La amplificación consistió en 42 ciclos de desnaturalización a 95°C 30 segundos y anillamiento y extensión a 60°C durante un minuto. En esta técnica se usan sondas comerciales específicas para cada alelo marcadas con un fluoróforo específico para identificar cada uno. Los resultados de la señal de fluorescencia emitida se visualizan de forma gráfica (Figura 10).

Tabla 7 – Cebadores utilizados en el genotipado con Taqman® Real Time PCR

SNP	Código Life Tech	Secuencia flanqueante del SNP
IL12Brs3212227	C_1994992_10	ATTGTTCAATGAGCATTAGCATC[G/T]AACTATACAATACAGCAAAGATAT
IL12Brs6887695	C_2084293_10	GAGAGAAGCAGTGTAGTGTAGTGGT[C/G]AATAGTCTGGATTACATCTTTGAT
IL23Rrs2201841	C_1272302_10	GGCCTATGATTATGCTTTTCTTGA[A/G]GTCATCATCTTCTATATTAGTTCC
IL23Rrs11209026	C_1272298_10	ATTGGGATATTTAACAGATCATTC[C/A]AACTGGGTAGGTTTTGCAGAATTT
IL23Ars2066808	C_12055277_10	AGGGCTCAGTGGTTCAAATGAAATC[A/G]GGAATGGTAGAATAAGCAGAAGCTA

Secuencia flanqueante de los SNPs genotipados mediante sondas Taqman. Estas se compraron al proveedor según el código específico de cada una. SNP: polimorfismo de un solo nucleótido

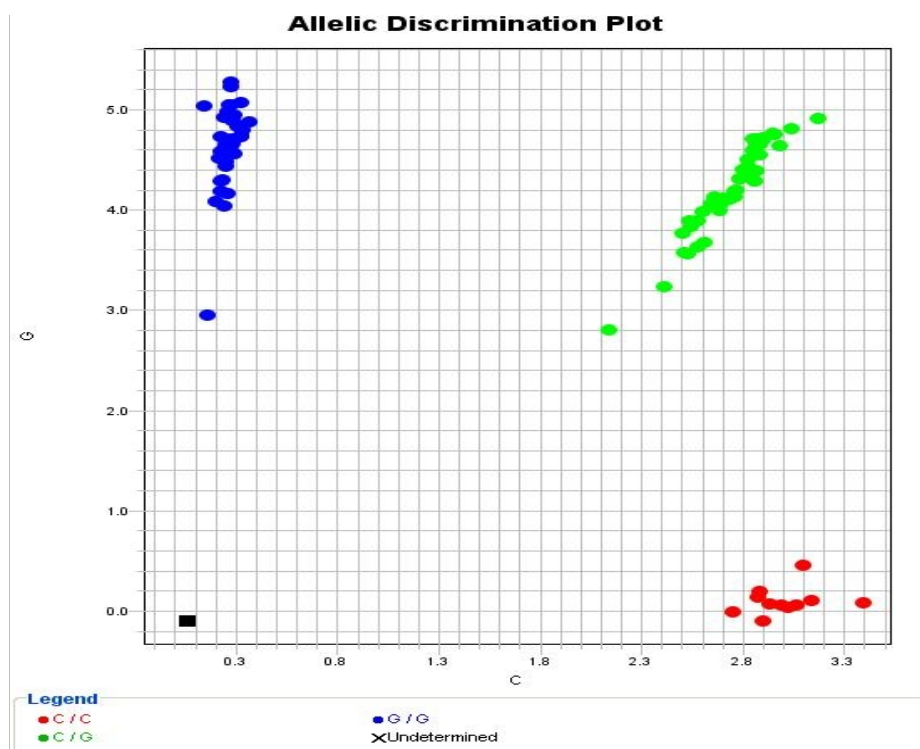


Figura 10 - Taqman® real time PCR de IL12Brs6887695. Se representan genotipos según homocigosis para el alelo G (color azul) o el alelo C (color rojo) frente a pacientes heterocigotos (color verde)

3.9.5 GENOTIPADO DE HLA-Cw6

La presencia o ausencia del HLA-Cw6 fue determinada mediante PCR-RFLP según el método descrito anteriormente (Figura 11).

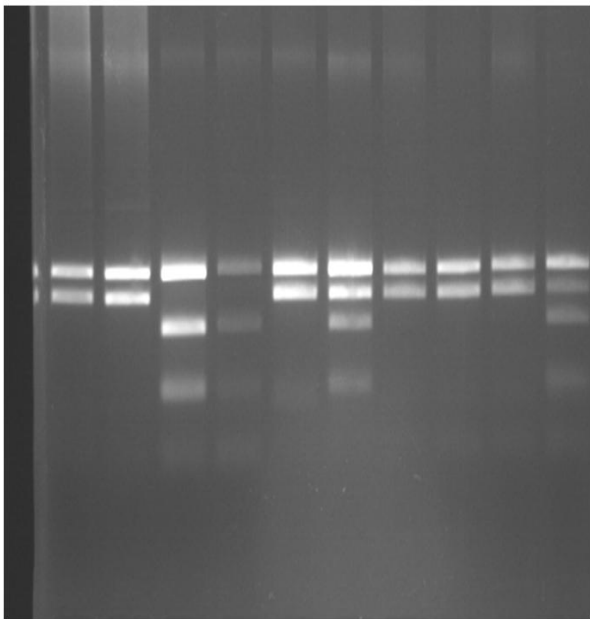


Figura 11 - Comprobación en gel de agarosa del genotipado PCR-RFLP de HLA-Cw6. Pueden observarse 4 bandas diferentes, de superior a inferior: fracción constante de 348 pb, fracción de 270 pb presente en individuos heterocigotos u homocigotos HLA-Cw6-, fracción de 196 pb correspondiente a fragmento de mayor tamaño cortado por la enzima de restricción en individuos HLA-Cw6+, fracción de 74 pb correspondiente al fragmento de menor tamaño en individuos HLA-Cw6. Pacientes HLA-Cw6- (carriles 1, 2, 5, 7-9), HLA-Cw6 heterocigotos (carriles 6,10) y HLA-Cw6 + homocigotos (carriles 3,4)

La región genética amplificada donde se localiza el HLA-Cw6 presenta un sitio constante para *Scal* (secuencia de corte CCCGGG) que deja un fragmento de 348 pb en la digestión del fragmento de PCR, y otro de 270 pb que contiene el cambio C/G que afectará a un segundo sitio *Scal*. La presencia o no de la variante HLA-Cw6 se realiza mediante visualización de las digestiones en geles de agarosa al 3%: pacientes HLA-Cw6 negativos, únicamente bandas de 348+270 pb; HLA-Cw6+ heterocigotos, bandas de 348+270 y de 348+196+74 pb; homocigotos HLA-Cw6+, bandas de 348+196+74 pb. En la Figura 12 se muestran las secuencias de fragmentos de PCR conteniendo los alelos Cw6 para dos pacientes.

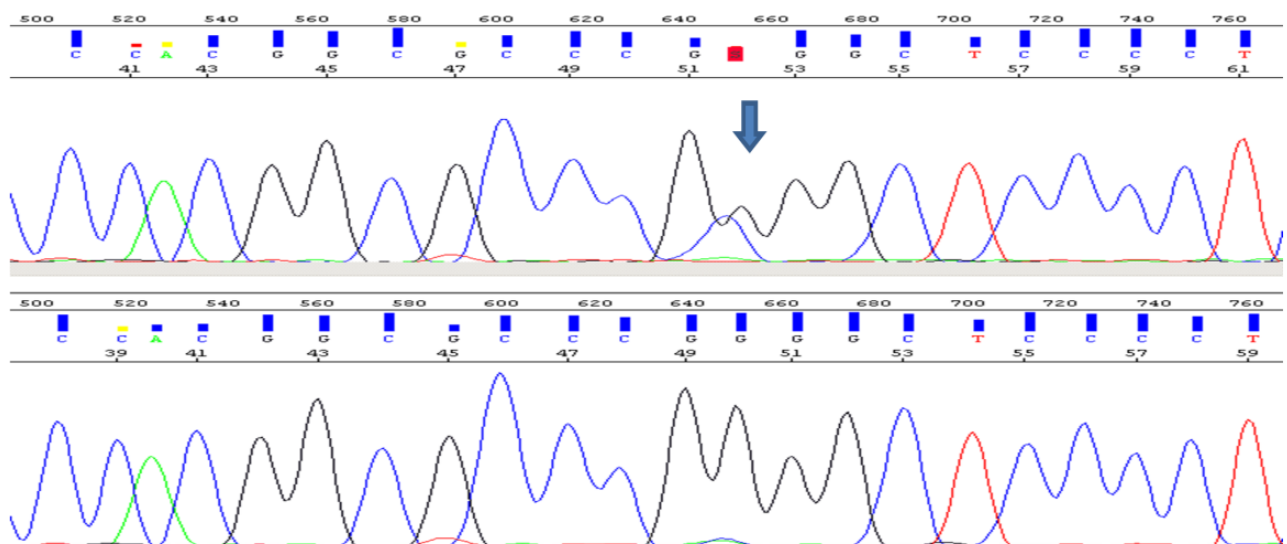


Figura 12 - Secuenciación automática Sanger de PCR-RFLP HLA-Cw6 de dos pacientes. En secuencia superior se observa heterocigosis (C/G) de HLA-Cw6 frente a homocigosis (C/C) de secuencia inferior

5.9.6 SECUENCIACIÓN DE FRAGMENTOS DE PCR

La secuenciación de fragmentos de PCR mediante el método de Sanger automatizado se empleó para confirmar la fiabilidad del genotipado mediante PCR-RFLP o sondas Taqman (Figura 13) y para caracterizar la variación en *IL12B*.

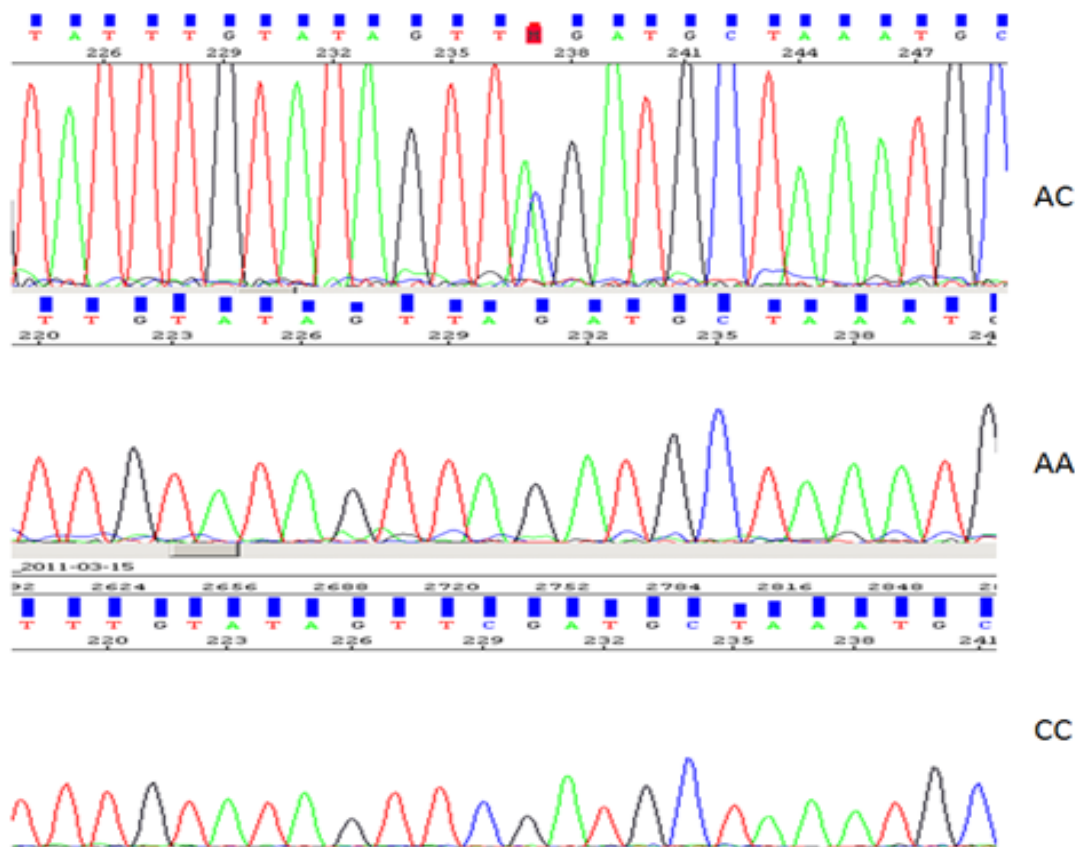


Figura 13 - Secuenciación automática Sanger PCR de IL12rs3212227 en tres pacientes

El ADN genómico se amplificó mediante PCR y parejas de cebadores flanqueantes al fragmento a secuenciar. Los productos resultantes fueron purificados y procesados con reactivos BigDye® en una amplificación de 28 ciclos, siguiendo el procedimiento del suministrador (Life Technologies; www.thermofisher.com). La secuenciación posterior se realizó en un equipo ABI3130XL (Life Technologies; www.thermofisher.com), y los datos “crudos” analizados mediante el programa Sequencing Analyzer. Finalmente, las secuencias se compararon con las depositadas en la base de datos ENSEMBL (www.ensembl.org).

5.9.7 SECUENCIACIÓN DE IL12B

Se seleccionaron 30 pacientes según sus genotipos *rs6887695*-GG y *rs3212227*-AA, y se amplificaron y secuenciaron (cebadores y detalles del procedimiento en Tabla 8) los 7 exones codificantes de *IL12B*, así como su región 3'-UTR y el promotor (un fragmento de 1.557 pares de bases). El objetivo era caracterizar variantes génicas en desequilibrio con los alelos de los dos SNPs.

Tabla 8 – Cebadores, temperatura de hibridación y tamaño de fragmentos de IL12B secuenciados

Secuencia IL12B	Cebadores (forward/reverse)	Tª hibridación PCR	Tamaño (pb)
Promotor y exón 1	TTT ACA AAA AGC CCC TCC CCC AG CAC ACT AAC GGT TTC TAC ACC TGG A	64 °C	1856
Exón 2	GTG TAT ATG GTT CAC AAA GGT AAC AAG GGC TTT CTC TAG AGG ACC CAG	63 °C	305
Exón 3	AATGGGGATGCCCGAAGGGTTA ACATCAATTAACATCAATAAGAGACTTG	64 °C	500
Exón 4	AGA ACT TCA CCC TGT ACC ATC TG AGG TCA CTG AGA GGT TGC CCT TAA	63 °C	300
Exón 5	CTG TGT CCT CAG ACA ACA GTT GAG CAA CCA CCT ACC CCA CAG TGC	64 °C	410
Exón 6	TAA GTA ACT ATC CAG TGG ACT CAC AG CTC AGA ATG TAT CCC TGT TGT TAA GTG	64 °C	460
Exón 7	GGC TTG TTT TGG GAG AGT ATG CAT T GTT TCT GAT TCT GGC AAC TGG GTG	64 °C	360
Exón 8 (3' UTR)	ACC CAG TTG CCC AGG ATC ATA TGT AGG GCA ATG CTT AAA TGA TAG GGG	63 °C	1500

PCR: reacción en cadena de la polimerasa, pb: pares de bases

5.10 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó la codificación tanto de los datos recogidos en el formulario de inclusión de los pacientes (Anexo 5) como de los obtenidos en el análisis genético de pacientes y controles en una base de datos creada con el programa IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0 (Armonk, NY: IBM Corp).

Las características clínicas de los pacientes y controles se describieron mediante los estadísticos descriptivos habituales (media, desviación estándar, rango, porcentajes relativos). Para las variables categóricas binarias, la comparación de frecuencias alélicas entre los grupos ó para determinar la desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg, se utilizó el test de Chi-cuadrado, con las correcciones adecuadas en caso de tamaños muestrales grandes (corrección por continuidad de Yates) o demasiado pequeños (test de Fischer). En las variables cuantitativas, se determinó el cumplimiento de la Ley Normal mediante las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y de Shapiro-Wilk. La comparación de las variables entre los diferentes grupos estudiados se realizó mediante la aplicación de la prueba t de Student en variables cuantitativas y mediante χ^2 en cualitativas, considerando valores p inferiores a 0.05 como estadísticamente significativos. Se calcularon además los OR e intervalos de confianza (IC) al 95% y en las asociaciones significativas donde pudieran existir factores de confusión se hizo una regresión logística multivariante para su control.

Para evaluar la influencia individual de las variables sobre el efecto de los alelos estudiados, tras el análisis estadístico simple se realizó un análisis multivariante de regresión logística escogiendo las variables de confusión a introducir en el modelo mediante búsqueda de la evidencia bibliográfica o, en caso de no existencia, a partir de la observación de asociaciones univariante obtenidas en el propio estudio. El análisis de las frecuencias haplotípicas y la determinación del desequilibrio de ligamiento se hizo mediante el software informático Cubex (www.oege.org/software/cubex/) [Gaunt et al, 2007]. El análisis estadístico de los datos se realizó mediante el programa IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0 (Armonk, NY: IBM Corp).

6

RESULTADOS

6.1 ESTUDIO DESCRIPTIVO

Se incluyen un total de 405 pacientes y 426 controles sanos donantes de sangre, emparejados por edad y sexo con los casos. Sus principales características demográficas se resumen en la Tabla 9.

Tabla 9 - Resumen de las características de los pacientes del estudio

Sexo (hombre/mujer)	219 (0.54)/196(0.46)		
Edad media (años)	46.52 ± 15.25		
Peso medio (kgs)	77.65 ± 15.51		
Altura media (cm)	167.71 ± 9.16		
Perímetro abdominal medio (cm)	96.69 ± 13.68		
IMC (kg/m ²)	27.54 ± 4.72	Obesidad (IMC ≥ 30)	121 (0.30)
Consumidor de alcohol	122 (0.30)		
Consumidor de tabaco	138 (0.34)	Cigarrillos/día	16.86±9.70
Consumo de alcohol y tabaco	57 (0.14)		
Hipertensión	83 (0.21)		
DM tipo 1	6 (0.02)	DM tipo 2	40 (0.11)
DL	64 (0.16)		
CI	24 (0.06)		
Nº comorbilidades concomitantes	0: 278 (0.68)/1:72 (0.18)/2:27 (0.7)/3:21 (0.5)/4:7 (0.02)		
SM	77 (0.19)		
Edad media inicio Ps (años)	28.95 ± 17.48		
Tiempo evolución Ps (años)	17.40 ± 14.40		
Tipo Ps (inicio temprano/tardío)	287 (0.71) / 118 (0.29)		
PASI (<10/ ≥10)	238 (0.59) / 167 (0.41)		
Antecedentes familiares Ps	211 (0.52)		
Ps ungueal	247 (0.61)		
Artritis Psoriásica	91 (0.22)		
HLA-CW6	166 (0.41)		
Tratamientos sistémicos Ps	230 (0.57)		

n: 405. Variables analizadas como número de comorbilidades concomitantes: HTA/DM/DL/CI. Valores expresados como frecuencias absolutas y relativas (entre paréntesis). Variables continuas expresadas mediante el valor medio ± SD

El estudio estadístico de los parámetros analíticos muestra unos niveles medios de GOT 24.19±12.79, GPT 27.56±17.72, GGT 35.47±51.25, colesterol total de 205.01±42.18, HDL 53.63±14.86, LDL 127.83±36.15, TG 127.47±81.03 y glucemia media basal de 101.65±32.95. Las comorbilidades más frecuentemente observadas son la tensión arterial elevada ó hipertensión (20.5% del total de la muestra) y la DL (15.8%). La DM está presente en la muestra en un 11.4% de pacientes, predominantemente en su forma DM2. Los varones de la muestra presentan una tendencia a padecer en mayor número cualquiera de las comorbilidades estudiadas, con un 37.1% de varones afectados de una o más comorbilidades frente al 24.5% de mujeres, un incremento de riesgo cercano al doble (OR 1.82 (1.18-2.81), p 0.004) para éstos.

En relación a las características clínicas de la Ps, predominan los pacientes con un inicio precoz de la Ps (edad menor de 40 años) frente al inicio tardío (70.95% vs 29.1%). La evolución media de la enfermedad es de 17.40± 14.40 (rango 0-62 años). La gravedad de la enfermedad según el PASI medio absoluto es de 11.20±12.34. Se aplica un punto de corte PASI </>10, observándose una asociación significativa entre la Ps de inicio precoz y PASI ≥10 (p <0.001, OR 3.22 IC95%=1.97-5.27). Un 56.8% de los pacientes habían recibido previamente algún tipo de tratamiento sistémico para la Ps, siendo esto más frecuente en la Ps de inicio temprano (61% vs 46.6% en inicio tardío).

Hay presencia de APs en el 22.4% de los casos, con un ligero predominio en los pacientes de sexo femenino (52.7%), con una edad media de 49.95±13.6 años (18-92) y un IMC medio de 28.07±4.6 (16.11-40.77). En este grupo, un 62.6% presenta antecedentes familiares de Ps, la edad media de inicio de la Ps se sitúa en los 29.58±16.72 años (rango 3-68, 73.6% pacientes <40 años), con una evolución media de las manifestaciones cutáneas de 17.42±14.33 años (rango 0-62) y un PASI medio de 11.32±11.28 (rango 1-70, PASI≥10 54.9%). Existe una asociación significativa entre la presencia de APs y la gravedad de la enfermedad (PASI≥10), incluso ajustando por inicio precoz de la Ps (p 0.004, Exp β 2.06 [1.27-3.36]). Se detecta la presencia de Ps ungueal en el 79.1% de los pacientes con APs, asociándose a ésta (p <0.001 Exp β 2.65 [1.51-4.67]) en un modelo multivariante conteniendo inicio precoz de la enfermedad y PASI \geq 10. La distribución de los FRCV en los pacientes con APs muestra HTA en un 26.37% de los casos, DM en un 18.7% (5.5% DM1 y 13.2% DM2), DL en un 20.9%, CI en un 9.9% y SM en un 29.8%.

6.2 ANÁLISIS GENÉTICO

6.2.1 PSORIASIS Y HLA-CW6

El 41.5% de los pacientes con Ps es portador de HLA-Cw6 frente a un 4.6% de los controles (p <0.001 OR 14.1 (8.44-23.78)). Los resultados del estudio para detectar una posible asociación con los diferentes aspectos clínicos de la Ps recogidos en el estudio son recogidos en la Tabla 10.

Tabla 10 – Estudio de la asociación del alelo HLA-Cw6 y variables clínicas de Ps

	HLA-Cw6+ (n:166)	HLA-Cw6 - (n:239)	χ^2 HLA-Cw6	Regresión logística HLA-Cw6	Variantes en el modelo de regresión
PASI \geq10	80 (0.41)	87(0.36)	p 0.02 OR 1.63 (1.09-2.43)	p 0.328	Inicio precoz [Oostveen et al, 2014], AF Ps [Stuart et al, 2002]
AF PS	105 (0.63)	106 (0.44)	p <0.001 OR 2.16 (1.44-3.24)	p 0.009 Exp β 1.76 (1.15-2.69)	Inicio precoz [Oostveen et al, 2014]
Ps Precoz	141 (0.85)	146 (0.61)	p <0.001 OR 3.59 (2.18-5.91)	p <0.001 Exp β 3.00 (1.79-5.03)	Af Ps [Stuart et al, 2002; Oostveen et al, 2014], PASI \geq 10
Ps ungueal	89 (0.54)	158 (0.66)	p 0.02 OR 0.59 (0.4-0.9)	p <0.001 Exp β 0.43 (0.28-0.69)	Inicio precoz [Oostveen et al, 2014], AF Ps, PASI \geq 10 [Schons et al, 2015]
APs	35 (0.19)	56 (0.23)	p 0.66 OR 0.87 (0.54-1.41)	-	-
T. sistémico	101 (0.61)	129 (0.54)	p 0.2 OR 1.33 (0.9-1.98)	-	-

Número total de pacientes (frecuencia relativa) con presencia de la característica analizada según presencia/ausencia de HLA-Cw6. El valor p para HLA-Cw6+ se ha calculado inicialmente mediante χ^2 y el sentido de la asociación mediante la OR (intervalo de confianza al 95%). En presencia de significación según χ^2 se valora la influencia de factores de confusión mediante análisis multivariante tipo regresión logística con valor p y Exp β (IC 95%)

HLA-Cw6 se asocia de forma estadísticamente significativa (p <0.05) a las características de la Ps estudiadas en este trabajo salvo la APs y la toma de tratamiento sistémico. En consonancia con la falta de asociación significativa en este grupo entre HLA-Cw6- APs y la asociación clínica observada entre APs - Ps ungueal, se observa un efecto protector significativo entre HLA-Cw6 y ausencia de Ps ungueal (p 0.02, OR 0.59 (0.4-0.9)). El análisis multivariante posterior mantiene su asociación significativa a inicio precoz de la Ps y agrupación familiar de casos, y la relación inversa entre este marcador genético y Ps ungueal.

6.2.2 PSORIASIS Y GEN *IL12B*

La Tabla 11 resume la frecuencia alélica menor (MAF) de los SNPs de *IL12B* estudiados en pacientes, controles y la estimación en población caucásica. Un genotipado preliminar (n:30) de *IL12Brs2082412* muestra un LD completo con *IL12Brs3212227*, por lo que no se continua su estudio.

Tabla 11– Distribución de las MAF de los SNPs de *IL12B* estudiados en la muestra y población caucásica

SNP	Variación	MAF pacientes	MAF controles	MAF caucásica
<i>IL12Brs3212227</i>	c.*159A>C	0.15	0.18	0.21
<i>IL12Brs2082412</i>	g.159290781G>A	0.15	0.18	0.21
<i>IL12Brs6887695</i>	n.327+3060G>C	0.29	0.39	0.31
<i>IL12Brs3213119</i>	n.289+5366C>A	0.05	0.06	0.06
<i>IL12Brs3213120</i>	n.289+4686C>T	0.05	0.06	0.06

Frecuencias relativas del alelo de menor frecuencia (MAF) en las tres poblaciones indicadas. La estimación de la MAF caucásica europea se obtiene según Ensembl (www.ensembl.org)

6.2.2.1 POLIMORFISMOS *IL12Brs3212227* E *IL12Brs6887695* Y RELACIÓN CON

FENOTIPO PS/FRCV

Tabla 12 - *IL12Brs3212227*: distribución según características clínicas y FRCV

<i>IL12Brs3212227</i>							
	AA	AC	CC	A	C	Ps χ^2 (AA vs AC+CC)	
Controles (n:426)	294 (0.69)	115 (0.27)	17 (0.04)	0.83	0.17		
Pacientes (n:405)	283 (0.7)	112 (0.27)	10 (0.03)	0.84	0.16	p 0.78 OR 0.96 (0.71-1.29)	
APs+ (n:91)	64 (0.7)	23 (0.25)	4 (0.05)	0.83	0.17	p 0.81 OR 1.06 (0.65-1.74)	
No APs (n:314)	219 (0.7)	89 (0.28)	6 (0.02)	0.84	0.16	p 0.82 OR 1.04 (0.75-1.42)	
Características clínico-fenotípicas							
	AA	AC	CC	A	C	p (AA vs AC+CC)	p (CC vs AA+AC)
AF Ps	0.70	0.28	0.02	0.84	0.16	p 0.88	p 0.15
No AF Ps	0.69	0.27	0.04	0.83	0.17	OR 1.04 (0.67-1.60)	OR 0.39 (0.10-1.51)
HLA-Cw6+	0.72	0.25	0.03	0.85	0.15	p 0.42	p 0.95
HLA-Cw6-	0.68	0.29	0.03	0.83	0.17	OR 1.20 (0.77-1.87)	OR 0.96 (0.27-3.45)
Precoz	0.69	0.29	0.02	0.84	0.16	p 0.70	p 0.46
Tardío	0.71	0.25	0.04	0.84	0.16	OR 1.10 (0.68-1.77)	OR 0.61 (0.17-2.20)
PASI \geq 10	0.73	0.25	0.05	0.86	0.14	p 0.22	p 0.46
PASI<10	0.68	0.29	0.03	0.83	0.17	OR 1.32 (0.85-2.06)	OR 0.60 (0.15-2.37)
APs	0.70	0.25	0.05	0.83	0.17	p 0.94	p 0.21
No APs	0.70	0.28	0.02	0.84	0.16	OR 1.02 (0.60-1.73)	OR 2.36 (0.65-8.55)
Ps ungueal	0.72	0.26	0.02	0.85	0.15	p 0.34	p 0.95
No Ps ung.	0.67	0.30	0.03	0.82	0.18	OR 1.24 (0.80-1.93)	OR 0.96 (0.27-3.45)
HTA	0.67	0.29	0.04	0.82	0.18	p 0.48	p 0.46
No HTA	0.71	0.27	0.02	0.84	0.16	OR 0.83 (0.49-1.4)	OR 1.67 (0.42-6.64)
DM2	0.71	0.27	0.02	0.84	0.16	p 0.29	p 0.04
No DM2	0.63	0.29	0.08	0.78	0.22	OR 0.69 (0.34-1.39)	OR 5.9 (1.35-25.73)
DL	0.71	0.24	0.05	0.83	0.17	p 0.80	p 0.18
No DL	0.70	0.28	0.02	0.84	0.16	OR 1.08 (0.59-1.99)	OR 2.49 (0.63-9.91)
CI	0.79	0.21	0	0.90	0.10	p 0.37	p 1
No CI	0.69	0.28	0.03	0.83	0.17	OR 1.68 (0.61-4.62)	
SM	0.70	0.26	0.04	0.81	0.19	p 1	p 0.37
No SM	0.70	0.28	0.02	0.84	0.16	OR 0.98 (0.57-1.69)	OR 1.86 (0.47-7.36)
Obesidad	0.69	0.29	0.02	0.84	0.16	p 0.831	p 0.490
No obeso	0.71	0.27	0.02	0.84	0.16	OR 0.92 (0.58-1.47)	OR 0.58 (0.12-2.77)

Se expresan las frecuencias genotípicas y alélicas como frecuencias absolutas y relativas (entre paréntesis). En el estudio de características clínicas y fenotípicas únicamente se expresan frecuencias relativas (n: 405). Para el estudio de la asociación se utiliza la prueba de χ^2 tomando como valor significativo $p < 0.05$ y la OR (IC 95%)

La Tabla 12 resume frecuencias genotípicas y alélicas de *IL12Brs3212227* en pacientes con Ps y controles, mientras que la Tabla 13 resume los resultados de *IL12Brs6887695*. *IL12Brs3212227-A* no muestra asociación significativa con Ps, con o sin APs, ni con respecto a las características fenotípicas estudiadas. *IL12Brs6887695-G* se asocia significativamente ($p < 0.05$) a la presencia de Ps. En un análisis frente a controles en base a la presencia de APs, se mantiene esa asociación (OR 1.74 cuando hay APs concomitante, OR 1.44 en el grupo sin APS). Sin embargo, al enfrentar ambos grupos (APs+/APs-) no se observa una asociación significativa a APs (p 0.49). La distribución alélica de *IL12Brs6887695* respecto a características fenotípicas de Ps y FRCV, muestra una significación estadística en la asociación del genotipo en homocigosis del alelo menor (CC) con la DM2 (OR 2.9).

Tabla 13 - *IL12Brs6887695*: distribución según características clínicas y FRCV

<i>IL12Brs6887695</i>							
	GG	GC	CC	G	C	p (GG vs GC+CC)	
Controles (n:426)	167 (0.39)	187 (0.44)	72 (0.17)	0.61	0.39		
Pacientes (n:405)	199 (0.49)	179 (0.44)	27 (0.07)	0.71	0.29	$p < 0.01$ OR 1.5 (1.14-1.97)	
APs+ (n:91)	48 (0.52)	41 (0.45)	2 (0.023)	0.75	0.25	p 0.02 OR 1.73 (1.10-2.73)	
No APs (n:314)	151 (0.48)	138 (0.44)	25 (0.08)	0.7	0.3	p 0.02 OR 1.44 (1.07-1.93)	
Características clínico-fenotípicas							
	GG	GC	CC	G	C	GG vs (GC+CC)	CC vs (GC+GG)
AF Ps	0.48	0.45	0.06	0.72	0.28	p 0.93	p 0.55
No AF Ps	0.49	0.43	0.08	0.70	0.30	OR 0.98 (0.66-1.46)	OR 0.73 (0.33-1.59)
HLA-Cw6+	0.47	0.44	0.09	0.69	0.31	p 0.49	p 0.33
HLA-Cw6-	0.50	0.45	0.05	0.73	0.27	OR 0.87 (0.58-1.30)	OR 1.59 (0.73-3.49)
Precoz	0.49	0.44	0.07	0.71	0.29	p 0.86	p 1
Tardío	0.48	0.45	0.07	0.70	0.30	OR 0.96 (0.63-1.48)	OR 1.00(0.42-2.36)
PASI \geq 10	0.54	0.39	0.07	0.74	0.26	p 0.06	p 0.98
PASI < 10	0.45	0.48	0.07	0.69	0.31	OR 1.46 (0.98-2.18)	OR 1.01 (0.45-2.23)
APs	0.53	0.45	0.02	0.76	0.24	p 0.49	p 0.11
No APs	0.48	0.44	0.08	0.70	0.30	OR 1.19 (0.74-1.91)	OR 0.28 (0.07-1.20)
Ps ungueal	0.52	0.43	0.05	0.74	0.26	p 0.10	p 0.11
No Ps ung.	0.44	0.46	0.10	0.67	0.33	OR 1.40 (0.93-2.09)	OR 0.49 (0.23-1.09)
HTA	0.54	0.41	0.05	0.75	0.25	p 0.34	p 0.48
No HTA	0.48	0.45	0.07	0.71	0.29	OR 1.27 (0.78-2.06)	OR 0.66 (0.22-1.96)
DM2	0.39	0.46	0.15	0.62	0.38	p 0.15	p 0.03
No DM2	0.51	0.43	0.06	0.73	0.27	OR 0.61 (0.31-1.20)	OR 2.90 (1.09-7.70)
DL	0.47	0.45	0.08	0.70	0.30	p 0.68	p 0.78
No DL	0.50	0.44	0.06	0.72	0.28	OR 0.89 (0.51-1.54)	OR 1.31 (0.48-3.61)
CI	0.46	0.46	0.08	0.69	0.31	p 0.75	p 0.99
No CI	0.49	0.44	0.07	0.71	0.29	OR 0.87 (0.38-2)	OR 1.28 (0.28-5.74)
SM	0.47	0.49	0.04	0.72	0.28	p 0.83	p 0.40
No SM	0.50	0.43	0.07	0.71	0.29	OR 0.92 (0.56-1.51)	OR 0.51 (0.15-1.75)
Obesidad	0.42	0.53	0.05	0.68	0.32	p 0.05	p 0.36
No obeso	0.52	0.40	0.08	0.72	0.28	OR 0.65 (0.42-1.00)	OR 0.64 (0.25-1.65)

Se expresan las frecuencias genotípicas y alélicas como frecuencias absolutas y relativas (entre paréntesis). En el estudio de características clínicas y fenotípicas únicamente se expresan frecuencias relativas (n: 405). Para el estudio de la asociación se utiliza la prueba de χ^2 tomando como valor significativo $p < 0.05$ y la OR (IC 95%)

En el estudio posterior de la combinación de los haplotipos de riesgo para Ps (*IL12Brs3212227-AA* y *IL12Brs6887695-GG*) (Tabla 14), la presencia de los dos alelos de riesgo de estos SNPs produce una interacción que aumenta el riesgo de Ps, al hallarse una frecuencia significativamente mayor de *IL12Brs6887695-GG + IL12Brs3212227-AA* en los pacientes con Ps ($p < 0.0001$, OR 1.83 [1.38–2.42]).

Tabla 14 – Distribución de los haplotipos de *IL12Brs3212227* e *IL12Brs6887695*

Controles (n 426)	<i>rs3212227- AA</i>	<i>rs3212227-AC</i>	<i>rs3212227-CC</i>
<i>rs6887695-GG</i>	137 (0.82)	25 (0.15)	5 (0.03)
<i>rs6887695-GC</i>	128 (0.68)	54 (0.29)	6 (0.03)
<i>rs6887695-CC</i>	30 (0.42)	34 (0.48)	7 (0.10)
Ps (n 405)	<i>rs3212227- AA</i>	<i>rs3212227-AC</i>	<i>rs3212227-CC</i>
<i>rs6887695-GG</i>	188 (0.91)	19 (0.09)	0
<i>rs6887695-GC</i>	92 (0.52)	78 (0.44)	7 (0.04)
<i>rs6887695-CC</i>	12 (0.58)	4 (0.17)	5 (0.25)

Se indican los datos en frecuencias absolutas y relativas (entre paréntesis)

El estudio multivariante de asociación que se expone en la Tabla 15 muestra la pérdida de la significación estadística en la asociación del genotipo *IL12Brs3212227-CC* a DM2, aunque persiste una tendencia estadística a la presentación conjunta de ambas características. De forma opuesta, se encuentra una asociación significativa entre el genotipo *IL12Brs6887695-GG* y una mayor gravedad de la Ps condicionando un incremento del riesgo (Exp β 1.53) para los portadores homocigotos de este alelo. La asociación del genotipo *IL12Brs6887695-CC* a DM2 se mantiene, aunque aumenta el coeficiente estandarizado β estimado por lo que los portadores de este genotipo tienen un riesgo cuatro veces mayor de padecer DM2.

Tabla 15 - Asociación entre variables de estudio en *IL12B*: diferencias según cálculo realizado

<i>IL12B</i>	Asociación	χ^2	Regresión logística	Variantes en el modelo de regresión
<i>IL12B rs3212227</i>	<i>rs3212227-CC:DM2</i>	ρ 0.04 OR 5.9 (1.35-25.73)	ρ 0.046 Exp β 4.02 (1.03-17.20)	HLA-Cw6 [Eiris et al, 2014]
<i>IL12B rs6887695</i>	<i>rs6887695-GG:PASI\geq10</i>	ρ 0.06	ρ 0.04 Exp β 1.53 (1.02-2.31)	HLA-Cw6[Nikamo et al, 2015], AF
	<i>rs6887695-CC:DM2</i>	ρ 0.03 OR 2.90 (1.09-7.70)	ρ 0.02 Exp β 3.22 (1.20-8.67)	HLA-Cw6 [Eiris et al, 2014]

Valor p calculado inicialmente mediante χ^2 y sentido de la asociación mediante OR (IC 95%). En presencia de significación según χ^2 se valora la influencia de factores de confusión mediante análisis multivariante tipo regresión logística con valor p y Exp β (IC 95%)

6.2.2.2 SECUENCIACIÓN DE *IL12B* Y ESTUDIO DE LOS SNP HALLADOS

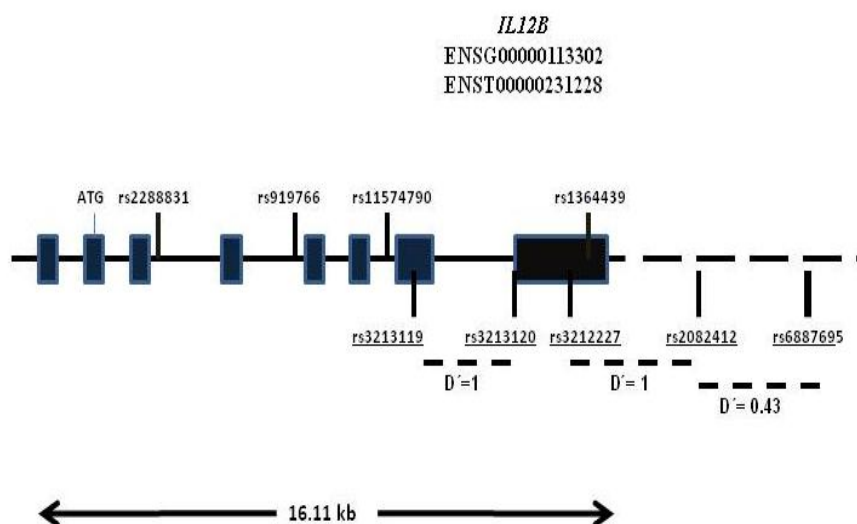


Figura 14 - Mapa de *IL12B*. SNPs detectados en la secuenciación (zona superior), SNP finalmente genotipados (zona inferior, subrayados) y desequilibrio de ligamiento (D') entre los SNPs. Intrones: línea continua, exones: áreas rectangulares, región 3'-UTR: línea discontinua

La secuenciación del gen en 30 pacientes portadores del haplotipo de riesgo *IL12Brs6887695-GG* + *IL12Brs3212227-AA* identifica siete SNPs previamente descritos en la literatura (Figura 14): tres en el área intrónica secuenciada próxima a los

exones analizados, dos en región 3'-UTR y dos en exones codificantes 7 (*IL12Brs3213120*) y 8 (*IL12Brs3213119*).

Se examinan los situados en exones codificantes, en este caso *IL12Brs3213120* e *IL12Brs3213119*, siendo también genotipados de forma preliminar en los pacientes y controles mediante PCR- RFLP (Figura 15), sin embargo ambas variantes se encuentran en un desequilibrio de ligamiento completo y no se procede a su genotipado posterior en el resto de la muestra.

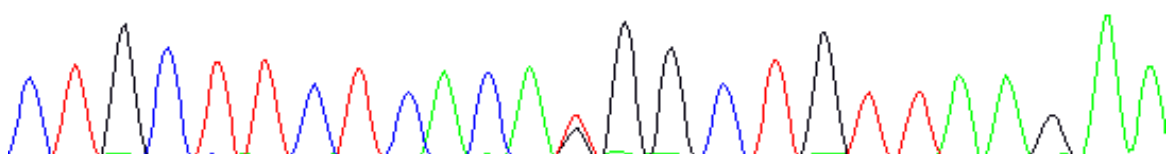


Figura 15 - Secuenciación automática Sanger del SNP en 3'UTR *IL23Rrs1368439*. Muestra el lugar de variación alélica en un heterocigoto (curva color rojo-T y negro-G en la parte central)

6.2.3 PSORIASIS Y GEN *IL23R*

En *IL23R*, los SNPs seleccionados para su estudio siguiendo la evidencia científica disponible, son *IL23Rrs11209026* [Capon *et al*, 2007; Cargill *et al*, 2007] e *IL23Rrs2201841* [Capon *et al*, 2007; Nair *et al*, 2009; Zhu *et al*, 2012] (Tabla 16).

