

ARTRITA REUMATOIDĂ PRECOCE ȘI TERENUL GENETIC LA PACIENȚII DIN SUD-ESTUL ROMÂNIEI

Early rheumatoid arthritis and genetic background in patients living in the south-eastern region of Romania

Loredana Hanzu-Pazara¹, Maria Șuța², Cristina Șuța², Alina Martinescu¹

¹Departamentul I Discipline Preclinice, Facultatea de Medicină, Universitatea „Ovidius”, Constanța

²Departamentul II Discipline Clinice, Facultatea de Medicină, Universitatea „Ovidius”, Constanța

Rezumat

Objective. Cercetătorii evidențiază diferite asocieri ale alelelor HLA cu artrita reumatoidă. Studiul nostru testează asocierea între manifestarea fenotipică dată de caracteristicile principale ale bolii, definite prin criteriile de clasificare folosite în cercetare, cu fondul genotipic dat de prezența anumitor alele HLA-DRB1.

Material și metodă. Au fost evaluați prospectiv pacienți diagnosticați cu artrită reumatoidă precoce conform noilor criterii de clasificare ACR/EULAR 2010, obținându-se date demografice, date privind caracteristicile clinico-biologice și genetice care au fost integrate comparativ în vederea stabilirii de asocieri semnificative.

Rezultate. A fost observată frecvența semnificativ crescută a alelelor *04 (17% vs. 8,98%; $p = 0,0474$) și *10 (5% vs. 1,12%; $p = 0,0477$), dar și a celorlalte alele potențial conținătoare de epitop comun ca *01 (15% vs. 8,42%; $p = 0,0900$). Stratificarea cotei de risc a adus în prim plan alela *10 (OR=4,63), urmată de alelele *04 și *07 (OR=2,07 și respectiv OR=2,15). Semnificativă statistic a fost asocierea negativă dintre alela *13 și prezența factorului reumatoid ($p=0,052$). Serologia pozitivă s-a corelat cu alela *04; aceasta s-a corelat semnificativ statistic cu anticorpii antipeptid ciclic citrulinat ($p=0,030$), în contrast cu factorul reumatoid. DAS28 care s-a corelat semnificativ cu principalele alele potențial conținătoare de epitop comun ($p=0,014$), dar și cu alelele *04 sau *14 în particular. Asiaticii au prezentat parametri de severitate a bolii net superiori, comparativ cu pacienții caucazieni, și nu în ultimul rând un titru mare de anticorpi anti-peptid ciclic citrulinat, pe un tipar genetic dominat de alela *04.

Concluzii. Tiparul genetic pare să influențeze în mod diferit sub-populații distincte de pacienți cu artrită reumatoidă precoce. Este nevoie de o nouă abordare care să permită evaluarea pacientului cu această patologie, în strânsă corelare cu manifestările fenotipice pentru o diagnosticare precoce, eficientă, care are deja la bază o clasificare revoluționară a criteriilor de boală.

Cuvinte cheie: HLA-DRB1, artrită reumatoidă precoce, ACR/EULAR 2010

Abstract

Objective. Researchers are facing a variety of HLA alleles associated with rheumatoid arthritis. Our study tests phenotypical correlation between basic characteristics of disease, defined by new classification criteria, with genetic background given by the presence of HLA-DRB1 alleles.

Material and methods. Prospective evaluation of patients with early rheumatoid arthritis diagnosed by new classification criteria ACR/EULAR 2010 was performed and demographical, biological and genetical data were integrated and statistically compared.

Results. A significant frequency for *04 (17% vs. 8.98%; $p=0.0474$) and *10 (5% vs. 1.12%; $p = 0.0477$) alleles was observed, with a minority for *01 (15% vs. 8.42%; $p=0.0900$). Odds ratio stratification high lightened *10 allele (OR=4.63), followed by *04 and *07 (OR=2.07, respective OR=2.15). *13 correlated negatively with RF ($p=0.052$). Positive serology correlated significantly with alleles potentially containing shared epitope ($p=0.014$), but also in particular with *04 and *14. Asiatic patients presented more severe disease parameters compared with caucasoid patients and a high anti-CCP titer on a genetic background dominated by HLA-DRB1*04.