Tabla 16 – Distribución de MAF de *IL23Rrs11209026* e *IL23Rrs2201841* en la muestra y población caucásica

SNP	Variación	MAF pacientes	MAF controles	MAF caucásica
<i>IL23Rrs11209026</i>	1:g.67240275G>A	0.07	0.08	0.06
<i>IL23Rrs2201841</i>	1:g.67228519A>G	0.30	0.35	0.30

Se expresan las frecuencias relativas del alelo de menor frecuencia (MAF) en ambos SNPs

6.2.3.1 POLIMORFISMOS *IL23Rrs11209026* E *IL23Rrs2201841* Y RELACIÓN CON FENOTIPO PS/FRCV

Durante el recuento alélico de *IL23Rrs11209026* (*IL23Rrs11209026-A*: adenina, *IL23Rrs11209026-C*: guanina) no se encuentra ningún paciente con genotipo AA, por lo que el estudio de asociación es realizado entre AG (56 pacientes, frecuencia relativa 0.14) versus GG y unificando controles AA+AG para el contraste de hipótesis (Tabla 17).

Aunque no se observó una asociación con Ps, sí se encontró una asociación estadísticamente significativa entre el genotipo *IL23Rrs11209026-AG* y el subgrupo de pacientes con Ps y APs concomitante,

reflejando un aumento de riesgo asociado al alelo G. Destacan las asociaciones *IL23Rrs11209026*-GG a HLA-Cw6+ y a una enfermedad más intensa (PASI≥10), mientras que no se detectó ninguna asociación estadísticamente significativa a FRCV.

Tabla 17 – *IL23Rrs11209026*: distribución alelo-genotípica según características clínicas y FRCV

IL23Rrs11209026							
	GG	AG	AA	A	G	GG vs (AG+AA)	
Controles (n:426)	362 (0.85)	60 (0.14)	4 (0.01)	0.08	0.92		
Pacientes (n:405)	349 (0.86)	56 (0.14)	-	0.07	0.93	ρ 0.62 OR 1.1 (0.75-1.62)	
APs+ (n:91)	85 (0.94)	6 (0.06)	-	0.03	0.97	ρ 0.03 OR 2.51 (1.05-5.98)	
No APs (n:314)	264 (0.84)	50 (0.16)	-	0.08	0.92	ρ 0.74 OR 0.93 (0.62-1.4)	
Características clínico-fenotípicas							
	GG	AG	AA	G	A	GG vs AG	AG vs GG
AF Ps	0.89	0.11	0	0.95	0.05	ρ 0.15	ρ 0.17
No AF Ps	0.84	0.16	0	0.92	0.08	OR 1.52 (0.86-2.69)	OR 0.65 (0.37-1.15)
HLA-Cw6+	0.90	0.10	0	0.95	0.05	ρ 0.046	ρ 0.042
HLA-Cw6-	0.83	0.17	0	0.92	0.08	OR 1.86 (1.01-3.45)	OR 0.53 (0.29-0.99)
Precoz	0.88	0.12	0	0.94	0.06	ρ 0.24	ρ 0.24
Tardío	0.83	0.17	0	0.92	0.08	OR 0.70 (0.39-1.27)	OR 1.43 (0.79-2.60)
PASI ≥ 10	0.91	0.09	0	0.96	0.04	ρ 0.02	ρ 0.02
PASI<10	0.83	0.17	0	0.92	0.08	OR 2.11 (1.13-3.95)	OR 0.48 (0.25-0.89)
APs	0.94	0.06	0	0.97	0.03	ρ 0.02	ρ 0.02
No APs	0.84	0.16	0	0.92	0.08	OR 2.77 (1.15-6.68)	OR 0.37 (0.15-0.89)
Ps ungueal	0.86	0.14	0	0.93	0.07	ρ 0.83	ρ 0.84
No Ps ung.	0.87	0.13	0	0.92	0.08	OR 0.94 (0.53-1.68)	OR 1.06 (0.59-1.90)
HTA	0.88	0.12	0	0.94	0.06	ρ 0.53	ρ 0.60
No HTA	0.86	0.14	0	0.93	0.07	OR 1.22 (0.59-2.53)	OR 0.82 (0.40-1.71)
DM2	0.90	0.10	0	0.95	0.05	ρ 0.63	ρ 0.63
No DM2	0.86	0.14	0	0.93	0.07	OR 1.44 (0.49-4.24)	OR 0.70 (0.24-2.03)
DL	0.89	0.11	0	0.95	0.05	ρ 0.49	ρ 0.75
No DL	0.86	0.14	0	0.93	0.07	OR 1.34 (0.58-3.12)	OR 0.75 (0.32-1.73)
CI	0.96	0.04	0	0.98	0.02	ρ 0.23	ρ 0.23
No CI	0.86	0.14	0	0.93	0.07	OR 4.06 (0.54-30.6)	OR 0.25 (0.03-1.86)
SM	0.20	0.16	0	0.94	0.06	ρ 0.66	ρ 0.66
No SM	0.80	0.84	0	0.93	0.07	OR 1.27 (0.60-2.72)	OR 0.79 (0.37-1.68)
Obesidad	0.30	0.29	0	0.93	0.07	ρ 0.96	ρ 0.96
No obeso	0.70	0.71	0	0.93	0.07	OR 1.07 (0.57-2.00)	OR 0.94 (0.50- 1.75)

Se expresan las frecuencias genotípicas y alélicas como frecuencias absolutas y relativas (entre paréntesis). En el estudio de características clínicas y fenotípicas únicamente se expresan frecuencias relativas(n: 405). Para el estudio de la asociación se utiliza la prueba de χ^2 tomando como valor significativo $p<0.05$ y la OR (IC 95%)

El recuento de las frecuencias alélicas de *IL23Rrs2201841* (*IL23Rrs2201841*-G: guanina, *IL23Rrs2201841*-C: adenina) y genotípicas de este SNP se muestra en la Tabla 18. Se encuentra una asociación significativa entre el genotipo *IL23Rrs2201841*-AA y la presencia de Ps de forma global (ρ 0.03) o Ps y APs concomitante (ρ 0.02), pero no para los pacientes con expresión puramente cutánea (APs-) (ρ 0.12). El estudio de asociación a características clínicas de los pacientes recoge una asociación entre la homocigosis del alelo *IL23Rrs2201841*-G y la presencia de DM tipo 2 (ρ 0.03, OR 2.69).

Tabla 18 - *IL23Rrs2201841*: distribución alelo-genotípica según características clínicas y FRCV

<i>IL23Rrs2201841</i>							
	AA	AG	GG	A	G	AA vs (AG+GG)	
Controles (n:426)	175 (0.41)	200 (0.47)	51 (0.12)	0.65	0.35		
Pacientes (n:405)	197 (0.49)	174 (0.43)	34 (0.08)	0.70	0.30	ρ 0.03 OR 1.36 (1.03-1.79)	
APs+ (n:91)	50 (0.55)	34 (0.37)	7 (0.08)	0.74	0.26	ρ 0.02 OR 1.75 (1.11-2.76)	
No APs (n:314)	147 (0.47)	140 (0.45)	27 (0.08)	0.69	0.31	ρ 0.12 OR 1.26 (0.94-1.67)	
Características clínico-fenotípicas							
	AA	AG	GG	A	G	AA vs (AG+GG)	GG vs (AG+AA)
AF Ps	0.51	0.41	0.08	0.72	0.28	ρ 0.41	ρ 0.91
No AF Ps	0.47	0.44	0.09	0.69	0.31	OR 1.18 (0.80-1.74)	OR 0.90 (0.45-1.82)
HLA-Cw6+	0.47	0.43	0.10	0.69	0.31	ρ 0.61	ρ 0.10
HLA-Cw6-	0.50	0.43	0.07	0.72	0.28	OR 0.90 (0.61-1.34)	OR 1.91 (0.98-3.88)
Precoz	0.48	0.43	0.09	0.70	0.30	ρ 0.59	ρ 0.61
Tardío	0.51	0.42	0.07	0.72	0.28	OR 1.13 (0.73-1.73)	OR 0.74 (0.33-1.69)
PASI ≥ 10	0.48	0.43	0.09	0.70	0.30	ρ 0.70	ρ 0.61
PASI < 10	0.50	0.43	0.07	0.72	0.28	OR 0.93 (0.62-1.37)	OR 1.28 (0.63-2.60)
APs	0.55	0.37	0.08	0.74	0.26	ρ 0.15	ρ 0.94
No APs	0.47	0.44	0.09	0.69	0.31	OR 1.41 (0.89-2.26)	OR 0.88 (0.37-2.09)
Ps ungueal	0.48	0.43	0.09	0.70	0.30	ρ 0.85	ρ 0.81
No Ps ung.	0.49	0.43	0.08	0.71	0.29	OR 0.96 (0.64-1.44)	OR 1.17 (0.56-2.44)
HTA	0.54	0.36	0.10	0.72	0.28	ρ 0.32	ρ 0.62
No HTA	0.48	0.44	0.08	0.70	0.30	OR 1.28 (0.79-2.08)	OR 1.23 (0.54-2.83)
DM2	0.46	0.36	0.18	0.64	0.36	ρ 0.76	ρ 0.03
No DM2	0.49	0.44	0.07	0.71	0.29	OR 0.90 (0.47-1.75)	OR 2.69 (1.09-6.66)
DL	0.39	0.50	0.11	0.64	0.36	ρ 0.09	ρ 0.38
No DL	0.50	0.42	0.08	0.71	0.29	OR 0.62 (0.36-1.08)	OR 1.48 (0.61-3.57)
CI	0.44	0.44	0.12	0.66	0.34	ρ 0.62	ρ 0.71
No CI	0.49	0.43	0.08	0.71	0.29	OR 0.82 (0.36-1.84)	OR 1.73 (0.43-5.40)
SM	0.57	0.33	0.10	0.73	0.27	ρ 0.13	ρ 0.65
No SM	0.47	0.45	0.08	0.70	0.30	OR 1.53 (0.93-2.52)	OR 1.34 (0.58-3.08)
Obesidad	0.51	0.38	0.11	0.70	0.30	ρ 0.64	ρ 0.35
No obeso	0.48	0.45	0.07	0.70	0.30	OR 1.33 (0.74-1.74)	OR 1.52 (0.73-3.14)

Se expresan las frecuencias genotípicas y alélicas como frecuencias absolutas y relativas (entre paréntesis). En el estudio de características clínicas y fenotípicas únicamente se expresan frecuencias relativas (n: 405). Para el estudio de la asociación se utiliza la prueba de χ^2 tomando como valor significativo $p < 0.05$ y la OR (IC 95%).

El ajuste multivariante muestra que las asociaciones de *IL23Rrs11209026* encontradas en el estudio simple mantienen la significación al ajustarlas por variables que pueden actuar como factores de confusión (Tabla 19), a excepción de *IL23Rrs11209026-GG* y HLA-Cw6. Se mantiene además la asociación con DM2 de la variante *IL23Rrs2201841-GG*.

Tabla 19 - Asociación entre variables de estudio en *IL23R*: diferencias según cálculo realizado

	Asociación	χ^2	Regresión logística	Variantes en el modelo de regresión
<i>IL23Rrs11209026</i>	<i>IL23Rrs11209026-GG</i> :APs	ρ 0.02 OR 2.77 (1.15-6.68)	ρ 0.03 Exp β 2.76 (1.14-6.69)	HLA-Cw6 [Eiris et al, 2014], Inicio Precoz
	<i>IL23Rrs11209026-GG</i> :HLA-Cw6	ρ 0.046 OR 1.86 (1.01-3.45)	ρ 0.075 Exp β 1.79 (0.94-3.41)	PASI ≥10, APs, Inicio Precoz
	<i>IL23Rrs11209026-GG</i> :PASI ≥10	ρ 0.02 OR 2.77 (1.15-6.68)	ρ 0.044 Exp β 1.93 (1.02-3.65)	HLA-Cw6 [Eiris et al, 2014], AF
<i>IL23Rrs2201841</i>	<i>IL23Rrs2201841-GG</i> :DM2	ρ 0.03 OR 2.69 (1.09-6.66)	ρ 0.02 Exp β 3.11 (1.23-7.85)	HLA-Cw6 [Eiris et al, 2014]

Valor p calculado inicialmente mediante χ^2 y sentido de la asociación mediante OR (IC 95%). En presencia de significación según χ^2 se valora la influencia de factores de confusión mediante análisis multivariante tipo regresión logística con valor p y Exp β (IC 95%)

6.2.4 PSORIASIS Y GEN *IL23A*

En el caso de *IL23A*, se estudia el polimorfismo *IL23Ars2066808* [Nair *et al*, 2009; Bowes *et al*, 2011; Chen *et al*, 2011; Popa *et al*, 2013]. Se realiza un recuento de las frecuencias alélicas de *IL23Ars2066808* (*IL23Ars2066808-A*: adenina, *IL23Ars2066808-G*: guanina) para establecer los genotipos, estimándose la MAF en controles y casos (Tabla 20).

Tabla 20 -- *IL23Ars2066808*: distribución alelo-genotípica según características clínicas y FRCV

<i>IL23Ars2066808</i>						
	AA	AG	GG	A	G	AA vs (AG+GG)
Controles (n:426)	362 (0.85)	63 (0.147)	1 (0.003)	A 0.92	G 0.08	
Pacientes (n:405)	350 (0.86)	55 (0.14)	-	A 0.93	G 0.07	ρ 0.62 OR 1.13 (0.76-1.66)
APs+ (n:91)	86 (0.95)	5 (0.05)	-	A 0.97	G 0.03	ρ 0.02 OR 3.04 (1.19-7.78)
No APs (n:314)	264 (0.84)	50 (0.16)	-	A 0.92	G 0.08	ρ 0.82 OR 0.93 (0.62-1.4)
Características clínico-fenotípicas						
	AA	AG	A	G	AA vs AG	
AF Ps	0.89	0.11	0.95	0.05	ρ 0.25 OR 1.46 (0.82-2.60)	
No AF Ps	0.84	0.16	0.92	0.08		
HLA-Cw6+	0.86	0.14	0.92	0.08	ρ 0.95 OR 1.02 (0.57-1.83)	
HLA-Cw6-	0.87	0.13	0.92	0.08		
Precoz	0.86	0.14	0.93	0.07	ρ 0.88 OR 1.05 (0.55-1.99)	
Tardío	0.87	0.13	0.92	0.08		
PASI \geq 10	0.87	0.13	0.92	0.08	ρ 0.92 OR 1.04 (0.58-1.85)	
PASI < 10	0.86	0.14	0.93	0.07		
APs	0.95	0.05	0.98	0.02	ρ 0.02 OR 3.18 (1.23-8.24)	
No APs	0.84	0.16	0.92	0.08		
Ps ungueal	0.90	0.10	0.95	0.05	ρ 0.03 OR 1.87 (1.05- 3.32)	
No Ps ung.	0.82	0.18	0.91	0.09		
HTA	0.82	0.18	0.91	0.09	ρ 0.15 OR 0.62 (0.32-1.19)	
No HTA	0.88	0.12	0.94	0.06		
DM2	0.95	0.05	0.98	0.12	ρ 0.14 OR 3.08 (0.72-13.19)	
No DM2	0.86	0.14	0.93	0.07		
DL	0.87	0.13	0.92	0.08	ρ 0.89 OR 1.06 (0.47-2.37)	
No DL	0.86	0.14	0.93	0.07		
CI	0.88	0.12	0.94	0.06	ρ 1 OR 1.15 (0.33-3.97)	
No CI	0.87	0.13	0.92	0.08		
SM	0.88	0.12	0.94	0.06	ρ 0.75 OR 1.22 (0.57-2.61)	
No SM	0.86	0.14	0.93	0.07		
Obesidad	0.90	0.10	0.95	0.05	ρ 0.24 OR 1.58 (0.80-3.12)	
No obeso	0.85	0.15	0.92	0.08		

Se expresan las frecuencias genotípicas y alélicas como frecuencias absolutas y relativas (entre paréntesis). En el estudio de características clínicas y fenotípicas únicamente se expresan frecuencias relativas (n: 405). Para el estudio de la asociación se utiliza la prueba de χ^2 tomando como valor significativo $p < 0.05$ y la OR (IC 95%)

En este SNP no se hallan pacientes homocigotos para el alelo G, así que el cálculo de la asociación se realiza comparando la presencia de Ps entre los pacientes poseedores del genotipo AG (o la suma de controles AG+GG) frente al genotipo AA. Aunque no se observa asociación con el grupo de Ps, una estratificación por APs muestra significación estadística para la presencia en homocigosis del alelo A del SNP *rs2066808* y Ps con APs asociada (ρ 0.02, OR 3.04 [1.19-7.78]). El ajuste multivariante por factores de confusión (Tabla 21) mantiene la asociación entre *IL23Ars2066808-AA* y APs frente a pacientes sin artritis ya detectada en el estudio frente a los controles (OR 3.04) con una intensidad similar (Exp β 3.20), al igual que la asociación de forma independiente a la Ps ungueal.

Tabla 21 - Asociación entre variables de estudio en *IL23A*: diferencias según cálculo realizado

	Asociación	χ^2	Regresión logística	Variantes incluidas en el modelo de regresión
<i>IL23A</i> <i>rs2066808</i>	IL23Ars2066808-AA:APs	ρ 0.02 OR 3.18 (1.23-8.24)	ρ 0.02 Exp β 3.20 (1.23-8.20)	HLA-Cw6 [Eiris et al, 2014], inicio precoz [Budu-Aggrey et al, 2016]
	IL23Ars2066808-AA:Ps ungueal	ρ 0.03 OR 1.87 (1.05- 3.32)	ρ 0.03 Exp β 1.91 (1.07-3.45)	HLA-Cw6 [Eiris et al, 2014], inicio precoz [Budu-Aggrey et al, 2016]

Valor ρ calculado inicialmente mediante χ^2 y sentido de la asociación mediante OR (IC 95%). En presencia de significación según χ^2 se valora la influencia de factores de confusión mediante análisis multivariante tipo regresión logística con valor ρ y Exp β (IC 95%)

6.3 FARMACOGENÉTICA: RESPUESTA A TRATAMIENTO BIOLÓGICO

Se hace un análisis por separado en los pacientes de la muestra que recibían tratamiento biológico y donde se pudo cuantificar la respuesta PASI75 al final de la fase de inducción (semana 24) del tratamiento (n: 126). El análisis de respuesta global y según fármaco se expone en la Tabla 22.

Tabla 22 - Distribución de la respuesta PASI75 tras la fase de inducción

	PASI75		Total
	No	Si	
AntiTNF+AntiIL12/23	40 (31.7)	86 (68.3)	126
AntiTNF	37 (31.6)	80(68.4)	117
Anti IL12/23	11 (26.2)	31 (73.8)	42

Frecuencias absolutas y relativas (entre paréntesis). Respuesta PASI75 medida en la semana 24 post inicio de tratamiento

Para el análisis combinado, se selecciona la respuesta al primer fármaco de tipo biológico recibido (n: 126). Sin embargo, para el análisis por tipo de fármaco, los pacientes se seleccionan en base a la respuesta al primer fármaco del cada grupo (antiTNF o antiIL12/23) recibido, existiendo pacientes que han recibido en tratamientos secuenciales fármacos de ambos grupos, por lo que la n de este subanálisis resulta mayor que la n inicial (n: 117 + 42).

Se observa (Tabla 23) la existencia de una asociación significativa a alcanzar el PASI75 en la semana 24 en los pacientes portadores del haplotipo *rs6887695-GG* incluso tras el ajuste por HLA-Cw6 (Exp β 2.46). Aunque el número de pacientes no permite replicar ese resultado significativo al dividir a los pacientes según tratamiento anti TNF o anti IL12/23, la tendencia parece estar asociada a los fármacos anti TNF (OR 2.04) frente a la vía 12/23 (OR 0.77).

Tabla 23 - SNPs estudiados de IL12B, IL23R e IL23A y respuesta a tratamiento en semana 24

	AntiTNF-AntiIL12/23			AntiTNF			AntiIL12/23		
IL12Brs6887695									
	N	PASI75		N	PASI75		N	PASI75	
		No	Si		No	Si		No	Si
<i>rs6887695-GG</i>	62(0.49)	0.23	0.77	56(0.48)	0.25	0.75	23(0.56)	0.29	0.71
<i>rs6887695-GC</i>	52(0.41)	0.40	0.60	48(0.41)	0.39	0.61	16(0.37)	0.21	0.79
<i>rs6887695-CC</i>	12(0.1)	0.50	0.50	13(0.11)	0.50	0.50	3(0.08)	0.33	0.67
GG vs(GC+CC)	p 0.028 OR 2.43 (1.09-5.45)			p 0.087 OR 2.04 (0.90-4.65)			p 0.725 OR 0.77 (0.18-3.34)		
Ajuste Cw6	p 0.030 Expβ 2.46 (1.09-5.51)			p 0.089			p 1 #		
IL12Brs3212227									
	N	PASI75		N	PASI75		N	PASI75	
		No	Si		No	Si		No	Si
<i>rs3212227-AA</i>	90(0.71)	0.32	0.68	83 (0.71)	0.34	0.66	32 (0.77)	0.17	0.83
<i>rs3212227-AC</i>	34 (0.27)	0.29	0.71	32 (0.27)	0.29	0.70	10 (0.23)	0.29	0.71
<i>rs3212227-CC</i>	2 (0.02)	0	1	2 (0.02)	0	1	-	-	-
AA vs(AC+CC)	p 0.589 OR 0.77 (0.30-1.99)			p 0.542 OR 0.75 (0.29-1.93)			p 0.596 OR 0.5 (0.07-3.55)		
Ajuste Cw6	p 0.301			p 0.520			p 0.319		
IL23Rrs11209026									
	N	PASI75		N	PASI75		N	PASI75	
		No	Si		No	Si		No	Si
<i>rs11209026-AA</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>rs11209026-AG</i>	12(0.1)	0.50	0.50	12(0.1)	0.56	0.44	5(0.13)	0	1
<i>rs11209026-GG</i>	114(0.90)	0.30	0.70	105(0.9)	0.31	0.70	37(0.87)	0.35	0.65
GG vs AG	p 0.283 OR 2.33 (0.62-8.73)			p 0.150 OR 2.84 (0.70-11.43)			p 0.287 OR 1.53 (1.57-2.02)		
Ajuste Cw6	p 0.583			p 0.520			p 0.319		
IL23Rrs2201841									
	N	PASI75		N	PASI75		N	PASI75	
		No	Si		No	Si		No	Si
<i>rs2201841- AA</i>	78(0.61)	0.32	0.68	72 (0.62)	0.34	0.66	30 (0.71)	0.20	0.80
<i>rs2201841-AG</i>	33(0.27)	0.25	0.75	31 (0.26)	0.27	0.73	10 (0.24)	0.20	0.80
<i>rs2201841-GG</i>	15(0.12)	0.43	0.57	14 (0.12)	0.43	0.57	2 (0.05)	0	1
AA vs (AG+GG)	p 0.871 OR 0.91 (0.3-2.8)			p 0.847 OR 0.89 (0.29-2.79)			p 1 OR 0.8 (0.66-9.67)		
Ajuste Cw6	p 0.811			p 0.743			p 0.719		
IL23Ars2066808									
	N	PASI75		N	PASI75		N	PASI75	
		No	Si		No	Si		No	Si
<i>rs2066808-AA</i>	117 (0.93)	0.33	0.67	105 (0.90)	0.35	0.65	38 (0.92)	0.22	0.78
<i>rs2066808-AG</i>	9 (0.07)	0.63	0.37	12 (0.1)	0.63	0.37	3 (0.08)	0.67	0.33
<i>rs2066808-GG</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AA vs AG	p 0.13 OR 0.30 (0.07-1.34)			p 0.14 OR 0.30 (0.07-1.34)			p 0.156 OR 0.14 (0.01-1.78)		
Ajuste Cw6	p 0.09			p 0.11			p 0.09		

Frecuencias haplotípicas absolutas en cada columna de estudio (N), resto de datos en frecuencias relativas (entre paréntesis). Se estudia la posibilidad de asociación estadística univariante para genotipo homocigoto indicado frente al resto de pacientes mediante la prueba de χ^2 , tomando como valor significativo $p < 0.05$, y se analiza el sentido de la asociación mediante la OR (intervalo de confianza al 95%). Ajuste multivariante mediante regresión logística incluyendo HLA-Cw6+

7

DISCUSIÓN

Aunque el estudio de la base genética de la Ps comienza hace décadas, es en los últimos diez años donde se produce una explosión de conocimiento, publicándose los primeros modelos complejos inmunogenéticos de su patogenia [Nestle *et al*, 2009] y comenzando la integración del conocimiento obtenido de diferentes vías para comprender la enfermedad y su desarrollo. Sin embargo, la imagen que se nos revela es de una creciente e importante complejidad y variabilidad genética poblacional de la Ps y sus comorbilidades asociadas. Ello obliga a que para entender el papel de la variación a nivel de un solo SNP en el desarrollo y gravedad de la enfermedad, resulte necesario la replicación de los estudios en múltiples poblaciones a lo largo del globo. Nuestro grupo de trabajo, utilizando población de la zona norte de España, ha replicado los hallazgos ya descritos en diferentes genes [Coto-Segura *et al*, 2009; Coto-Segura *et al*, 2010; Coto *et al*, 2010; Coto-Segura *et al*, 2011; Coto *et al*, 2011; Coto-Segura *et al*, 2012; Gonzalez-Lara *et al*, 2013; Coto-Segura *et al*, 2014; Batalla *et al*, 2015; Batalla *et al*, 2015; Batalla *et al*, 2015; Batalla *et al*, 2015; Coto-Segura *et al*, 2015; Gonzalez-Lara *et al*, 2015; Coto-Segura *et al*, 2016], añadiendo nuevas variantes y nuevas hipótesis de investigación en esta línea, como las descritas en el presente trabajo (variación genética a nivel de SNPs en los genes *IL12B*, *IL23R* e *IL23A*).

La variación genética a nivel de la vía *IL12/23* fue inicialmente descrita como asociada a Ps y APs en los estudios a gran escala de Cargill [Cargill *et al*, 2007], Capon [Capon *et al*, 2007] y Liu [Liu *et al*, 2008] entre los años 2007-2008, aunque de forma previa la variación en *IL12B* había mostrado asociación en un estudio previo de Tsunemi [Tsunemi *et al*, 2002] en un número reducido de pacientes. Posteriormente esa asociación ha sido confirmada por múltiples grupos de trabajo, aunque no siempre determinada por los mismos SNPs, especialmente en poblaciones caucásicas frente a poblaciones de otros orígenes como el asiático. Sin embargo, el estudio de estas variables ha sido realizado solo para la presencia o ausencia de Ps/APs, sin haber estudiado su posible efecto en características fenotípicas de la Ps (salvo gravedad en un estudio de 2015 [Nikamo *et al*, 2015]).

La Ps se ha asociado a una mayor incidencia de FRCV y DM en diferentes estudios epidemiológicos y metanálisis [Armstrong *et al*, 2013; Coto-Segura *et al*, 2013]. Aunque genes como *TYK2*, *CDKAL1* y *FTO* sí han sido relacionados con aumento del riesgo para DM y obesidad en pacientes con Ps [Lees *et al*, 2011; Lu *et al*, 2013; Coto-Segura *et al*, 2014], el estudio a gran escala de la asociación en Ps de variantes de *IL12B*, *IL23R* e *IL23A* a comorbilidades implicadas en el SM tampoco ha sido realizado previamente.

7.1 CARACTERÍSTICAS ANTROPOMÉTRICAS

La distribución por sexos con una ligera predominancia del sexo masculino se asemeja a lo descrito en la mayoría de estudios [Ferrandiz *et al*, 2002; García-Diez *et al*, 2008; Griffiths, 2010], y también las características antropométricas [Bacaksiz *et al*, 2013]. El IMC medio (27.54) corresponde a sobrepeso [Gelfand *et al*, 2006; Langan *et al*, 2012], aunque otras series y metanálisis presentan IMC medios que sí entran en el rango de obesidad (IMC >30) [Coumbe *et al*, 2014; Barrea *et al*, 2015]. En todo caso, el porcentaje de pacientes con obesidad en nuestro estudio (30%) es similar al estudio PSO-RISK sobre 352

pacientes españoles a tratamiento biológico (31%) [Belinchon *et al*, 2015] y superior a la de la población general de la misma zona (26.8%) [Gabriel *et al*, 2008], como parece justificado dada la asociación existente descrita en múltiples estudios y metanálisis entre Ps y obesidad [Wang *et al*, 2008; Langan *et al*, 2012; Coumbe *et al*, 2014]. Nuestros pacientes varones presentan mayores índices de masa corporal y por lo tanto de obesidad (p 0.039) que las mujeres incluso a edad similar, aunque la mayoría de estudios que ofrecen valores antropométricos de los pacientes con Ps no hacen diferenciación por sexos [Bacaksiz *et al*, 2013; Barrea *et al*, 2015].

El consumo de tabaco (30%) parece entrar dentro de los rangos (27.96%-50%) ya descritos en otros estudios [Gelfand *et al*, 2006; García-Diez *et al*, 2008; Bacaksiz *et al*, 2013]. Un consumo aumentado de alcohol también ha sido relacionado con la Ps en diferentes estudios (nivel de evidencia B) aunque con una gran variabilidad en sus métodos [Brenaut *et al*, 2013; Richard *et al*, 2013]. Sin embargo, el consumo de alcohol no ha logrado ser asociado a una peor evolución de la enfermedad o a una menor efectividad de los tratamientos (ya fuera por falta de adherencia o por interacción fisiológica). En nuestra serie un 34% de los pacientes consumían alcohol, aunque no se cuantificó dicho consumo, siendo superior al 27.3% descrito en una serie ibérica de 2008 [García-Diez *et al*, 2008].

7.2 CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS DE LA PS

Con respecto a la Ps, el paciente medio de este trabajo tendría antecedentes familiares (52%), habría comenzado a los 29 años y llevaría por lo tanto en el momento del estudio una media de 18 años de evolución de la enfermedad. Presentaría un grado de afectación leve (59%), con Ps ungueal (61%) aunque sin APs (78%), y estaría recibiendo tratamientos sistémicos o biológicos (57%) para su Ps en el momento del estudio.

La presencia de antecedentes familiares de Ps (52%) es superponible a la descrita en el estudio de García-Diez (49.8%) [García-Diez *et al*, 2008], siendo incluso significativamente superior (p 0.03, OR 1.74) en el segmento de pacientes que presentaban APs (62.2%), lo cual concuerda con la agregación familiar genética de esta patología [Boehncke *et al*, 2014]. La edad media de inicio de la Ps y el tiempo de evolución de la población de este trabajo no difieren de las publicadas en otros estudios en población española o ibérica (28-29) [Ferrandiz *et al*, 2001; García-Diez *et al*, 2008]. Un 71% de los pacientes debutaron con la enfermedad a una edad igual o inferior a 40 años, lo que en la literatura [Gudjonsson *et al*, 2002; Stuart *et al*, 2002; Lu *et al*, 2013] y en este estudio se ha relacionado significativamente (p <0.001) con antecedentes familiares y HLA-Cw6.

Atendiendo a un corte según PASI ≤ 10 , una mayoría (59%) de los pacientes de nuestro estudio tendrían afectación leve, a diferencia de otros estudios nacionales [Ferrandiz *et al*, 2002; García-Diez *et al*, 2008] donde predominan los pacientes con afectación severa (55.21%-65.1%, respectivamente). Sin embargo, debe tenerse en cuenta que el valor del PASI medio sí es superior a 10 (11.20) y la valoración de la

gravedad se realizó en el momento de la inclusión, por lo que la asistencia a una consulta especializada en Ps puede conllevar un sesgo de tratamiento más intenso (57% pacientes a tratamiento con sistémicos incluyendo biológicos, 31% del total del pacientes con tratamiento biológico actual o pasado) que reduzca el índice PASI frente estudios como el de García-Díez [García-Díez *et al*, 2008] (51.8% pacientes a tratamiento con sistémicos, PASI medio 14.3, sin embargo solo 3.2% a tratamiento biológico). Además, siguiendo la tendencia descrita a una asociación entre debut temprano de la enfermedad y mayor gravedad de la enfermedad [Puig *et al*, 2014], también se replica esta asociación ($p < 0.001$, OR 3.22) en nuestro trabajo.

Los pacientes de nuestra serie presentan una alta tasa de afectación ungueal (71%), aunque la prevalencia en estudios es muy variable según los criterios utilizados para su determinación. Destacan con respecto a la afectación ungueal la asociación significativa a APs de forma independiente a otros factores ($p < 0.001$, Exp β 2.65) y la importante diferencia en prevalencia (cercana al doble) entre los pacientes con APs concomitante frente a los pacientes con afectación cutánea exclusivamente, aunque la variabilidad interestudio no permite la comparación de porcentajes absolutos: por ejemplo, Gladman describe una incidencia de Ps ungueal en pacientes sin APs del 40-45% y un 87% en pacientes con APs [Gladman *et al*, 2005] frente a un 3.7% y un 43.3% respectivamente en un reciente estudio brasileño [Schons *et al*, 2015]. A nivel de población española, destaca el estudio de Armesto y colaboradores [Armesto *et al*, 2011] donde también se observa una prevalencia de Ps ungueal en pacientes con APs mayor del doble frente a la forma cutánea (29.7% vs 11.5%) y además determina como otros factores de riesgo para Ps ungueal: mayor índice de masa corporal (IMC>30), inicio precoz, AF, gravedad y duración de la Ps.

La proporción de pacientes con APs en este trabajo (22.4%) es comparable con el estudio PSO-RISK (22.8%) [Belinchon *et al*, 2015] o la descrita en metanálisis y revisiones (5.94%-25%) [Prey *et al*, 2010; Boehncke *et al*, 2014]. Sin embargo, ha de remarcar que se encuentra más cercana al límite superior de ese intervalo que otros estudios de pacientes como el de García-Díez (12.8%) [García-Díez *et al*, 2008] o el Epiderma de 2001 (6.8%) [Ferrandiz *et al*, 2001]. Nuevamente nuestros pacientes presentan el sesgo de provenir de una consulta especializada multidisciplinar con Reumatología, lo que aumentaría el diagnóstico precoz de las formas clínicas precoces o escasamente sintomáticas, lo que parece apoyar el estudio multicéntrico del grupo PREVAL [Lopez Estebarez *et al*, 2015] donde al realizar un despistaje de la APs mediante escalas y valoración reumatológica encuentran una prevalencia incluso mayor (32.3%). Aunque el PASI medio de nuestra muestra con APs (11.32) casi no varía con respecto al de los pacientes sin ella (11.20), se observa una asociación significativa entre una mayor intensidad de la Ps y la presencia de APs (OR 2.05 [1.28-3.29]) al igual que otros trabajos [Armesto *et al*, 2011; Budu-Aggrey *et al*, 2016; Eder *et al*, 2016]. Sin embargo, no se han logrado replicar asociaciones descritas con otros factores de riesgo para APs como sexo femenino o inicio precoz de Ps [Budu-Aggrey *et al*, 2016].

7.3 FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR

La prevalencia de HTA en nuestro grupo parece ser más baja (21%) que la que presenta la población general (37.8%) del estudio ERICE [Gabriel *et al*, 2008], aunque esta disparidad podría estar explicada por un sesgo de edad. En Ps, es similar a un estudio de García-Díez sobre población ibérica con Ps (20.2%) [García-Díez *et al*, 2008] pero sin embargo inferior a la descrita en el estudio PSO-RISK (56.5%) [Belinchon *et al*, 2015], quizás por nuestra fuente de obtención de datos (riesgo de obviar casos de HTA silente) y la inclusión de pacientes con Ps leve.

El perfil lipídico de nuestros pacientes, con tendencia a niveles elevados de colesterol y triglicéridos pero manteniendo también niveles elevados de HDL, parece estar en el rango de otros estudios publicados [Bacaksiz *et al*, 2013; Barrea *et al*, 2015; Santos-Juanes *et al*, 2015]. Si se define la presencia/ausencia de DL como colesterol >250 mg/dL o TG >200 mg/dL [Gelfand *et al*, 2006; Coumbe *et al*, 2014], nuestra serie es equiparable (16%) tanto a la serie de García-Díez *et al* (14%) [García-Díez *et al*, 2008] como a la población general (estudio ERICE 17.1% [Gabriel *et al*, 2008]). Sin embargo, en ocasiones se utilizan como punto de corte valores menores de colesterol total (>200 mg/dL) lo que podría ocasionar disparidad con otros estudios (35% estudio PSO-RISK [Belinchon *et al*, 2015]).

La prevalencia de DM2 en nuestra muestra (10.9% de pacientes) destaca frente al 5.1% descrito en población general del norte de España [Gabriel *et al*, 2008]. Se han descrito porcentajes de entre el 8.3%-12% en población española con Ps [García-Díez *et al*, 2008; Armesto *et al*, 2012] y entre 10.8% y el 12.2% en el Reino Unido según intensidad de la Ps [Langan *et al*, 2012], por lo que estaría en un rango comparable. Sin embargo, la cifra de nuestro estudio es cercana al doble de la prevalencia comunicada en población con Ps estadounidense (4-7%) [Gelfand *et al*, 2006; Armstrong *et al*, 2012; Yeung *et al*, 2013], aunque se ha observado alrededor de un 5% de DM2 no conocidas en estudios con determinaciones analíticas en población general estadounidense, lo que aumentaría la prevalencia al 12-14%, nivel similar o mayor que los europeos [Menke *et al*, 2015].

Aunque el estudio de una condición con cierto grado de letalidad ya produce un sesgo de supervivencia, la proporción de pacientes en nuestro estudio con CI (5.9%) es similar a la descrita en población ibérica con Ps (6.4%) [García-Díez *et al*, 2008]. Con respecto a la población general, aunque se ha descrito un incremento de la incidencia de CI en pacientes con Ps (OR 1.25) y APs (OR 1.57) [Horreau *et al*, 2013; Richard *et al*, 2013], un metanálisis con registros de salud españoles sobre SM muestra porcentajes muy variables (3-18%) en función del sexo (mayor en varones) y la presencia de SM [Fernández-Bergés *et al*, 2012].

Según los criterios actuales de la OMS, el SM afectaría al 31% de la población general de nuestro país [Fernández-Bergés *et al*, 2012], con tasas muy variables de prevalencia de SM en Ps (24.5% - 41.1% [Langan *et al*, 2012; Belinchon *et al*, 2015; Danielsen *et al*, 2015]). Nuestros pacientes presentan una prevalencia

inferior (19%) a pesar de presentar valores similares de FCRV y obesidad que trabajos en poblaciones de nuestra zona [García-Diez *et al*, 2008], aunque ha de tenerse en cuenta la diferente edad media de las poblaciones estudiadas.

Observamos porcentajes superiores a la población general del norte de España del estudio ERICE [Gabriel *et al*, 2008] en cada uno de los FRCV estudiados. Sin embargo, como posible sesgo a tener en cuenta en el análisis comparativo, se ha descrito que los pacientes que acuden a la consulta especializada presentan una prevalencia mayor [Langan *et al*, 2012; Jacobi *et al*, 2013] que cuando los datos se obtienen mediante registros de salud [Armstrong *et al*, 2012; Yeung *et al*, 2013], lo que sugiere que quienes acuden a consulta presentan una mayor gravedad y una mayor inflamación sistémica, con un mayor riesgo de presentar comorbilidades secundarias [Armstrong *et al*, 2013].

7.4 HLA-Cw6 Y PSORIASIS

La incidencia de HLA-Cw6 alcanza hasta al 65% de los individuos de raza caucásica con Ps frente a un 15% en la población general sin Ps [Duffin y Krueger, 2009], aunque los porcentajes parecen ser algo menores en nuestro estudio (41.5% pacientes frente a 4.6% controles).

La distribución asimétrica en función de la edad de inicio de la Ps hizo que HLA-Cw6 fuera uno de los primeros marcadores de Ps con correlación fenotípica. Un 49.1% de nuestros casos con inicio temprano presentaba este alelo frente al 21.1% de las Ps de inicio tardío, con una fuerte asociación estadística ($p < 0.001$, OR 3.59). En el estudio original de Henseler [Henseler y Christophers, 1985] esta cifra crece hasta un 85.3% de los pacientes con inicio temprano frente a solo un 14.7% de aquellos con inicio tardío, aunque estudios posteriores han comunicado tasas algo menores de HLA-Cw6+ en Ps de tipo I (58.8%) [Smith *et al*, 2008].

En la literatura científica se ha descrito la asociación de HLA-Cw6 a determinadas características fenotípicas de la Ps como el fenómeno de Köebner, una mejor respuesta a fototerapia, antecedentes familiares [Gudjonsson *et al*, 2002] y una mayor intensidad de la enfermedad [Oka *et al*, 2012], mientras que parece presentar cierto efecto protector frente a APs y Ps ungueal [Gudjonsson *et al*, 2006; Armesto *et al*, 2011; Brenaut *et al*, 2013]. En nuestra muestra hemos sido capaces de corroborar esto en todas las características recogidas en nuestra base de datos (AF, PASI \geq 10, Ps ungueal, APs) de forma significativa ($p < 0.001-0.02$), salvo en APs (p 0.66) donde no obstante se mantiene la tendencia protectora descrita.

7.5 VARIACIÓN EN IL12B Y PSORIASIS

IL12B se ha establecido claramente como el segundo locus de variabilidad genética asociada a Ps más importante (1.27% heredabilidad) [Oka *et al*, 2012]. Sin embargo, la evidencia de cómo esta variabilidad, especialmente en regiones no codificantes, afecta específicamente a la función del gen es aún escasa.

La variación en *IL12Brs2082412* ha sido asociada a un incremento del riesgo de Ps en población caucásica [Elder, 2009] y población asiática [Yang *et al*, 2013] con OR entre 1 -1.5. Sin embargo, ninguno analizó *IL12Brs3212227*, también localizado en la región 3' UTR del gen y en desequilibrio de ligamiento completo o prácticamente completo (D' 0.81-1) en todas las poblaciones de la base de datos Ensembl al igual que en este trabajo.

Destacan, además de los SNPs de *IL12B* finalmente estudiados por completo en este trabajo (*rs3212227* y *rs6887695*), los SNPs *IL12Brs3213120* e *IL12Brs3213119*. Ambos presentaron en un genotipado preliminar un desequilibrio de ligamiento completo y una diferencia en frecuencias alélicas menores entre controles y casos de un 1%. Sin embargo, debe tenerse en cuenta su localización (Figura 16), ya que *IL12Brs3213120* está en el primer nucleótido del exón 8 y podría afectar a la transcripción de ARN-mensajero, mientras que *IL12Brs3213119* produce un cambio de aminoácido (p.298 V > P) en el exón 7. La predicción de funcionalidad SIFT para esta última variante muestra un efecto perjudicial (0.01), similar al programa Polyphen (efecto probablemente perjudicial (0.679)).

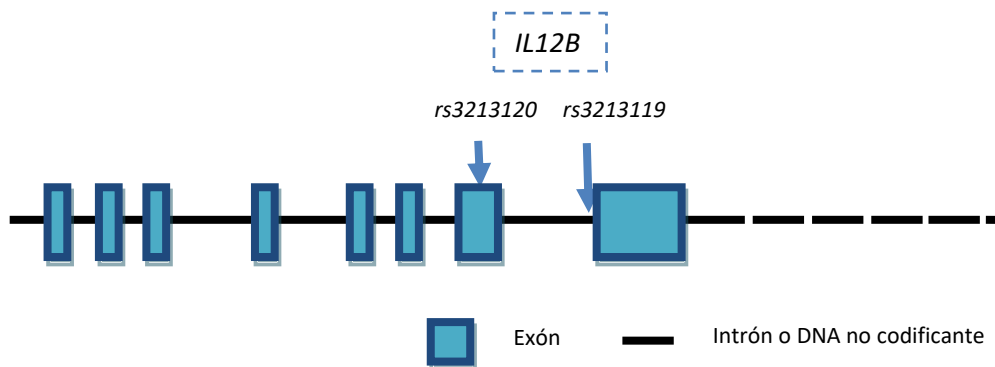


Figura 16 – Localización de *rs3213120* y *rs3213119* sobre representación de *IL12B*

7.5.1 VARIACIÓN EN *IL12Brs3212227*

Los resultados del presente trabajo sobre la asociación de *IL12Brs3212227-A* y Ps se muestran en la Tabla 24 junto a los de otros autores en población caucásica [Capon *et al*, 2007; Nair *et al*, 2008; Smith *et al*, 2008; Cabaleiro *et al*, 2013].

No se ha logrado constatar la asociación estadística entre *IL12Brs3212227-A* y Ps descrita en estudios, incluyendo un reciente metanálisis [Zhu *et al*, 2013]. Quizás se deba a una potencia estadística extremadamente baja (5.8%), ya que en contraste con la mayoría de esos estudios iniciales donde se observaron diferencias en la MAF caso-control del 3-8%, la distribución alélica de los haplotipos en este trabajo presenta una marcada homogeneidad (1% de diferencia en MAF). Un estudio posterior similar en población española en 142 pacientes y 160 controles [Cabaleiro *et al*, 2013] observa también escasa diferencia en frecuencias alélicas casos-contrroles.

Tabla 24 - Resultados de los estudios iniciales sobre *IL12Brs3212227*

Estudios	Frecuencias alélicas			Frecuencia alelo menor		OR (alelo común A- riesgo)
	Genotipo	Pacientes	Controles	Pacientes	Control	
Cargill (D)[Cargill <i>et al</i> , 2007]	AA	0.736	0.630	0.143	0.209	1.59(1.24-2.04)
	AC	0.242	0.322			
	CC	0.021	0.047			
Capon (D) [Capon <i>et al</i> , 2007]	Alelo A	0.85	0.82	0.15	0.18	1.28 (0.94-1.75)
Smith [Smith <i>et al</i> , 2008]	AA	0.718	0.647	0.154	0.194	1.33(1.11-1.57)
	AC	0.256	0.316			
	CC	0.026	0.036			
Nair (EEUU) [Nair <i>et al</i> , 2008]	AA	0.734	0.594	0.145	0.221	1.67(1.45-1.92)
	AC	0.244	0.346			
	CC	0.023	0.044			
Nair (Kiel) [Nair <i>et al</i> , 2008]	AA	0.730	0.651	0.144	0.191	1.41(1.11-1.50)
	AC	0.254	0.316			
	CC	0.017	0.033			
Cabaleiro (Esp) [Cabaleiro <i>et al</i> , 2013]	AA	0.648	0.631	0.194	0.197	1.07(0.71-1.60)
	AC	0.317	0.344			
	CC	0.035	0.025			
Presente trabajo	AA	0.7	0.69	0.16	0.17	0.96 (0.71-1.29)
	AC	0.27	0.27			
	CC	0.03	0.04			

D: descubrimiento, R: replicación, OR: Odds Ratio. La OR para el alelo A, cuando no calculada en los estudios revisados, se ha calculado a partir de los datos de frecuencias genotípicas o alélicas recogidas en los trabajos

La relación de *IL12Brs3212227* con la APs es controvertida. Al igual que en este trabajo, donde no se ha detectado asociación con APs, existen estudios donde tampoco se observa asociación a APs [Liu *et al*, 2008; Popa *et al*, 2013]. En otros, aunque encuentran asociación a afectación articular [Filer *et al*, 2008; Huffmeier *et al*, 2009], no observan diferencias significativas en las cifras frente a pacientes con Ps sin afectación articular. En nuestro trabajo no observamos tendencia a la significación según estatus APs ($p > 0.05$, OR APs+ 1.06/OR APs- 1.04), lo que iría en consonancia con una asociación primariamente cutánea [Filer *et al*, 2008].

No se conoce aún el mecanismo por el que *IL12Brs3212227-A* produciría el aumento de riesgo para Ps. Se encuentra en una región no codificante, y aunque podría formularse la hipótesis de un efecto funcional a través de cambios en zonas de unión de factores de transcripción u otras vías epigenéticas, existen varios estudios que han tratado de evaluar la variación genética a nivel de *rs3212227* y los niveles séricos de *IL12p40* en diferentes patologías con resultados inconcluyentes [Johnston *et al*, 2013].

En este trabajo no se ha alcanzado la significación estadística para una asociación de *IL12Brs3212227* con ninguna de las características fenotípicas estudiadas. Existe evidencia en la literatura de una posible asociación a un inicio temprano de la Ps, aunque no concluyente: Smith y colaboradores [Smith *et al*, 2008] describen la asociación de *IL12Brs3212227-A* y Ps en una cohorte de pacientes con Ps de inicio temprano (≤ 40 años) aunque sin compararlo con un grupo de inicio tardío, y Oostveen observa que *IL12Brs3213094* (en LD completo con *IL12Brs3212227*) se asocia significativamente a Ps en pacientes menores de 10 años, aunque los datos no fueron ajustados por la presencia de HLA-Cw6. Sin embargo, un estudio de 2013 [Lu *et*

al, 2013] no logra relacionar este polimorfismo con la edad de inicio de la Ps. Por otro lado, un estudio de 2015 [Nikamo *et al*, 2015], a pesar de no observar una asociación significativa a Ps en la población estudiada (p 0.22) también encuentra una relación de *IL12Brs3212227-C* con un fenotipo menos grave de Ps (p 0.04 OR 0.80 [0.65-0.99]) al comparar Ps moderada y grave, aunque su definición de gravedad (uso de tratamiento sistémico en los 6-10 años previos) es diferente a la utilizada en nuestro trabajo ($PASI > 10$).

En el estudio de la asociación con FRCV se obtiene una asociación significativa (p 0.04, OR 5.9) entre los portadores del genotipo CC y la presencia de DM2 no descrita previamente. Sin embargo, su intervalo de confianza (1.35-25.73) y escasa muestra de pacientes con DM2 en nuestro análisis hace que sean necesarios nuevos estudios que confirmen este hallazgo. Con respecto al resto de comorbilidades estudiadas, no se ha encontrado ninguna asociación significativa ni referencias en la literatura a su posible existencia.

7.5.2 VARIACIÓN EN *IL12Brs6887695*

IL12Brs6887695 ha sido analizado en población caucásica en otros grupos de estudio [Cargill *et al*, 2007; Liu *et al*, 2008; Nair *et al*, 2008; Smith *et al*, 2008; Cabaleiro *et al*, 2013; Prieto-Perez *et al*, 2015], resumiéndose los hallazgos (valores de significación, OR e intervalos de confianza) en la Tabla 25.

Tabla 25 - Resultados de los estudios iniciales sobre *IL12Brs6887695*

Estudios	Frecuencias alélicas		Frecuencia alelo menor		OR (alelo común G- riesgo)	
	Genotipo	Pacientes	Controles	Pacientes		Controles
Cargill (D)[Cargill <i>et al</i> , 2007]		0.746	0.681	0.254	0.319	1.37 (1.03-1.83)
Smith [Smith <i>et al</i> , 2008]	GG	0.524	0.460	0.318	0.446	1.72 (1.18-2.56)
	GC	0.356	0.440			
	CC	0.063	0.109			
Nair (EEUU) [Nair <i>et al</i> , 2008]	GG	0.582	0.452	0.241	0.329	1.54(1.37-1.73)
	GC	0.356	0.440			
	CC	0.063	0.109			
Nair (Kiel) [Nair <i>et al</i> , 2008]	GG	0.590	0.510	0.233	0.295	1.35 (1.12-1.64)
	GC	0.354	0.393			
	CC	0.056	0.098			
Liu (EEUU) [Liu <i>et al</i> , 2008]	Alelo G	0.779	0.706	0.221	0.294	1.46 (1.27-1.69)
Cabaleiro (Esp) [Cabaleiro <i>et al</i> , 2013]	GG	0.472	0.506	0.296	0.306	0.87 (0.73-1.04)
	GC	0.465	0.375			
	CC	0.063	0.119			
Presente trabajo	GG	0.49	0.39	0.29	0.39	1.5 (1.14-1.97)
	GC	0.44	0.44			
	CC	0.07	0.17			

D: descubrimiento, R: replicación, OR: Odds Ratio. La OR para el alelo G, cuando no calculada en los estudios revisados, se ha calculado a partir de los datos de frecuencias genotípicas o alélicas recogidas en los trabajos

La frecuencia del alelo G es un 10% mayor en nuestros pacientes con Ps frente a controles, en consonancia con lo publicado por otros investigadores. Un metanálisis [Zhu *et al*, 2013] describe asociación a un incremento de la OR (< 2) para Ps, replicándose este hallazgo en el presente trabajo (OR 1.5, $p < 0.001$).

Aunque existe un estudio en población española [Cabaleiro *et al*, 2013] que no logra demostrar esta asociación, un trabajo posterior [Prieto-Perez *et al*, 2015] sí encuentra una asociación protectora para los genotipos GC/CC frente a Ps (p 0.003 OR 0.32).

Aunque existen estudios en población tailandesa que no logran encontrar dicha asociación [Nair *et al*, 2010], la evidencia disponible hasta el momento parece apoyar una asociación entre *IL12Brs6887695-G* y un mayor riesgo de Ps de forma mantenida en las poblaciones no influenciada por etnia [Zhu *et al*, 2013].

La APs en nuestro estudio se consideró como una manifestación asociada a Ps, por lo que la valoración del posible efecto de *IL12Brs6887695-G* se realizó mediante un análisis comparativo entre pacientes con y sin APs. La asociación a Ps se replicó en ambos grupos de nuestro trabajo por separado, aunque parece existir una tendencia no significativa a una mayor OR en el grupo con artritis. Este enfoque, aunque no permite valorar adecuadamente una susceptibilidad independiente, ha sido utilizado por varios estudios de este tipo [Liu *et al*, 2008; Prieto-Perez *et al*, 2015], aunque no se ha logrado establecer de forma aislada su papel en la APs [Popa *et al*, 2013] con resultados contradictorios: Prieto-Pérez [Prieto-Perez *et al*, 2015] únicamente logra demostrar asociación significativa en el grupo de pacientes sin APs, mientras que en otros trabajos como el de Jadon [Jadon *et al*, 2013] sólo se observa la asociación en pacientes con Ps y APs. Sin embargo, como reconocen los autores de un reciente trabajo sobre la detección de loci independientes de APs y Ps [Bowes *et al*, 2015], la separación de las bases genéticas de ambas enfermedades es aún muy incipiente debido a la ausencia de estudios con únicamente pacientes con enfermedad articular sin enfermedad cutánea y al margen de error añadido por una posible mala clasificación fenotípica de pacientes con APs subclínica como APs-, no existiendo GWAS en pacientes con Ps sin afectación articular [Stuart *et al*, 2015].

Tampoco se conoce el mecanismo por el que *IL12Brs6887695*, situado en un intrón de *IL12B*, podría condicionar la asociación observada con Ps, pero en un estudio sobre EII [Glas *et al*, 2012] el análisis *in silico* sugería cambios en zonas de unión de los factores de transcripción HSF1, HSF2, MZF1, Oct-1 y ROR α . Este último factor, además de regular negativamente mecanismos de respuesta inflamatoria inflamatorios, juega un papel importante junto con ROR γ t en la diferenciación de células Th17, relacionadas con la patogenia de la EII pero también de Ps. En este mismo estudio también se observó que *IL12Brs6887695* parecía presentar una epistaxis débil con múltiples variantes de *STAT4*, a su vez el factor de transcripción más importante secuencia abajo de *IL12*, relacionado con susceptibilidad a Ps [Zervou *et al*, 2009].

No se observó evidencia de asociación con el inicio temprano de la enfermedad ni con HLA-Cw6, a pesar de que en el estudio de Smith *et al* [Smith *et al*, 2008] se describe una asociación significativa del alelo mayor (G) en Ps de inicio temprano frente a controles. Sin embargo, dos estudios posteriores [Jadon *et al*, 2013; Lu *et al*, 2013] no encuentran asociación significativa con la edad de inicio. Por ello, el presente trabajo parece ir en consonancia con la mayoría de la evidencia científica posterior, lo que podría interpretarse como

que el efecto de riesgo de esta variante no estaría asociado a la Ps tipo 1 (inicio temprano, agrupamiento familiar, HLA-Cw6+).

Sin embargo, sí podría tener un papel independiente favoreciendo una enfermedad más grave al encontrar una asociación estadísticamente significativa hacia un mayor PASI en nuestros pacientes portadores en homocigosis del alelo G de *IL12Brs6887695* no descrita previamente en la literatura, aunque en un estudio de 2013 de Jadon [Jadon *et al*, 2013] no se encuentra asociación a mayor PASI ni a otras características clínicas de Ps o APs analizadas (sexo, edad de inicio, patrón, afectación ungueal, etc).

No existen estudios previos que analicen el papel de *IL12Brs6887695* en FRCV incluso fuera del ámbito de la Ps. Por ello no es posible validar externamente la asociación significativa a DM2 observada en los portadores del genotipo protector frente a Ps (CC) no observada con anterioridad, aunque ha de tenerse en cuenta el pequeño tamaño de la muestra y un diseño del estudio no orientado hacia el control de los múltiples factores de confusión implicados en este tipo de patologías. Aunque la asociación a una mayor tasa de DM2 en Ps y APs se ha establecido en múltiples artículos e incluso un metanálisis reciente [Coto-Segura *et al*, 2013], la base genética de dicha localización aún no ha sido determinada, y *IL12B* parece poco probable dada la asociación al genotipo protector para Ps.

En *IL12B*, el haplotipo de riesgo para Ps más establecido es *IL12Brs6887695-G+IL12Brs3212227-A* [Duffin y Krueger, 2009; Nair *et al*, 2010; Zhu *et al*, 2013]. Ambos SNPs están parcialmente en desequilibrio de ligamiento (0.68) en población caucásica europea según Ensembl (www.ensembl.org). La OR de dicho haplotipo se ha estimado en valores entre 1.40 [Cargill *et al*, 2007; Duffin y Krueger, 2009] a 1.72 [Nair *et al*, 2010], en concordancia con los datos obtenidos en este trabajo (OR 1.83). En el trabajo de Johnston [Johnston *et al*, 2013] se relaciona la presencia de este haplotipo de riesgo con una mayor producción de p40 a nivel monocítico especialmente bajo estimulación por IFN γ , mayores niveles séricos de IL12 (hasta 6 veces superior) en detrimento de IL23 (hasta 1.4 veces menor) y un patrón similar en las placas de Ps frente a piel no lesional dentro del mismo individuo. Ello conllevaría, aunque pueda parecer contradictorio, un desequilibrio a favor del eje Th1 y la respuesta IFN γ (6.9 veces mayor) en estos pacientes. Un hallazgo complementario puede encontrarse en un estudio donde se intentó relacionar sin éxito *IL12Brs3212227* y el desarrollo de Ps en pacientes mexicanos de etnia mestiza [Sandoval-Talamantes *et al*, 2015]. Dentro de ese mismo trabajo fueron medidos los niveles séricos de IL12 e IL23, observándose una tendencia a mayores niveles séricos tanto de IL12 como de IL23 en los pacientes con Ps, pero con una tendencia a mayores niveles de IL23 en los portadores del genotipo *IL12Brs3212227-CC* (alelo menor del SNP y con capacidad protectora frente a Ps).

7.6 VARIACIÓN EN *IL23R* Y PSORIASIS

El estudio de la variación en *IL23R* ha cobrado un gran interés debido a su papel fundamental en la patogenia de las espondiloartropatías, con la descripción reciente de algunos loci para APs que podrían

actuar de manera independiente a Ps [Stuart *et al*, 2015; Budu-Aggrey *et al*, 2016], además de jugar un papel en la EII y otras IMID [Huber *et al*, 2008].

7.6.1 VARIACIÓN EN *IL23Rrs2201841*

IL23Rrs2201841 presenta gran variabilidad entre grupos étnicos en la frecuencia del alelo menor G. Mientras que se observa una MAF de un 30% en caucásicos europeos de la cohorte CEU (la más utilizada como referente en los estudios en caucásicos debido al alto número de individuos, representando a población del Norte y Oeste de Europa) y un 34% en la cohorte IBS (población española) de Ensembl (www.ensembl.org), esta distribución se invierte (G>A, frecuencia alelo G 74-70%) en poblaciones asiáticas. Ello hace que los hallazgos en *IL23R* hayan de ser comparados entre grupos poblacionales similares, y no sería correcto utilizar únicamente el dato (OR<1.5) del metanálisis de Zhu y colaboradores [Zhu *et al*, 2012] donde para *IL23Rrs2201841* se agrupaban un estudio en población china junto con varios estudios en población caucásica.

En rango con los resultados obtenidos en el presente trabajo, se resumen en la Tabla 26 los datos disponibles de estudios en población caucásica que han analizado la variabilidad en *IL23Rrs2201841* con resultados de asociación significativos.

Tabla 26 – Resultados de los estudios sobre *IL23Rrs2201841* en población caucásica

Estudios	Genotipo	Frecuencias alélicas		Frecuencia alelo menor		OR (alelo A-riesgo)
		Pacientes	Controles	Pacientes	Control	
Nair [Nair <i>et al</i> , 2009]	-	-	-	0.350	0.286	1.35
Safrany [Safrany <i>et al</i> , 2011]	AA	0.477	0.534	0.320	0.257	2.64 (1.20-5.81)
	AG	0.407	0.418			
	GG	0.117	0.048			
Stuart [Stuart <i>et al</i> , 2015]	-	-	-	-	-	1.10
Prieto-Pérez [Prieto-Perez <i>et al</i> , 2015]	-	-	-	0.34	-	1.46 (1.08-1.98)
Presente trabajo	AA	0.49	0.41	0.30	0.35	1.36 (1.03-1.79)
	AG	0.43	0.47			
	GG	0.08	0.12			

D: descubrimiento, R: replicación, OR: Odds Ratio. La OR para el alelo G, cuando no calculada en los estudios revisados, se ha calculado a partir de los datos de frecuencias genotípicas o alélicas recogidas en los trabajos

La presencia del genotipo de riesgo de *IL23Rrs2201841*-AA parece mantener la significación únicamente en el subgrupo de pacientes con APs (OR 1.75, p 0.02) en el presente trabajo. Ello estaría inicialmente en acuerdo con el grupo de Stuart y colaboradores [Stuart *et al*, 2015]. En ese trabajo se logra replicar la asociación con Ps y APs dentro de dos grupos de pacientes con APs y Ps y pacientes con Ps frente a controles (OR agrupada en Tabla 27). No obstante, la diferencia entre el grupo con APs y Ps (n: 3061) y el grupo con Ps (n: 3110) es muy escasa, por lo que es posible que la asociación venga determinada en su mayor parte por la Ps ya que los autores encuentran un LD moderado ($r^2=0.62$) con *IL23Rrs116238258*, otra de las variantes asociadas a Ps encontradas en ese trabajo. Además, la evidencia de asociación en este alelo a

artropatía puede ser contradictoria, existiendo un estudio en población serbia donde se objetiva asociación a APs con el alelo *IL23Rrs2201841-G* (OR 3.11), describiéndose MAF en pacientes y controles de 0.48 y 0.31, respectivamente [Popadic *et al*, 2014], mientras que en otros trabajos como los de Catanoso [Catanoso *et al*, 2013], Prieto-Pérez [Prieto-Perez *et al*, 2015] o Popa [Popa *et al*, 2013] tampoco logran demostrar una asociación a nivel de este SNP.

IL23R codifica un receptor transmembrana que induce activación de JAK quinasas (Jak2 y Tyk2) quienes a su vez favorecen la activación de sitios de unión para factores de transcripción intracelulares (STATs, especialmente *STAT4*, relacionada con el inicio y mantenimiento de respuestas autoinmunes) y su traslocación al núcleo para activar la transcripción de genes proinflamatorios (IL17, IFN- γ , etc). Por lo tanto, las variaciones en *IL23R* que afectasen a la regulación de este receptor, especialmente favoreciendo su actividad, podrían incrementar la señalización a través de *STAT4* y favorecer el desarrollo de enfermedades inmunológicamente mediadas [Huber *et al*, 2008]. En este contexto, *IL23Rrs2201841* es una variante intrónica que podría afectar a la función del gen influenciando la regulación de su splicing alternativo [Pivarcsi *et al*, 2014], y ha sido significativamente asociado a otras patologías inmunológicamente mediadas como la oftalmopatía de la enfermedad de Graves [Huber *et al*, 2008].

En nuestro estudio, a pesar de no obtenerse un resultado significativo en ninguna de las características fenotípicas estudiadas, existe una MAF mayor en el subgrupo con PASI>10 (0.32 vs 0.30) y una OR de 1.28, en consonancia con el estudio de Nikamo [Nikamo *et al*, 2015] donde el alelo menor (G) mostró asociación con una mayor intensidad de la enfermedad (p 0.006 OR 1.26 [1.07-1.48]), aunque frente a controles sanos no lograsen demostrar una asociación entre este SNP y Ps de cualquier tipo. La escasa evidencia sobre *IL23Rrs2201841* en la literatura hace que no haya más estudios sobre su papel en el fenotipo psoriásico además de la APs, ni existen referencias en la literatura a su asociación con ningún FRCV en pacientes con Ps. Ello hace que la asociación del genotipo no asociado a Ps (*IL23Rrs2201841-GG*) a DM2 encontrada en nuestra muestra (p 0.03, Exp β 2.76 (1.14-6.69)), significativa incluso tras ajuste por HLA-Cw6 e inicio precoz, sea novedosa.

7.6.2 VARIACIÓN EN *IL23Rrs11209026*

IL23Rrs11209026 ha sido relacionado con patologías inmunológicamente mediadas como EII [Einarsdottir *et al*, 2009; Pidasheva *et al*, 2011] o EA [Duan *et al*, 2012; Bowes *et al*, 2015], aunque la evidencia parece controvertida en otras como la AR [Hazlett *et al*, 2012; Song *et al*, 2012]. Es un SNP no polimórfico (presencia del alelo menor residual (<0.001)) en poblaciones asiático-africanas [Oka *et al*, 2013], aunque la distribución poblacional del alelo menor en nuestra muestra (MAF controles 0.08) parece similar a la población caucásica europea (cohorte CEU, MAF 0.051) y española (cohorte IBS, MAF 0.065), según datos de Ensembl (www.ensembl.org).

Aunque no se ha observado una asociación a Ps en nuestra muestra, el alelo común (G) de *IL23Rrs11209026* ha sido descrito como un factor de riesgo moderado (OR<2) para Ps [Smith *et al*, 2008;

Huffmeier *et al*, 2009; Strange *et al*, 2010], aunque la mayoría de estudios iniciales y un metanálisis del año 2013 [Zhu *et al*, 2012] ($p < 0.0001$, OR = 0.62 (0.56–0.67)) describen de forma complementaria la asociación en sentido protector del alelo menor (A) (Tabla 27).

Tabla 27 - Resultados de los estudios iniciales sobre *IL23Rrs11209026*

Estudios	Genotipo	Frecuencias alélicas		Frecuencia alelo menor		OR (alelo menor-protección)
		Pacientes	Controles	Pacientes	Control	
Cargill (D) (7)	-	-	-	0.044	0.060	1.33(1.11-1.57)
Cargill (R) [Cargill et al, 2007]	-	-	-	0.051	0.077	0.64(0.360-1.077)
Smith [Smith et al, 2008]	GG	0.926	0.883	0.037	0.060	0.62(0.446-0.848)
	GA	0.074	0.117			
	AA	0.000	0.000			
Nair (EEUU) [Nair et al, 2008]	GG	0.894	0.867	0.053	0.066	0.78(0.573-1.070)
	GA	0.103	0.129			
	AA	0.023	0.044			
Nair (Kiel) [Nair et al, 2008]	GG	0.914	0.856	0.043	0.072	0.56(0.318-0.986)
	GA	0.086	0.137			
	AA	0.000	0.006			
Capon (D) [Capon et al, 2007]	-	-	-	0.022	0.072	0.29(0.158-0.545)
Capon (R) [Capon et al, 2007]	-	-	-	0.045	0.069	0.63(0.430-0.925)
Huffmeier [Huffmeier et al, 2009]	-	-	-	0.039	0.072	0.52(0.39-0.682)
Cabaleiro [Cabaleiro et al, 2013]	GG	0.944	0.868	0.028	0.069	0.39(0.168-0.916)
	GA	0.056	0.126			
	AA	0	0.006			
Prieto-Pérez [Prieto-Perez et al, 2015]	-	-	-	0.05	-	0.40(0.20-0.82)
Presente trabajo	GG	0.86	0.85	0.07	0.08	0.90(0.616-1.337)
	GA	0.14	0.14			
	AA	0	0.01			

D: descubrimiento, R: replicación, OR: Odds Ratio

Hoy en día se acepta la existencia de un genotipo protector AA [Abdollahi *et al*, 2016] extremadamente infrecuente en pacientes con Ps [Galluzzo *et al*, 2016], al igual que en nuestra muestra, donde la ausencia de pacientes homocigotos para este alelo no nos permite realizar un cálculo comparativo. Ello se debe muy posiblemente a la similar distribución alélica entre ambos grupos de comparación (MAF 8% controles, 7% pacientes), diferente de la observada en el estudio de Cabaleiro (MAF 6.9% controles, 2.8% pacientes) [Cabaleiro *et al*, 2013] o la del trabajo de Prieto-Pérez [Prieto-Perez *et al*, 2015].

En nuestra muestra no se observa una asociación entre *IL23Rrs11209026-G* y mayor riesgo de Ps, aunque sí se observó una asociación significativa a la presencia de APs como en el otro SNP estudiado de *IL23R*. Esta asociación (p 0.03, OR 2.51 (1.05-5.98)) también fue observada en los estudios iniciales que

valoraron específicamente a población con APs (OR 1.40-1.59) [Filer *et al*, 2008; Huffmeier *et al*, 2009], así como en un metanálisis sobre IL23R y Ps/APs [Zhu *et al*, 2012], aunque su magnitud no parece diferir mucho entre la población con Ps y la población con APs frente a controles [Filer *et al*, 2008; Huffmeier *et al*, 2009; Zhu *et al*, 2013]. Sin embargo, posteriormente otros grupos no han logrado replicar nuestro hallazgo en APs [Catanoso *et al*, 2013; Jadon *et al*, 2013; Popa *et al*, 2013; Prieto-Perez *et al*, 2015]. Esto, junto a la ausencia de asociación de este SNP a otros tipos de artritis como la EA [Kadi *et al*, 2013] o AR [Song *et al*, 2012], hace que la opinión predominante actual abogue por una asociación de *IL23Rrs11209026* predominantemente a Ps y no a APs [Filer *et al*, 2008], por lo que nuestro hallazgo podría ser debido a una distribución no homogénea por azar entre ambos grupos (Ps/APs).

IL23Rrs11209026 produce un cambio de aminoácido (Arginina → Glutamina) en el dominio *JAK-2* [Capon *et al*, 2007], siendo a veces denominado R381Q de forma alternativa, con un efecto deletéreo según Polyphen o SIFT (www.ensembl.org). Aún no se posee el conocimiento exacto de cómo una variación de aminoácido a nivel de un dominio tipo JAK produce la fisiopatología observada, pero sería de interés su determinación dado el desarrollo actual de fármacos inhibidores de JAK en la terapéutica de la Ps [Kwatra *et al*, 2012]. Se ha propuesto una posible vía de efecto mediante la variación del splicing alternativo [Pivarcsi *et al*, 2014; Yu *et al*, 2015] donde favorecería la ausencia de transcripción del exón 9 en el ARN-m y la formación de una IL23R truncada que no se ancla en la membrana celular y por tanto detectable en suero (Figura 17).

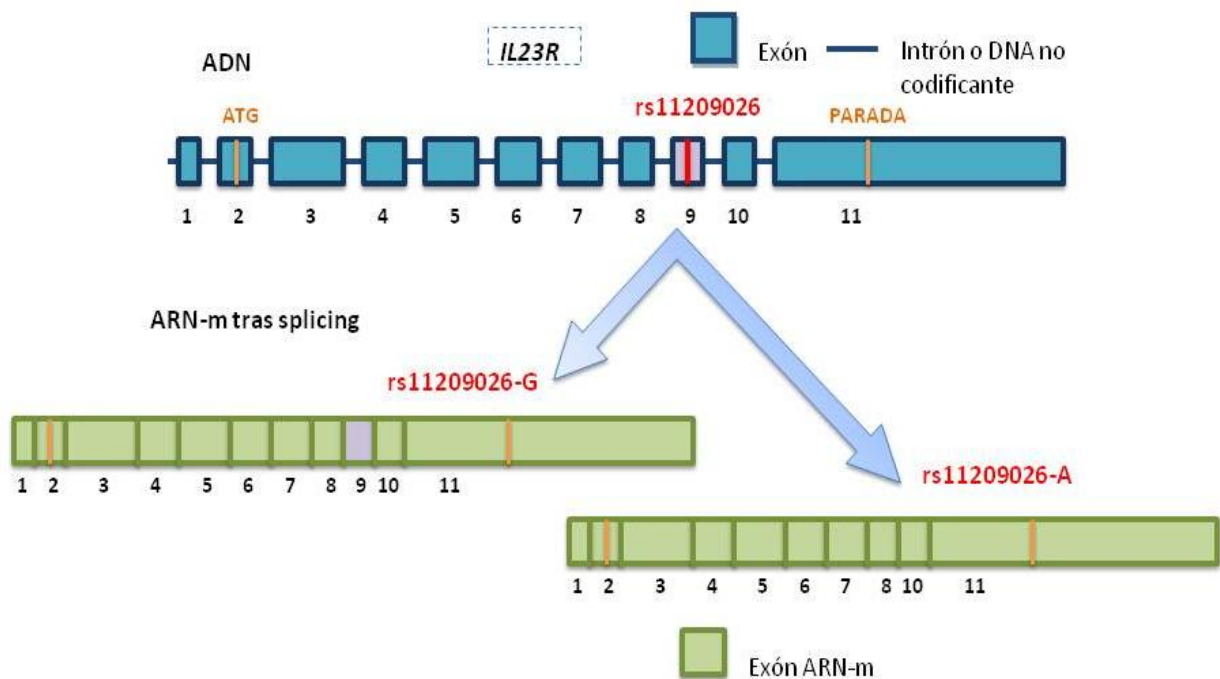


Figura 17 – Representación del posible splicing alternativo en *IL23Rrs11209026*. Se observa exclusión del exón 9 (en color lila) post transcripción en la variante *rs11209026-A* (adaptado de Yu *et al* [Yu *et al*, 2015])

En Ps, Di Meglio y colaboradores demostraron que el alelo *rs11209026-A* (función protectora frente a Ps) induce una falta de respuesta a la presencia de IL23 en las células LTh17 y por lo tanto una mínima

producción de IL17A/IL17F en los sujetos homocigotos para este genotipo [Di Meglio *et al*, 2013]. Además, como la presencia del genotipo *IL23Rrs11209026-AA* es excepcional en pacientes con Ps, valoraron también la respuesta LTh17 inducida por IL23 en pacientes con genotipo AG vs GG, observando una atenuación de la respuesta en los pacientes heterocigotos frente a pacientes GG.

IL23Rrs11209026-AG ha sido relacionado con una mayor frecuencia de reacciones paradójicas a antiTNF en un estudio en 161 pacientes con Ps de Cabaleiro y colaboradores (p 0.005, OR 11011.59 [17.36–6984187.8]) [Cabaleiro *et al*, 2016]. Esto podría poseer cierto interés por su genotipado en patologías susceptibles de tratamiento con antiTNF, ayudando a la identificación de pacientes con un mayor riesgo de reacciones paradójicas y favoreciendo la elección de otras dianas terapéuticas en estos pacientes. Algunos autores han propuesto la hipótesis de que el fenómeno de reacciones paradójicas a antiTNF podría estar condicionado por una alteración de las vías fisiopatogénicas de Ps independientes del bloqueo TNF- α en individuos genéticamente predispuestos [Sfikakis *et al*, 2005], ya que las placas psoriasiformes inducidas por tratamientos con antiTNF presentan niveles elevados de IFN-gamma [Wlodarczyk *et al*, 2014]. Sin embargo, Cabaleiro y colaboradores realizaron además un análisis de variaciones en *IL17A* and *IL17F* sin hallar asociación con la predisposición a reacciones paradójicas, por lo que opinan que la base de estas reacciones podría hallarse realmente en la reducción de la señal IL23 [Cabaleiro *et al*, 2016].

Con respecto a la relación entre *IL23Rrs11209026* y aspectos fenotípicos de la Ps, en nuestro estudio se detecta de forma novedosa una asociación significativa entre portadores del genotipo GG y mayor intensidad de la enfermedad cutánea incluso tras un ajuste multivariante, lo que apoyaría los hallazgos sobre la fisiopatogenia de este SNP mencionados anteriormente [Pidashveva *et al*, 2011; Di Meglio *et al*, 2013]. Sin embargo, es significativo destacar que dentro del trabajo de Di Meglio [Di Meglio *et al*, 2013] donde se analizaba la expresión de IL23 en sujetos con genotipo *IL23Rrs11209026-AA*, no se encontró relación entre una mayor intensidad de la Ps o su inicio temprano y pacientes con genotipo GA o GG. Ello es posiblemente debido a una comparación en un número muy reducido de pacientes (n : 58), aunque los autores atribuyen estas características fenotípicas a otros factores genético/ambientales y mencionan un trabajo donde la presencia del genotipo GA sí se asocia al inicio pediátrico (≤ 10 años) de la Ps (p 0.01, OR 2.42) en 139 pacientes caucásicos [Oostveen *et al*, 2014]. *IL23Rrs11209026* no parece estar asociado a la presencia de FRCV en población general, no existiendo otros estudios publicados en población psoriásica. Hasta el momento, ha sido evaluada su variación con respecto a DM1 [Costa *et al*, 2013], DM2 [Huang *et al*, 2012], hipertensión [Huang *et al*, 2012], ECV/infarto de miocardio [Mangino *et al*, 2008; Huang *et al*, 2012], sin observarse asociación a ninguna de estas características, al igual que en los datos de nuestro trabajo.

7.7 VARIACIÓN EN *IL23A* Y PSORIASIS

IL23A ha suscitado por el momento menor interés en el estudio de la Ps que los otros genes analizados en este trabajo, con escasa evidencia disponible en la literatura para una validación externa de nuestros resultados. El punto de variación estudiado, *IL23Ars2066808*, es polimórfico en todas las

poblaciones con un patrón de frecuencia alélica A>G excepto en población africana, donde el alelo G es mayoritario frente a A. En población caucásica europea (CEU) se ha estimado una MAF de 0.081, mientras que en población ibérica (IBS) es de 0.051, según los datos disponibles en Ensembl (www.ensembl.org). La MAF de nuestra muestra de control (0.07) se alinea con estos datos, aunque observándose una mínima diferencia (1%) entre la MAF de controles y pacientes (0.07).

Los resultados de nuestro estudio sobre *IL23Ars2066808* (valores de significación, OR e intervalos de confianza) pueden observarse en la Tabla 28 para su comparación con los otros estudios disponibles en la literatura.

Tabla 28 - Resultados de los estudios sobre *IL23Ars2066808*

Estudios IL23A rs2066808	Frecuencias alélicas			Frecuencia alelo menor		OR (alelo común-riesgo)
	Genotipo	Pacientes	Controles	Pacientes	Control	
Chen [Chen et al, 2011]	Alelo A	0.955	0.920	0.045	0.08	1.82 (1.34-2.45)
Nair D [Nair et al, 2009]	Alelo A	0.958	0.931	0.042	0.069	1.68
Nair R [Nair et al, 2009]	Alelo A	0.947	0.932	0.053	0.068	1.34
Bowes • [Bowes et al, 2011]	Alelo A	0.960	0.930	0.04	0.07	1.89 [1.46-2.44]
Strange [Strange et al, 2010]		-	-	-	-	1.49 (1.28-1.73)
Presente trabajo	AA	0.860	0.850	0.07	0.08	1.13 (0.76-1.66)
	AG	0.140	0.147			
	GG	-	0.003			

D: descubrimiento, R: replicación, OR: Odds Ratio. • Pacientes con Ps y APs conjunta

No se ha logrado replicar la asociación de *IL23Rrs2066808* a Ps en el presente trabajo, posiblemente debido a una distribución alélica no esperada y muy homogénea entre ambos grupos que conlleva una falta de potencia estadística. A diferencia de otros SNP previos, la evidencia disponible en la literatura sobre su asociación a Ps no muestra resultados contradictorios, incluso puede añadirse también el estudio de Nikamo [Nikamo et al, 2015] con una asociación significativa protectora con el alelo menor G ($p < 0.001$, OR 0.60 [0.49-0.75]) en pacientes con Ps. Ello hace probable que la distribución de la muestra, y no otras causas, sea lo que dificulte la identificación de una posible asociación.

En el ámbito de la APs observamos una asociación significativa (p 0.02, OR 3.04) a la presencia de APs concomitante. Sin embargo, la evidencia en la literatura sí es contradictoria, ya que mientras Bowes y colaboradores [Bowes et al, 2011] sí observan dicha asociación (OR 1.89) en población del Reino Unido e Irlanda (Tabla 28), Popa [Popa et al, 2013] no logra replicarlo utilizando pacientes con APs frente a controles sanos.

IL23Rrs2066808-A está situado en un intrón próximo a *STAT2* (signal transducer and activator of transcription 2), por lo que aunque no conlleva una función aparente, podría estar implicado en su regulación [Costa *et al*, 2013], siendo además un posible sitio diana de microRNA [Pivarcsi *et al*, 2014]. *STAT2* se relaciona con la regulación inmune y la transducción de las señales de la vía Th1, por lo que su desregulación podría tener un papel en la patogenia de la Ps.

No hemos encontrado asociaciones fenotípicas relevantes aparte de la asociación a APs y a Ps ungueal. Una revisión de la literatura arroja escasos estudios que hayan valorado su papel en el fenotipo psoriásico. Lu y colaboradores [Lu *et al*, 2013] valoraron la posible asociación de este SNP con la edad de inicio de la Ps, sin encontrar una asociación significativa. Sin embargo, Hebert y colaboradores [Hebert *et al*, 2015] describieron posteriormente una asociación de *IL23Ars10876881* (SNP en LD=1 en población ibérica/CEU con *IL23Ars2066808*) con Ps de inicio tardío, aunque refieren que también habían relacionado dicho SNP con la Ps de inicio temprano en un estudio previo [Hebert *et al*, 2012], por lo que es probable dicho hallazgo no tenga relevancia. Finalmente, Nikamo [Nikamo *et al*, 2015] describe además una OR para la variante alélica menor (G) de 0.53 (0.37-0.76) al comparar pacientes con Ps moderada frente a grave.

Hasta el presente trabajo, la relación de *IL23Ars2066808* con los FRCV no ha sido estudiada en la literatura a excepción de un trabajo en población brasileña del año 2013 [Costa *et al*, 2013], donde el haplotipo *rs11171806-rs2066808* (en LD casi completo en su población) fue asociado a DM1. De forma retrospectiva, ya que dicho estudio se publicó posteriormente a la realización de nuestro trabajo, no hemos podido observar ese hallazgo en nuestra población de estudio. Es probable que sea debido a una escasa muestra de pacientes con DM1, pero también cabe la probabilidad de que no exista esa asociación en población caucásica europea a pesar de la existencia también en la cohorte CEU de un fuerte LD para el haplotipo *rs11171806-rs2066808* (LD=0.93-1) (www.ensembl.org).

7.8 FARMACOGENÉTICA

Aunque existen estudios sobre la efectividad de fármacos en relación a variaciones genéticas individuales en fármacos sistémicos clásicos desde 2008, como el de Warren y colaboradores sobre metotrexato [Warren *et al*, 2009], la mayor parte de los trabajos en farmacogenómica y Ps se han centrado en los fármacos biológicos debido a su alto coste y el interés de una búsqueda de parámetros individuales que permitiesen reducir las tasas de fracaso primario/secundario [Ryan *et al*, 2014]. Es un campo en constante crecimiento, no solo en Ps sino en otras patologías de tipo reumatológico, digestivo o inflamatorio [Nishikawa *et al*, 2016]. Solo existen por el momento cuatro estudios en la literatura que valoren la relación entre alguno de los SNPs de este trabajo y la respuesta a fármacos biológicos [Gallo *et al*, 2012; Talamonti *et al*, 2013; Galluzzo *et al*, 2016; van den Reek *et al*, 2016], y la mayoría de evidencia disponible es sobre fármacos antiTNF. Ello es debido a que fueron los primeros fármacos biológicos en ser aprobados para esta indicación y, en condiciones de práctica clínica real como en nuestro trabajo, existe una mayor facilidad para lograr grupos de volumen suficiente para su estudio estadístico.