Conclusion. Genetic background seem to have different influences on distinct sub-populations of patients with early rheumatoid arthritis. A new approach that allows evaluation of patient directly correlated with phenotypical manifestations is expected, for achieving an early, efficient diagnoses, that is already facing a revolutionary classification.

Keywords: HLA-DRB1, early rheumatoid arthritis, ACR/EULAR 2010

Adresă de corespondență:

Loredana Hanzu-Pazara, Facultatea de Medicină, Universitatea „Ovidius”, Aleea Universității, Campus 2, Constanța

E-mail: loredanapazara@yahoo.com

INTRODUCERE

De peste 30 de ani, cercetătorii evidențiază diferite asocieri ale alelelor HLA cu boala, dar mecanismul intim care duce la această asociere rămâne încă o enigmă (1). Au fost elaborate tabele și algoritmi care includ bine-cunoscuta teorie a epitopului comun, care au reușit să stratifice rata de risc în cazul pacienților cu AR, dar nu se pot aplica drept un simplu model în toate grupurile de pacienți. Studiile ulterioare abundă în încercări de identificare a tiparelor ideale ale grupurilor și subgrupurilor de alele, în populații diferite ca număr și structură etnică, dar care în marea lor majoritate au relevat importanța crucială a studiilor de epidemiologie genetică pe scară largă, tocmai datorită varietății alelice implicate. Baza mecanismului asocierii între fenotipul bolii și epitopul comun rămâne încă necunoscută pe deplin.

Noile criterii de clasificare folosite în cercetare pentru artrita reumatoidă permit includerea timpurie, înainte de apariția modificărilor structurale la nivel articular, a pacienților, în strânsă corelare cu markeri biologici și imagistici (2).

MATERIAL ȘI METODĂ

Cercetarea a inclus un lot de 50 de pacienți diagnosticați cu artrită reumatoidă precoce conform criteriilor de clasificare ACR/EULAR 2010, aflați în evaluare în Clinica de Reumatologie a Spitalului Clinic Județean de Urgență Constanța, respectiv clinica ambulatorie a Centrului Medical IOWEMED, Constanța și un lot de referință de 89 de subiecți din mediul extraspitalicesc, cu vârstă și sex comparabile cu grupul de bază. Toți pacienții au prezentat un debut sub 36 de luni până la momentul diagnosticului, iar 84% au fost diagnosticați în primele 12 luni de la debut, îndeplinind criteriile de diagnostic ACR/EULAR 2010. Mai puțin de jumătate (44%) au prezentat un debut ce a dus la diagnostic în primele 3 luni de evoluție a bolii. Raportul femei-bărbați a fost de 4:1, cu 80% în favoarea sexului feminin și cu o netă predominanță a provenienței din mediul urban comparativ cu cel rural (74% dintre pacienți provin din orașe). Au fost măsurați parametri biologici VSH și PCR, iar evaluarea serologiei imune a presupus detectarea FR prin metoda latex-imunoturbidimetrică cu valoare de referință <14 UI/mL, și a anticorpilor anti-CCP prin metoda imunoenzimatică cu detecție prin fluorescență (FEIA) cu valori de referință > 10 UI/mL pozitiv. Imagistic s-a folosit radiografia standard de mâini și ultrasonografia articulară. După

izolarea materialului genomic s-a efectuat genotiparea alelelor HLA-DRB1 prin rezoluție joasă, folosind kit-uri PCR-SSP (InnoTrain Diagnostik GmbH, Germany; ProTrans produkte GmbH, Germany prin BioSupply). Analiza statistică a folosit programul SPSS v. 20.0, fiind considerată semnificativă statistic orice valoare a lui p sub 0,05, calculată de soft.

REZULTATE

Factorul reumatoid a fost găsit pozitiv la 68% dintre pacienți cu o valoare medie măsurată de 128,71 UI/mL, iar anticorpii anti-peptid ciclic citrulinat la 56,80%, având o valoare medie de 155,9 UI/mL. Global (FR și/sau antiCCP), ponderea pacienților seropozitivi cu AR precoce a atins o valoare de 78%. Mediile indicatorilor de severitate a bolii au relevat boală activă la majoritatea pacienților, cu un scor mediu calculat al criteriilor de clasificare ACR/EULAR 2010 de $7,34 \pm 1,422$ (Tabelul 1).