En nuestro trabajo, *IL12Brs3212227* no muestra asociación a respuesta PASI75 tanto de forma agrupada como separando fármacos antiTNF y antiIL12/23 (ustekinumab). Esta falta de asociación también ocurre en el trabajo de Gallo y colaboradores [Gallo *et al*, 2013] donde no se asocia significativamente a ningún tipo de respuesta (PASI50, PASI75, PASI90) en tratamiento antiTNF. Posteriormente en 2016 se publica un estudio de un grupo italiano [Galluzzo *et al*, 2016] que analiza la respuesta a ustekinumab en relación a SNPs de *IL12B* e *IL6*, aunque no realiza un análisis comparativo con fármacos antiTNF. Aunque primariamente no observan relación con la respuesta a ustekinumab, tras hacer una agrupación en base al estatus HLA-Cw6 (asociación primaria en su muestra) y genotipo *rs3212227*, sí describen un mayor porcentaje PASI75 en semanas 4 a 52 utilizando pacientes HLA-Cw6+/ *rs3212227-AC* ó *rs3212227-CC* frente a pacientes HLA-Cw6-/ *rs3212227-AA*. Sin embargo, HLA-Cw6 ya ha demostrado estar asociado de forma independiente a la respuesta a ustekinumab en estudios previos [Talamonti *et al*, 2013] y actuaría como un factor de confusión en dicho análisis al utilizarse de forma combinada con el genotipo estudiado.

En nuestro estudio se encuentra una asociación novedosa significativa (p 0.028, OR 2.43) entre el genotipo *IL12Brs6887695-GG* y PASI75 tras la fase de inducción que se mantiene incluso tras el ajuste multivariante por estatus HLA-Cw6 (p 0.030, OR 2.46). Sin embargo, al realizar el estudio por tipo de fármaco, esta asociación podría estar más relacionada con los fármacos antiTNF que con ustekinumab, ya que se observa una tendencia no significativa en los primeros (p 0.087). Gallo y colaboradores [Gallo *et al*, 2013] no encontraron asociación entre este SNP y la respuesta a fármacos antiTNF en su estudio, mientras que Galluzzo y colaboradores también analizan la respuesta a ustekinumab según *rs6887695* [Galluzzo *et al*, 2016], observando resultados similares a los de *rs3212227*: no signos de asociación en el análisis primario y asociación significativa (p 0.033 – 0.009) en todos los puntos de control entre la semana 4 a la 52 al asociar HLA-Cw6+ al genotipo homocigoto de riesgo (*IL12Brs6887695-GG*) frente a los pacientes HLA-Cw6- con otros genotipos (GC/CC). Esto hace que la evidencia sea contradictoria, aunque en el caso del trabajo de Gallo, los datos posiblemente no sean del todo comparables ya que la distribución alélica no ha de ser necesariamente similar (dadas las variaciones en otros trabajos de este grupo sobre la misma fuente de población [Cabaleiro *et al*, 2013]) y el porcentaje de pacientes que alcanzan PASI75 es un 10% superior (79.8%) al nuestro. No obstante, y a falta de estudios más amplios que aclaren su papel, creemos este SNP podría tener además interés en un análisis farmacogenómico futuro de los nuevos fármacos antiIL17 dado su posible efecto funcional en ROR α descrito previamente en este trabajo.

Con respecto a los otros genes analizados en nuestro trabajo, *IL23R* e *IL23A*, donde no observamos evidencia de asociación a la respuesta a biológicos, mientras que en la literatura únicamente podemos encontrar referencias a *IL23Rrs11209026*. Un reciente artículo de Van den Reek y colaboradores [van den Reek *et al*, 2016] no encuentra asociación a una mejor respuesta a tratamientos biológicos, mientras que Gallo y colaboradores [Gallo *et al*, 2013] sí encuentran una tendencia no significativa a alcanzar PASI90 a los tres meses (p 0.167) en el grupo de pacientes con genotipo *IL23Rrs11209026-GG*, significativa (p 0.006) en el análisis a 6 meses. Además refieren que los portadores de este genotipo también experimentan un mayor

porcentaje de mejoría durante el tratamiento con infliximab (83.6% frente a 61.1%, $p < 0.05$), aunque dicha diferencia se perdía al realizar un seguimiento a largo plazo de los pacientes (24 meses), por lo que en caso de estar relacionado con una mayor efectividad inicial del fármaco, no supondría una ventaja a la hora de evitar un fracaso secundario.

La relativa escasez de pacientes tratados con fármacos biológicos frente a la población que recibe tratamiento con tópicos/fototerapia/sistémicos clásicos hace que la realización de estos estudios conlleve en muchas ocasiones muestras pequeñas con escasa potencia estadística [Ryan *et al*, 2014], análisis de tipo retrospectivo o muestras de varias fuentes [Tejasvi *et al*, 2012] con la heterogeneidad que conlleva la valoración objetiva de parámetros como la respuesta a fármaco, lo que se convierte en una de sus mayores limitaciones y dificulta la comparación de los resultados obtenidos en otros grupos, como en nuestro caso.

La identificación de biomarcadores que permitan una selección más adecuada del tratamiento biológico para evitar su fracaso es de gran importancia, por lo que la creación de grandes cohortes es fundamental para la validación de resultados a gran escala [Nishikawa *et al*, 2016] y elaboración de paneles genéticos para ayudar a una prescripción eficiente. A pesar de la progresiva accesibilidad de las técnicas de estudio genético, la evidencia obtenida de los estudios farmacogenéticos actuales, como la de nuestro trabajo, aún no ha comenzado a ser aplicada en práctica clínica diaria, debido posiblemente a las limitaciones económicas y logísticas que implica su realización y el escaso incremento de riesgo asociado a cada variante detectada, lo que obligaría a la creación y determinación de un amplio panel genético para determinar el mejor tratamiento individualizado (medicina personalizada) para cada paciente.

7.9 LIMITACIONES

El presente trabajo presenta limitaciones inherentes a su diseño, compartidas por la mayoría de estudios caso-control de asociación genética/farmacogenética (existencia de un LD con otro gen realmente causante de la enfermedad ó distribución poblacional no homogénea que cause una asociación espuria [Duffin y Krueger, 2009]) y a la realización técnica de las determinaciones genéticas. Sin embargo, existen otras propias de este trabajo, como su realización en una única muestra poblacional de un área del norte de España, lo que podría contribuir a una composición genética no directamente extrapolable incluso a otras poblaciones de la península Ibérica, como se ha observado en la comparación con estudios que abarcan población de la zona central de España. Por otro lado, también es una cualidad deseable en los estudios de asociación caso-control al reducir la variabilidad genética poblacional que difuminaría los efectos de variantes raras genéticas, aunque ello obliga a la repetición de estudios en diferentes poblaciones y áreas para obtener datos de consenso.

Otra limitación estaría en la selección de los controles, emparejados únicamente con los casos de la muestra por edad y sexo, que no permite comparaciones para la valoración de características

antropométricas. Además, aunque se trata de un objetivo secundario, la caracterización de los controles no incluyó ningún dato que permitiese su comparación con los pacientes en el análisis de FRCV.

Un posible sesgo de este trabajo estaría en la selección de los pacientes incluidos, ya que al provenir de una consulta especializada en Ps de un centro hospitalario de tercer nivel, donde se sigue habitualmente a pacientes con una enfermedad más grave o refractaria a otros tratamientos, podría causar una sobrerrepresentación de pacientes con Ps grave y comorbilidades como la APs, aunque es un sesgo común a la mayoría de publicaciones sobre Ps.

Un sesgo de información podría hallarse en la caracterización fenotípica de la Ps, donde algunos datos no se han podido recoger de manera objetiva, como la edad de inicio o los antecedentes familiares, sino en base a la memoria del paciente. Ello fue tenido en cuenta en el estudio estadístico donde para minimizar el sesgo en la característica edad de inicio y facilitar su comparación con otros estudios con una clasificación similar, se estableció un punto de corte (40 años) para inicio precoz o tardío. El PASI es otro componente que incluye subjetividad en su determinación, aunque es la medida más utilizada para valorar la gravedad de la enfermedad y la eficacia de tratamientos o intervenciones en Ps [Puig *et al*, 2013] y permite la comparación entre estudios. Otros posibles sesgos de información provendrían de la recogida de datos del consumo de alcohol, donde no se determinó de forma cuantitativa, y del hábito tabáquico, donde no se determinó el estatus de extabaquismo.

Con respecto al análisis de FRCV, uno de los objetivos secundarios de este trabajo, existen varias limitaciones a su vez a tener en cuenta. En primer lugar la imposibilidad ya mencionada de hacer una comparación entre casos y controles en este sub-análisis. En segundo lugar, dentro de los casos no se recogieron otras variables relacionadas con el estilo de vida (ejercicio, sedentarismo, dieta...) que podrían actuar como factores de confusión.

En relación al análisis farmacogenético, ha de tenerse en cuenta como una limitación fundamental en el sub-análisis por tipo de fármaco utilizado el bajo número de ciclos de tratamiento estudiados, la asimetría entre grupos (anti TNF: 117, antiIL12/23: 42) y la imposibilidad de segregar a los pacientes según su estatus naïve/no naïve para no atomizar la muestra, por lo que los datos que sugieren una tendencia hacia mejor respuesta en tratamiento antiTNF de *IL12Brs6887695* deben ser interpretados con cautela.

Finalmente, aunque el tamaño de la muestra es considerable y en relación a la caracterización de múltiples variantes clínico-fenotípicas con análisis genético es una de las muestras de mayor tamaño disponibles en la literatura, la distribución alélica poblacional y la separación en grupos de menor tamaño para el análisis de esas características ha producido una falta de potencia estadística en muchas ocasiones para detectar posibles asociaciones, por lo que no podemos excluir otras asociaciones además de las descritas en este trabajo ni descartar el riesgo de asociación espuria.

8

CONCLUSIONES

1. No existen diferencias estadísticamente significativas en las distribuciones alélicas o genotípicas de *IL12Brs3212227* entre los pacientes de psoriasis y controles sanos de nuestro estudio, ni en relación a las características fenotípicas o factores de riesgo cardiovascular.
2. La frecuencia alélica de *IL12Brs6887695-G* es mayor en los pacientes con psoriasis que en controles sanos, asociándose significativamente el genotipo *IL12Brs6887695-GG* a un riesgo incrementado de psoriasis y artritis psoriásica.
3. El genotipo *IL12Brs6887695-GG* se asocia a una mayor gravedad de la psoriasis.
4. El genotipo *IL12Brs6887695-CC* se asocia a de forma estadísticamente significativa a la presencia de Diabetes Mellitus tipo 2.
5. El genotipo *IL23Rrs11209026-GG* condiciona un aumento del riesgo de psoriasis y APs.
6. El genotipo *IL23Rrs11209026-GG* presenta también un incremento del riesgo de una enfermedad más grave ($PASI \geq 10$).
7. *IL23Ars2201841-AA* se asocia significativamente a un riesgo incrementado de Ps de forma global. Esta asociación se replica en los pacientes con artritis psoriásica concomitante pero no en el grupo exclusivamente cutáneo.
8. El genotipo *IL23Rrs2201841-GG* conlleva un incremento significativo del riesgo de padecer Diabetes Mellitus de tipo 2 en los pacientes con psoriasis.
9. La variación en *IL23Ars2066808* produce un incremento significativo del riesgo de psoriasis en los pacientes portadores del genotipo AA, aunque solo de la variante con artritis psoriásica y no en los pacientes sin afectación articular. Este genotipo produce además un aumento significativo de la afectación ungueal.
10. Existe una asociación significativa entre el genotipo *IL12Brs6887695-GG* y una mayor frecuencia de respuesta PASI75 tras la fase de inducción en pacientes tratados con fármacos biológicos independientemente del estatus HLA-Cw6.

9

BIBLIOGRAFÍA

- Abdel Hay RM y Rashed LA. Association between the leptin gene 2548G/A polymorphism, the plasma leptin and the metabolic syndrome with psoriasis. *Exp Dermatol.* 2011; 20(9): 715-719.
- Abdollahi E, Tavasolian F, Momtazi-Borojeni AA, *et al.* Protective role of R381Q (rs11209026) polymorphism in IL-23R gene in immune-mediated diseases: A comprehensive review. *J Immunotoxicol.* 2016; 13(3): 286-300.
- Annunziato F, Cosmi L, Santarlaschi V, *et al.* Phenotypic and functional features of human Th17 cells. *J Exp Med.* 2007; 204(8): 1849-1861.
- Armesto S, Coto-Segura P, Osuna CG, *et al.* Psoriasis and hypertension: a case-control study. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2012; 26(6): 785-788.
- Armesto S, Esteve A, Coto-Segura P, *et al.* Psoriasis ungueal: estudio en 661 pacientes con psoriasis vulgar. *Actas Dermosifiliogr.* 2011; 102(5): 365-372.
- Armesto S, Santos-Juanes J, Galache-Osuna C, *et al.* Psoriasis and type 2 diabetes risk among psoriatic patients in a Spanish population. *Australas J Dermatol.* 2012; 53(2): 128-130.
- Armstrong AW, Harskamp CT y Armstrong EJ. Psoriasis and metabolic syndrome: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *J Am Acad Dermatol.* 2013; 68(4): 654-662.
- Armstrong AW, Schupp C y Bebo B. Psoriasis comorbidities: results from the National Psoriasis Foundation surveys 2003 to 2011. *Dermatology.* 2012; 225(2): 121-126.
- Bacaksiz A, Erdogan E, Sonmez O, *et al.* Ambulatory blood pressure monitoring can unmask hypertension in patients with psoriasis vulgaris. *Med Sci Monit.* 2013; 19: 501-509.
- Barrea L, Balato N, Di Somma C, *et al.* Nutrition and psoriasis: is there any association between the severity of the disease and adherence to the Mediterranean diet? *J Transl Med.* 2015; 13: 18.
- Batalla A, Coto E y Coto-Segura P. Influence of Fcγ Receptor Polymorphisms on Response to Anti-Tumor Necrosis Factor Treatment in Psoriasis. *JAMA Dermatol.* 2015; 151(12): 1376-1378.
- Batalla A, Coto E, Gonzalez-Fernandez D, *et al.* The Cw6 and late-cornified envelope genotype plays a significant role in anti-tumor necrosis factor response among psoriatic patients. *Pharmacogenet Genomics.* 2015; 25(6): 313-316.
- Batalla A, Coto E, Gonzalez-Lara L, *et al.* Association between single nucleotide polymorphisms IL17RA rs4819554 and IL17E rs79877597 and Psoriasis in a Spanish cohort. *J Dermatol Sci.* 2015; 80(2): 111-115.
- Batalla A, Gonzalez-Fernandez D, Gonzalez-Lara L, *et al.* Cardiovascular risk factors influence response to biological therapies in psoriasis. *J Am Acad Dermatol.* 2015; 73(2): 327-329.
- Belinchon I, Vanaclocha F, de la Cueva-Dobao P, *et al.* Metabolic syndrome in Spanish patients with psoriasis needing systemic therapy: Prevalence and association with cardiovascular disease in PSO-RISK, a cross-sectional study. *J Dermatolog Treat.* 2015; 26(4): 318-325.
- Benham H, Norris P, Goodall J, *et al.* Th17 and Th22 cells in psoriatic arthritis and psoriasis. *Arthritis Res Ther.* 2013; 15(5): R136.
- Boehncke WH, Boehncke S, Tobin AM, *et al.* The 'psoriatic march': a concept of how severe psoriasis may drive cardiovascular comorbidity. *Exp Dermatol.* 2011; 20(4): 303-307.

- Boehncke WH, Qureshi A, Merola JF, *et al.* Diagnosing and treating psoriatic arthritis: an update. *Br J Dermatol.* 2014; 170(4): 772-786.
- Bos JD, Hulsebosch HJ, Krieg SR, *et al.* Immunocompetent cells in psoriasis. In situ immunophenotyping by monoclonal antibodies. *Arch Dermatol Res.* 1983; 275(3): 181-189.
- Bowcock AM y Krueger JG. Getting under the skin: the immunogenetics of psoriasis. *Nat Rev Immunol.* 2005; 5(9): 699-711.
- Bowes J, Budu-Aggrey A, Huffmeier U, *et al.* Dense genotyping of immune-related susceptibility loci reveals new insights into the genetics of psoriatic arthritis. *Nat Commun.* 2015; 6: 6046.
- Bowes J, Orozco G, Flynn E, *et al.* Confirmation of TNIP1 and IL23A as susceptibility loci for psoriatic arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2011; 70(9): 1641-1644.
- Braun-Falco O y Christophers E. Structural aspects of initial psoriatic lesions. *Arch Dermatol Forsch.* 1974; 251(2): 95-110.
- Brenaut E, Horreau C, Pouplard C, *et al.* Alcohol consumption and psoriasis: a systematic literature review. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2013; 27 Suppl 3: 30-35.
- Brenner W, Gschnait F y Mayr WR. HLA B13, B17, B37 and Cw6 in psoriasis vulgaris: association with the age of onset. *Arch Dermatol Res.* 1978; 262(3): 337-339.
- Budu-Aggrey A, Bowes J, Loehr S, *et al.* Replication of a distinct psoriatic arthritis risk variant at the IL23R locus. *Ann Rheum Dis.* 2016; 75(7): 1417-1418.
- Cabaleiro T, Prieto-Perez R, Navarro R, *et al.* Paradoxical psoriasiform reactions to anti-TNFalpha drugs are associated with genetic polymorphisms in patients with psoriasis. *Pharmacogenomics J.* 2016; 16(4): 336-340.
- Cabaleiro T, Roman M, Gallo E, *et al.* Association between psoriasis and polymorphisms in the TNF, IL12B, and IL23R genes in Spanish patients. *Eur J Dermatol.* 2013; 23(5): 640-645.
- Campalani E y Barker J. The Clinical Genetics of Psoriasis. *Current Genomics.* 2005; 6(1): 51-60.
- Capon F, Di Meglio P, Szaub J, *et al.* Sequence variants in the genes for the interleukin-23 receptor (IL23R) and its ligand (IL12B) confer protection against psoriasis. *Hum Genet.* 2007; 122(2): 201-206.
- Cardon LR y Bell JI. Association study designs for complex diseases. *Nat Rev Genet.* 2001; 2(2): 91-99.
- Cargill M, Schrodi SJ, Chang M, *et al.* A large-scale genetic association study confirms IL12B and leads to the identification of IL23R as psoriasis-risk genes. *Am J Hum Genet.* 2007; 80(2): 273-290.
- Catanoso MG, Boiardi L, Macchioni P, *et al.* IL-23A, IL-23R, IL-17A and IL-17R polymorphisms in different psoriatic arthritis clinical manifestations in the northern Italian population. *Rheumatol Int.* 2013; 33(5): 1165-1176.
- Costa VS, Mattana TC y da Silva ME. Unregulated IL-23/IL-17 immune response in autoimmune diseases. *Diabetes Res Clin Pract.* 2010; 88(3): 222-226.
- Costa VS, Santos AS, Fukui RT, *et al.* Protective effect of interleukin-23A (IL23A) haplotype variants on type 1A diabetes mellitus in a Brazilian population. *Cytokine.* 2013; 62(2): 327-333.
- Coto-Segura P, Alvarez V, Soto-Sanchez J, *et al.* Lack of association between angiotensin I-converting enzyme insertion/deletion polymorphism and psoriasis or psoriatic arthritis in Spain. *Int J Dermatol.* 2009; 48(12): 1320-1323.

- Coto-Segura P, Batalla A, Gonzalez-Fernandez D, *et al.* CDKAL1 gene variants affect the anti-TNF response among Psoriasis patients. *Int Immunopharmacol.* 2015; 29(2): 947-949.
- Coto-Segura P, Coto E, Alvarez V, *et al.* Apolipoprotein epsilon4 allele is associated with psoriasis severity. *Arch Dermatol Res.* 2010; 302(2): 145-149.
- Coto-Segura P, Coto E, Mas-Vidal A, *et al.* Influence of endothelial nitric oxide synthase polymorphisms in psoriasis risk. *Arch Dermatol Res.* 2011; 303(6): 445-449.
- Coto-Segura P, Eiris-Salvado N, Gonzalez-Lara L, *et al.* Psoriasis, psoriatic arthritis and type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *Br J Dermatol.* 2013; 169(4): 783-793.
- Coto-Segura P, Gonzalez-Fernandez D, Batalla A, *et al.* Common and rare CARD14 gene variants affect the antitumour necrosis factor response among patients with psoriasis. *Br J Dermatol.* 2016; 175(1): 134-141.
- Coto-Segura P, Gonzalez-Lara L, Eiris N, *et al.* Effect of the FTO rs9930506 polymorphism on obesity and the main clinical outcomes in patients with psoriasis. *Br J Dermatol.* 2014; 171(4): 917-919.
- Coto-Segura P, Santos-Juanes J, Gomez J, *et al.* Common European mitochondrial haplogroups in the risk for psoriasis and psoriatic arthritis. *Genet Test Mol Biomarkers.* 2012; 16(6): 621-623.
- Coto E, Santos-Juanes J, Coto-Segura P, *et al.* New psoriasis susceptibility genes: momentum for skin-barrier disruption. *J Invest Dermatol.* 2011; 131(5): 1003-1005.
- Coto E, Santos-Juanes J, Coto-Segura P, *et al.* Mutation analysis of the LCE3B/LCE3C genes in Psoriasis. *BMC Med Genet.* 2010; 11: 45.
- Coumbe AG, Pritzker MR y Duprez DA. Cardiovascular risk and psoriasis: beyond the traditional risk factors. *Am J Med.* 2014; 127(1): 12-18.
- Crow JM. Therapeutics: Silencing psoriasis. *Nature.* 2012; 492(7429): S58-59.
- Cua DJ, Sherlock J, Chen Y, *et al.* Interleukin-23 rather than interleukin-12 is the critical cytokine for autoimmune inflammation of the brain. *Nature.* 2003; 421(6924): 744-748.
- Chan JR, Blumenschein W, Murphy E, *et al.* IL-23 stimulates epidermal hyperplasia via TNF and IL-20R2-dependent mechanisms with implications for psoriasis pathogenesis. *J Exp Med.* 2006; 203(12): 2577-2587.
- Chen H, Poon A, Yeung C, *et al.* A genetic risk score combining ten psoriasis risk loci improves disease prediction. *PLoS One.* 2011; 6(4): e19454.
- Chen H, Toh TK, Szeverenyi I, *et al.* Association of skin barrier genes within the PSORS4 locus is enriched in Singaporean Chinese with early-onset psoriasis. *J Invest Dermatol.* 2009; 129(3): 606-614.
- Chiliveru S, Rahbek SH, Jensen SK, *et al.* Inflammatory cytokines break down intrinsic immunological tolerance of human primary keratinocytes to cytosolic DNA. *J Immunol.* 2014; 192(5): 2395-2404.
- Christophers E. Genotyping psoriasis. *J Invest Dermatol.* 2003; 120(4): xvii.
- Danielsen K, Wilsgaard T, Olsen AO, *et al.* Elevated odds of metabolic syndrome in psoriasis: a population-based study of age and sex differences. *Br J Dermatol.* 2015; 172(2): 419-427.
- Das S, Stuart PE, Ding J, *et al.* Fine mapping of eight psoriasis susceptibility loci. *Eur J Hum Genet.* 2015; 23(6): 844-853.
- Davidovici BB, Sattar N, Prinz J, *et al.* Psoriasis and systemic inflammatory diseases: potential mechanistic links between skin disease and co-morbid conditions. *J Invest Dermatol.* 2010; 130(7): 1785-1796.

- Detmar M, Brown LF, Claffey KP, *et al.* Overexpression of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor and its receptors in psoriasis. *J Exp Med.* 1994; 180(3): 1141-1146.
- Di Cesare A, Di Meglio P y Nestle FO. The IL-23/Th17 axis in the immunopathogenesis of psoriasis. *J Invest Dermatol.* 2009; 129(6): 1339-1350.
- Di Meglio P, Villanova F, Napolitano L, *et al.* The IL23R A/Gln381 allele promotes IL-23 unresponsiveness in human memory T-helper 17 cells and impairs Th17 responses in psoriasis patients. *J Invest Dermatol.* 2013; 133(10): 2381-2389.
- Di Renzo L, Bianchi A, Saraceno R, *et al.* -174G/C IL-6 gene promoter polymorphism predicts therapeutic response to TNF-alpha blockers. *Pharmacogenet Genomics.* 2012; 22(2): 134-142.
- Duan Z, Pan F, Zeng Z, *et al.* Interleukin-23 receptor genetic polymorphisms and ankylosing spondylitis susceptibility: a meta-analysis. *Rheumatol Int.* 2012; 32(5): 1209-1214.
- Duffin KC y Krueger GG. Genetic variations in cytokines and cytokine receptors associated with psoriasis found by genome-wide association. *J Invest Dermatol.* 2009; 129(4): 827-833.
- Eder L, Haddad A, Rosen CF, *et al.* The Incidence and Risk Factors for Psoriatic Arthritis in Patients With Psoriasis: A Prospective Cohort Study. *Arthritis Rheumatol.* 2016; 68(4): 915-923.
- Einarsdottir E, Koskinen LL, Dukes E, *et al.* IL23R in the Swedish, Finnish, Hungarian and Italian populations: association with IBD and psoriasis, and linkage to celiac disease. *BMC Med Genet.* 2009; 10: 8.
- Eiris N, Gonzalez-Lara L, Santos-Juanes J, *et al.* Genetic variation at IL12B, IL23R and IL23A is associated with psoriasis severity, psoriatic arthritis and type 2 diabetes mellitus. *J Dermatol Sci.* 2014; 75(3): 167-172.
- Elder JT. Genome-wide association scan yields new insights into the immunopathogenesis of psoriasis. *Genes Immun.* 2009; 10(3): 201-209.
- Elder JT, Bruce AT, Gudjonsson JE, *et al.* Molecular dissection of psoriasis: integrating genetics and biology. *J Invest Dermatol.* 2010; 130(5): 1213-1226.
- Elston DM (2009). Psoriasiform and spongiotic dermatitis. *Dermatopathology*. E. D. a. F. T. Philadelphia, Elsevier Limited: 151- 160.
- Ellinghaus E, Ellinghaus D, Stuart PE, *et al.* Genome-wide association study identifies a psoriasis susceptibility locus at TRAF3IP2. *Nat Genet.* 2010; 42(11): 991-995.
- Farber EM y Nall L. Psoriasis: a stress-related disease. *Cutis.* 1993; 51(5): 322-326.
- Farber EM, Nall ML y Watson W. Natural history of psoriasis in 61 twin pairs. *Arch Dermatol.* 1974; 109(2): 207-211.
- Feng BJ, Sun LD, Soltani-Arabshahi R, *et al.* Multiple Loci within the major histocompatibility complex confer risk of psoriasis. *PLoS Genet.* 2009; 5(8): e1000606.
- Fernández-Bergés D, Cabrera de León A, Sanz H, *et al.* Síndrome metabólico en España: prevalencia y riesgo coronario asociado a la definición armonizada y a la propuesta por la OMS. Estudio DARIOS. *Revista Española de Cardiología.* 2012; 65(03): 241-248.
- Ferrandiz C, Bordas X, Garcia-Patos V, *et al.* Prevalence of psoriasis in Spain (Epiderma Project: phase I). *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2001; 15(1): 20-23.

- Ferrandiz C, Carrascosa JM y Toro M. Prevalence of psoriasis in Spain in the age of biologics. *Actas Dermosifiliogr.* 2014; 105(5): 504-509.
- Ferrandiz C, Pujol RM, Garcia-Patos V, *et al.* Psoriasis of early and late onset: a clinical and epidemiologic study from Spain. *J Am Acad Dermatol.* 2002; 46(6): 867-873.
- Filer C, Ho P, Smith RL, *et al.* Investigation of association of the IL12B and IL23R genes with psoriatic arthritis. *Arthritis Rheum.* 2008; 58(12): 3705-3709.
- Fredriksson T y Pettersson U. Severe psoriasis--oral therapy with a new retinoid. *Dermatologica.* 1978; 157(4): 238-244.
- Gabriel R, Alonso M, Segura A, *et al.* Prevalencia, distribución y variabilidad geográfica de los principales factores de riesgo cardiovascular en España. Análisis agrupado de datos individuales de estudios epidemiológicos poblacionales: estudio ERICE. *Revista Española de Cardiología.* 2008; 61(10): 1030-1040.
- Gallo E, Cabaleiro T, Roman M, *et al.* Estudio de los polimorfismos genéticos de la región promotora del TNF- α en pacientes españoles afectados de psoriasis. *Actas Dermosifiliogr.* 2012; 103(4): 301-307.
- Gallo E, Cabaleiro T, Roman M, *et al.* The relationship between tumour necrosis factor (TNF)- α promoter and IL12B/IL-23R genes polymorphisms and the efficacy of anti-TNF- α therapy in psoriasis: a case-control study. *Br J Dermatol.* 2013; 169(4): 819-829.
- Galluzzo M, Boca AN, Botti E, *et al.* IL12B (p40) Gene Polymorphisms Contribute to Ustekinumab Response Prediction in Psoriasis. *Dermatology.* 2016; 232(2): 230-236.
- García-Diez A, Ferrandiz Foraster C, Vanaclocha Sebastián F, *et al.* What Characterizes the Severity of Psoriasis? *Dermatology.* 2008; 216(2): 137-151.
- Gaunt TR, Rodriguez S y Day IN. Cubic exact solutions for the estimation of pairwise haplotype frequencies: implications for linkage disequilibrium analyses and a web tool 'CubeX'. *BMC Bioinformatics.* 2007; 8(1): 428.
- Gelfand JM, Neimann AL, Shin DB, *et al.* Risk of myocardial infarction in patients with psoriasis. *JAMA.* 2006; 296(14): 1735-1741.
- Gladman DD, Antoni C, Mease P, *et al.* Psoriatic arthritis: epidemiology, clinical features, course, and outcome. *Ann Rheum Dis.* 2005; 64 Suppl 2(Suppl 2): ii14-17.
- Glas J, Seiderer J, Wagner J, *et al.* Analysis of IL12B gene variants in inflammatory bowel disease. *PLoS One.* 2012; 7(3): e34349.
- Glickman FS. Lepra, psora, psoriasis. *J Am Acad Dermatol.* 1986; 14(5 Pt 1): 863-866.
- Gonzalez-Lara L, Batalla A, Coto E, *et al.* The TNFRSF1B rs1061622 polymorphism (p.M196R) is associated with biological drug outcome in Psoriasis patients. *Arch Dermatol Res.* 2015; 307(5): 405-412.
- Gonzalez-Lara L, Coto-Segura P, Penedo A, *et al.* SNP rs11652075 in the CARD14 gene as a risk factor for psoriasis (PSORS2) in a Spanish cohort. *DNA Cell Biol.* 2013; 32(10): 601-604.
- Gordon KB, Blauvelt A, Papp KA, *et al.* Phase 3 Trials of Ixekizumab in Moderate-to-Severe Plaque Psoriasis. *N Engl J Med.* 2016; 375(4): 345-356.
- Gordon KB, Duffin KC, Bissonnette R, *et al.* A Phase 2 Trial of Guselkumab versus Adalimumab for Plaque Psoriasis. *N Engl J Med.* 2015; 373(2): 136-144.

- Gottlieb AB, Chamian F, Masud S, *et al.* TNF inhibition rapidly down-regulates multiple proinflammatory pathways in psoriasis plaques. *J Immunol.* 2005; 175(4): 2721-2729.
- Granlund A, Flatberg A, Ostvik AE, *et al.* Whole genome gene expression meta-analysis of inflammatory bowel disease colon mucosa demonstrates lack of major differences between Crohn's disease and ulcerative colitis. *PLoS One.* 2013; 8(2): e56818.
- Griffiths CE y Barker JN. Pathogenesis and clinical features of psoriasis. *Lancet.* 2007; 370(9583): 263-271.
- Griffiths CEMaB, J. N. W. N. (2010). Psoriasis. Rook's Textbook of Dermatology. S. B. T. Burns, N. Cox and C. Griffiths. Oxford, Wiley-Blackwell.
- Grundy SM, Brewer HB, Jr., Cleeman JI, *et al.* Definition of metabolic syndrome: report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004; 24(2): e13-18.
- Gudjonsson JE y Elder JT (2009). Psoriasis. Fitzpatrick, Dermatología en Medicina General. K. Wolff, L. Goldsmith, S. Katz, B. Gilchrest y E. al. Buenos Aires, Editorial médica panamericana: 169-193.
- Gudjonsson JE, Karason A, Antonsdottir AA, *et al.* HLA-Cw6-positive and HLA-Cw6-negative patients with Psoriasis vulgaris have distinct clinical features. *J Invest Dermatol.* 2002; 118(2): 362-365.
- Gudjonsson JE, Karason A, Runarsdottir EH, *et al.* Distinct clinical differences between HLA-Cw*0602 positive and negative psoriasis patients--an analysis of 1019 HLA-C- and HLA-B-typed patients. *J Invest Dermatol.* 2006; 126(4): 740-745.
- Haroon M, Gallagher P y FitzGerald O. Diagnostic delay of more than 6 months contributes to poor radiographic and functional outcome in psoriatic arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2015; 74(6): 1045-1050.
- Hazlett J, Stamp LK, Merriman T, *et al.* IL-23R rs11209026 polymorphism modulates IL-17A expression in patients with rheumatoid arthritis. *Genes Immun.* 2012; 13(3): 282-287.
- Hebert HL, Ali FR, Bowes J, *et al.* Genetic susceptibility to psoriasis and psoriatic arthritis: implications for therapy. *Br J Dermatol.* 2012; 166(3): 474-482.
- Hebert HL, Bowes J, Smith RL, *et al.* Identification of loci associated with late-onset psoriasis using dense genotyping of immune-related regions. *Br J Dermatol.* 2015; 172(4): 933-939.
- Hellgren L (1967). Psoriasis: The Prevalence in Sex, Age and Occupational Groups in Total Populations in Sweden. Morphology, Inheritance and Association with Other Skin and Rheumatic Diseases. Estocolmo, Almqvist & Wiksell.
- Henseler T y Christophers E. Psoriasis of early and late onset: characterization of two types of psoriasis vulgaris. *J Am Acad Dermatol.* 1985; 13(3): 450-456.
- Hewett D, Samuelsson L, Polding J, *et al.* Identification of a psoriasis susceptibility candidate gene by linkage disequilibrium mapping with a localized single nucleotide polymorphism map. *Genomics.* 2002; 79(3): 305-314.
- Horn EJ, Fox KM, Patel V, *et al.* Association of patient-reported psoriasis severity with income and employment. *J Am Acad Dermatol.* 2007; 57(6): 963-971.

- Horreau C, Pouplard C, Brenaut E, *et al.* Cardiovascular morbidity and mortality in psoriasis and psoriatic arthritis: a systematic literature review. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2013; 27 Suppl 3: 12-29.
- Hou S, Liao D, Zhang J, *et al.* Genetic variations of IL17F and IL23A show associations with Behcet's disease and Vogt-Koyanagi-Harada syndrome. *Ophthalmology.* 2015; 122(3): 518-523.
- Huang J, Ellinghaus D, Franke A, *et al.* 1000 Genomes-based imputation identifies novel and refined associations for the Wellcome Trust Case Control Consortium phase 1 Data. *Eur J Hum Genet.* 2012; 20(7): 801-805.
- Huber AK, Jacobson EM, Jazdzewski K, *et al.* Interleukin (IL)-23 receptor is a major susceptibility gene for Graves' ophthalmopathy: the IL-23/T-helper 17 axis extends to thyroid autoimmunity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008; 93(3): 1077-1081.
- Huffmeier U, Lascorz J, Bohm B, *et al.* Genetic variants of the IL-23R pathway: association with psoriatic arthritis and psoriasis vulgaris, but no specific risk factor for arthritis. *J Invest Dermatol.* 2009; 129(2): 355-358.
- Hugh J, Van Voorhees AS, Nijhawan RI, *et al.* From the Medical Board of the National Psoriasis Foundation: The risk of cardiovascular disease in individuals with psoriasis and the potential impact of current therapies. *J Am Acad Dermatol.* 2014; 70(1): 168-177.
- Huynh D y Kavanaugh A. Psoriatic arthritis: current therapy and future approaches. *Rheumatology (Oxford).* 2015; 54(1): 20-28.
- Hwang S (2009). Quimiocinas. Fitzpatrick, Dermatología en Medicina General. G. L. Wolff K, Katz S, Gilchrist B, *et al* (editores). Buenos Aires, Editorial médica panamericana: 127-135.
- International HapMap C. The International HapMap Project. *Nature.* 2003; 426(6968): 789-796.
- International HapMap C, Frazer KA, Ballinger DG, *et al.* A second generation human haplotype map of over 3.1 million SNPs. *Nature.* 2007; 449(7164): 851-861.
- Jacobi A, Kupke C, Behzad M, *et al.* Comorbidities, metabolic risk profile and health-related quality of life in German patients with plaque-type psoriasis: a cross-sectional prospective study. *Int J Dermatol.* 2013; 52(9): 1081-1087.
- Jadon D, Tillett W, Wallis D, *et al.* Exploring ankylosing spondylitis-associated ERAP1, IL23R and IL12B gene polymorphisms in subphenotypes of psoriatic arthritis. *Rheumatology (Oxford).* 2013; 52(2): 261-266.
- Jia H, Tao F, Liu C, *et al.* Both interleukin-23A polymorphism and serum interleukin-23 expression are associated with Graves' disease risk. *Cell Immunol.* 2015; 294(1): 39-43.
- Johnson AD y O'Donnell CJ. An open access database of genome-wide association results. *BMC Med Genet.* 2009; 10: 6.
- Johnston A, Xing X, Swindell WR, *et al.* Susceptibility-associated genetic variation at IL12B enhances Th1 polarization in psoriasis. *Hum Mol Genet.* 2013; 22(9): 1807-1815.
- Julia M, Guilabert A, Lozano F, *et al.* The role of Fcγ receptor polymorphisms in the response to anti-tumor necrosis factor therapy in psoriasis A pharmacogenetic study. *JAMA Dermatol.* 2013; 149(9): 1033-1039.
- Kadi A, Costantino F, Izac B, *et al.* Brief report: the IL23R nonsynonymous polymorphism rs11209026 is associated with radiographic sacroiliitis in spondyloarthritis. *Arthritis Rheum.* 2013; 65(10): 2655-2660.

- Kauffman CL, Aria N, Toichi E, *et al.* A phase I study evaluating the safety, pharmacokinetics, and clinical response of a human IL-12 p40 antibody in subjects with plaque psoriasis. *J Invest Dermatol.* 2004; 123(6): 1037-1044.
- Kavanaugh A, Mease PJ, Reimold AM, *et al.* Secukinumab for long-term treatment of psoriatic arthritis: 2-year follow-up from a phase 3, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2016.
- Kirby B y Griffiths CE. Novel immune-based therapies for psoriasis. *Br J Dermatol.* 2002; 146(4): 546-551.
- Klein RJ, Zeiss C, Chew EY, *et al.* Complement factor H polymorphism in age-related macular degeneration. *Science.* 2005; 308(5720): 385-389.
- Kopp T, Lenz P, Bello-Fernandez C, *et al.* IL-23 production by cosecretion of endogenous p19 and transgenic p40 in keratin 14/p40 transgenic mice: evidence for enhanced cutaneous immunity. *J Immunol.* 2003; 170(11): 5438-5444.
- Kosmicki JA, Churchhouse CL, Rivas MA, *et al.* Discovery of rare variants for complex phenotypes. *Hum Genet.* 2016; 135(6): 625-634.
- Kurd SK, Troxel AB, Crits-Christoph P, *et al.* The risk of depression, anxiety, and suicidality in patients with psoriasis: a population-based cohort study. *Arch Dermatol.* 2010; 146(8): 891-895.
- Kwatra SG, Dabade TS, Gustafson CJ, *et al.* JAK inhibitors in psoriasis: a promising new treatment modality. *J Drugs Dermatol.* 2012; 11(8): 913-918.
- Lande R, Botti E, Jandus C, *et al.* The antimicrobial peptide LL37 is a T-cell autoantigen in psoriasis. *Nat Commun.* 2014; 5: 5621.
- Lander ES y Schork NJ. Genetic dissection of complex traits. *Science.* 1994; 265(5181): 2037-2048.
- Langan SM, Seminara NM, Shin DB, *et al.* Prevalence of metabolic syndrome in patients with psoriasis: a population-based study in the United Kingdom. *J Invest Dermatol.* 2012; 132(3 Pt 1): 556-562.
- Lee E, Trepicchio WL, Oestreicher JL, *et al.* Increased expression of interleukin 23 p19 and p40 in lesional skin of patients with psoriasis vulgaris. *J Exp Med.* 2004; 199(1): 125-130.
- Lee F, Bellary S y Francis C. Increased occurrence of psoriasis in patients with Crohn's disease and their relatives. *Am J Gastroenterol* 1990; 85(8): 962-963.
- Lees CW, Barrett JC, Parkes M, *et al.* New IBD genetics: common pathways with other diseases. *Gut.* 2011; 60(12): 1739-1753.
- Litjens NH, van der Plas MJ, Ravensbergen B, *et al.* Psoriasis is not associated with IL-12p70/IL-12p40 production and IL12B promoter polymorphism. *J Invest Dermatol.* 2004; 122(4): 923-926.
- Liu Y, Helms C, Liao W, *et al.* A genome-wide association study of psoriasis and psoriatic arthritis identifies new disease loci. *PLoS Genet.* 2008; 4(3): e1000041.
- Lopez Estebarez JL, Zarco-Montejo P, Samaniego ML, *et al.* Prevalence and clinical features of psoriatic arthritis in psoriasis patients in Spain. Limitations of PASE as a screening tool. *Eur J Dermatol.* 2015; 25(1): 57-63.
- Lu Y, Chen H, Nikamo P, *et al.* Association of cardiovascular and metabolic disease genes with psoriasis. *J Invest Dermatol.* 2013; 133(3): 836-839.

- Lu Y, Kane S, Chen H, *et al.* The role of 39 psoriasis risk variants on age of psoriasis onset. *ISRN Dermatol.* 2013; 2013: 203941.
- Lupardus PJ y Garcia KC. The structure of interleukin-23 reveals the molecular basis of p40 subunit sharing with interleukin-12. *J Mol Biol.* 2008; 382(4): 931-941.
- Mak RK, Hundhausen C y Nestle FO. Progress in understanding the immunopathogenesis of psoriasis. *Actas Dermosifiliogr.* 2009; 100 Suppl 2: 2-13.
- Mallon E, Bunce M, Wojnarowska F, *et al.* HLA-CW*0602 Is a Susceptibility Factor in Type I Psoriasis, and Evidence Ala-73 Is Increased in Male Type I Psoriatics. *Journal of Investigative Dermatology.* 1997; 109(2): 183-186.
- Mangino M, Braund P, Singh R, *et al.* Association analysis of IL-12B and IL-23R polymorphisms in myocardial infarction. *J Mol Med (Berl).* 2008; 86(1): 99-103.
- Manolio TA. Genomewide association studies and assessment of the risk of disease. *N Engl J Med.* 2010; 363(2): 166-176.
- Marinoni B, Ceribelli A, Massarotti MS, *et al.* The Th17 axis in psoriatic disease: pathogenetic and therapeutic implications. *Auto Immun Highlights.* 2014; 5(1): 9-19.
- Masouri S, Stefanaki I, Ntritsos G, *et al.* A Pharmacogenetic Study of Psoriasis Risk Variants in a Greek Population and Prediction of Responses to Anti-TNF-alpha and Anti-IL-12/23 Agents. *Mol Diagn Ther.* 2016; 20(3): 221-225.
- McGonagle D, Ash Z, Dickie L, *et al.* The early phase of psoriatic arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2011; 70 Suppl 1: i71-76.
- McGonagle D, Palmou Fontana N, Tan AL, *et al.* Nailing down the genetic and immunological basis for psoriatic disease. *Dermatology.* 2010; 221 Suppl 1: 15-22.
- McGonagle DG, Helliwell P y Veale D. Enthesitis in psoriatic disease. *Dermatology.* 2012; 225(2): 100-109.
- McKee PH CE, Granter SR (2005). Spongiotic, psoriasiform and pustular dermatoses. Pathology of the Skin with Clinical Correlations. C. E. McKee PH, Granter SR. Philadelphia, Elsevier Mosby: 171-215.
- Mease PJ. Psoriatic arthritis: update on pathophysiology, assessment and management. *Ann Rheum Dis.* 2011; 70 Suppl 1: i77-84.
- Menke A, Casagrande S, Geiss L, *et al.* Prevalence of and Trends in Diabetes Among Adults in the United States, 1988-2012. *JAMA.* 2015; 314(10): 1021-1029.
- Miller SA, Dykes DD y Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.* 1988; 16(3): 1215.
- Miossec P, Korn T y Kuchroo VK. Interleukin-17 and type 17 helper T cells. *N Engl J Med.* 2009; 361(9): 888-898.
- Modlin RL KJ, Maurer D, Bangert C, Stingl G (2009). Inmunidad innata y adaptativa de la piel. Fitzpatrick, Dermatología en Medicina General. G. L. Wolff K, Katz S, Gilchrist B, *et al* Buenos Aires, Editorial médica panamericana: 95-114.
- Moll JM y Wright V. Psoriatic arthritis. *Semin Arthritis Rheum.* 1973; 3(1): 55-78.

- Morar N, Willis-Owen SA, Maurer T, *et al.* HIV-associated psoriasis: pathogenesis, clinical features, and management. *Lancet Infect Dis.* 2010; 10(7): 470-478.
- Mosmann TR y Coffman RL. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol.* 1989; 7: 145-173.
- Mrowietz U (2009). Erupciones pustulosas de las palmas y las plantas. Fitzpatrick, Dermatología en Medicina General. K. Wolff, L. Goldsmith, S. Katz, B. Gilchrest y E. al. Buenos Aires, Editorial médica panamericana: 215-218.
- Mrowietz U, Elder JT y Barker J. The importance of disease associations and concomitant therapy for the long-term management of psoriasis patients. *Arch Dermatol Res.* 2006; 298(7): 309-319.
- Murphy CA, Langrish CL, Chen Y, *et al.* Divergent pro- and antiinflammatory roles for IL-23 and IL-12 in joint autoimmune inflammation. *J Exp Med.* 2003; 198(12): 1951-1957.
- Nair RP, Duffin KC, Helms C, *et al.* Genome-wide scan reveals association of psoriasis with IL-23 and NF-kappaB pathways. *Nat Genet.* 2009; 41(2): 199-204.
- Nair RP, Henseler T, Jenisch S, *et al.* Evidence for two psoriasis susceptibility loci (HLA and 17q) and two novel candidate regions (16q and 20p) by genome-wide scan. *Hum Mol Genet.* 1997; 6(8): 1349-1356.
- Nair RP, Ruether A, Stuart PE, *et al.* Polymorphisms of the IL12B and IL23R genes are associated with psoriasis. *J Invest Dermatol.* 2008; 128(7): 1653-1661.
- Nair RP, Stuart PE, Kullavanijaya P, *et al.* Genetic evidence for involvement of the IL23 pathway in Thai psoriatics. *Arch Dermatol Res.* 2010; 302(2): 139-143.
- Nair RP, Stuart PE, Nistor I, *et al.* Sequence and haplotype analysis supports HLA-C as the psoriasis susceptibility 1 gene. *Am J Hum Genet.* 2006; 78(5): 827-851.
- Nestle FO, Di Meglio P, Qin JZ, *et al.* Skin immune sentinels in health and disease. *Nat Rev Immunol.* 2009; 9(10): 679-691.
- Nestle FO, Kaplan DH y Barker J. Psoriasis. *N Engl J Med.* 2009; 361(5): 496-509.
- Nikamo P, Lysell J y Stahle M. Association with Genetic Variants in the IL-23 and NF-kappaB Pathways Discriminates between Mild and Severe Psoriasis Skin Disease. *J Invest Dermatol.* 2015; 135(8): 1969-1976.
- Nishikawa R, Nagai H, Bito T, *et al.* Genetic prediction of the effectiveness of biologics for psoriasis treatment. *J Dermatol.* 2016; 43(11): 1273-1277.
- Noordenbos T, Yeremenko N, Gofita I, *et al.* Interleukin-17-positive mast cells contribute to synovial inflammation in spondylarthritis. *Arthritis Rheum.* 2012; 64(1): 99-109.
- Nozato K, Fujita J, Kawaguchi M, *et al.* IL-17F Induces CCL20 in Bronchial Epithelial Cells. *J Allergy (Cairo).* 2011; 2011: 587204.
- Oka A, Mabuchi T, Ikeda S, *et al.* IL12B and IL23R gene SNPs in Japanese psoriasis. *Immunogenetics.* 2013; 65(11): 823-828.
- Oka A, Mabuchi T, Ozawa A, *et al.* Current understanding of human genetics and genetic analysis of psoriasis. *J Dermatol.* 2012; 39(3): 231-241.

- Oostveen AM, Bergboer JG, van de Kerkhof PC, *et al.* Genotype-phenotype correlations in a prospective cohort study of paediatric plaque psoriasis: lack of correlation between HLA-C*06 and family history of psoriasis. *Acta Derm Venereol.* 2014; 94(6): 667-671.
- Oppmann B, Lesley R, Blom B, *et al.* Novel p19 Protein Engages IL-12p40 to Form a Cytokine, IL-23, with Biological Activities Similar as Well as Distinct from IL-12. *Immunity.* 2000; 13(5): 715-725.
- Papp K, Cather JC, Rosoph L, *et al.* Efficacy of apremilast in the treatment of moderate to severe psoriasis: a randomised controlled trial. *Lancet.* 2012; 380(9843): 738-746.
- Papp KA, Langley RG, Lebwohl M, *et al.* Efficacy and safety of ustekinumab, a human interleukin-12/23 monoclonal antibody, in patients with psoriasis: 52-week results from a randomised, double-blind, placebo-controlled trial (PHOENIX 2). *Lancet.* 2008; 371(9625): 1675-1684.
- Pascual V, Medrano LM, Lopez-Palacios N, *et al.* Different Gene Expression Signatures in Children and Adults with Celiac Disease. *PLoS One.* 2016; 11(2): e0146276.
- Paul C, Lacour JP, Tedremets L, *et al.* Efficacy, safety and usability of secukinumab administration by autoinjector/pen in psoriasis: a randomized, controlled trial (JUNCTURE). *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2015; 29(6): 1082-1090.
- Pearson TA y Manolio TA. How to interpret a genome-wide association study. *JAMA.* 2008; 299(11): 1335-1344.
- Pidasheva S, Trifari S, Phillips A, *et al.* Functional studies on the IBD susceptibility gene IL23R implicate reduced receptor function in the protective genetic variant R381Q. *PLoS One.* 2011; 6(10): e25038.
- Piskin G, Sylva-Steenland RM, Bos JD, *et al.* In vitro and in situ expression of IL-23 by keratinocytes in healthy skin and psoriasis lesions: enhanced expression in psoriatic skin. *J Immunol.* 2006; 176(3): 1908-1915.
- Piskin G, Tursen U, Sylva-Steenland RM, *et al.* Clinical improvement in chronic plaque-type psoriasis lesions after narrow-band UVB therapy is accompanied by a decrease in the expression of IFN-gamma inducers -- IL-12, IL-18 and IL-23. *Exp Dermatol.* 2004; 13(12): 764-772.
- Pitzalis C, Cauli A, Pipitone N, *et al.* Cutaneous lymphocyte antigen-positive T lymphocytes preferentially migrate to the skin but not to the joint in psoriatic arthritis. *Arthritis & Rheumatism.* 1996; 39(1): 137-145.
- Pivarcsi A, Stahle M y Sonkoly E. Genetic polymorphisms altering microRNA activity in psoriasis--a key to solve the puzzle of missing heritability? *Exp Dermatol.* 2014; 23(9): 620-624.
- Popa OM, Kriegova E, Popa L, *et al.* Association study in Romanians confirms IL23A gene haplotype block rs2066808/rs11171806 as conferring risk to psoriatic arthritis. *Cytokine.* 2013; 63(1): 67-73.
- Popadic S, Ramic Z, Medenica L, *et al.* IL-23R gene polymorphism rs2201841 is associated with psoriatic arthritis. *Int J Immunogenet.* 2014; 41(4): 335-337.
- Prey S, Paul C, Bronsard V, *et al.* Assessment of risk of psoriatic arthritis in patients with plaque psoriasis: a systematic review of the literature. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2010; 24 Suppl 2: 31-35.
- Prieto-Perez R, Solano-Lopez G, Cabaleiro T, *et al.* New immune system genetic polymorphisms associated with moderate-to-severe plaque psoriasis: a case-control study. *Br J Dermatol.* 2015; 172(5): 1432-1435.

- Puig L, Carrascosa JM, Carretero G, *et al.* Spanish evidence-based guidelines on the treatment of psoriasis with biologic agents, 2013. Part 1: on efficacy and choice of treatment. Spanish Psoriasis Group of the Spanish Academy of Dermatology and Venereology. *Actas Dermosifiliogr.* 2013; 104(8): 694-709.
- Puig L, Julia A y Marsal S. The pathogenesis and genetics of psoriasis. *Actas Dermosifiliogr.* 2014; 105(6): 535-545.
- Puig L, Lopez A, Vilarrasa E, *et al.* Efficacy of biologics in the treatment of moderate-to-severe plaque psoriasis: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials with different time points. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2014; 28(12): 1633-1653.
- Qu N, Xu M, Mizoguchi I, *et al.* Pivotal roles of T-helper 17-related cytokines, IL-17, IL-22, and IL-23, in inflammatory diseases. *Clin Dev Immunol.* 2013; 2013: 968549.
- Queiro R, Morante I, Cabezas I, *et al.* HLA-B27 and psoriatic disease: a modern view of an old relationship. *Rheumatology (Oxford).* 2016; 55(2): 221-229.
- Reich K, Papp KA, Matheson RT, *et al.* Evidence that a neutrophil-keratinocyte crosstalk is an early target of IL-17A inhibition in psoriasis. *Exp Dermatol.* 2015; 24(7): 529-535.
- Richard MA, Barnette T, Horreau C, *et al.* Psoriasis, cardiovascular events, cancer risk and alcohol use: evidence-based recommendations based on systematic review and expert opinion. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2013; 27 Suppl 3: 2-11.
- Roberson ED y Bowcock AM. Psoriasis genetics: breaking the barrier. *Trends Genet.* 2010; 26(9): 415-423.
- Romagnani S, Maggi E, Liotta F, *et al.* Properties and origin of human Th17 cells. *Mol Immunol.* 2009; 47(1): 3-7.
- Ryan C, Kelleher J, Fagan MF, *et al.* Genetic markers of treatment response to tumour necrosis factor-alpha inhibitors in the treatment of psoriasis. *Clin Exp Dermatol.* 2014; 39(4): 519-524.
- Safrany E, Szell M, Csongei V, *et al.* Polymorphisms of the IL23R gene are associated with psoriasis but not with immunoglobulin A nephropathy in a Hungarian population. *Inflammation.* 2011; 34(6): 603-608.
- Sandoval-Talamantes AK, Brito-Luna MJ, Fafutis-Morris M, *et al.* The 3'UTR 1188A/C polymorphism of IL-12p40 is not associated with susceptibility for developing plaque psoriasis in Mestizo population from western Mexico. *Immunol Lett.* 2015; 163(2): 221-226.
- Santos-Juanes J, Coto-Segura P, Fernandez-Vega I, *et al.* Psoriasis vulgaris with or without arthritis and independent of disease severity or duration is a risk factor for hypercholesterolemia. *Dermatology.* 2015; 230(2): 170-176.
- Schons KR, Beber AA, Beck Mde O, *et al.* Nail involvement in adult patients with plaque-type psoriasis: prevalence and clinical features. *An Bras Dermatol.* 2015; 90(3): 314-319.
- Sfikakis PP, Iliopoulos A, Elezoglou A, *et al.* Psoriasis induced by anti-tumor necrosis factor therapy: a paradoxical adverse reaction. *Arthritis Rheum.* 2005; 52(8): 2513-2518.
- Sherlock JP, Joyce-Shaikh B, Turner SP, *et al.* IL-23 induces spondyloarthritis by acting on ROR-gamma+ CD3+CD4+CD8- entheseal resident T cells. *Nat Med.* 2012; 18(7): 1069-1076.

- Sherlock JP, Taylor PC y Buckley CD. The biology of IL-23 and IL-17 and their therapeutic targeting in rheumatic diseases. *Curr Opin Rheumatol*. 2015; 27(1): 71-75.
- Sherlock JP, Taylor PC, Buckley CD, *et al*. Spondyloarthropathy: interleukin 23 and disease modification. *Lancet*. 2015; 385(9982): 2017-2018.
- Singh S, Kroe-Barrett RR, Canada KA, *et al*. Selective targeting of the IL23 pathway: Generation and characterization of a novel high-affinity humanized anti-IL23A antibody. *MAbs*. 2015; 7(4): 778-791.
- Smith RL, Warren RB, Eyre S, *et al*. Polymorphisms in the IL-12beta and IL-23R genes are associated with psoriasis of early onset in a UK cohort. *J Invest Dermatol*. 2008; 128(5): 1325-1327.
- Smith RL, Warren RB, Griffiths CE, *et al*. Genetic susceptibility to psoriasis: an emerging picture. *Genome Med*. 2009; 1(7): 72.
- Snowden JA y Heaton DC. Development of psoriasis after syngeneic bone marrow transplant from psoriatic donor: further evidence for adoptive autoimmunity. *British Journal of Dermatology*. 1997; 137(1): 130-132.
- Sommer DM, Jenisch S, Suchan M, *et al*. Increased prevalence of the metabolic syndrome in patients with moderate to severe psoriasis. *Arch Dermatol Res*. 2006; 298(7): 321-328.
- Song GG, Bae SC, Choi SJ, *et al*. Associations between interleukin-23 receptor polymorphisms and susceptibility to rheumatoid arthritis: a meta-analysis. *Mol Biol Rep*. 2012; 39(12): 10655-10663.
- Sonkoly E, Stahle M y Pivarcsi A. MicroRNAs: novel regulators in skin inflammation. *Clin Exp Dermatol*. 2008; 33(3): 312-315.
- Strange A, Capon F, Spencer CC, *et al*. A genome-wide association study identifies new psoriasis susceptibility loci and an interaction between HLA-C and ERAP1. *Nat Genet*. 2010; 42(11): 985-990.
- Stuart P, Malick F, Nair RP, *et al*. Analysis of phenotypic variation in psoriasis as a function of age at onset and family history. *Arch Dermatol Res*. 2002; 294(5): 207-213.
- Stuart PE, Nair RP, Ellinghaus E, *et al*. Genome-wide association analysis identifies three psoriasis susceptibility loci. *Nat Genet*. 2010; 42(11): 1000-1004.
- Stuart PE, Nair RP, Tsoi LC, *et al*. Genome-wide Association Analysis of Psoriatic Arthritis and Cutaneous Psoriasis Reveals Differences in Their Genetic Architecture. *Am J Hum Genet*. 2015; 97(6): 816-836.
- Su YS, Yu HS, Li WC, *et al*. Psoriasis as initiator or amplifier of the systemic inflammatory march: impact on development of severe vascular events and implications for treatment strategy. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2013; 27(7): 876-883.
- Sun LD, Cheng H, Wang ZX, *et al*. Association analyses identify six new psoriasis susceptibility loci in the Chinese population. *Nat Genet*. 2010; 42(11): 1005-1009.
- Swindell WR, Stuart PE, Sarkar MK, *et al*. Cellular dissection of psoriasis for transcriptome analyses and the post-GWAS era. *BMC Med Genomics*. 2014; 7(1): 27.
- Talamonti M, Botti E, Galluzzo M, *et al*. Pharmacogenetics of psoriasis: HLA-Cw6 but not LCE3B/3C deletion nor TNFAIP3 polymorphism predisposes to clinical response to interleukin 12/23 blocker ustekinumab. *Br J Dermatol*. 2013; 169(2): 458-463.

- Tavira B, Coto E, Gomez J, *et al.* Association between a MYH9 polymorphism (rs3752462) and renal function in the Spanish RENASTUR cohort. *Gene*. 2013; 520(1): 73-76.
- Taylor W, Gladman D, Helliwell P, *et al.* Classification criteria for psoriatic arthritis: development of new criteria from a large international study. *Arthritis Rheum*. 2006; 54(8): 2665-2673.
- Tazi Ahnini R, Camp NJ, Cork MJ, *et al.* Novel genetic association between the corneodesmosin (MHC S) gene and susceptibility to psoriasis. *Hum Mol Genet*. 1999; 8(6): 1135-1140.
- Tejasvi T, Stuart PE, Chandran V, *et al.* TNFAIP3 gene polymorphisms are associated with response to TNF blockade in psoriasis. *J Invest Dermatol*. 2012; 132(3 Pt 1): 593-600.
- Tillett W, Costa L, Jadon D, *et al.* The CLASSification for Psoriatic ARthritis (CASPAR) criteria--a retrospective feasibility, sensitivity, and specificity study. *J Rheumatol*. 2012; 39(1): 154-156.
- Torre Alonso JC, Rodriguez Perez A, Arribas Castrillo JM, *et al.* Psoriatic arthritis (PA): a clinical, immunological and radiological study of 180 patients. *Br J Rheumatol*. 1991; 30(4): 245-250.
- Tsoi LC, Spain SL, Ellinghaus E, *et al.* Enhanced meta-analysis and replication studies identify five new psoriasis susceptibility loci. *Nat Commun*. 2015; 6: 7001.
- Tsoi LC, Spain SL, Knight J, *et al.* Identification of 15 new psoriasis susceptibility loci highlights the role of innate immunity. *Nat Genet*. 2012; 44(12): 1341-1348.
- Tsunemi Y, Saeki H, Nakamura K, *et al.* Interleukin-12 p40 gene (IL12B) 3'-untranslated region polymorphism is associated with susceptibility to atopic dermatitis and psoriasis vulgaris. *J Dermatol Sci*. 2002; 30(2): 161-166.
- Ucak S, Ekmekci TR, Basat O, *et al.* Comparison of various insulin sensitivity indices in psoriatic patients and their relationship with type of psoriasis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2006; 20(5): 517-522.
- van den Reek JM, Coenen MJ, van de L'Isle Arias M, *et al.* Polymorphisms in CD84, IL12B and TNFAIP3 are associated with response to biologics in patients with psoriasis. *Br J Dermatol*. 2016.
- Vasilopoulos Y, Manolika M, Zafiriou E, *et al.* Pharmacogenetic analysis of TNF, TNFRSF1A, and TNFRSF1B gene polymorphisms and prediction of response to anti-TNF therapy in psoriasis patients in the Greek population. *Mol Diagn Ther*. 2012; 16(1): 29-34.
- Veal C, Capon F, Allen M, *et al.* Family-based analysis using a dense single-nucleotide polymorphism-based map defines genetic variation at PSORS1, the major psoriasis-susceptibility locus. *Am J Hum Genet*. 2002; 71: 554-564.
- Veldhoen M, Hocking RJ, Atkins CJ, *et al.* TGFbeta in the context of an inflammatory cytokine milieu supports de novo differentiation of IL-17-producing T cells. *Immunity*. 2006; 24(2): 179-189.
- Wang Y, Chen J, Zhao Y, *et al.* Psoriasis is associated with increased levels of serum leptin. *Br J Dermatol*. 2008; 158(5): 1134-1135.
- Warren RB, Smith RL, Campalani E, *et al.* Outcomes of methotrexate therapy for psoriasis and relationship to genetic polymorphisms. *Br J Dermatol*. 2009; 160(2): 438-441.
- Wendling D, Abbas W, Godfrin-Valnet M, *et al.* Dysregulated serum IL-23 and SIRT1 activity in peripheral blood mononuclear cells of patients with rheumatoid arthritis. *PLoS One*. 2015; 10(3): e0119981.

- WHO. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. World Health Organ Tech Rep Ser. 2000; 894: i-xii, 1-253.
- Williams IR RB, Kupper TS. (2009). Citocinas. Fitzpatrick, Dermatología en Medicina General. G. L. Wolff K, Katz S, Gilchrist B, et al (editores) Buenos Aires Editorial médica panamericana: 115-126.
- Winchester R (2009). Artritis psoriasica. Fitzpatrick, Dermatología en Medicina General. G. L. Wolff K, Katz S, Gilchrist B, et al. Buenos Aires, Editorial médica panamericana: 194-206.
- Włodarczyk M, Sobolewska A, Wojcik B, *et al*. Correlations between skin lesions induced by anti-tumor necrosis factor-alpha and selected cytokines in Crohn's disease patients. World J Gastroenterol. 2014; 20(22): 7019-7026.
- Yang Q, Liu H, Qu L, *et al*. Investigation of 20 non-HLA (human leucocyte antigen) psoriasis susceptibility loci in Chinese patients with psoriatic arthritis and psoriasis vulgaris. Br J Dermatol. 2013; 168(5): 1060-1065.
- Yao Z, Painter SL, Fanslow WC, *et al*. Human IL-17: a novel cytokine derived from T cells. J Immunol. 1995; 155(12): 5483-5486.
- Yeung H, Takeshita J, Mehta NN, *et al*. Psoriasis severity and the prevalence of major medical comorbidity: a population-based study. JAMA Dermatol. 2013; 149(10): 1173-1179.
- Yin X, Low HQ, Wang L, *et al*. Genome-wide meta-analysis identifies multiple novel associations and ethnic heterogeneity of psoriasis susceptibility. Nat Commun. 2015; 6: 6916.
- Yu RY, Brazaitis J y Gallagher G. The human IL-23 receptor rs11209026 A allele promotes the expression of a soluble IL-23R-encoding mRNA species. J Immunol. 2015; 194(3): 1062-1068.
- Zachariae H, Zachariae R, Blomqvist K, *et al*. Quality of life and prevalence of arthritis reported by 5,795 members of the Nordic Psoriasis Associations. Data from the Nordic Quality of Life Study. Acta Derm Venereol. 2002; 82(2): 108-113.
- Zervou MI, Goulielmos GN, Castro-Giner F, *et al*. STAT4 gene polymorphism is associated with psoriasis in the genetically homogeneous population of Crete, Greece. Hum Immunol. 2009; 70(9): 738-741.
- Zhang XJ, Huang W, Yang S, *et al*. Psoriasis genome-wide association study identifies susceptibility variants within LCE gene cluster at 1q21. Nat Genet. 2009; 41(2): 205-210.
- Zheng HF, Zuo XB, Lu WS, *et al*. Variants in MHC, LCE and IL12B have epistatic effects on psoriasis risk in Chinese population. J Dermatol Sci. 2011; 61(2): 124-128.
- Zhu KJ, Zhu CY, Shi G, *et al*. Association of IL23R polymorphisms with psoriasis and psoriatic arthritis: a meta-analysis. Inflamm Res. 2012; 61(10): 1149-1154.
- Zhu KJ, Zhu CY, Shi G, *et al*. Meta-analysis of IL12B polymorphisms (rs3212227, rs6887695) with psoriasis and psoriatic arthritis. Rheumatol Int. 2013; 33(7): 1785-1790.

10

ANEXOS

ANEXO 1 – CONSENTIMIENTO INFORMADO

HOSPITAL UNIVERSITARIO CENTRAL DE ASTURIAS

DECLARACION DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

El abajo firmante, Dn/Dña.....

Manifiesta su conformidad para que le sea extraída una muestra de sangre (un tubo de 10 ml) para su estudio en una investigación sobre nuevos marcadores genéticos para el diagnóstico y evaluación de los tratamientos en la psoriasis, dirigido por el Dr. PABLO COTO SEGURA, especialista del Servicio de Dermatología del Hospital Universitario Central de Asturias.

El suero y ARN/ADN se obtendrá y almacenará en el Laboratorio de Medicina y Biobanco del HUCA durante el tiempo de duración del proyecto (2013-2018). Siempre se respetará la confidencialidad del donante, con absoluto respeto a la Ley de Protección de Datos de Carácter Personal.

La información genética derivada del estudio será utilizada con fines de investigación, y en ningún caso será manejada por personas ajenas al proyecto de investigación. Los marcadores genéticos que serán analizados no tienen valor clínico conocido, y el proyecto pretende definir su papel en la psoriasis.

Esta aceptación o conformidad puede ser retirada cuando estime conveniente, sin necesidad de justificar esta decisión.

Declaro que he sido informado por el médico del procedimiento y que sé que, en cualquier momento, puedo revocar mi consentimiento.

Estoy **satisfecho** con la información recibida, he podido formular toda clase de preguntas que he creído conveniente y me han aclarado todas las dudas planteadas.

En consecuencia, doy mi consentimiento para el estudio genético

En a de de 20....

Fdo.

REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO

Con fecha revoco el consentimiento prestado para el estudio genético.

Firma del paciente

Firma del médico

Nombre del representante legal en caso de incapacidad del paciente, con indicación del carácter con el que interviene (esposo, padre, madre, tutor, etc)

Nombre del representante legal

Firma del representante legal

D.N.I.

ANEXO 2 - AUTORIZACIÓN DEL CEIC



SERVICIO DE SALUD
DEL PRINCIPADO DE ASTURIAS

HOSPITAL UNIVERSITARIO CENTRAL DE ASTURIAS IV

Comité Ético de Investigación Clínica
Regional del Principado de Asturias
C/ Celestino Villamil s/n
33006.-Oviedo
Tfno: 985.10.79.27/985.10.80.28
Fax: 985.10.87.11
e-mail: ceicr_asturias@hca.es

Área Sanitaria

Oviedo, 19 de abril de 2013

El Comité Ético de Investigación Clínica Regional del Principado de Asturias ha evaluado el Estudio nº 78/2013, titulado: "VARIACIÓN EN LOS GENES DE LAS INTERLEUKINAS 12/23 Y RIESGO DE PSORIASIS VULGARIS". Investigadora Principal Dra. Noemí Eiris Salvado (R4) del S. de Dermatología del HUCA. Trabajo de Tesis Doctoral

El Comité ha tomado el acuerdo de considerar que el citado estudio reúne las condiciones éticas necesarias para poder realizarse y, en consecuencia, emite su autorización.

Le recuerdo que deberá guardar la máxima confidencialidad de los datos utilizados en este estudio.

Le saluda atentamente.

Fdo: Eduardo Arnáez Moral
Secretario del Comité Ético de Investigación
Clínica Regional del Principado de Asturias



ANEXO 3 – CUESTIONARIO DE RECOGIDA DE DATOS

Questionario de recogida de datos - Genética Psoriasis HUCA			
Fecha:			
NHC			
NR DNA:			
Edad inclusión			
Sexo: / /			
Altura: cm			
Peso: kg			
Perímetro abdominal: cm			
Hábito tabaquico: SI / NO		→ NR cigarrillos/día	
Consumo de alcohol: SI / NO			
Hipertensión arterial: SI / NO			
Dislipemia: SI / NO			
Diabetes mellitus: NO / DM1 / DM2			
Cardiopatía isquémica: SI / NO			
Edad de inicio de la Psoriasis			
PASi visita inclusión			
Artritis Psoriásica: SI / NO / Pendiente			
Afectación unguesal: SI / NO			
Antecedentes familiares de PsO: SI / NO		→ ¿incluidos en el estudio? Nombre/NHC de AF	
Tratamientos sistémicos: SI / NO			
Tratamiento biológico:		PASi75 semana 24: SI/NO	
DETERMINACIONES ANALÍTICAS:			
HLA Cw6: SI / NO / Pendiente			
GOT	GPT	GGT	LDH
Colesterol total	LDL	HDL	TG
Glucemia basal			
PCR			

ANEXO 4 – CÁLCULO DEL PASI

La fórmula toma en cuenta tanto la intensidad (0-4) de varios parámetros de la Ps (eritema, infiltración y descamación) de cada región corporal (cabeza y cuello, extremidades superiores, tronco y extremidades inferiores).

Posteriormente la suma de esos parámetros para cada una de las cuatro regiones corporales es modulada por la superficie corporal representada por cada región (0.1, 0.2, 0.3 y 0.4 respectivamente).

Finalmente, la extensión de la enfermedad en cada área es tenida en cuenta multiplicando la cifra obtenida previamente por un coeficiente de superficie (0: nada, 1: 1-9%, 2: 10-29%, 3: 30-49%, 4: 50-69%, 5: 70-89% o 6: 90-100%). La puntuación total final es la suma de esos cuatro valores.

Tabla 29 – Fórmula para el cálculo manual del PASI

Características	Puntuación	Región corporal			
		Cabeza	E. Superior	Tronco	E. Inferior
Eritema	0-4				
Infiltración	0-4				
Descamación	0-4				
Subtotal 1					
		x0.1=	x0.2=	x0.3=	x0.4=
Área afecta	0-6				
Subtotal 2					
Total PASI					

ANEXO 5 – VARIABLES RECOGIDAS EN BASE DE DATOS

VARIABLES RECOGIDAS EN LA BASE DE DATOS MEDIANTE EL FORMULARIO (ANEXO 3), MÉTODOS DE RECOGIDA DE LA INFORMACIÓN Y CRITERIOS DE CODIFICACIÓN UTILIZADOS EN VARIABLES PRIMARIAS Y SECUNDARIAS (DERIVADAS DE INFORMACIÓN RECOGIDA EN VARIABLES PRIMARIAS).

Tabla 30 – Variables recogidas en base de datos

Variable	Observaciones
Número de hª clínica	Identificación según número de historial clínico del paciente
Nº DNA	Número asignado según orden de procesamiento del material genético
Edad	Edad a la visita de recogida de datos
Sexo	Masculino ó femenino
Peso	En kilogramos
Altura	En centímetros
IMC	Cálculo según fórmula (Peso/Altura ²)
Edad de inicio de la Ps	Edad de debut de la enfermedad
Inicio precoz/tardío	Edad de inicio <40 años ó ≥40 años
Tiempo de evolución	Edad del paciente – edad de inicio de la Ps
PASI	Según cálculo realizado en la visita de inclusión
PASI grave	Recodificación según PASI <10 ó PASI ≥10
Afectación ungueal	Sí/No
Presencia de artritis	Sí/No. Según valoración por Reumatología.
Alelo HLA-Cw6	Sí/No
AF de Ps	Sí/No
Tratamientos sistémicos para Ps	Sí/No. Se incluyó a la fototerapia entre éstos, codificándose como positiva si el paciente recibía el tratamiento en el momento actual ó previamente.
Consumo de alcohol	Sí / No
Hábito tabáquico	Sí / No. En caso de respuesta afirmativa, codificación en nº de cigarrillos/día
Hipertensión arterial	Sí/No. Según hª clínica previa ó evidencia de toma de antihipertensivos
DL	Sí/No. Según antecedentes en la hª clínica ó toma de fármacos hipolipemiantes o alteración en analítica basal según criterios establecidos.
Diabetes mellitus	Sí / No. Según antecedentes en la hª clínica ó toma de fármacos antidiabéticos/insulina.
Cardiopatía isquémica	Sí / No. Se registró como evidencia el antecedente de cardiopatía coronaria ó insuficiencia cardíaca.
Perímetro abdominal	En centímetros, con el paciente de pie y tomando como referencia el punto medio entre la cresta iliaca y el reborde costal en la línea medioaxilar.
Variables analíticas	GOT, GPT, GGT, LDH, Colesterol total, LDL, HDL, Trigliceridemia, Glucemia basal, PCR
Tratamiento biológico	Sí/ No. En caso de respuesta afirmativa, codificación en tipo de biológico (AntiTNF/AntiIL12-23) y buena respuesta a tratamiento biológico (Sí / No) según PASI75 Sí / No en semana 24 tras inducción.
IL12B412	SNP <i>IL12Brs2082412</i> 11=2, 12=3, 22=4
IL12B227	SNP <i>IL12Brs3212227</i> 11=2,12=3,22=4
IL12B695	SNP <i>IL12Brs6887695</i> 11=2,12=3,22=4
HAPLO_IL12	11/11=1, 12/11=2, 22/11=3, 11/12=4, 12/12=5, 22/12=6, 11/22=7, 12/22=8, 22/22=9
IL23R026_R381Q	SNP <i>IL23Rrs11209026</i> 22=0, 12=1
IL23R1841_INTRONIC	SNP <i>IL23Rrs2201841</i> 11=2, 12=3, 22=4
IL236808_MPS1_IL23A	SNP <i>IL23Ars2066808</i> 11=2, 12=3

ANEXO 6 – ARTICULOS Y COMUNICACIONES DERIVADOS DEL TRABAJO

ARTÍCULOS PUBLICADOS

1. Eirís N, Santos-Juanes J, Coto-Segura P, Gómez J, Alvarez V, Morales B, Queiro R, Díaz M, Corao AI, López-Corte K, Coto E. **Resequencing of the IL12B gene in psoriasis patients with the rs6887695/rs3212227 risk genotypes.** Cytokine. 2012; 60(1):27-9.

Cytokine

Revista indexada en Pubmed

Factor de impacto: 2.94 (2015 Journal Citation Report – Thomson Reuters).

Cuartil: Bioquímica y biología molecular Q2 (Posición 123/289)

Inmunología Q2 (Posición 70/150)

2. Eirís N, González-Lara L, Santos-Juanes J, Queiro R, Coto E, Coto-Segura P. **Genetic variation at IL12B, IL23R and IL23A is associated with psoriasis severity, psoriatic arthritis and type 2 diabetes mellitus.** J Dermatol Sci. 2014; 75(3):167-72.

Journal of Dermatological Science

Revista indexada en Pubmed

Factor de impacto: 3.739 (2015 Journal Citation Report – Thomson Reuters).

Cuartil: Dermatología Q1 (Posición 7/61)

3. González-Lara L, Coto-Segura P, Penedo A, Eiris N, Díaz M, Santos-Juanes J, Queiro R, Coto E. **SNP rs11652075 in the CARD14 gene as a risk factor for psoriasis (PSORS2) in a Spanish cohort.** DNA Cell Biol. 2013; 32(10):601-4.

DNA and Cell biology

Revista indexada en Pubmed

Factor de impacto: 2.574 (2015 Journal Citation Report – Thomson Reuters).

Cuartil: Biochemistry & molecular biology Q3 (Posición 153/289)

Cell biology Q3 (Posición 116/187)

Genetics & Heredity Q2 (Posición 80/166)

4. Coto-Segura P, González-Lara L, Eiris N, Santos-Juanes J, Queiro R, Coto E. **Effect of the FTO rs9930506 polymorphism on obesity and the main clinical outcomes in patients with psoriasis.** Br J Dermatol. 2014; 171(4):917-9.

British Journal of Dermatology

Revista indexada en Pubmed

Factor de impacto: 4.317 (2015 Journal Citation Report – Thomson Reuters).

Cuartil: Dermatología Q1 (Posición 5/61)

5. González-Lara L, Batalla A, Coto E, Gómez J, Eiris N, Santos-Juanes J, Queiro R, Coto-Segura P. **The TNFRSF1B rs1061622 polymorphism (p.M196R) is associated with biological drugs outcome in Psoriasis patients.** Arch Dermatol Res. 2015; 307:405-12.

Archives of Dermatological Research

Revista indexada en Pubmed

Factor de Impacto: 2.146 (2015 Journal Citation Report – Thomson Reuters).

Cuartil: Dermatología Q2 (Posición: 20/61)

6. Batalla A, Coto E, Gómez J, Eiris N, González-Fernández D, Gómez-De Castro C, Daudén E, Llamas-Velasco M, Prieto-Perez R, Abad-Santos F, Carretero G, García FS, Godoy YB, Cardo LF, Alonso B, Iglesias S, Coto-Segura P. **IL17RA gene variants and anti-TNF response among psoriasis patients.** Pharmacogenomics J. 2016 Sep 27. doi: 10.1038/tpj.2016.70.

Pharmacogenomics Journal

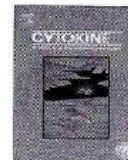
Revista indexada en Pubmed

Factor de Impacto: 3.784 (2015 Journal Citation Report – Thomson Reuters).

Cuartil: Genetics & heredity Q2 (Posición: 47/166)

Pharmacology & pharmacy Q1 (Posición: 52/255)

A continuación se muestran, siguiendo el mismo orden, los artículos previamente citados.



Short Communication

Resequencing of the *IL12B* gene in psoriasis patients with the rs6887695/rs3212227 risk genotypesNoemí Eiris^a, Jorge Santos-Juanes^a, Pablo Coto-Segura^a, Juan Gómez^b, Victoria Alvarez^b, Blanca Morales^b, Rubén Queiro^c, Marta Díaz^b, Ana I. Corao^b, Katia López-Corte^b, Eliecer Coto^{b,*}^a Dermatología II, Hospital Universitario Central Asturias, Oviedo, Spain^b Genética Molecular, Hospital Universitario Central Asturias, Oviedo, Spain^c Reumatología, Hospital Universitario Central Asturias, Oviedo, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 21 December 2011

Received in revised form 7 May 2012

Accepted 26 May 2012

Available online 26 June 2012

Keywords:

Psoriasis

IL12B

Sequencing

Gene polymorphism

ABSTRACT

Background and aims: Recent genomic surveys have identified *IL12B* as susceptibility locus for psoriasis (Ps). Our aim was to replicate the association between *IL12B* SNPs and Ps. In addition, we sequenced the *IL12B* gene in several patients to identify new variants that could explain the disease-risk.

Results: A total of 304 Ps-patients and 422 healthy controls (all Caucasian Spanish) were genotyped for three *IL12B* polymorphisms. SNP rs6887695 (GG genotype) was significantly associated with Ps ($p = 0.002$; OR = 1.60, 95% CI = 1.19–2.16). This genotype was also more frequent among patients with severe psoriasis ($p = 0.03$). Sequencing of 30 patients with the risk genotype identified several *IL12B* reported SNPs. Allele and genotype frequencies for two putative functional variants (rs3213120 and rs3213119) did not differ between patients and controls.

Conclusions: Our study confirmed rs6887695 as a risk factor for Ps. No other *IL12B* variants that could explain this association were found in our patients.

© 2012 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Genome wide association studies (GWAs) identified significant association between *IL12B* single nucleotide polymorphisms (SNPs) and psoriasis (Ps) [1,2]. *IL12B* is on chromosome 5q31 and encodes the IL12 p40 subunit that heterodimerizes with the IL12 p35 subunit (*IL12A* gene) to form IL12, or with the IL23 p19 subunit (*IL23A* gene) to form IL23. In addition, IL12 p40 exists as a monomer and as a homodimer (IL12 p80). *IL12B* is important for the generation of T-helper 1 (Th1) cells, and this would explain its role on Ps and other inflammatory-mediated processes [3–5]. Moreover, the role of the interleukin-12/23 p40 cytokines in the pathophysiology of Ps was also supported by the efficacy of an interleukin-12/23 monoclonal antibody therapy [6].

Most of the case-control studies analyzed one *IL12B* SNP in the 3' untranslated (UTR) region (rs3212227) and two 3' extragenic SNPs (rs2082412 and rs6887695) [7–11]. The functional role of these variants was unclear. An effect of rs3212227 on the production of IL12 subunits by cultured cells has been reported, but others failed to replicate this association [12–14]. It is thus possible that these SNPs linked to Ps were surrogate markers for other functional *IL12B* variants. Our aim was to replicate the association between

Ps and these *IL12B* SNPs, and to determine whether some functional *IL12B* sequence variant could explain the association.

2. Patients and methods

2.1. Patients and controls

A total of 304 patients with Ps (mean age 47 ± 15 years; 54% men) were recruited by Dermatologists from Hospital Universitario Central Asturias (HUCA) in the period January 2007–Oct 2010. The main characteristics of most of these patients had been previously reported, and are summarised in Table 1 [15]. Ps was diagnosed based on clinical findings. The disease was defined as severe or non-severe according to the Psoriasis Area and Severity Index (PASI): patients with a PASI score ≥ 10 were classified as severe, and those with a PASI < 10 as non-severe. Patients who had at least one first degree relative also Ps-affected were classified as familial cases. The existence of arthritis was assessed by a rheumatologist. The control group comprised 422 non-related healthy individuals (mean age 47 ± 13 years; 55% men), recruited through the Blood Bank and the Dermatology Department of HUCA. All the patients and controls were Caucasians from the region of Asturias (Northern Spain, total population 1 million), and gave their written informed consent to participate in the study, approved by the Ethical Committee of HUCA.

* Corresponding author. Address: Hospital Central Asturias, 33006 Oviedo, Spain. Tel.: +34 985 10 79 68.

E-mail address: eliecer.coto@spspa.prncast.es (E. Coto).

Table 1
Characteristics of the 304 psoriatic patients.

Gender (male/female)	164 (54%)/140
Mean age (years \pm SD) ^a	47 \pm 15
Early-onset psoriasis	210 (69%)
Late-onset psoriasis	94 (31%)
PASI < 10	188 (62%)
PASI > 10	116 (38%)
Cw6 +	120 (39%)
Cw6 –	184 (61%)
Familial Ps	143 (47%)

^a SD, standard deviation; PASI, psoriasis area and severity index.

2.2. *IL12B* SNPs genotyping

SNPs rs6887695 and rs3212227 were genotyped through a Real-time TaqMan assay (assays id C_1994992_10 and C_2084293_10; www.appliedbiosystems.com). SNPs rs2082412, rs3213120, and rs3213119 were genotyped through Polymerase Chain Reaction amplification followed by restriction enzyme digestion (PCR–RFLP) (Supplementary Table 1). To confirm the accuracy of these methods, we sequenced and confirmed the genotypes in several individuals.

2.3. *IL12B* sequencing

We sequenced the seven coding and 3' UTR exons, as well as 1557 bp of the promoter region (5' upstream of exon 1) in 30 patients who were rs6887695 GG + rs3212227 AA. Briefly, genomic DNA was PCR-amplified with primer-pairs (Supplementary Table 2), and the fragments were purified and sequenced with BigDye chemistry in an automated ABI3130xl equipment (Applied Biosystems). To define the nucleotide changes, sequences were compared with the reference *IL12B* sequence in the Ensembl database (accession number ENSG00000113302; www.ensembl.org).

2.4. Statistical analysis

The χ^2 test was used to compare genotype and allele frequencies between the groups, and to determine the deviation from the Hardy–Weinberg equilibrium. Odds ratios (ORs) and their 95% confidence intervals (CI). The Student's *t* test was used to compare the quantitative data between the groups. We performed multivariate logistic regression analysis to adjust for risk factors. A *p* < 0.01 was considered as statistically significant. Frequencies of the haplotypes defined by pair of loci were calculated with the Cubic exact solutions for the estimation of pairwise haplotype frequencies (Cubex; www.oegs.org/software/cubex).

3. Results and discussion

The genotype frequencies for the three rs3212227, rs6887695, and rs2082412 SNPs did not deviate from the Hardy–Weinberg equilibrium in both, patients and controls. We found a significant association between Ps and the rs6887695 GG genotype (*p* = 0.002; OR = 1.60, 95% CI = 1.19–2.16) (Table 2). Furthermore, this genotype was also significantly more frequent among patients with severe Ps (57% vs 46%; *p* = 0.04) (Supplementary Table 3). SNPs rs3212227 and rs2082412 were in complete linkage disequilibrium (LD). The rs3212227 AA genotype (linked to Ps-risk in some studies) was more frequent among the patients (0.72 vs 0.69). However, this was a non significant difference, probably due to a limited sample size. Assuming the observed genotype frequencies, a total of 1330 patients and controls should be necessary to reach a power of 80 at a *p* = 0.05. Rs6887695 and rs3212227 were in incomplete LD. We found a significantly higher frequency of rs6887695

Table 2
Genotype frequencies of the *IL12B* SNP rs3212227 and rs6887695 in Ps patients (*n* = 304) and controls (*n* = 422).

Rs3212227	AA	AC	CC	MAF
Patients	219 (0.72)	76 (0.25)	9 (0.03)	0.155
Controls	291 (0.69)	113 (0.27)	18 (0.04)	0.177
Rs6887695 ^a	GG	GC	CC	
Patients	155 (0.51)	133 (0.44)	16 (0.05)	0.271
Controls	166 (0.39)	186 (0.44)	70 (0.17)	0.386

^a Patients vs controls; *p* = 0.002; OR = 1.60, 95% CI = 1.19–2.16 (GG vs GC + CC).

GG + rs3212227 AA genotypes in the Ps (0.46 vs 0.32; *p* < 0.0001; OR = 1.82, 95% CI = 1.34–2.47) (Supplementary Table 4).

The three SNPs were either extragenic (rs6887695 and rs2082412) or in the 3' UTR of *IL12B* (rs3212227). Rs3212227 was previously related with differences in IL-12p40 by human cultured leukocytes [12,13]. The putative functional effect on this SNP on *IL12B* expression could be explained by differential binding to microRNAs (miRNAs). These are small (approximately 20 nucleotides long) RNAs that bind to complementary sequences in the 3' UTRs of mRNAs. Through this process miRNAs control mRNA stability and transcription. An online search (www.microrna.org) indicated that this SNP was not in a binding sequence for known miRNAs. The lack of a direct effect of rs3212227 on IL-12 expression was in agreement with a recent report that found no difference in IL-12p40/p70 levels between the genotypes in patients with acute malaria [14]. It is thus possible that the SNPs linked to Ps-risk were surrogate markers in LD with the causal variant, rather than being directly implicated in Ps-risk.

To determine whether some *IL12B* variant transmitted with the risk genotypes could explain the association with Ps, we sequenced the seven coding and 3' UTR exons and 1557 bp of the promoter region in 30 patients who were rs6887695 GG + rs3212227 AA. We found six previously reported SNPs: three intronic, two in the coding sequence of exons 7 and 8, and two in the 3' UTR (Supplementary Fig. 1). Rs3213120 was in the first nucleotide of exon 8, and could thus affect pre-mRNA splicing. SNP rs3213119 was a missense change (*p*.298 V > P) in exon 7. The two variants could thus have a functional effect on *IL12B* expression and/or function. The two SNPs were in complete LD, and allele and genotype frequencies did not differ between patients and controls (Supplementary Table 5).

Our work has some limitations. First, some associations could be missed because an insufficient number of patients and controls were studied. This could explain the lack of association between rs3212227 and Ps, because >1300 patients and controls should be necessary to confirm the reported association in our population. Second, the resequencing of *IL12B* was performed on 30 patients and we could thus not exclude that some rare variants (frequency <0.02) were not identified.

In conclusion, SNP rs6887695 was strongly linked to Ps-risk in the Spanish population. This polymorphism was also associated with disease severity. No *IL12B* gene variant that could explain this association was identified in our patients.

Acknowledgements

M.D. and A.I.C. were recipients of a Contrato de Apoyo a la Investigación-FIS-Fondos Feder European Union. This work was partially funded by Janssen-Cilag.

Appendix A. Supplementary material

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at <http://dx.doi.org/10.1016/j.cyto.2012.05.030>.

References

- [1] Cargill M, Schrodi SJ, Chang M, et al. A largescale genetic association study confirms *IL12B* and leads to the identification of *IL23R* as psoriasis-risk genes. *Am J Hum Genet* 2007;80:273–90.
- [2] Nair RP, Duffin KC, Helms C, et al. Genome-wide scan reveals association of psoriasis with IL-23 and NF-kappa-beta pathways. *Nature Genet* 2009;41:199–204.
- [3] Windsor L, Morahan G, Huang D, McCann V, Jones T, James I, et al. Alleles of the *IL12B* 3'UTR associate with late onset of type 1 diabetes. *Hum Immunol* 2004;65:1432–6.
- [4] Welsh MM, Karagas MR, Kuriger JK, Houseman A, Spencer SK, Perry AE, et al. Genetic determinants of UV-susceptibility in non-melanoma skin cancer. *PLoS ONE* 2011;6:e20019.
- [5] Shokrgozar MA, Sarial S, Amirzargar A, Shokri F, Rezaei N, Arjang Z, et al. IL-2, IFN-gamma, and IL-12 gene polymorphisms and susceptibility to multiple sclerosis. *J Clin Immunol* 2009;29:747–51.
- [6] Krueger GG, Langley RG, Leonardi C, et al. A human interleukin-12/23 monoclonal antibody for the treatment of psoriasis. *N Engl J Med* 2007;356:580–92.
- [7] Tsunemi Y, Saeki H, Nakamura K, Sekiya T, Hirai K, Fujita H, et al. Interleukin-12 p40 gene (*IL12B*) 3'-untranslated region polymorphism is associated with susceptibility to atopic dermatitis and psoriasis vulgaris. *J Dermatol Sci* 2002;30:161–6.
- [8] Capon F, Di Meglio P, Szaub J, et al. Sequence variants in the genes for the interleukin-23 receptor (*IL23R*) and its ligand (*IL12B*) confer protection against psoriasis. *Hum Genet* 2007;122:201–6.
- [9] Huffmeier U, Lascorz J, Bohm B, et al. Genetic variants of the IL-23R pathway: association with psoriatic arthritis and psoriasis vulgaris, but no specific risk factor for arthritis. *J Invest Derm* 2009;129:355–8.
- [10] Smith RL, Warren RB, Eyre S, et al. Polymorphisms in the IL-12b and IL-23R genes are associated with psoriasis of early onset in a UK cohort. *J Invest Dermatol* 2008;128:1325–7.
- [11] Tsunemi Y, Saeki H, Nakamura K, et al. Interleukin-12 p40 gene (*IL12B*) 30-untranslated region polymorphism is associated with susceptibility to atopic dermatitis and psoriasis vulgaris. *J Dermatol Sci* 2002;30:161–6.
- [12] Seegers D, Zwiers A, Strober W, Pena AS, Bouma G. A TaqI polymorphism in the 3' UTR of the IL-12 p40 gene correlates with increased IL-12 secretion. *Genes Immun* 2002;3:419–23.
- [13] Stanilova S, Miteva L. Taq-I polymorphism in 3' UTR of the IL-12B and association with IL-12p40 production from human PBMC. *Genes Immun* 2005;6:364–6.
- [14] Ong'echa JM, Raballah EO, Kempaiah PM, Anyona SB, Were T, Davenport GC, et al. Polymorphic variability in the 3' untranslated region (UTR) of *IL12B* is associated with susceptibility to severe anaemia in Kenyan children with acute *Plasmodium falciparum* malaria. *BMC Genet* 2011;12:e69.
- [15] Soto-Sánchez J, Santos-Juanes J, Coto-Segura P, Coto E, Díaz M, Rodríguez I, et al. Genetic variation at the CCR5/CCR2 gene cluster and risk of psoriasis and psoriatic arthritis. *Cytokine* 2010;50:114–6.



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Dermatological Science

journal homepage: www.jdsjournal.com

Genetic variation at *IL12B*, *IL23R* and *IL23A* is associated with psoriasis severity, psoriatic arthritis and type 2 diabetes mellitus



Noemí Eirís^{a,b,1,*}, Leire González-Lara^{a,b}, Jorge Santos-Juanes^a, Rubén Queiro^{b,c},
Eliecer Coto^d, Pablo Coto-Segura^{a,b,*}

^a Dermatology Department, Hospital Universitario Central de Asturias, Oviedo, Spain

^b Psoriasis Unit, Hospital Universitario Central de Asturias, Oviedo, Spain

^c Rheumatology Department, Hospital Universitario Central de Asturias, Oviedo, Spain

^d Molecular Genetics Department, Hospital Universitario Central de Asturias, Oviedo, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 6 February 2014

Received in revised form 30 April 2014

Accepted 29 May 2014

Keywords:

Psoriasis

Genetics

Type 2 diabetes

Psoriatic arthritis

ABSTRACT

Background: Common DNA variants in *IL12B*, *IL23R* and *IL23A* have been associated with an increased susceptibility to psoriasis (Ps) and psoriatic arthritis (PsA). Metabolic comorbidities and cardiovascular risk factors have also been associated to both Ps and PsA.

Objective: To analyze the effect of single nucleotide polymorphisms (SNPs) previously linked to Ps (*IL12B* rs6887695 and rs3212227, *IL23R* rs2201841 and rs11209026, and *IL23A* rs2066808) in the main phenotype and metabolic/cardiovascular characteristics among Ps patients from a Northern Spanish population.

Methods: The aforementioned genetic variants were determined in a total of 405 chronic plaque Ps patients and 426 controls. Subsequent statistical analysis included stratification for psoriatic clinical characteristics (age of onset, disease severity, familial psoriasis, HLA-Cw6, nail psoriasis) plus diabetes mellitus type 2, arterial hypertension, dyslipidemia and ischemic cardiac events as comorbidities.

Results: An association between *IL23R* rs11209026-GG genotype with a more severe disease ($p=0.02$, OR=2.11, 95% CI= 1.13–3.95). Carriers of the *IL23A* rs2066808-A allele were significantly more frequent among PsA patients ($p=0.016$, OR= 3.04, 95% CI= 1.19–7.78). We found significant associations between three SNP genotypes and type 2 diabetes: *IL12B* rs6887695-CC ($p=0.03$, OR=2.90, 95% CI= 1.09–7.69), *IL12B* rs3212227-CC ($p=0.035$, OR= 5.90, 95% CI= 1.35–25.73) and *IL23R* rs2201841-GG ($p=0.027$, OR=2.69, 95% CI= 1.09–6.66).

Conclusion: In our population, genetic variation at *IL12B*, *IL23R* and *IL23A* has an influence not only on the risk for Ps but also on disease severity and type 2 diabetes mellitus.

© 2014 Japanese Society for Investigative Dermatology. Published by Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Genome-wide association studies (GWAs) has led to important advances in the discovery of gene variants implicated in the risk of developing Psoriasis (Ps, MIM 177,900) and psoriatic arthritis (PsA,

MIM 607,507). Among others, single-nucleotide polymorphisms (SNPs) in *IL-23R*, *IL-12B* and *IL23A* have been linked to Ps and PsA susceptibility [1–8]. *IL12B*, which encodes the p40 subunit of *IL12* and *IL23*, was among the first genes outside the HLA linked to Ps in European, North American and Asian [2,4,7,8] populations. The strongest association, which seems to be of a moderate magnitude, has been attributed to SNPs in *IL12B* rs6887695 and rs3212227 [6]. *IL23R*, coding for the *IL23* receptor, has been linked to Ps in rs11209026 and rs2201841, while rs11209026 was also associated with PsA among Caucasians [1,3–5]. This effect on PsA-risk has been more difficult to uncover among Asian and African populations likely due to the genetic heterogeneity of the studied cohorts [5,8]. *IL23A* (which encodes the p19 subunit of *IL23*) has also been associated to Ps susceptibility in German and Chinese cohorts [9,10].

Ps is considered an immune-mediated inflammatory disease with ties to other chronic diseases with an inflammatory component, such as the metabolic syndrome and cardiovascular disease [11,12].

Abbreviations: BMI, body mass index; CVRF, cardiovascular risk factors; DL, dyslipidemia; DM, diabetes mellitus; HT, arterial hypertension; IC, ischemic cardiomyopathy; OR, odds ratio; Ps, psoriasis; PsA, psoriatic arthritis; SNP, single-nucleotide polymorphism; CI, confidence interval.

* Corresponding authors at: Dermatology Department, Hospital Universitario Central de Asturias, C/ Celestino Villamil s/n, 33006, Oviedo, Spain. Tel.: +34 985 10 80 00.

E-mail addresses: noemieiris@gmail.com (N. Eirís), pablocotosegura@gmail.com (P. Coto-Segura).

¹ Present address: Dermatology Department, Hospital de León (C/Altos de Nava s/n, 24071, León, Spain. Tel.: +34 987 23 74 00).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jdermsci.2014.05.010>

0923-1811/© 2014 Japanese Society for Investigative Dermatology. Published by Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

An increased association of Ps and both cardiovascular risk factors (CVRF) and metabolic comorbidities has been observed in epidemiological studies, mainly in Caucasian patients [13–15]. A recent meta-analysis with over 40,000 Ps patients including studies from Europe, North America and Asia concluded that Ps patients have a higher prevalence of metabolic syndrome than the general population and, furthermore, that this risk is increased proportionally to the severity of the disease in a dose-dependent way [16]. Some authors have proposed a scenario where a persisting systemic inflammation might lead to secondary insulin resistance and endothelial cell dysfunction, also increasing the extent of pre-existing metabolic and cardiovascular comorbidities [17,18]. In addition to Ps, variants in genes that affect the inflammatory pathways have been also found to increase the risk for developing CVRF [19]. Among others, *TYK2*, *CDKAL1* and *FTO* could enhance the risk for type 1 and 2 diabetes and obesity in Ps patients [20,21].

To the best of our knowledge, no studies have explored the association between *IL-23R*, *IL-12B* and *IL23A* SNPs and the Ps phenotype or CVRF/metabolic comorbidities among psoriatics thus far. We present a genetic association study of these genes and these characteristics/comorbidities in a Northern Spanish population of 405 chronic plaque Ps patients and 426 controls.

2. Material and methods

Patients were unrelated Caucasians from the region of Asturias (Northern Spain, total population 1 million) recruited through the dermatology department of the Hospital Universitario Central de Asturias. Written informed consent was obtained from each participant, under the protocol approved by our Ethical Committee. Controls were healthy subjects from the same population, matched to patients for age and gender. They were recruited through our blood bank, selecting healthy individuals without any comorbidity included in a genetic library used for renal and cardiovascular studies.

Information about age of onset, disease severity, PsA, nail Ps, *PSORS1* risk allele (HLA-Cw6 carrier status), cardiovascular risk factors (CVRF) and previous episodes of ischemic heart disease was obtained from all the patients. Early onset Ps (age of onset <40 years), severity (Psoriasis Area and Severity Index (PASI) equal or higher than 10 at any point of disease), familial history of Ps (at least one first-degree relative also affected) were assessed through clinical interview and medical records. Arterial hypertension (HT), dyslipidemia (DL), DM type 2 or ischemic cardiomyopathy (IC) were evaluated using three approaches: a previous clinical history or diagnosis, use of specific medications (antihypertensive, lipid-lowering or antidiabetic drugs) or analytical findings in fasting plasma at the time of inclusion (cholesterol >250 mg/dL and/or triglycerides >200 mg/dL for DL and glucose >126 mg/dL for type 2 DM). Arthritis was assessed by a rheumatologist according to CASPAR criteria [22].

Genotyping was performed as reported through Real-Time Taqman PCR with the following SNP assays (Applied Biosystems, Foster City, California, USA): *rs6887695*; *C_1994992_10*; *rs3212227*; *C_2084293_10*; *rs2201841*; *C_1272302_10*; *rs11209026*; *C_1272298_10*; *rs2066808*; *C_12055277_10* [23]. Differences in allele and genotype frequencies between patients and controls were assessed by chi-squared or Fisher exact tests. Initial analysis studied genotype frequencies between controls and Ps patients. As the genetic background might differ between PsA patients and non-arthritic patients, it was decided to perform a secondary analysis with those subgroups. Because the three genes could also contribute to the risk for PsA and/or metabolic and cardiovascular traits, we performed additional and new studies to assess the effect of the 5 SNPs on arthritis, disease severity, onset age, familial Ps, HLA-Cw6, nail Ps and metabolic/cardiovascular disease.

Comparisons with $p < 0.05$ were considered statistically significant and odds ratios (OR) and their 95% confidence intervals (95% CI) were also calculated. When appropriate, multivariate logistic regression with Bonferroni correction was used to determine association after adjustment for confusion factors. Data management and statistical analysis were performed using SPSS® 15.0 software (SPSS, Chicago, Illinois, USA).

3. Results

The main characteristics of patients are summarized in Table 1. Absolute values and frequencies for genotype and alleles of the five SNPs in controls, Ps patients and PsA subgroups are shown in Table 2. Genotype frequencies did not deviate from the expected under the Hardy–Weinberg equilibrium in both, patients and controls ($p < 0.05$).

We found a significant association between the *IL12B rs6887695* and Ps ($p < 0.01$, OR=1.50, 95% CI=1.14–1.97) (Table 2). The *rs6887695-GG* risk genotype was significantly more common in the PsA positive and negative groups compared to controls. No significant association between the *IL12B* genotypes/alleles and the Ps phenotypic features was observed, although there was a trend towards a more severe disease in *IL12B rs6887695-GG* patients (Table 3).

Regarding *IL23R, rs11209026 (G > A)* was not associated with Ps in our population but we found a higher frequency of the *rs2201841 AA (A > G)* among the patients ($P=0.03$, OR= 1.36, 95% CI=1.03–1.79). However, the two *IL23R* SNPs showed significantly different frequencies between patients with/without PsA (Table 2).

IL23R rs11209026-GG was also associated to disease severity, and was also more common among Cw6+ patients (Table 4). In the *IL23A* region the intergenic SNP *rs2066808 (A > G)* was not associated with the risk for Ps in our population, but we found a higher frequency of AA homozygotes among PsA+ patients (Table 2). This genotype was also more common among patients with nail Ps (Table 4).

In reference to the CVRF we found various significant associations between DM type 2 and the minor genotypic variants of *IL12B rs6887695-CC*, *IL12B rs3212227-CC* and *IL23R rs2201841-GG* (Tables 5 and 6) that remained significant after adjusting by age. Logistic regression analysis revealed that body mass index (BMI) acted as a confusion factor for the effect of *IL12B rs6887695* on DM, whereas the *IL23R rs2201841* association was not influenced by age, HT, DL nor IC (data not shown).

Table 1
Main characteristics of Ps patients.

Gender (male/female)	221 (0.55)/184 (0.45)
Age	46.39 ± 15.08
BMI	27.59 ± 4.69
Ps patients clinical subtypes	
Familial Ps (yes/no)	211 (0.52)/194 (0.48)
HLA-Cw6+ (yes/no)	162 (0.40)/243 (0.60)
Early/late onset of Ps	287 (0.71)/118 (0.29)
PASI	11.2 ± 12.34
Disease severity (PASI <10/≥10)	238 (0.59)/167 (0.41)
Ps Arthritis (yes/no)	91 (0.22)/314 (0.78)
Nail Ps (yes/no)	247 (0.61)/158 (0.39)
Comorbidities	
Hypertension (yes/no)	83 (0.20)/322 (0.80)
Dyslipidemia (yes/no)	64 (0.16)/341 (0.84)
DM (yes/no DM)	40 (0.11)/356 (0.89)
Ischemic cardiomyopathy (yes/no)	24 (0.06)/381 (0.94)

Quantitative features expressed as mean value ± SD, qualitative values (yes/no) as absolute frequencies and relative frequencies (between brackets). BMI: body mass index, Ps: psoriasis, PASI: psoriasis area severity index, DM: type 2 diabetes mellitus.

Table 2
SNP genotype and allele frequencies in controls and Ps patients.

SNP	Genotype	Controls (n: 426)		Ps patients (n: 405)		PsA+ patients (n: 91)		PsA- patients (n: 314)	
<i>IL12B</i> rs6887695	GG	167 (0.39)	G 0.61	199 (0.49)	G 0.71	48 (0.52)	G 0.75	151 (0.48)	G 0.70
	GC	187 (0.44)	C 0.39	179 (0.44)	C 0.28	41 (0.45)	C 0.25	138 (0.44)	C 0.30
	CC	72 (0.17)		27 (0.07)		2 (0.023)		25 (0.08)	
	Analysis GG vs (GC+CC)			$p < 0.01$ OR = 1.50 [1.14–1.97]		$p 0.02$ OR = 1.73 [1.10–2.73]		$p 0.02$ OR = 1.44 [1.07–1.93]	
<i>IL12B</i> rs3212227	AA	294(0.69)	A 0.83	283 (0.70)	A 0.84	64 (0.70)	A 0.83	219 (0.70)	A 0.84
	AC	115(0.27)	C 0.17	112 (0.27)	C 0.16	23 (0.25)	C 0.17	89 (0.28)	C 0.16
	CC	17(0.04)		10 (0.03)		4 (0.05)		6 (0.02)	
	Analysis AA vs (AC + CC)			$p 0.80$ OR = 1.04 [0.78– 1.40]		$p 0.81$ OR = 1.06 [0.65–1.74]		$p 0.82$ OR = 1.04 [0.75–1.42]	
<i>IL23R</i> rs11209026	AA	4 (0.01)	A 0.08	0	A 0.07	0	A 0.03	0	A 0.08
	AG	60 (0.14)	G 0.92	56 (0.14)	G 0.93	6 (0.06)	G 0.97	50 (0.16)	G 0.92
	GG	362 (0.85)		349 (0.86)		85 (0.94)		264 (0.84)	
	Analysis GG vs (AA+AG)			$p 0.62$ OR = 1.10 [0.75–1.62]		$p 0.03$ OR = 2.51 [1.05–5.98]		$p 0.74$ OR = 0.93 [0.62–1.40]	
<i>IL23R</i> rs2201841	AA	175 (0.41)	A 0.65	197 (0.49)	A 0.70	50 (0.55)	A 0.74	147 (0.47)	A 0.69
	AG	200 (0.47)	G 0.35	174(0.43)	G 0.30	34 (0.37)	G 0.26	140 (0.45)	G 0.31
	GG	51 (0.12)		34 (0.08)		7 (0.08)		27 (0.08)	
	Analysis AA vs (AG + GG)			$p 0.03$ OR = 1.36 [1.03–1.79]		$p 0.02$ OR = 1.75 [1.11–2.76]		$p 0.12$ OR = 1.26 [0.94–1.67]	
<i>IL23A</i> rs2066808	AA	362 (0.85)	A 0.92	350 (0.86)	A 0.93	86 (0.95)	A 0.97	264 (0.84)	A 0.92
	AG	63(0.147)	G 0.08	55 (0.14)	G 0.07	5 (0.05)	G 0.03	50 (0.16)	G 0.08
	GG	1 (0.003)		0		0		0	
	Analysis AA vs (AG + GG)			$p 0.55$ OR = 1.13 [0.76–1.66]		$p 0.02$ OR = 3.04 [1.19–7.78]		$p 0.74$ OR = 0.93 [0.62–1.40]	

Relative genotype frequencies are expressed between brackets.

Analysis results between control group and patient group selected are expressed as p value from the chi-squared or Fisher exact test, OR = odds ratio 95% CI.

4. Discussion

Common variant SNPs of *IL-23R*, *IL-12B* and *IL23A* have been associated to increased Ps susceptibility in several populations. Previously, we had been able to replicate the *IL12B* rs6887695-GG

genotype association to Ps described by several authors [7,9,23]. Data from the minor allele frequency variants of *IL12B* rs6887695 (C) and rs3212227 (C) was in agreement with other studies [2,9,24], including a recent meta-analysis of *IL12B* polymorphisms in Ps and PsA that estimated an OR < 2 for the common

Table 3
IL12B genotypes and allele frequencies in Ps patients according to main characteristics.

	<i>IL12B</i> rs6887695 GG vs (GC + CC)					<i>IL12B</i> rs3212227 AA vs (AC + CC)				
	GG	GC	CC	G	C	AA	AC	CC	A	C
Familial Ps (0.52)	0.49	0.45	0.06	0.72	0.28	0.70	0.28	0.02	0.84	0.16
Non-familial	0.49	0.43	0.08	0.70	0.30	0.69	0.27	0.04	0.83	0.17
	$p 0.93$ OR = 0.98 [0.66–1.46]					$p 0.88$ OR = 1.04 [0.67–1.60]				
Cw6+ (0.41)	0.47	0.44	0.09	0.69	0.31	0.72	0.25	0.03	0.85	0.15
Cw6-	0.50	0.45	0.05	0.73	0.27	0.68	0.29	0.03	0.83	0.17
	$p 0.49$ OR = 0.87 [0.58–1.30]					$p 0.42$ OR = 1.20 [0.77–1.87]				
Early-onset (0.71)	0.49	0.44	0.07	0.71	0.29	0.69	0.29	0.02	0.84	0.16
Late-onset	0.48	0.45	0.07	0.70	0.30	0.71	0.25	0.04	0.84	0.16
	$p 0.86$ OR = 0.96 [0.63–1.48]					$p 0.70$ OR = 1.10 [0.68–1.77]				
PASI ≥ 10 (0.41)	0.54	0.39	0.07	0.74	0.26	0.73	0.25	0.02	0.86	0.14
PASI < 10	0.45	0.48	0.07	0.69	0.31	0.68	0.29	0.03	0.83	0.17
	$p 0.06$ OR = 1.46 [0.98–2.18]					$p 0.22$ OR = 1.32 [0.85–2.06]				
PsA+ (0.22)	0.53	0.45	0.02	0.76	0.24	0.70	0.25	0.05	0.83	0.17
PsA-	0.48	0.44	0.08	0.7	0.3	0.70	0.28	0.02	0.84	0.16
	$p 0.49$ OR = 1.19 [0.74–1.91]					$p 0.94$ OR = 1.02 [0.60–1.73]				
Nail Ps (0.61)	0.52	0.43	0.05	0.74	0.26	0.72	0.26	0.02	0.85	0.15
No nail Ps	0.44	0.46	0.10	0.67	0.33	0.67	0.30	0.03	0.82	0.18
	$p 0.10$ OR = 1.40 [0.93–2.09]					$p 0.34$ OR = 1.24 [0.80–1.93]				

Relative frequencies for every genotype and allele are expressed on the appropriate columns. Analysis results in relation to presence versus absence of Ps features are expressed as p value from the chi-squared test or Fisher exact test, OR = odds ratio 95% CI.

Genotype data is presented as analysis between homozygous risk-associated genotype versus heterozygous and non-risk associated genotypes when possible, and as heterozygous patients versus non-risk homozygous patients when not (absence of risk-associated homozygous individuals).

Table 4
IL23R and IL23A genotype and allele frequencies in the patients according to main clinical characteristics.

	IL23R rs11209026 GG vs AG+AA					IL23Rrs2201841 AA vs AG+GG					IL23A rs2066808 AA vs AG+GG				
	GG	AG	AA	G	A	AA	AG	GG	A	G	AA	AG	GG	A	G
Familial Ps (0.52)	0.89	0.11	0	0.95	0.05	0.51	0.41	0.08	0.72	0.28	0.89	0.11	0	0.95	0.05
Non-familial	0.84	0.16	0	0.92	0.08	0.47	0.44	0.09	0.69	0.31	0.84	0.16	0	0.92	0.08
	p 0.15 OR= 1.52 [0.86–2.69]					p 0.41 OR= 1.18 [0.80–1.74]					p 0.20 OR= 1.45 [0.82–2.58]				
Cw6+ (0.41)	0.90	0.10	0	0.95	0.05	0.47	0.43	0.10	0.69	0.31	0.86	0.14	0	0.92	0.08
Cw6–	0.83	0.17	0	0.92	0.08	0.50	0.43	0.07	0.72	0.28	0.87	0.13	0	0.92	0.08
	p 0.046 OR= 1.86 [1.01–3.45]					p 0.61 OR= 0.90 [0.61–1.34]					p 0.71 OR= 0.90 [0.50–1.60]				
Early-onset (0.71)	0.88	0.12	0	0.94	0.06	0.48	0.43	0.09	0.70	0.30	0.86	0.14	0	0.93	0.07
Late-onset	0.83	0.17	0	0.92	0.08	0.51	0.42	0.07	0.72	0.28	0.87	0.13	0	0.92	0.08
	p 0.24 OR= 0.70 [0.39–1.27]					p 0.59 OR= 1.13 [0.73–1.73]					p 0.89 OR= 1.05 [0.55–1.99]				
PASI ≥ 10 (0.41)	0.91	0.09	0	0.96	0.04	0.48	0.43	0.09	0.70	0.30	0.87	0.13	0	0.92	0.08
PASI < 10	0.83	0.17	0	0.92	0.08	0.50	0.43	0.07	0.72	0.28	0.86	0.14	0	0.93	0.07
	p 0.02 OR= 2.11 [1.13–3.95]					p 0.70 OR= 0.93 [0.62–1.37]					p 0.90 OR= 1.04 [0.58–1.96]				
PsA+ (0.22)	0.94	0.06	0	0.97	0.03	0.55	0.37	0.08	0.74	0.26	0.95	0.05	0	0.98	0.02
PsA–	0.84	0.16	0	0.92	0.08	0.47	0.44	0.09	0.69	0.31	0.84	0.16	0	0.92	0.08
	p 0.02 OR= 2.77 [1.15–6.68]					p 0.15 OR= 1.41 [0.89–2.26]					p 0.02 OR= 3.04 [1.19–7.79]				
Nail Ps (0.61)	0.86	0.14	0	0.93	0.07	0.48	0.43	0.09	0.70	0.30	0.90	0.10	0	0.95	0.05
No nail Ps	0.87	0.13	0	0.92	0.08	0.49	0.43	0.08	0.71	0.29	0.82	0.18	0	0.91	0.09
	p 0.83 OR= 0.94 [0.53–1.68]					p 0.85 OR= 0.96 [0.64–1.44]					p 0.03 OR= 1.87 [1.05–3.34]				

Relative frequencies for every genotype and allele are expressed on the appropriate columns. Analysis results in relation to presence versus absence of Ps features are expressed as p value from the chi-squared test or Fisher exact test, OR=odds ratio 95% CI.

Genotype data is presented as analysis between homozygous risk-associated genotype versus heterozygous and non-risk associated genotypes when possible, and as heterozygous patients versus non-risk homozygous patients when not (absence of risk-associated homozygous individuals).

alleles and a pooled OR between 0.6–0.7 for the minor alleles [5].

While our study did not include a PsA group without Ps to assess the partially different genetic background of PsA, the overall *IL12B* rs6887695-GG association to Ps was of a similar magnitude in the PsA+ and PsA– suggesting that this SNP plays a similar role in both groups. As far as we know, clinical Ps characteristics were not taken into account in previous studies with the exception of the report by Smith et al., who found *IL12B* rs6887695-GG and

rs3212227-AA associations to Ps in a cohort of early-onset Ps patients [25].

We sought to analyze whether these genotypes might be associated to early-onset Ps, familial Ps or *PSORS1* risk allele in our population, and found only a trend toward a more severe course of disease among the rs6887695-GG patients. This might suggest that *IL12B* Ps-risk SNPs effect is not related to type 1 Ps (early-onset disease, familial Ps, HLA-Cw6 risk allele carriers), but could have an impact on the severity of Ps manifestations in spite of the type.

Table 5

CVRF in the patients and genotype/allele frequencies for the *IL12B* SNPs. HT: hypertension, DL: dyslipidemia, DM: diabetes mellitus, IC: ischemic cardiomyopathy.

	IL12B rs6887695					IL12B rs3212227				
	GG	GC	CC	G	C	AA	AC	CC	A	C
HT (0.20)	0.54	0.41	0.05	0.75	0.25	0.67	0.29	0.04	0.82	0.18
No HT	0.48	0.45	0.07	0.71	0.29	0.71	0.27	0.02	0.84	0.16
	GG vs (GC+nCC) p 0.34 OR= 1.27 [0.78–2.06]					AA vs (AC+CC) p 0.48 OR= 0.83 [0.49–1.40]				
	CC vs (GC+GG) p 0.48 OR= 0.66 [0.22–1.96]					CC vs (AC+AA) p 0.46 OR= 1.67 [0.42–6.61]				
DL (0.16)	0.47	0.45	0.08	0.70	0.30	0.71	0.24	0.05	0.83	0.17
No DL	0.50	0.44	0.06	0.72	0.28	0.70	0.28	0.02	0.84	0.16
	GG vs (GC+CC) p 0.68 OR= 0.89 [0.51–1.54]					AA vs (AC+CC) p 0.80 OR= 1.08 [0.59–1.99]				
	CC vs (GC+GG) p 0.78 OR= 1.31 [0.48–3.61]					CC vs (AC+AA) p 0.18 OR= 2.49 [0.63–9.91]				
DM 2 (0.11)	0.39	0.46	0.15	0.62	0.38	0.71	0.27	0.02	0.84	0.16
No DM	0.51	0.43	0.06	0.73	0.27	0.63	0.29	0.08	0.78	0.22
	GG vs (GC+CC) p 0.15 OR= 0.61 [0.31–1.20]					AA vs (AC+CC) p 0.29 OR= 0.69 [0.34–1.39]				
	CC vs (GC+GG) p 0.03 OR= 2.90 [1.09–7.70]					CC vs (AC+AA) p 0.04 OR= 5.90 [1.35–2.57]				
IC (0.06)	0.46	0.46	0.08	0.69	0.31	0.79	0.21	0	0.90	0.10
No IC	0.49	0.44	0.07	0.71	0.29	0.69	0.28	0.03	0.83	0.17
	GG vs (GC+CC) p 0.75 OR= 0.87 [0.38–2.00]					AA vs (AC+CC) p 0.37 OR= 1.68 [0.61–4.62]				
	CC vs (GC+GG) p 0.99 OR= 1.28 [0.28–5.74]					CC vs (AC+AA) p 1				

Relative frequencies for every genotype and allele are expressed on the appropriate columns. Analysis results in relation to presence versus absence of comorbidities are expressed as p value from the chi-squared test or Fisher exact test, OR=odds ratio 95% CI.

Genotype data is presented as analysis between homozygous Ps-risk genotype versus heterozygous and non-risk associated genotypes, and as non Ps-risk homozygous patients versus heterozygous and homozygous Ps-risk genotype patients.

Table 6

CVRF in the patients and *IL23R* and *IL23A* genotype/allele frequencies between the groups. HT: hypertension, DL: dyslipidemia, DM: diabetes mellitus, IC: ischemic cardiomyopathy.

	<i>IL23R</i> rs11209026					<i>IL23R</i> rs2201841					<i>IL23A</i> rs2066808				
	GG	AG	AA	G	A	AA	AG	GG	A	G	AA	AG	GG	A	G
HT (0.20)	0.88	0.12	0	0.94	0.06	0.54	0.36	0.10	0.72	0.28	0.82	0.18	0	0.91	0.09
No HT	0.86	0.14	0	0.93	0.07	0.48	0.44	0.08	0.7	0.3	0.88	0.12	0	0.94	0.06
	GG vs AG p 0.53 OR= 1.22 [0.59–2.53]					AA vs (AG+GG) p 0.320 OR=1.28 [0.79–2.08]					AA vs AG p 0.148 OR=0.62 [0.32–1.19]				
	AG vs GG p 0.60 OR=0.82 [0.40–1.71]					GG vs (AG+AA) p 0.624 OR=1.23 [0.54–2.83]					AG vs AA p 0.148 OR=1.61 [0.84–3.10]				
DL (0.16)	0.89	0.11	0	0.95	0.25	0.39	0.50	0.11	0.64	0.36	0.87	0.13	0	0.92	0.08
No DL	0.86	0.14	0	0.93	0.07	0.50	0.42	0.08	0.71	0.29	0.86	0.14	0	0.93	0.07
	GG vs AG p 0.49 OR= 1.34 [0.58–3.12]					AA vs (AG+GG) p 0.09 OR=0.62 [0.36–1.08]					AA vs AG p 0.89 OR=1.06 [0.47–2.37]				
	AG vs GG p 0.49 OR=0.75 [0.32–1.73]					GG vs (AG+AA) p 0.38 OR=1.48 [0.61–3.57]					AG vs AA p 0.89 OR=0.94 [0.42–2.11]				
DM2 (0.11)	0.90	0.10	0	0.95	0.05	0.46	0.36	0.18	0.64	0.36	0.95	0.05	0	0.98	0.12
No DM	0.86	0.14	0	0.93	0.07	0.49	0.44	0.07	0.71	0.29	0.86	0.14	0	0.93	0.07
	GG vs AG p 0.63 OR= 1.44 [0.49–4.24]					AA vs (AG+GG) p 0.76 OR=0.90 [0.47–1.75]					AA vs AG p 0.14 OR=3.08 [0.72–132]				
	AG vs GG p 0.63 OR=0.70 [0.24–2.03]					GG vs (AG+AA) p 0.03 OR=2.69 [1.09–6.66]					AG vs AA p 0.14 OR=0.32 [0.08–1.39]				
IC (0.06)	0.96	0.04	0	0.98	0.02	0.44	0.44	0.12	0.66	0.34	0.88	0.12	0	0.94	0.06
No IC	0.86	0.14	0	0.93	0.07	0.49	0.43	0.08	0.71	0.29	0.87	0.13	0	0.92	0.08
	GG vs AG p 0.23 OR=4.06 [0.54–3.06]					AA vs (AG+GG) p 0.62 OR=0.82 [0.36–1.84]					AA vs AG p 1 OR=1.15 [0.33–3.97]				
	AG vs GG p 0.23 OR=0.25 [0.03–1.86]					GG vs (AG+AA) p 0.71 OR=1.53 [0.43–5.40]					AG vs AA p 1 OR=0.87 [0.25–3.02]				

Relative frequencies for every genotype and allele are expressed on the appropriate columns. Analysis results in relation to presence versus absence of comorbidities are expressed as p value from the chi-squared test or Fisher exact test, OR=odds ratio 95% CI.

Genotype data is presented as analysis between homozygous Ps- risk genotype versus heterozygous and non-risk associated genotypes, and as non Ps-risk homozygous patients versus heterozygous and homozygous Ps-risk genotype patients.

IL23R rs2201841 (an intergenic SNP proposed to influence the regulation of the differential splicing of *IL23R*) presents a marked genetic variability between ethnic groups, with an inverse allelic distribution ($G > A$) in Asian populations [5]. Available evidence revealed that rs2201841-G has been associated to Ps in only a few studies on Caucasian populations with a very modest effect ($OR < 1.35$) [6,9], similar to what was observed in our population.

The *IL23R* rs11209026 common allele (G) appears to be a moderate ($OR < 2$) Ps risk factor [1,25], and *IL23R* rs11209026-GG has been reported to be associated with an increased risk of PsA ($OR=1.40$, 95% CI=1.01–1.96) [26]. The minor allele (A) has also been identified in a recent meta-analysis [6] as protective for Ps ($p < 0.0001$, pooled $OR=0.62$, 0.56–0.67) and PsA ($p < 0.0001$, pooled $OR=0.63$, 0.52–0.76). No significant association to Ps risk was found for *IL23R* rs11209026-G carriers in our sample, whereas analysis of the PsA+ subgroup revealed an increased susceptibility to Ps compared to the control group of a magnitude similar to the mentioned above. Concerning the associations to Ps phenotype, no previous references were found about an association between rs11209026-G allele and Ps severity such as the one observed in our study. *IL23R* rs11209026-A causes an Arg-to-Gln substitution (Q381R) within the JAK-2 binding domain of *IL23R* [3] and is a rare variant among Caucasians (minor allele frequency < 0.1) but almost absent in Asian and African populations [8]. Functional evidence about the effect of this SNP could be of interest given the actual focus on JAK inhibitors as psoriatic therapeutic agents [27].

IL23A rs2066808 is an intronic SNP which may affect STAT2 function through regulation of its transcription [28]. The common allele (A) has been reported to increase Ps risk ($OR < 1.5$) in Caucasian and Asian populations [9,10]. Contrary to others [9,29], no significant association between *IL23A* rs2066808-A and Ps was detected in our population, but we found a significant effect on the risk of developing PsA+. In addition, there was an association with

nail disease. These associations may be of interest because unlike *IL12B* and/or *IL23R* SNPs, *IL23A* rs2066808 effect has only been observed in PsA but not in other rheumatic diseases. As its effect could belong to an exclusive Ps/PsA pathogenic pathway, drugs that target *IL23A* might hypothetically have an advantage in treating PsA symptoms against other agents.

Prevalence of comorbidities in Ps varies between ethnic groups and/or countries. In Caucasians a cross-sectional epidemiological study from a single-centre in Germany involving 133 patients described an average of 39% HT, 20% DL and 11% DM [14], and a UK study including 4000 Ps patients and 40,000 controls found that HT reached a prevalence of 31.1% and DM type 2 in 11.2% of the patients [30]. These percentages, along with the characteristics of the populations described, are similar to those observed in our sample (Table 1). However, when information is obtained through national registers of electronic health records [15] or wide surveys [13], a smaller prevalence of comorbidities can be sometimes observed. This might be due to a bias where specialized clinics tend to receive more severe Ps patients (who are at the most risk of developing comorbidities [16]). Although an increased prevalence of type 2 DM in both Ps and PsA patients has been established in a recent clinical meta-analysis [31], the genetic basis of this association has not yet been located. As in our sample the associations involved *IL12B*, *IL23R* and *IL23A* non-Ps associated variants, and while our results may have been limited by the size of the sample and confusion factors such as BMI, we believe that type 2 DM and Ps might share a different common genetic background not involving the *IL12/23* gene pathway.

Limited by being conducted in a single population, our results would require further replication by others. Our sample size also needs to be addressed, as it was not able to reach enough statistical power in some of the SNPs or characteristics evaluated. Regarding CVRF, lifestyle factors (exercise, sedentary lifestyle, diet . . .) were

not collected and therefore we cannot exclude that those may act as confusion factors.

Finally, our study is the first that evaluates the impact of genetic variation at *IL12*, *IL23R* and *IL23A* in the clinical phenotype of the disease, and even if some results did not reach statistical significance it may be interesting to consider the observed trends. As new therapeutic targets for Ps arise and clinical selection of the patients begins to play a role in selecting the most efficient course of treatment, we believe that the identification of candidate gene variants will lead to better management of resources and further understanding of Ps complex pathophysiology.

In conclusion, we have identified two non-previously described clinical associations between *IL23R* rs11209026 and Ps severity and *IL23A* rs2066808 and PsA. We also found several associations between the *IL12B* rs6887695, *IL12B* rs3212227 and *IL23R* rs2201841 non Ps-risk variants and type 2 DM. Thus, in our population the variation at *IL12B*, *IL23R* and *IL23A* would contribute not only to Ps susceptibility but also to define the clinical phenotype and risk of developing type 2 DM.

Acknowledgement

Part of this study was supported by a research grant from Janssen-Cilag.

References

- [1] Hüffmeier U, Lascorz J, Böhm B, Lohmann J, Wendler J, Mössner R, et al. Genetic variants of the IL-23R pathway: association with psoriatic arthritis and psoriasis vulgaris, but no specific risk factor for arthritis. *J Invest Dermatol* 2009;129:355–8.
- [2] Cargill M, Schrodi SJ, Chang M, Garcia VE, Brandon R, Callis KP, et al. A large-scale genetic association study confirms IL12B and leads to the identification of IL23R as psoriasis-risk genes. *Am J Hum Genet* 2007;80:273–90.
- [3] Capon F, Di Meglio P, Szaub J, Prescott NJ, Dunster C, Baumber L, et al. Sequence variants in the genes for the interleukin-23 receptor (IL23R) and its ligand (IL12B) confer protection against psoriasis. *Hum Genet* 2007;122:201–6.
- [4] Nair R, Ruether A, Stuart P, Jenisch S. Polymorphisms of the IL12B and IL23R genes are associated with psoriasis. *J Invest Dermatol* 2008;128:1653–61.
- [5] Zhu K-J, Zhu C-Y, Shi G, Fan Y-M. Association of IL23R polymorphisms with psoriasis and psoriatic arthritis: a meta-analysis. *Inflamm Res* 2012;61:1149–54.
- [6] Zhu K-J, Zhu C-Y, Shi G, Fan Y-M. Meta-analysis of IL12B polymorphisms (rs3212227, rs6887695) with psoriasis and psoriatic arthritis. *Rheumatol Int* 2013;33:1785–90.
- [7] Tsunemi Y, Saeki H, Nakamura K, Sekiya T, Hirai K, Fujita H, et al. Interleukin-12 p40 gene (IL12B) 3'-untranslated region polymorphism is associated with susceptibility to atopic dermatitis and psoriasis vulgaris. *J Dermatol Sci* 2002;30:161–6.
- [8] Oka A, Mabuchi T, Ikeda S, Terui T, Haida Y, Ozawa A, et al. IL12B and IL23R gene SNPs in Japanese psoriasis. *Immunogenetics* 2013;65:823–8.
- [9] Nair RP, Duffin KC, Helms C, Ding J, Stuart PE, Goldgar D, et al. Genome-wide scan reveals association of psoriasis with IL-23 and NF-kappaB pathways. *Nat Genet* 2009;41:199–204.
- [10] Chen H, Poon A, Yeung C, Helms C, Pons J, Bowcock AM, et al. A genetic risk score combining ten psoriasis risk loci improves disease prediction. *PLoS one* 2011;6:e19454.
- [11] Boehncke S, Taçi D, Beschmann H, Ludwig RJ, Ackermann H, Badenhop K, et al. Psoriasis patients show signs of insulin resistance. *Br J Dermatol* 2007;157:1249–51.
- [12] Sommer DM, Jenisch S, Suchan M, Christophers E, Weichenthal M. Increased prevalence of the metabolic syndrome in patients with moderate to severe psoriasis. *Arch Dermatol Res* 2006;298:321–8.
- [13] Armstrong AW, Schupp C, Bebo B. Psoriasis comorbidities: results from the National Psoriasis Foundation surveys 2003 to 2011. *Dermatol* 2012;225:121–6.
- [14] Jacobi A, Kupke C, Behzad M, Hertl M. Comorbidities, metabolic risk profile and health-related quality of life in German patients with plaque-type psoriasis: a cross-sectional prospective study. *Int J Dermatol* 2013;52:1081–7.
- [15] Yeung H, Takeshita J, Mehta NN, Kimmel SE, Ogdie A, Margolis DJ, et al. Psoriasis severity and the prevalence of major medical comorbidity: a population-based study. *JAMA Dermatol* 2013;149:1173–9.
- [16] Armstrong AW, Harskamp CT, Armstrong EJ. Psoriasis and metabolic syndrome: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *J Am Acad Dermatol* 2013;68:654–62.
- [17] Boehncke WH, Boehncke S, Tobin AM, Kirby B. The 'psoriatic march': a concept of how severe psoriasis may drive cardiovascular comorbidity. *Exp Dermatol* 2011;20:303–7.
- [18] Su YS, Yu HS, Li WC, Ko YC, Chen GS, Wu CS, et al. Psoriasis as initiator or amplifier of the systemic inflammatory march: impact on development of severe vascular events and implications for treatment strategy. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2013;27:876–83.
- [19] Lees CW, Barrett JC, Parkes M, Satsangi J. New IBD genetics: common pathways with other diseases. *Gut* 2011;60:1739–53.
- [20] Coto-Segura P, González-Lara L, Eiris N, Santos-Juanes J, Queiro R, Coto E. Effect of the FTO rs9930506 polymorphism on obesity and the main clinical outcomes in patients with Psoriasis. *Br J Dermatol* 2014. doi:<http://dx.doi.org/10.1111/bjd.13000> [in press].
- [21] Lu Y, Chen H, Nikamo P, Qi Low H, Helms C, Seielstad M, et al. Association of cardiovascular and metabolic disease genes with psoriasis. *J Invest Dermatol* 2013;133:836–9.
- [22] Taylor W, Gladman D, Helliwell P, Marchesoni A, Mease P, Mielants H. Classification criteria for psoriatic arthritis: development of new criteria from a large international study. *Arthritis Rheum* 2006;54:2665–73.
- [23] Eiris N, Santos-Juanes J, Coto-Segura P, Gómez J, Alvarez V, Morales B, et al. Resequencing of the IL12B gene in psoriasis patients with the rs6887695/rs3212227 risk genotypes. *Cytokine* 2012;60:27–9.
- [24] Boca AN, Talamonti M, Galluzzo M, Botti E, Vesa SC, Chimentì S, et al. Genetic variations in IL6 and IL12B decreasing the risk for psoriasis. *Immunol Lett* 2013;156:127–31.
- [25] Smith RL, Warren RB, Eyre S, Ho P, Ke X, Young HS, et al. Polymorphisms in the IL-12beta and IL-23R genes are associated with psoriasis of early onset in a UK cohort. *J Invest Dermatol* 2008;128:1325–7.
- [26] Filer C, Ho P, Smith RL, Griffiths C, Young HS, Worthington J, et al. Investigation of association of the IL12B and IL23R genes with psoriatic arthritis. *Arthritis Rheum* 2008;58:3705–8.
- [27] Kwatra SG, Dabade TS, Gustafson CJ, Feldman R. JAK inhibitors in psoriasis: a promising new treatment modality. *Drugs Dermatol* 2012;11:913–8.
- [28] Costa VS, Santos S, Fukui RT, Mattana TCC, Mاتيoli SR, Silva MER. Protective effect of interleukin-23A (IL23A) haplotype variants on type 1A diabetes mellitus in a Brazilian population. *Cytokine* 2013;62:327–33.
- [29] Bowes J, Orozco G, Flynn E, Ho P, Brier R, Marzo-Ortega H, et al. Confirmation of TNIP1 and IL23A as susceptibility loci for psoriatic arthritis. *Ann Rheum Dis* 2011;70:1641–4.
- [30] Langan SM, Seminara NM, Shin DB, Troxel AB, Kimmel SE, Mehta NN, et al. Prevalence of metabolic syndrome in patients with psoriasis: a population-based study in the United Kingdom. *J Invest Dermatol* 2012;132:556–62.
- [31] Coto-Segura P, Eiris-Salvado N, González-Lara L, Queiro-Silva R, Martínez-Cambor P, Maldonado-Seral C, et al. Psoriasis, psoriatic arthritis and type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *Br J Dermatol* 2013;169:783–93.

DNA AND CELL BIOLOGY
 Volume 32, Number 10, 2013
 © Mary Ann Liebert, Inc.
 Pp. 601–604
 DOI: 10.1089/dna.2013.2109

SNP rs11652075 in the *CARD14* Gene as a Risk Factor for Psoriasis (PSORS2) in a Spanish Cohort

Leire González-Lara,¹ Pablo Coto-Segura,¹ Ana Penedo,² Noemí Eiris,¹ Marta Díaz,²
 Jorge Santos-Juanes,¹ Rubén Queiro,³ and Eliecer Coto²

A recent genomic survey identified the association between a common single nucleotide polymorphism (SNP) at the *CARD14* gene (SNP rs11652075; p.Arg820Trp) and psoriasis (Psor). Our aim was to replicate the association between this polymorphism and to determine whether other *CARD14* variants could explain the association. A total of 400 Psor patients (mean age 47 ± 15 ; 55% male) and 420 healthy controls (mean age 51 ± 16 ; 56% male) all Caucasian were genotyped for rs11652075. The rs11652075 CC genotype was significantly associated with Psor in our population ($p = 0.003$; odds ratios = 1.59; 95% confidence intervals = 1.16–2.19; statistical power > 80). The sequencing of the whole *CARD14* coding exons in a total of 15 patients did not identify other DNA variants that could explain this association. We did not find significant differences (allele/genotype frequencies) between the patients according to disease severity, presence of arthritis, onset of age, and family history of Psor. We confirmed the association between SNP rs11652075 at the *CARD14* gene and Psor. The absence of other coding variants among our patients supported a direct role for this missense polymorphism on Psor risk.

Introduction

THE PSORIASIS (Psor) susceptibility locus 2 (PSORS2) was initially mapped to the human chromosome region 17q25-qter in a large family of European ancestry (Tomfohrde *et al.*, 1994). Further genome-wide linkage scans confirmed this Psor susceptibility locus (Nair *et al.*, 1997; Hwu *et al.*, 2005). Recently, exome sequencing identified a mutation (p.Gly117Ser) in the caspase recruitment domain family, member 14 gene (*CARD14*) that segregated with the disease in a large PSORS2 family (Bertin *et al.*, 2001; Jordan *et al.*, 2012a). This and other *CARD14* mutations lead to enhanced nuclear factor-kappa B (NF- κ B) activation and upregulation of Psor-associated genes in keratinocytes; among others, genes that encoded cytokines and chemokines related to Psor such as IL8, CCL20, and IL36G (Jordan *et al.*, 2012a). In the context of an inflammatory stimulus, keratinocytes harboring the *CARD14* mutation could exhibit an increased NF- κ B-response, which would, in turn, upregulate an inflammatory response through the recruitment of inflammatory mediators. Notably, *CARD14* was found upregulated in a large-scale study of gene expression in Psor versus normal skin (Gudjonsson *et al.*, 2010). The involvement of *CARD14* on Psor risk was thus in agreement with genome-wide scans that revealed association of Psor with genes of the NF- κ B pathways (Nair *et al.*, 2009).

The sequencing of *CARD14* in a large cohort of patients and controls identified several rare nucleotide changes only in the patients (Jordan *et al.*, 2012b). Functional studies showed that some of the changes had an effect on NF- κ B activation and gene transcription in keratinocytes. In addition to rare mutations, a common missense single-nucleotide polymorphism (SNP rs11652075, c.2458C>T, p.Arg820Trp) was associated with Psor (Jordan *et al.*, 2012b). The association was only significant in some of the seven cohorts included in the study, but was confirmed by a large meta-analysis of three genome-wide association studies (Tsoi *et al.*, 2012). In addition, evidence for an interaction between rs11652075 and HLA-Cw*0602 (PSORS1) in Psor risk was found in some cohorts.

To better define the association between rs11652075 on Psor, we genotyped a cohort of Spanish Caucasians. In addition, we sequenced the *CARD14* coding sequence in a group of patients with the Psor-risk genotype.

Patients and Methods

Study subjects

A total of 400 Psor-patients (mean age 47 ± 15 ; 55% male) and 420 healthy controls (mean age 51 ± 16 ; 56% male) were recruited by dermatologists from Hospital Universitario Central Asturias (HUCA) between January 2007 and October

¹Departments of Dermatología II, ²Genética Molecular, and ³Reumatología, Hospital Universitario Central Asturias, Oviedo, Spain.

2012. All the patients and controls were Caucasians from the region of Asturias (Northern Spain, total population 1 million), and gave their written informed consent to participate in the study approved by the Ethics Committee of HUCA.

The main characteristics of most of these patients had been previously reported, and are summarized in Table 1 (Soto-Sánchez *et al.*, 2010; Eiris *et al.*, 2012). Ps was diagnosed based on clinical findings. The disease was defined as severe or nonsevere according to the psoriasis area and severity index (PASI): patients with a PASI score ≥ 10 were classified as severe, and those with a PASI < 10 as nonsevere. Patients were considered to have an early onset of Psor if the onset of the disease was at any age ≤ 40 years, and a late onset of Psor if the onset was > 40 years. Patients were considered to have familial Psor if they had at least one first- or second-degree affected relative. The existence of arthritis was assessed by a rheumatologist. All the patients and controls were genotyped for the Cw*0602 (PSORS1) and LCE3C_LCE3B-del (PSORS4) as reported (Tazi Ahnini *et al.*, 1999; Coto *et al.*, 2010).

All the data are available in an individual anonymized form upon request to the corresponding author.

CARD14 SNP genotyping

SNP rs11652075 was genotyped through a real-time TaqMan assay (assay id. C_7964277_10; Applied Biosystems, www.appliedbiosystems.com). SNPs rs3813063 (intron 14) and rs11653893 (intron 17) were genotyped through polymerase chain reaction (PCR) amplification followed by restriction fragment length polymorphism (RFLP) (Supplementary Table S1; Supplementary Data are available online at www.liebertpub.com/dna). To confirm the accuracy of these methods, we confirmed the genotypes in several individuals through sequencing of PCR fragments.

TABLE 1. CARD14 rs11652075 (C.2458C>T, P.ARC820TRP) GENOTYPE FREQUENCIES (%) IN PSOR PATIENTS AND HEALTHY CONTROLS

	CARD14		
	TT	CT	CC
Controls (<i>n</i> = 420)	107 (25)	224 (53)	89 (21)
Patients (<i>n</i> = 400)	70 (17)	210 (53)	120 (30)
PASI < 10 (<i>n</i> = 241)	44 (63)	123 (59)	74 (62)
PASI ≥ 10 (<i>n</i> = 159)	26 (37)	87 (41)	46 (38)
Arthritis (<i>n</i> = 96)	18 (26)	44 (21)	34 (28)
No arthritis (<i>n</i> = 304)	52 (74)	166 (79)	86 (72)
Early onset (<i>n</i> = 283)	50 (71)	146 (70)	87 (73)
Late onset (<i>n</i> = 117)	20 (29)	64 (30)	33 (27)
Familial (<i>n</i> = 192)	33 (47)	101 (48)	58 (48)
Nonfamilial (<i>n</i> = 208)	37 (53)	109 (52)	62 (52)
CW6+ (<i>n</i> = 161)	27 (39)	87 (41)	47 (39)
CW6- (<i>n</i> = 239)	43 (61)	123 (59)	73 (61)
LCE3 del-del (<i>n</i> = 157)	30 (43)	82 (39)	45 (38)
LCE3 ins (<i>n</i> = 243)	40 (57)	128 (61)	75 (62)

For each CARD14 genotype, we also indicated the number of patients relative to the PASI score, presence of arthritis, Psor onset of age, family history of Psor, and the Cw6 and LCE genotypes.

CARD14-CC, patients versus controls: $p = 0.003$, OR = 1.59; 95% CI = 1.16–2.19.

LCE3 ins = del/ins + ins/ins genotypes.

Psor, psoriasis; PASI, psoriasis area and severity index; OR, odds ratios; CI, confidence intervals.

CARD14 sequencing

We sequenced the 21 coding CARD14 exons in 15 patients who were rs11652075 CC. Exon 4, which the previous study identified as a mutational hotspot, was sequenced in an additional group of 15 patients. Briefly, genomic DNA was PCR-amplified with primer pairs (Supplementary Table S2), and the fragments were purified and sequenced with BigDye chemistry in an automated ABI3130xl equipment (Applied Biosystems). Sequences were compared with the reference CARD14 sequence in the Ensembl database (accession numbers ENSG00000141527 and ENST00000573882; www.ensembl.org).

Statistical analysis

The χ^2 test was used to compare the genotype and allele frequencies between the groups, and to determinate whether the genotype frequencies deviated from the Hardy-Weinberg equilibrium. The odds ratios (OR) and their 95% confidence intervals (CI) were also calculated. The Student's *t*-test was used to compare the quantitative data between the groups. We performed multivariate logistic regression analysis to adjust for risk factors. The interaction between CARD14 and the CW6 and LCE genotypes was determined through linear regression using the SPSS software. Linkage disequilibrium (LD) and frequencies of the haplotypes defined by a pair of loci were calculated with the Cubic exact solutions for the estimation of pairwise haplotype frequencies (Cubex; www.oege.org/software/cubex). A Bonferroni corrected cutoff of $p \leq 0.01$ was considered statistically significant.

Results

In Table 1, we summarized the CARD14 rs11652075 genotype frequencies in patients and controls. The genotype frequencies did not deviate from the Hardy-Weinberg equilibrium in patients and controls ($p > 0.05$; Supplementary Table S3). The rs11652075 CC genotype was significantly associated with Psor in our population ($p = 0.003$; OR = 1.59; 95% CI = 1.16–2.19; statistical power > 80). We did not find differences between the genotypes for the frequency of severe Psor (PASI score ≥ 10), early onset of disease (≤ 40 years), presence of arthritis, or family history of Psor (Table 1).

In addition to rs11652075, patients and controls were genotyped for the common rs3813063 and rs11653893 SNPs in introns 14 and 17, respectively. Nominally, the two CARD14 variants were also significantly associated with Psor in our population (Supplementary Table S3). The haplotype count showed that the two SNPs were in total (rs11653893) or almost total LD (rs3813063; $D' = 0.98$). In this way, the association between the two polymorphisms could be explained by LD with rs11652075.

Patients and controls were also genotyped for the Cw*0602 allele and the LCE3C_LCE3B deletion, two genetic risk factors for psor. The LCE-del/del genotype was significantly associated to Psor in our cohort ($p = 0.015$; OR = 1.43, 95% CI = 1.10–1.90). As expected, the CW6 allele was strongly associated with Psor ($p < 0.001$; OR = 23.40, 95% CI = 14.94–36.82) (Supplementary Table S4). The LCE-del/del and CW6-positive frequencies did not differ between the rs11652075

CARD14 GENE IN PSORIASIS

603

TABLE 2. CARD14 VARIANTS FOUND AFTER SEQUENCING 15 PATIENTS WHO WERE rs11652075 CC (MAF, T=0.49)

SNP ID	Exon/intron	D' (genotypes)	MAF
rs4889990 G/A	Ex 4; c.633G>A (p.E211E)	Nd (3 AG+7 GG)	A=0.37
rs4889991 G/A	Int4; c.675+26A>G	Nd (2 AG+6 AA)	G=0.17
rs2066964 G/C	Ex 12; c.1641G>C (p.R547S)	Nd (3 CC+7 GG)	C=0.40
rs8069255 T/A	Int15; c.2219+14T>A	1 (all AA)	A=0.49
rs4889996 A/G	Int 17; c.2398+30A>G	1 (all GG)	G=0.49
rs4889836 T/C	Int17; c.2398+42T>C	1 (all CC)	C=0.49
rs11653893 A/G	Int 17; c.2399-4A>G	1 (all AA)	A=0.49

Exon 4 was sequenced in a total of 30 patients. Nucleotide changes are numbered relative to the cDNA sequence (transcript id. ENST00000573882; www.ensembl.org). The reported LD value (D') between each variant and rs11652075 in Caucasians and the genotypes found among our sequenced cases (parenthesis) are also indicated.

Nd, nondetermined; MAF, minor allele frequencies among Caucasians; SNP, single-nucleotide polymorphism; LD, linkage disequilibrium.

genotypes (Table 1). No significant interaction was observed between the *CARD14* and *CW6* genotypes ($p > 0.05$). Moreover, the rs11652075 remained significantly associated to Psor in the multiple linear regression, including *CW6* as a covariate ($p = 0.045$; OR=1.50, 95% CI=1.01–2.28). This suggested that in our population, the association between the *CARD14* SNP and Psor was not conditioned on *HLA-CW6*. However, the comparison was underpowered because it was based on only 25 *CW6*-positive controls (Supplementary Table S4). The same independent effect of the rs11652075 was observed when the *LCE* genotype was included as a covariate ($p = 0.021$; OR=1.59, 95% CI=1.07–2.37).

We sequenced the *CARD14* coding exons (plus at least 10 flanking intronic nucleotides) from 15 patients who were rs11652075 CC. We found several previously reported polymorphisms (Table 2). Only one was a missense change (p.Arg547Ser, rs2066964). Among the intronic variants, SNP rs11653893 was in the consensus acceptor site of intron 17 (ivs -4 A/G). However, a bioinformatic online analysis (www.fruitfly.org/cgi-bin/seq_tools/splice.pl) showed that this nucleotide change would not result in pre-mRNA splicing (Supplementary Table S5).

Discussion

We found a significant association between the *CARD14* rs11652075 CC genotype and Psor. The association was independent of the Cw*0602 and the LCE3C_LCE3B del/del genotypes, two recognized genetic risk factors for Psor (Nair *et al.*, 2006; De Cid *et al.*, 2009; Coto *et al.*, 2011). Because rs11652075 is a missense change (p.R820W), it is plausible that an effect on protein function could explain the observed association. Amino acid 820 is in the C-terminal guanylate kinase domain of the *CARD14* protein, which would relay external signals to the cellular milieu (Bertin *et al.*, 2001). In this way, the protein with Trp at amino acid 820 could increase the levels of NF- κ B and, in turn, of transcripts associated with Psor. It is, however, possible that this SNP is in LD with other functional variants that would be responsible for the observed association. To address this issue, we sequenced the *CARD14* coding exons from 15 patients with the risk genotype. Among the identified variants, the only missense change was p.Arg547Ser (SNP rs2066964), which the previous studies showed would not alter significantly the NF- κ B activation levels (Jordan *et al.*, 2012a). None of the intronic variants was predicted to affect pre-mRNA splicing.

Together, the data were in agreement with the results from a large-scale resequencing that found rare *CARD14* functional variants in Psor patients, but not a common polymorphism in LD with rs11652075 that could explain the reported association (Jordan *et al.*, 2012a).

The effect of *CARD14* points to the importance of Psor risk on genes that encode proteins involved in skin innate host defense mechanisms. In addition to genes implicated in the NF- κ B pathways (such as *CARD14*), candidate genes involved in interferon-mediated antiviral responses and macrophage activation have been linked to Psor through genome-wide association studies (Tsoi *et al.*, 2012).

Finally, *CARD14* encodes a protein engaged in signaling pathways that are targeted by biological therapies, such as anti-TNF antibodies (Chong and Wong, 2007; Gudjonsson *et al.*, 2012). In this context, the *CARD14* variants linked to Psor risk could be candidates to test the pharmacogenetic response to these therapeutic agents (O'Rielly and Rahman, 2011).

In conclusion, our data supported a direct linkage between the common *CARD14* rs11652075 variant (p.R820W) and the risk of developing Psor. In spite of its effect on Psor risk, this SNP did not affect disease severity, onset of age, or the risk for arthritis in our population.

Acknowledgment

This work was partially funded by ABBVIE.

Disclosure Statement

The authors state no conflict of interests. This article has not been submitted elsewhere and all the authors have seen and approved the final version and the submission.

References

- Bertin, J., Wang, L., Guo, Y., *et al.* (2001). CARD11 and CARD14 are novel caspase recruitment domain (CARD)/membrane-associated guanylate kinase (MAGUK) family members that interact with BCL10 and activate NF-kappa B. *J Biol Chem* **276**, 11877–11882.
- Coto, E., Santos-Juanes, J., Coto-Segura, P., *et al.* (2010). Mutation analysis of the LCE3B/LCE3C genes in Psoriasis. *BMC Med Genet* **11**, 45.
- Coto, E., Santos-Juanes, J., Coto-Segura, P., and Alvarez V. (2011). New psoriasis susceptibility genes: momentum for skin-barrier disruption. *J Invest Dermatol* **131**, 1003–1005.

- Chong, B.F., and Wong, H.K. (2007). Immunobiologics in the treatment of psoriasis. *Clin Immunol* **123**, 129–138.
- De Cid, R., Riveira-Munoz, E., Zeeuwen, P.L., *et al.* (2009). Deletion of the late cornified envelope LCE3B and LCE3C genes as a susceptibility factor for psoriasis. *Nat Genet* **41**, 211–215.
- Eiris, N., Santos-Juanes, J., Coto-Segura, P., *et al.* (2012). Resequencing of the IL12B gene in psoriasis patients with the rs6887695/rs3212227 risk genotypes. *Cytokine* **60**, 27–29.
- Gudjonsson, J.E., Ding, J., Johnston, A., *et al.* (2010). Assessment of the psoriatic transcriptome in a large sample: additional regulated genes and comparisons with *in vitro* models. *J Invest Dermatol* **130**, 1829–1840.
- Gudjonsson, J.E., Johnston, A., and Ellis, C.N. (2012). Novel systemic drugs under investigation for the treatment of psoriasis. *J Am Acad Dermatol* **67**, 139–147.
- Hwu, W.L., Yang, C.F., Fann, C.S., *et al.* (2005). Mapping of psoriasis to 17q terminus. *J Med Genet* **42**, 152–158.
- Jordan, C.T., Cao, L., Roberson, E.D., *et al.* (2012a). PSORS2 is due to mutations in CARD14. *Am J Hum Genet* **90**, 784–795.
- Jordan, C.T., Cao, L., Roberson, E.D., *et al.* (2012b). Rare and common variants in CARD14, encoding an epidermal regulator of NF-kappaB, in psoriasis. *Am J Hum Genet* **90**, 796–808.
- Nair, R.P., Duffin, K.C., Helms, C., *et al.* (2009). Collaborative Association Study of Psoriasis. Genome-wide scan reveals association of psoriasis with IL-23 and NF-kappaB pathways. *Nat Genet* **41**, 199–204.
- Nair, R.P., Henseler, T., Jenisch, S., *et al.* (1997). Evidence for two psoriasis susceptibility loci (HLA and 17q) and two novel candidate regions (16q and 20p) by genome-wide scan. *Hum Mol Genet* **6**, 1349–1356.
- Nair, R.P., Stuart, P.E., Nistor, I., *et al.* (2006). Sequence and haplotype analysis supports HLA-C as the psoriasis susceptibility 1 gene. *Am J Hum Genet* **78**, 827–851.
- O’Rielly, D.D., and Rahman P. (2011). Genetics of susceptibility and treatment response in psoriatic arthritis. *Nat Rev Rheumatol* **7**, 718–732.
- Soto-Sánchez, J., Santos-Juanes, J., Coto-Segura, P., *et al.* (2010). Genetic variation at the CCR5/CCR2 gene cluster and risk of psoriasis and psoriatic arthritis. *Cytokine* **50**, 114–116.
- Tazi Ahnini, R., Camp, N.J., Cork, M.J., *et al.* (1999). Novel genetic association between the corneodesmosin (MHC 5) gene and susceptibility to psoriasis. *Hum Mol Genet* **8**, 1135–1140.
- Tomfohrde, J., Silverman, A., Barnes, R., *et al.* (1994). Gene for familial psoriasis susceptibility mapped to the distal end of human chromosome 17q. *Science* **264**, 1141–1145.
- Tsoi, L.C., Spain, S.L., Knight, J., *et al.* (2012). Identification of 15 new psoriasis susceptibility loci highlights the role of innate immunity. *Nat Genet* **44**, 1341–1348.

Address correspondence to:

Eliecer Coto, PhD

Genética Molecular

Hospital Universitario Central Asturias

Oviedo 33006

Spain

E-mail: eliecer.coto@sespa.princast.es

Pablo Coto-Segura, MD, PhD

Dermatología

Hospital Universitario Central Asturias

Oviedo 33006

Spain

E-mail: pabcoto@yahoo.es

Received for publication May 19, 2013; received in revised form June 28, 2013; accepted June 28, 2013.

12/23 treatment (directed against the antibody p40 unit) may increase the risk of photocarcinogenesis.^{6,9} Certain other antipsoriatic mono- or combination therapies are well known to increase the risk of developing NMSC very rapidly. For instance, ciclosporin has strong immunosuppressive properties and has been linked to an increase in the occurrence of UVB- or psoralen plus UVA (PUVA)-induced malignancies in the short term.¹⁰ Bursts of skin tumours were observed within only a few months of the start of administration of ciclosporin.¹¹ In particular, when a combination of ciclosporin and PUVA is given, simultaneously and in a sequential combination (ciclosporin after PUVA), the frequency of cutaneous squamous cell carcinoma dramatically increases in the short term.^{10–12, and cited therein}

Here we show that a combination of biologics with 311-nm UVB phototherapy may be safe at least in the short-to-intermediate term, and, thus, could be an option for induction treatment in difficult-to-treat cases. Indeed, the analysis of pooled data from our studies suggests that the ultimate response to the combination therapy may be higher than with either monotherapy alone (Table 1), based on a comparison to response rates and experience reported in the literature. This is consistent with the results of a recent study by Calzavara-Pinton *et al.* who demonstrated that in a subgroup of patients the combination of etanercept with 311-nm UVB was more effective than the single treatments alone.⁵

However, our study has major limitations: it has a low number of patients and many variables, including the use of different biologics, different (and relatively short) observation times, and different pre- and post-treatments. Thus, additional data with larger numbers of patients and longer follow-up terms are needed to quantify the definitive potential risk of skin cancer upon combination treatment of UVB with biological agents. Analyses from patients' registries may help to answer this question.

Acknowledgments

The authors thank Honnavara N. Ananthaswamy (Houston, TX, U.S.A.) for critical reading of this manuscript.

Research Unit for Photodermatology,
Department of Dermatology, Medical
University of Graz, Graz, Austria
Correspondence: Peter Wolf.
E-mail: peter.wolf@medunigraz.at

M. INZINGER
F.J. LEGAT
A. HOFER
W. WEGER
A. GRUBER-WACKERNAGEL
W. SALMHOFER
P. WOLF

References

- Legat FJ, Hofer A, Wackernagel A *et al.* Narrowband UV-B phototherapy, alefacept, and clearance of psoriasis. *Arch Dermatol* 2007; **143**:1016–22.
- Wolf P, Hofer A, Weger W *et al.* 311 nm ultraviolet B-accelerated response of psoriatic lesions in adalimumab-treated patients. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2011; **27**:186–9.
- Wolf P, Hofer A, Legat FJ *et al.* Treatment with 311-nm ultraviolet B accelerates and improves the clearance of psoriatic lesions in patients treated with etanercept. *Br J Dermatol* 2009; **160**:186–9.
- Wolf P, Weger W, Legat FJ *et al.* Treatment with 311-nm ultraviolet B enhanced response of psoriatic lesions in ustekinumab-treated patients: a randomized intraindividual trial. *Br J Dermatol* 2012; **166**:147–53.
- Calzavara-Pinton PG, Sala R, Arisi M *et al.* Synergism between narrowband ultraviolet B phototherapy and etanercept for the treatment of plaque-type psoriasis. *Br J Dermatol* 2013; **169**:130–6.
- Schwarz A, Maeda A, Kemebeck K *et al.* Prevention of UV radiation-induced immunosuppression by IL-12 is dependent on DNA repair. *J Exp Med* 2005; **201**:173–9.
- Faurschou A, Gniadecki R, Wulf HC. Influximab inhibits DNA repair in ultraviolet B-irradiated premalignant keratinocytes. *Exp Dermatol* 2008; **17**:933–8.
- Gambichler T, Tigges C, Dith A *et al.* Impact of etanercept treatment on ultraviolet B-induced inflammation, cell cycle regulation and DNA damage. *Br J Dermatol* 2011; **164**:110–15.
- Jantschitsch C, Weichenthal M, Proksch E *et al.* IL-12 and IL-23 affect photocarcinogenesis differently. *J Invest Dermatol* 2012; **132**:1479–86.
- van de Kerkhof PC. Therapeutic strategies: rotational therapy and combinations. *Clin Exp Dermatol* 2001; **26**:356–61.
- Oxholm A, Thomsen K, Menne T. Squamous cell carcinomas in relation to cyclosporin therapy of non malignant skin disorders. *Acta Derm Venereol* 1989; **69**:89–90.
- Marcil I, Stern RS. Squamous-cell cancer of the skin in patients given PUVA and ciclosporin: nested cohort crossover study. *Lancet* 2001; **358**:1042–5.

Funding sources: the Research Unit for Photodermatology, Department of Dermatology, Medical University of Graz, has been supported by grants from Abbott, MSD and Pfizer. These grants were intended to promote general research in the field of photoimmunology, phototherapy and biologics and were not restricted to specific projects.

Conflicts of interest: W.S., W.W. and P.W. have received honoraria from Abbott, Janssen-Cilag, MSD, Pfizer, and F.J.L. from Abbott, Janssen-Cilag and Pfizer, for meeting contributions. P.W. held a Pfizer-supported professorship for bioimmunotherapy at the Medical University of Graz.

Effect of the *FTO* rs9930506 polymorphism on obesity and the main clinical outcomes in patients with psoriasis

DOI: 10.1111/bjd.13000

DEAR EDITOR, It is a well-established fact that psoriasis is associated with comorbidities such as obesity, diabetes mellitus and metabolic syndrome.^{1–3} A recent meta-analysis showed a higher frequency of obesity among patients with psoriasis compared with controls, and patients with severe psoriasis have a greater risk for obesity than those with mild psoriasis.⁴ The fat mass and obesity-associated gene (*FTO*) has been associated with body

918 Correspondence

Table 1 Main values in the patients with psoriasis according to the FTO rs9930506 genotypes

	Total (freq.)	GG, n (freq.)	AG, n (freq.)	AA, n (freq.)	P-value ^a
Controls	210	50 (0.24)	105 (0.50)	55 (0.26)	
Patients	413	92 (0.23)	206 (0.49)	115 (0.28)	
BMI (kg m ⁻²), mean ± SD		28.60 ± 5.02	26.21 ± 5.07	26.96 ± 5.20	0.001
<25	156 (0.38)	22 (0.14)	88 (0.57)	46 (0.29)	
≥25/<30	143 (0.35)	34 (0.24)	73 (0.51)	36 (0.25)	0.03
≥30	114 (0.27)	36 (0.32)	45 (0.39)	33 (0.29)	<0.001
Waist (cm)		97.7 ± 11.6	98 ± 10.6	97.3 ± 13.2	0.25
Total cholesterol (mg dL ⁻¹)		207 ± 48	207 ± 40	204 ± 39	0.28
HDL-cholesterol (mg dL ⁻¹)		53 ± 15	54 ± 14	54 ± 15	0.58
LDL-cholesterol (mg dL ⁻¹)		131 ± 38	131 ± 36	127 ± 35	0.30
Triglycerides (mg dL ⁻¹)		129 ± 76	121 ± 79	129 ± 72	0.89
PASI, mean ± SD		13 ± 15	11 ± 12	10 ± 10	0.07
≥10	178 (0.43)	42 (0.24)	88 (0.49)	48 (0.27)	0.616
<10	235 (0.57)	50 (0.21)	118 (0.50)	67 (0.29)	
Arthritis					
Yes	93 (0.23)	28 (0.30)	49 (0.53)	16 (0.17)	0.039
No	320 (0.77)	64 (0.20)	157 (0.49)	99 (0.31)	
Hypertension					
Yes	86 (0.21)	22 (0.26)	44 (0.51)	20 (0.23)	0.441
No	327 (0.79)	70 (0.21)	162 (0.50)	95 (0.29)	
T2DM					
Yes	50 (0.12)	17 (0.34)	25 (0.50)	8 (0.16)	0.034
No	363 (0.88)	75 (0.21)	181 (0.50)	107 (0.29)	
Cw6+	173 (0.42)	34 (0.20)	90 (0.52)	49 (0.28)	0.063
Cw6-	240 (0.58)	58 (0.24)	116 (0.48)	66 (0.28)	

BMI, body mass index; freq., frequency; HDL, high-density lipoprotein; LDL, low-density lipoprotein; PASI, Psoriasis Area and Severity Index; T2DM, type 2 diabetes. ^aGG vs. AA + AG genotypes.

mass index (BMI) and obesity in different populations.⁵⁻⁷ A linkage disequilibrium block defined by single nucleotide polymorphisms (SNPs), such as rs9930506 in intron 1, showed the strongest association with BMI. FTO is a nucleic acid demethylase ubiquitously expressed, with the highest levels seen in the brain hypothalamic nuclei, a region that regulates energy homeostasis. We hypothesized that the rs9930506 SNP could be also linked to differences in BMI and other metabolic traits among patients with psoriasis. In addition, we sought to determine whether this FTO polymorphism was a genetic determinant of the risk for arthritis and disease severity in our patients.

The study was approved by the ethical committee of Hospital Central Asturias and involved a total of 413 patients with psoriasis (mean age 47 ± 15 years; 55% male; all white), from the region of Asturias (Northern Spain). The main characteristics of the patients are summarized in Table 1. Psoriasis was diagnosed based on clinical findings, and the disease was defined as severe or nonsevere according to the Psoriasis Area and Severity Index (PASI). The existence of arthritis was assessed by a rheumatologist. All the patients were genotyped for the Cw*0602 allele. Obesity was defined as a BMI ≥ 30. Patients with a documented history of type 2 diabetes (T2DM) or hypertension were considered as diabetic or hypertensive, respectively. Total cholesterol, triglycerides and high-density lipoprotein cholesterol were measured from fasting blood. SNP rs9930506 (A/G) was genotyped through real-time Taqman (assay ID, C_29819994_10; Life Technologies, Carlsbad, CA, U.S.A.).

The FTO rs9930506 genotype frequencies did not deviate from the Hardy-Weinberg equilibrium in our cohort. The minor allele frequency was G, with a frequency (0.47) similar to that reported in other white populations. The mean BMI value was significantly higher in the GG patients ($P = 0.001$), with AG and AA patients showing similar values (Table 1). The GG genotype was significantly more common among obese patients ($P < 0.001$), and in patients with T2DM [$P = 0.034$; odds ratio (OR) 1.98, 95% confidence interval (CI) 1.04-3.74]. This effect on T2DM was attenuated after adjusting for age and BMI ($P = 0.06$) (data not shown). There were no significant differences for mean lipid values between the genotypes. There were no significant differences in the frequency of disease severity or arthritis between lean and obese patients (data not shown). The mean PASI value and the frequency of severe psoriasis (PASI > 10) were nonsignificantly higher between the genotypes. The rs9930506GG was significantly more common in the arthritis group ($P = 0.04$; OR 1.72, 95% CI 1.02-2.90). This association remained significant after correcting by age and obesity ($P = 0.043$; OR 1.65, 95% CI 1.01-2.88).

The association between FTO SNPs and obesity among patients with psoriasis could have practical implications for disease treatment. A multivariate analysis showed that an increase in BMI was associated with a higher risk of having an adverse event, while a low-energy diet could improve disease severity in overweight patients with psoriasis.⁸ Because the

effectiveness of psoriasis therapies might be influenced by BMI, it could be relevant to determine whether there are differences between the FTO genotypes in the therapeutic response among patients with psoriasis.

We found a significant association between the FTO rs9930506 GG and arthritis, and the effect was independent of age and obesity. The association between the FTO genotype and arthritis must be taken with caution because only 93 patients had arthritis, and thus requires replication in larger cohorts. An association between FTO SNPs and osteoarthritis has been reported, but adjustment for BMI attenuated the signal indicating that the primary association was with BMI.⁹ Because FTO acts as a demethylase that regulates the expression of genes involved in multiple molecular pathways, it is possible that the association could be explained by a direct effect (independent of obesity) on some trait that increases the risk of developing arthritis. Interestingly, an FTO SNP was significantly associated with C-reactive protein levels in an European cohort of 2415 individuals.¹⁰ The association was attenuated but remained statistically significant after adjustment for BMI. This suggests that FTO variants may enhance the inflammatory state independently of the degree of adiposity. In view of our result, further studies analysing the relationship between FTO polymorphisms, obesity and inflammatory markers in patients with psoriasis should be of relevance.

In conclusion, patients with psoriasis who were homozygous for the FTO rs9930506 G allele had a significantly higher mean BMI and an increased risk for obesity. This FTO SNP was not correlated with disease severity, but could increase the risk for arthritis independently of obesity.

¹Dermatología II, Hospital Universitario Central Asturias, 33006 Oviedo, Spain

²Reumatología, Hospital Universitario Central Asturias, 33006 Oviedo, Spain

³Genética Molecular, Hospital Universitario Central Asturias, 33006 Oviedo, Spain

Correspondence: Pablo Coto-Segura or Eliecer Coto.

P. COTO-SEGURA¹

L. GONZÁLEZ-LARA¹

N. EIRIS¹

J. SANTOS-JUANES¹

R. QUEIRO²

E. COTO³

E-mail: pablocotosegura@gmail.com or eliecer.coto@sespa.princast.es

References

- 1 Neimann AL, Shin DB, Wang X et al. Prevalence of cardiovascular risk factors in patients with psoriasis. *J Am Acad Dermatol* 2006; **55**:829–35.
- 2 Sommer DM, Jenisch S, Suchan M et al. Increased prevalence of the metabolic syndrome in patients with moderate to severe psoriasis. *Arch Dermatol Res* 2006; **298**:321–8.
- 3 Coto-Segura P, Eiris-Salvado N, González-Lara L et al. Psoriasis, psoriatic arthritis and type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *Br J Dermatol* 2013; **169**:783–93.
- 4 Armstrong AW, Harskamp CT, Armstrong EJ. The association between psoriasis and obesity: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Nutr Diabetes* 2012; **2**:e54.
- 5 Dina C, Meyre D, Gallina S et al. Variation in FTO contributes to childhood obesity and severe adult obesity. *Nat Genet* 2007; **39**:724–6.
- 6 Frayling TM, Timpson NJ, Weedon MN et al. A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science* 2007; **316**:889–94.
- 7 Scuteri A, Sanna S, Chen WM et al. Genome-wide association scan shows genetic variants in the FTO gene are associated with obesity-related traits. *PLoS Genet* 2007; **3**:e115.
- 8 Jensen P, Zachariae C, Christensen R et al. Effect of weight loss on the severity of psoriasis: a randomized clinical study. *JAMA Dermatol* 2013; **149**:795–801.
- 9 Elliott KS, Chapman K, Day-Williams A et al. Evaluation of the genetic overlap between osteoarthritis with body mass index and height using genome-wide association scan data. *Ann Rheum Dis* 2013; **72**:935–41.
- 10 Fisher E, Schulze MB, Stefan N et al. Association of the FTO rs9939609 single nucleotide polymorphism with C-reactive protein levels. *Obesity (Silver Spring)* 2009; **17**:330–4.

Funding sources: this work was supported by a grant from the Spanish Instituto de Salud Carlos III–European FEDER funds (grant PI 13/00680).

Conflicts of interest: none declared.

Book Review

Molecular Diagnostics in Dermatology and Dermatopathology. Michael J. Murphy, ed. New York: Springer, 2011; 478 pp. ISBN: 978-1-60761-171-4. Price £213.00.

DOI: 10.1111/bjd.13330

Molecular Diagnostics in Dermatology and Dermatopathology is a multi-author book edited by Michael Murphy. The book tackles a difficult and complex topic that to many practising dermatopathologists and dermatologists may appear dry at first glance and

may not be of immediate interest. However, over the past decades molecular diagnosis has transformed multiple aspects of medicine, and it has become an important tool for more accurate diagnosis and prognosis and to direct treatment. It has also become an integral aspect of dermatopathology. Not only does this book fill a void in current medical publishing, but Dr Murphy has also succeeded in creating a well-structured and nicely presented work covering the application of molecular diagnostics in both inflammatory and neoplastic conditions. Its carefully selected authors are all respected experts in the field. The text is



ORIGINAL PAPER

The *TNFRSF1B* rs1061622 polymorphism (p.M196R) is associated with biological drug outcome in Psoriasis patients

Leire González-Lara · Ana Batalla · Eliecer Coto · Juan Gómez · Noemí Eiris · Jorge Santos-Juanes · Rubén Queiro · Pablo Coto-Segura

Received: 13 August 2014 / Revised: 17 November 2014 / Accepted: 11 December 2014 / Published online: 24 December 2014
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Abstract Genetic factors are involved not only in the overall risk of suffering psoriasis, but also in their clinical characteristics and eventually in drug outcome. Biological therapies have dramatically improved the prognosis of Psoriasis. However, these treatments are very expensive and patients often exhibit a heterogeneous response that could be partially attributed to their genetic background. Thus, the research for genetic markers in psoriatic patients that could predict a poor response to biological therapies is an important issue. Our aim was to evaluate the effect of DNA variants at the “TNF α pathway” that could affect the risk of developing Psoriasis or the response to biological therapies among these patients. The genetic association study included a total of 518 Psoriatic patients and 480 healthy controls. Ninety of these patients received

biological treatment and based on the change in the PASI score after 24 weeks were classified as good (PASI score ≥ 75 %), intermediate (PASI 50–75), and non-responders (PASI < 50 %). Next generation sequencing (NGS) with semiconductor-array technology was used to identify the nucleotide variants in the *TNF α* , *TNFRSF1A* and *TNFRSF1B*, and we only found three missense amino acid changes, all in *TNFRSF1B*. Interestingly, we found a significantly higher frequency of rs1061622 G carriers among CW6-positive patients ($p = 0.004$; OR = 1.69, 95 % CI = 1.18–2.41). Allele G (p.196R) carriers were significantly more frequent in the non-responder group ($p = 0.05$). In conclusion, we report a significant association between the *TNFRSF1B* p.M196R variant and the risk for psoriasis and the response to treatment with anti-TNF or anti-IL-12/IL-23. The genotyping of this polymorphism could help to optimize the treatment by identifying patients with a likely poor response to biological drugs.

Leire González-Lara and Ana Batalla had contributed equally to this work.

L. González-Lara (✉) · A. Batalla · N. Eiris · J. Santos-Juanes · P. Coto-Segura
Unit of Psoriasis, Dermatology II Department, Hospital Universitario Central de Asturias, University of Oviedo, 33006 Oviedo, Spain
e-mail: leiregonzalezlara@gmail.com

P. Coto-Segura
e-mail: pablocotosegura@gmail.com; cotopablo@uniovi.es

E. Coto · J. Gómez
Molecular Genetics Department, Hospital Universitario Central Asturias, Oviedo, Spain

E. Coto · P. Coto-Segura
Medicine Department, University of Oviedo, Oviedo, Spain

R. Queiro
Rheumatology Department, Hospital Universitario Central Asturias, Oviedo, Spain

Keywords Psoriasis · Biological therapy · Gene polymorphism · Next generation sequencing · Pharmacogenetic

Introduction

Psoriasis (PsO) is an inflammatory skin disease that affects 2–3 % of the world's population and is associated with arthritis (PsA) in approximately 30 % of cases. The genetic component affects not only the overall risk, but also the age of disease onset, the clinical type and severity, or the risk for PsA. The first locus for PsO (PSORS1) was mapped to the chromosome 6p21.3 region and remains the major genetic determinant of the risk. Further studies identified a strong association between PsO and the HLA-Cw6*0602

allele [16]. In addition to this well-characterized genetic association, other immunological relevant genes have been linked to the risk for PsO and pointed to new pathways implicated in this disease [1, 3].

For decades, the treatment of PsO has been directed to improve skin and joint manifestations with, among others, topical preparations, phototherapy and systemic medications including methotrexate, cyclosporine, or retinoids [11]. The introduction of proteins (biological drugs) that target cytokines involved in the pathogenesis of the disease has revolutionized the treatment of immune-mediated inflammatory diseases, included PsO and PsA [2]. The current approach is based on biologicals that selectively block the proinflammatory cytokine tumor necrosis factor (TNF- α ; infliximab, adalimumab and etanercept) or target the common p40 subunit of IL-12/23 (ustekinumab) [26]. These agents have dramatically improved the prognosis of PsO and PsA and therefore the number of patients under these treatments is rising. Unfortunately, these treatments are expensive and this represents a major concern for the health systems [13]. Furthermore, it is noteworthy that 20–50 % of patients did not achieve an adequate response or lose an initially favorable response over time, even with severe adverse effects such as malignancies or infections. For these reasons, searching for biomarkers to predict the response to biologicals is a major issue.

DNA variants at the genes encoding components of the pathways targeted by these drugs could partially explain the observed heterogeneous response. At least three genome-wide association studies (GWAs) involving patients with rheumatoid arthritis identified several candidate genes that could influence the anti-TNF response. However, these findings were not replicated by others [9, 10, 17]. Among PsO treated patients, few studies are available and the most common approach is to investigate the effect of single nucleotide polymorphisms (SNPs) previously associated with the pathogenesis of the disease or with the risk of developing PsO. For instance, *TNFAIP3* single nucleotide polymorphisms (SNPs) that were linked to the risk for PsO and PsA were evaluated in two cohorts of patients who received anti-TNF or anti-p40 therapy [23, 25]. Another study genotyped five SNPs at the *TNF α* , *TNFRSF1A*, and *TNFRSF1B* in 80 Greek patients treated with anti-TNFs, and found a significant effect of *TNF α* and *TNFRSF1B* SNPs on the reduction of disease severity [31]. *TNF α* variants have been related with the response to anti-TNF drugs among PsO patients from Spain with interesting results [5], and *TNFRSF1B* SNPs were also associated with the response to infliximab among patients with Crohn's disease and Rheumatoid Arthritis [12, 19, 21, 30].

While all the above referenced studies were based on common SNPs, to our knowledge there are no reports describing the variation of the whole-coding sequence of candidate genes for biologic therapies response (anti-TNF or anti p40) in PsO patients. Our main objective was to

search for *TNF α* , *TNFRSF1A* and *TNFRSF1B* variants that could explain the heterogeneous response to biological drugs among PsO patients.

Materials and methods

Study subjects

All the participants were Caucasians from Spain and >18 years old. All signed an informed consent approved by the Ethical Committee of Hospital Universitario Central Asturias (HUCA).

The genetic association study included a total of 518 PsO patients and 480 healthy controls (Table 1) [8]. Early-onset PsO (age of onset <40 years), severe disease (PASI ≥ 10 at any time of disease), familial history (at least one first-degree relative also affected) were assessed through clinical interview and medical records. Arthritis was assessed by a rheumatologist according to the CASPAR criteria.

The pharmacogenetic study was based on all the patients ($n = 90$) who received for the first time a biological therapy approved for PsO (infliximab, adalimumab, etanercept, ustekinumab) and completed at least 6 months of treatment (Table 2). All these 90 patients had a moderate–severe psoriasis (Psoriasis area and severity index, PASI >10) at the inclusion in the study despite of previous conventional treatment, or had contraindication with phototherapy, acitretin, methotrexate and ciclosporine. The dose of each biological agent was the standard regime for induction.

The PASI score is a suitable parameter for formulating treatment goals, and the reduction of 75 % of initial PASI score is a conventional tool that reflects the success of a

Table 1 Main characteristics of the 518 psoriatic patients

Male	282 (54 %)
Mean age (years \pm SD)	47 \pm 15
Early-onset psoriasis	371 (72 %)
Late-onset psoriasis	147 (28 %)
PASI <10	285 (55 %)
PASI >10	233 (45 %)
Cw6+	211 (41 %)
Cw6–	307 (59 %)
Arthritis no	383 (74 %)
Arthritis yes	135 (26 %)
Familial history yes	263 (51 %)
Familial history no	255 (49 %)

SD standard deviation, PASI Psoriasis Area and Severity Index

CW6: Histocompatibility antigen HLA-CW6

Arthritis yes/no: the presence of psoriatic arthritis

Bold entries indicate the change that has occurred in the peptide sequence as a result of the mutation

Table 2 Main characteristics of the 90 PsO patients included in the pharmacogenetic study

Male:Female (n)	51:39						
Mean age (years)	44.68 ± 11.90						
Age at disease onset (years; mean ± SD)	24.01 ± 14.94						
Disease duration (years)	20.80 ± 12.93						
Baseline PASI (mean ± SD)	17.84 ± 11.62						
Familial history+	50 (56 %)						
Arthritis+	45 (50 %)						
HLA-Cw6+	28 (31.10 %)						
	$p = 0.59$; OR = 0.87 (95 % CI = 0.52–1.46)						
	$p = 0.52$; OR = 0.87 (95 % CI = 0.56–1.34)						
	$p = 0.79$; OR = 0.95 (95 % CI = 0.68–1.34)						
	All patients (%)	Response week 12			Response week 24		
		$p = 0.04$; OR = 0.76, 95 % CI = 0.57–1.02			$p = 0.04$; OR = 2.01, 95 % CI = 1.00–4.02		
		Non-responders (%)	Intermediate responders (%)	Good Responders (%)	Non-responders (%)	Intermediate responders (%)	Good responders (%)
Adalimumab	52 (58)	12 (23)	3 (6)	37 (71)	16 (31)	4 (8)	32 (62)
Etanercept	19 (21)	5 (26)	2 (10)	12 (63)	7 (37)	1 (5)	11 (58)
Infliximab	11 (12)	1 (9)	0 (0)	10 (91)	1 (9)	0 (0)	10 (91)
Ustekinumab	8 (9)	0 (0)	1 (12)	7 (87)	1 (12)	0 (0)	7 (87)
Total	90	18 (20)	6 (6)	66 (73)	25 (28)	5 (5)	60 (67)

treatment. Using % reduction of PASI would not allow us to define the success of the treatment because the sample size is too small to draw statistically significant results when responders are divided into three groups. Therefore, we consider PASI75 is the best goal to be studied and the disease outcome was measured according to the percentage of patients that achieved an improvement of 50, 75 and 90 % in their PASI from baseline (PASI50, PASI75 and PASI90) at weeks 12 (short-term efficacy) and 24 (long-term efficacy) after the treatment began. Due to the different speed of action of each drug, patients were classified based on the change in the PASI score after 24 weeks [32]. Patients were classified as “good responders” if they achieved a 75 % reduction in PASI or were almost clean of PsO (\geq PASI 75, including PASI 90) after 24 weeks of therapy. Patients who showed a reduction of the PASI score between 50 and 75 % from baseline (PASI 50–75) were classified as “intermediate responders”, and those with <50 % improvement ($<$ PASI 50) as “non-responders”.

TNFRSF1 SNP genotyping

The common SNP *rs1061622* in *TNFRSF1* was determined in the 518 PsO patients (including the 90 cases from the pharmacogenetic study) and in the 480 healthy controls with a Real-Time Taqman assay (Applied Biosystems; <http://www.appliedbiosystems.com>; assay C_8861232_20).

Targeted next generation sequencing

We searched for new DNA variants in the *TNFA*, *TNFRSF1A* and *TNFRSF1B* through multiplex amplification of DNA pools and semiconductor NGS. We had previously demonstrated that this is a valid approach to identify rare variants that are diluted by the common allele in a pool of DNAs [7]. The DNA from each patient was obtained and adjusted to 10 ng/ μ l using Real-Time Taqman quantification with RNase P Detection Reagents (FAMTM) (Life Technologies). Through this procedure, we also confirmed that all the DNAs were suitable for PCR amplification.

A multiplex amplification for the whole-coding sequence plus at least 5 intronic flanking nucleotides of the three genes was designated online (*IonAmpliseq*TM Designer). Primer pairs for a total of 36 amplicons that covered >99 % of the target sequence were provided by the manufacturer in two tubes. Five pools containing 10 μ l of DNA from 30 patients (each pool) were created. All the patients in the pharmacogenetic study were included in the NGS. We performed a multiplex amplification of the pools followed by *Ion Torrent* NGS. Briefly, a total of 10 ng of the DNA-pools were amplified in two *Ampliseq* tubes using the *Ion Ampliseq*TM Library Kit (Life Technologies). The reactions were quantified (Agilent Bioanalyzer) and amplified using the *Ion PGM* template OT2 200 Kit and the *Ion One-Touch* instrument (Life Technologies). Template-

positive spheres were recovered using DynabeadsMyOne Streptavidin CI beads and qualified using the Ion Sphere quality control assay and the Qubit 2.0 fluorometer (Life Technologies). Sphere particles were loaded in a 318 (1 Gb) semiconductor chip, and sequenced using the PGM 200 sequencing kit protocol in the *Ion Torrent* PGM. We used a 260-flow runs, which support a template read length of approximately 200 bp.

Data from the PGM runs were processed using the *Torrent Suite v3.4.2* software (Life Technologies) to generate sequence reads and filter and remove poor signal reads. Reads assembling and variant identification were performed with the *Variant Caller v3.4.51874* software using *Fast Q* files containing sequence reads and the *Ion Ampliseq Designer BED* file software to map the amplicons. *Integrative Genome Viewer (IGV)* was used for the analysis of depth coverage, sequences quality, and variants identification. The variant caller (VC) algorithm was set at threshold frequencies of 1 % to identify the nucleotide variants. In addition, to reduce the risk for false negatives in some amplicons we performed a visual inspection of the *BAM* files from the three pools.

Sanger sequencing and bioinformatic analysis

The rare nucleotide missense changes found in the three pools were assigned to specific patients by Sanger sequencing of the corresponding exon in all the patients in the corresponding pool. Briefly, a PCR fragment was amplified from each patient and sequencing with Big Dye chemistry in an *ABI3130xl* equipment. The putative pathogenic effect was determined online with the *Polyphen* and *SHIFT* softwares (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2> and <http://sift.jcvi.org>). In addition, we determined the degree of amino acid conservation as an indicator of the pathogenicity [4].

Statistical analysis

Chi-square test was performed to compare frequencies. Comparisons with $p < 0.05$ were considered statistically significant and odds ratios (OR) and their 95 % confidence intervals (95 % CI) were also calculated. Bonferroni correction was made in case of multiple comparisons. When appropriate, multivariate logistic regression was used to determine association after adjusting for confusion factors. The statistical power for the genotype comparison between the groups was also calculated. Data management and statistical analysis were performed using *SPSS1 15.0* software (SPSS, Chicago, Illinois, USA).

Results

First, we determined the effect of the common *TNFRSF1B* rs1061622 genotype on the risk for PsO. There were no differences in the allele and genotype frequencies between patients and controls (Table 3). Allele and genotype frequencies did not differ between patients with severe/non-severe disease ($p = 0.36$; OR = 0.89; 95 % CI = 0.71–1.13) or between patients with/without arthritis ($P = 0.43$; OR = 1.11; 95 % CI = 0.85–1.46). Interestingly, we found a significantly higher frequency of rs1061622 G carriers among CW6-positive patients ($p = 0.004$; OR = 1.69, 95 % CI = 1.18–2.41). The sample size (CW6+ vs. CW6–) was enough to reach a statistical power of 80.

In a second step, we determined the effect of the rs1061622 SNP on the response to biologicals. The main characteristics of the 90 patients included in the pharmacogenetic study are summarized in Table 2. The mean disease duration was 20.80 years (range 1–55). The biological most widely used was adalimumab (58 %), followed by etanercept (21 %), infliximab (12 %), and ustekinumab (9 %). At week 12, 66/90 patients (73 %) achieved the PASI75, 6/90 (7 %) achieved an intermediate response (PASI 50–75), and 18/90 (20 %) were non-responders (PASI <50). The rate of good responders decreased to 66.66 % at week 24, and non-responders

Table 3 Frequencies of the *TNFRSF1B* rs1061622 genotypes in controls and patients

<i>TNFRSF1B</i> rs1061622	GG	GT	TT	G-frequency
Controls	17 (3)	158 (33)	305 (64)	0.20
<i>N</i> = 480				
HW ^a controls	19	153	307	
Patients	30 (6)	177 (34)	311 (60)	0.22
<i>N</i> = 518				
HW ^a patients	27	182	308	
PASI <10	16 (6)	96 (34)	173 (61)	0.22
<i>N</i> = 285				
PASI >10	14 (6)	81 (35)	138 (59)	0.23
<i>N</i> = 233				
Arthritis no	23 (6)	130 (34)	230 (60)	0.23
<i>N</i> = 383				
Arthritis yes	7 (85)	47 (35)	81 (60)	0.23
<i>N</i> = 135				
CW6–	17 (6)	90 (29)	200 (65)	0.20
<i>N</i> = 307				
CW6+	13 (6)	87 (41)	111 (53)	0.27
<i>N</i> = 211				

^a Number expected under the Hardy–Weinberg equilibrium

Table 4 Genotype frequencies of the *TNFRSF1B* rs1061622 in good, intermediate, and non-responders (parenthesis = %)

Total	TT N = 53	GT N = 34	GG N = 3	G- frequency
Good ^a (n = 60)	40 (67)	19 (32)	1 (3)	0.18
Intermediate ^a (n = 5)	2 (40)	3 (60)	0 (0)	0.30
Non-responders ^a (n = 25)	11 (44)	12 (48)	2 (8)	0.32
	TT	GT	GG	G-frequency
Anti IL12/23				
Good (n = 7)	4 (57)	3 (43)	0 (0)	0.12
Intermediate (n = 0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
Non-responders (n = 1)	1	0 (0)	0 (0)	0.29
Anti TNF-TNFRSF1B				
Good (n = 53)	36 (68)	16 (30)	1 (2)	0.17
Intermediate (n = 5)	2 (40)	3 (60)	0 (0)	
Non-responders (n = 24)	10 (42)	12 (50)	2 (8)	0.33

Intermediate responders: patients who achieved a reduction of the PASI score between 50 and 75 % from baseline (PASI 50–75)

Non-responders: patients with <50 % improvement (<PASI50)

^a Good responders: patients who achieved a 75 % reduction in PASI or were almost clean of psoriasis (≥PASI 75, including PASI 90) after 24 weeks of therapy

increased to 28 %. According to each biological treatment at this time, the PASI75 was achieved in 91 % with infliximab, in 87 % with ustekinumab, in 61 % adalimumab, and in 58 % with etanercept. We found a higher frequency of G-carriers among non-responders (56 %) compared to cases with good response (35 %) ($p = 0.05$). The effect of the G-allele on bad response was stronger among the patients treated with anti-TNF ($p = 0.03$; OR = 2.96, 95 % CI = 1.09–8.02) (Table 4).

We carried out a more in-depth investigation by sequencing the *TNF α* , *TNFRSF1A* and *TNFRSF1B* genes through semiconductor NGS in 150 patients, including the 90 cases selected for the pharmacogenetic study. All the amplicons gave >3,000 nucleotide reads that would represent an average of 50 reads per patient in each pool (Fig. 1). The variant caller identified a total of 17 nucleotide changes (Table 5). Three were missense changes, all in *TNFRSF1B*: one common (p.M196R, rs1061622) and two rare (p.E232K and p.Q295R) (Table 6). The rest of the variants were either intronic or did not change the amino acid (synonymous variants). The two rare nucleotide changes were further assigned to only three specific patients through Sanger sequencing of the corresponding exons. The p.Q295R was found in two cases with good and bad response. The two changes were predicted to be non-pathogenic and were in non-conserved amino acids. Due to

these facts, and the very low frequency of the rare alleles in our population, we did not perform a genotyping of the two *TNFRSF1B* variants in all our patients and controls.

Discussion

The main finding of our study was the increased frequency of the *TNFRSF1B* rs1061622 G-allele (p.M196R polymorphism) among Cw6-positive PsO patients, and the increased risk for a negative response to biological therapy in cases with this allele.

Our result was in agreement with the data from the Vasilopoulos et al. study [31], which found that TT homozygosity was associated with a positive response. The *TNFRSF1B* 676T>G polymorphism has a functional role in TNF-alpha production, exhibiting an association with higher whole-blood TNF-alpha production [6]. Therefore, it is believed that patients with this mutation may have a better response profile to anti TNF-alpha-soluble drugs like etanercept. Our proportion of patients treated with etanercept was too small to reach statistically significant differences. In our cohort, the effect was stronger among cases treated with anti-TNF than in cases with anti-IL12/23. Unfortunately, there was a lack of data about duration of previous treatments (phototherapy, acitretin, methotrexate, and cyclosporine) or the reason to stop these therapies. However, as the biological efficacy was assessed at week 24 we think it is unlikely that previous treatments had a significant influence on the response.

The p.M196R variant was linked to increase susceptibility for other chronic inflammatory disorders, such as systemic lupus erythematosus, ulcerative colitis, and rheumatoid arthritis [14, 20, 28]. One study reported that cells transfected with TNFR1B with 196R exhibited an increased apoptotic response after stimulation of TNFRSF1A1 by soluble TNF α [27]. The difference on apoptosis could explain the better response among 196 M Crohn's disease patients treated with anti-TNFs [5, 12].

The difference in genotype frequency between Cw6-positive and negative patients has been reported for other PsO risk candidate polymorphisms. Among others, interactions between *HLA-C* and *LCE*, *ERAP1*, *IL12B* and *TNFAIP3* could contribute to the PsO risk [15, 18, 22, 29, 34]. Tumor necrosis factor alpha (TNF α) is a cytokine produced by macrophages and other cell-types, including Keratinocytes and activated dendritic cells (DCs). TNF α can bind to two receptors, TNFRSF1A1 (TNFR1; CD120a; p55/60) and TNFRSF1B (TNFR2; CD120b; p75/80). While both membrane-bound and soluble TNF α can activate the type 1 receptor, activation through TNFR1B requires the binding to the membrane-bound form. TNF α plays a major role in the development of PsO through

Fig. 1 Coverage details of the *TNFRSF1A*, *TNFRSF1B* and *TNFSF2* amplicons in pool 1. In the X axis we indicate the corresponding amplicon and in the Y axis we show the total number of nucleotide reads per amplicon

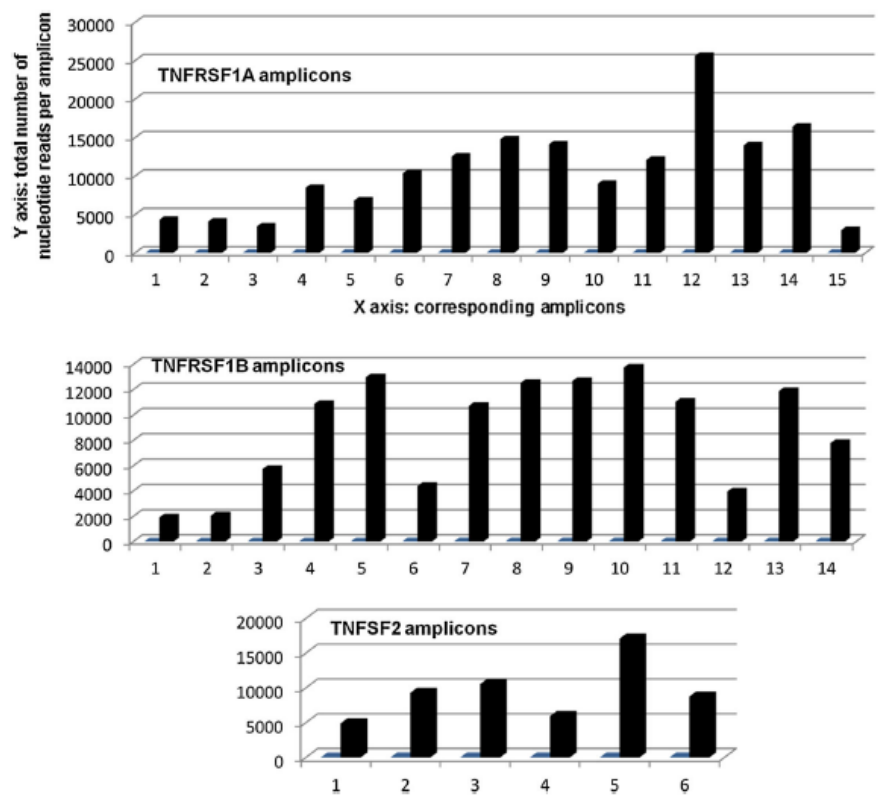


Table 5 Nucleotide variants in one of the five DNA pools, containing all the non-responders ($n = 25$)

Gene	Nucleotide position	Common nucleotide	Variant nucleotide	Variant frequency	Effect
<i>TNFRSF1A</i>	6439470	A	G	11.11	INTRON
<i>TNFRSF1A</i>	6440009	T	C	14.99	INTRON
<i>TNFRSF1A</i>	6442346	A	G	52.04	INTRON
<i>TNFRSF1A</i>	6442385	C	T	1.28	INTRON
<i>TNFRSF1A</i>	6450945	T	C	19.65	p.P12P
<i>TNFRSF1B</i>	12248942	A	G	30.54	p.K56K
<i>TNFRSF1B</i>	12248965	A	G	29.55	INTRON
<i>TNFRSF1B</i>	12251765	T	G	30.20	INTRON
<i>TNFRSF1B</i>	12251808	T	G	42.47	INTRON
<i>TNFRSF1B</i>	12252424	T	G	1.58	INTRON
<i>TNFRSF1B</i>	12252892	C	T	37.38	INTRON
<i>TNFRSF1B</i>	12252955	T	G	33.80	p.M196R
<i>TNFRSF1B</i>	12253062	G	A	24.56	p.E232K
<i>TNFRSF1B</i>	12254746	G	GA	27.50	INTRON
<i>TNFRSF1B</i>	12262224	C	T	2.73	p.S367S
<i>TNFRSF1B</i>	12254659	A	G	2.60	p.Q295R
<i>TNFSF2</i>	31544189	A	G	3.69	INTRON

The amino acid effect of the changes in the coding sequence is indicated

The change that has occurred in the peptide sequence as a result of the mutation

Bold entries indicate the change that has occurred in the peptide sequence as a result of the mutation

several mechanisms, including the enhancement of DC–T cell interactions that would promote the epidermal stimulation by T cell cytokines. The importance of this process is

supported by the finding of lower levels of co-stimulatory molecules in lesions with activated DCs of patients treated with etanercept [33]. In this context, $TNF\alpha$ is also an

Table 6 Amino acid missense variants identified in the NGS of DNA pools

Gene	Coding nucleotide	SNP	Amino acid	MAF Pool 1	MAF EUR	Polyphen	Shift
<i>TNFRSF1B</i>	c.T587G	rs1061622	p.M196R	0.33	0.20	Benign	Tolerated
<i>TNFRSF1B</i>	c.G694A	rs5746026	p.E232K	0.02 (1)	0.03	Benign	Tolerated
<i>TNFRSF1B</i>	c.A884G	rs5746032	p.Q295R	0.03 (1)	0.003	Benign	Tolerated

We indicate the frequency of the rare allele (MAF) in pool 1 (bad-response patients) (parenthesis indicates the number of variant carriers), the minor allele frequency among Europeans (<http://www.ensembl.org>), and the predicted effect of the amino acid change according to the Polyphen and SIFT softwares

activator of the IL-23 synthesis by DCs, and the clinical benefit seen with anti-TNF therapies may be linked, at least in part, to the suppression of IL-23 mediated pathways.

Finally, in addition to the common p.M196R polymorphism, we identified two previously reported rare *TNFRSF1B* missense SNPs. The p.E232K (SNP rs5746026) was linked to PsO risk in a large-scale exome sequencing study, with a protective effect for the rare allele [24]. Only one of the 150 sequenced patients was carrier of the rare allele, and to address the contribution of this SNP to the risk of developing PsO would thus require a much large number of patients and controls.

In conclusion, in a search for variants in three genes of the TNF α pathway we identified the *TNFRSF1B* p.M196R variant as a genetic determinant of the response to treatment with anti-TNF or anti-IL-23/IL-12 among PsO patients. The pharmacogenetic study showed that the G allele was linked to a higher risk for a bad response to biological treatments. This allele was also more common among our Cw6-positive patients. If confirmed in other cohorts, the genotyping of this polymorphism could help to identify patients with a likely poor response to biological drugs.

Acknowledgments This work was supported by a grant from the Spanish Instituto de Salud Carlos III-European FEDER funds (Grant PI 13/00680). Authors thank ABBVIE for supporting this work. We thank Belén Alonso for technical assistance.

Conflict of interest P. Coto-Segura is an invited speaker for and receives grant/research support from Abbvie, Janssen-Cilag, Schering-Plough, Pfizer and Novartis. The author have no other relevant affiliations or financial involvement with any organization or entity with a financial interest in or financial conflict with the subject matter or materials discussed in the manuscript apart from those disclosed. No writing assistance was utilized in the production of this manuscript. Other authors declare no conflict of interest.

References

- Capon F, Di Meglio P, Szaub J, Prescott NJ, Dunster C et al (2007) Sequence variants in the genes for the interleukin-23 receptor (IL23R) and its ligand (IL12B) confer protection against psoriasis. *Hum Genet* 122:201–206
- Cordoro KM, Feldman SR (2007) TNF-alpha inhibitors in dermatology. *Skin Therapy Lett* 12:4–6
- Eiris N, González-Lara L, Santos-Juanes J, Queiro R, Coto E, Coto Segura P (2014) Genetic variation at IL12B, IL23R and IL23A is associated with psoriasis severity, psoriatic arthritis and type 2 diabetes mellitus. *J Dermatol Sci* 75:167–172
- Flanagan SE, Patch AM, Ellard S (2010) Using SIFT and PolyPhen to predict loss-of-function and gain-of-function mutations. *Genet Test Mol Biomarkers* 14:533–537
- Gallo E, Cabaleiro T, Román M et al (2013) The relationship between tumour necrosis factor (TNF)- α promoter and IL12B/IL-23R genes polymorphisms and the efficacy of anti-TNF- α therapy in psoriasis: a case-control study. *Br J Dermatol* 169:819–829
- Glossop JR, Dawes PT, Nixon NB et al (2005) Polymorphism in the tumor necrosis factor receptor II gene is associated with circulating levels of soluble tumour necrosis factor receptors in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 7:R1227–R1234
- Gómez J, Reguero JR, Morís C, Alvarez V, Coto E (2014) Non optical semi-conductor next generation sequencing of the main cardiac QT-interval duration genes in pooled DNA samples. *J Cardiovasc Transl Res* 7:133–137
- González-Lara L, Coto-Segura P, Penedo A, Eiris N, Dfaz M et al (2013) SNP rs11652075 in the CARD14 gene as a risk factor for psoriasis (PSORS2) in a Spanish cohort. *DNA Cell Biol* 32:601–604
- Krintel SB, Palermo G, Johansen JS, Germer S, Essioux L et al (2012) Investigation of single nucleotide polymorphisms and biological pathways associated with response to TNF alpha inhibitors in patients with rheumatoid arthritis. *Pharmacogenet Genomics* 22:577–589
- Liu C, Batiwalla F, Li W, Lee A, Roubenoff R et al (2008) Genome-wide association scan identifies candidate polymorphisms associated with differential response to anti-TNF treatment in Rheumatoid Arthritis. *Mol Med* 14:575–581
- Mason A, Mason J, Cork M, Hancock H, Dooley G (2013) Topical treatments for chronic plaque psoriasis: an abridged Cochrane systematic review. *J Am Acad Dermatol* 69:799–807
- Medrano LM, Taxonera C, Márquez A, Barreiro-de Acosta M, Gómez-García M et al (2014) Role of *TNFRSF1B* polymorphisms in the response of Crohn's disease patients to infliximab. *Hum Immunol* 75:71–75
- Miller DW, Feldman SR (2006) Cost-effectiveness of moderate-to-severe psoriasis treatment. *Expert Opin Pharmacother* 7:157–167
- Morita C, Horiuchi T, Tsukamoto H, Hatta N, Kikuchi Y et al (2001) Association of tumor necrosis factor receptor type II polymorphism 196R with Systemic lupus erythematosus in the Japanese: molecular and functional analysis. *Arthritis Rheum* 44:2819–2827
- Nair RP, Ruether A, Stuart PE, Jenisch S, Tejasvi T et al (2008) Polymorphisms of the IL12B and IL23R genes are associated with psoriasis. *J Invest Dermatol* 128:1653–1661
- Nair RP, Stuart PE, Nistor I, Hiremagalore R, Chia NV, Jenisch S et al (2006) Sequence and haplotype analysis supports HLA-C as the psoriasis susceptibility 1 gene. *Am J Hum Genet* 78:827–851

17. Plant D, Bowes J, Potter C, Hyrich KL, Morgan AW et al (2011) Genome-wide association study of genetic predictors of anti-tumor necrosis factor treatment efficacy in rheumatoid arthritis identifies associations with polymorphisms at seven loci. *Arthritis Rheum* 63:645–653
18. Riveira-Munoz E, He SM, Escaramís G, Stuart PE, Hüffmeier U et al (2011) Meta-analysis confirms the LCE3C_LCE3B deletion as a risk factor for psoriasis in several ethnic groups and finds interaction with HLA-Cw6. *J Invest Dermatol* 131:1105–1109
19. Rooryck C, Bameche T, Richez C, Laleye A, Arveiler B et al (2008) Influence of FCGR3A-V212F and TNFRSF1B-M196R genotypes in patients with rheumatoid arthritis treated with infliximab therapy. *Clin Exp Rheumatol* 26:340–342
20. Stark GL, Dickinson AM, Jackson GH, Taylor PR, Proctor SJ et al (2003) Tumor necrosis factor receptor type II 196 M/R genotype correlates with circulating soluble receptor levels in normal subjects and with graft-versus-host disease after sibling allogeneic bone marrow transplantation. *Transplantation* 76:1742–1749
21. Steenholdt C, Enevold C, Ainsworth MA, Brynkvov J, Thomsen O et al (2012) Genetic polymorphisms of tumour necrosis factor receptor superfamily 1b and fas ligand are associated with clinical efficacy and/or acute severe infusion reactions to infliximab in Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 36:650–659
22. Strange A, Capon F, Spencer CC, Knight J, Weale ME et al (2010) A genome-wide association study identifies new psoriasis susceptibility loci and an interaction between HLA-C and ERAP1. *Nat Genet* 42:985–990
23. Talamonti M, Botti E, Galluzzo M, Teoli M, Spallone G et al (2013) Pharmacogenetics of psoriasis: HLA-Cw6 but not LCE3B/3C deletion nor TNFAIP3 polymorphism predisposes to clinical response to interleukin 12/23 blocker ustekinumab. *Br J Dermatol* 169:458–463
24. Tang H, Jin X, Li Y, Jiang H, Tang X et al (2014) A large-scale screen for coding variants predisposing to psoriasis. *Nat Genet* 46:45–50
25. Tejasvi T, Stuart PE, Chandran V, Voorhees JJ, Gladman DD et al (2012) TNFAIP3 gene polymorphisms are associated with response to TNF blockade in psoriasis. *J Invest Dermatol* 132:593–600
26. Thomas VD, Yang FC, Kvedar JC (2005) Biologics in psoriasis: a quick reference guide. *J Am Acad Dermatol* 53:346–351
27. Till A, Rosenstiel P, Krippner-Heidenreich A et al (2005) The Met196>arg variation of human tumor necrosis factor receptor 2 (TNFR2) affects TNF-alpha-induced apoptosis by impaired NF-kappaB signaling and target gene expression. *J Biol Chem* 280:5994–6004
28. Tulusso B, Sacco S, Gremese E, La Torre G, Tomietto P et al (2004) Relationship between the tumor necrosis factor receptor II (TNF-RII) gene polymorphism and sTNF-RII plasma levels in healthy controls and in rheumatoid arthritis. *Hum Immunol* 65:1420–1426
29. Tsoi LC, Spain SL, Knight J, Ellinghaus E, Stuart PE et al (2012) Identification of 15 new psoriasis susceptibility loci highlights the role of innate immunity. *Nat Genet* 44:1341–1348
30. Vasilopoulos Y, Bagiatz V, Stamatopoulou D, Zisopoulos D, Alexiou I et al (2011) Association of anti-CCP positivity and carriage of TNFR2I susceptibility variant with anti-TNF- α response in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 29:701–704
31. Vasilopoulos Y, Manolika M, Zafiriou E, Sarafidou T, Bagiatz V et al (2012) Pharmacogenetic analysis of TNF, TNFRSF1A, and TNFRSF1B gene polymorphisms and prediction of response to anti-TNF therapy in psoriasis patients in the Greek population. *Mol Diagn Ther* 16:29–34
32. Warren RB, Smith RL, Campalani E, Eyre S, Smith CH et al (2009) Outcomes of methotrexate therapy for psoriasis and relationship to genetic polymorphisms. *Br J Dermatol* 160:438–441
33. Zaba LC, Cardinale I, Gilleaudeau P, Sullivan-Whalen M, Suárez-Fariñas M et al (2007) Amelioration of epidermal hyperplasia by TNF inhibition is associated with reduced Th17 responses. *J Exp Med* 204:3183–3194
34. Zheng HF, Zuo XB, Lu WS, Li Y, Cheng H, Zhu KJ et al (2011) Variants in *MHC*, *LCE* and *IL12B* have epistatic effects on psoriasis risk in Chinese population. *J Dermatol Sci* 61:124–128

COMUNICACIONES A CONGRESOS

- Asociación de la variación en el gen de la interleukina-12b (IL12B) con el riesgo de psoriasis y su gravedad - *Noemí Eirís, Marta Díaz, Jorge Santos-Juanes, Eliecer Coto, Pablo Coto-Segura* -III Simposio Nacional de Psoriasis Innovara –Zaragoza, 8 Octubre 2011 - **2º Premio al mejor Poster sobre Psoriasis**
 - Poster
- Asociación de polimorfismos de un solo nucleótido en el gen IL12B y riesgo de psoriasis – *N.Eirís, M. Díaz, J. Santos-Juanes, E. Coto, P. Coto* – 40 Congreso Nacional AEDV, Oviedo 6-9 Junio 2012
 - Poster
- Genetic analysis of IL12B, IL23A and IL23R in Spanish population and psoriasis risk - *Eiris N, Coto E, Alvarez V, Palacios L, Garcia B, Maldonado C, Queiro-Silva R, Santos-Juanes J, Coto-Segura P.* – 71th Annual meeting of the American Academy of Dermatology – Miami, Marzo 2013
 - Poster
 - Análisis de las variaciones de los polimorfismos de un solo nucleótido en *IL12B, IL23A* e *IL23R* en relación al riesgo de Psoriasis en un grupo de población española - *N. Eirís, E. Coto, V Álvarez, R. Queiro-Silva y P. Coto-Segura.* - LVI Reunión de la Sección Regional Astur-Cántabro-Castellano-Leonesa de la AEDV, Abril 2013
 - Comunicación oral
 - *IL12Brs6887695-GG* genotype is associated to biological treatment response in Psoriasis - *Noemi Eirís, Leire González-Lara, Ana Batalla, Eliecer Coto, Pablo Coto-Segura* – 75th Annual meeting of the American Academy of Dermatology – Orlando, Marzo 2017
 - Poster (aceptado para su presentación en marzo de 2017)