TABELUL 1. Parametrii indicatori de severitate a bolii la pacienții cu AR precoce

Parametrii	No. = 50
DAS 28 – Media totală (min-max)	$6,251 \pm 0,957$ (min 4,22 – max 8,21)
VSH media +/-SD (mm/h)	$46,28 \pm 25,059$
PCR media +/-SD (UI/mL)	$3,28 \pm 3,454$
Scor ACR/EULAR 2010 media	$7,34 \pm 1,422$

Tabelul 2 prezintă distribuția frecvențelor alelelor HLA-DRB1 observate la pacienți comparativ cu lotul martor. Genotiparea alelelor HLA-DRB1 a arătat diferențe semnificative statistic atât pentru alelele potențial conținătoare de epitop comun, cât și pentru un număr mare de alte alele. Cele mai importante au fost reprezentate de frecvența semnificativ crescută a alelelor *04 (17% vs. 8,98%; $p = 0,0474$) și *10 (5% vs. 1,12%; $p = 0,0477$), dar și a celorlalte alele potențial conținătoare de epitop comun ca *01 (15% vs. 8,42%; $p = 0,0900$). Alela *14 a avut o frecvență comparabilă cu cea din lotul control, cu diferență nesemnificativă statistic. Foarte importantă pare să fie distribuția generală a alelelor potențial conținătoare de epitop comun (EC), determinându-se o frecvență mare în lotul cu artrită reumatoidă precoce (43% vs. 21,91%; $p = 0,0003$). O frecvență crescută, dar nesemnificativă statistic, a prezentat și alela considerată suspectă *07 (7% vs. 3,37%; $p = 0,1689$).

Frecvențe reduse comparative cu lotul martor au fost observate pentru alelele *11 (12% vs. 20,22%, $p = 0,0816$), *13 (6% vs. 14,60%; $p < 0,0001$) și *15

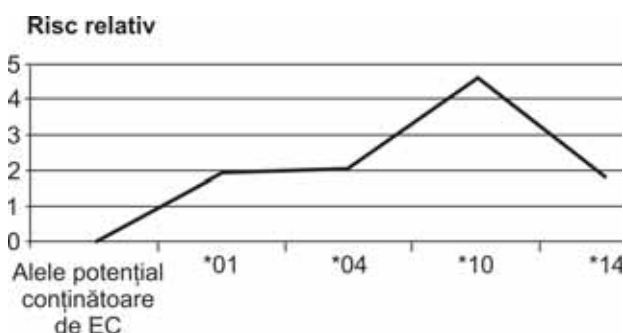
TABELUL 2. Frecvența alelelor HLA-DRB1 la pacienții cu AR precoce vs. lotul control

Tip alelă HLA-DRB1	Nr. alele pacienți cu AR precoce	Frecvență alelă pacienți cu AR precoce	Nr. alele control	Frecvență alelă control	Odds ratio	95% CI	p
*01	15	15%	15	8,42%	1,91	0,89-4,10	0,09
*03	14	14%	24	13,48%	1,04	0,51-2,12	0,90
*04	17	17%	16	8,98%	2,07	0,99-4,31	0,04
*07	7	7%	6	3,37%	2,15	0,74-6,60	0,16
*08	0	0%	2	1,12%			-
*10	5	5%	2	1,12%	4,63	0,88-24,32	0,04
*11	12	12%	36	20,22%	0,53	0,26-1,08	0,08
*12	1	1%	0	0,00%			-
*13	6	6%	26	14,60%	0,37	0,14-0,94	0,03
*14	6	6%	6	3,37%	1,82	0,57-5,83	0,30
*15	5	5%	22	12,35%	0,37	0,13-1,01	0,04
*16	12	12%	23	12,92%	0,91	0,43-1,93	0,82
Suma *01, *04, *10, *14	43	43%	39	21,91%	2,68	1,57-4,57	0,0003

(nr. pacienți = 50; nr. total alele pacienți = 100; nr. control = 89; nr. total alele control = 178)

(5% vs. 12,35%, $p = 0,0467$), toate semnificative statistic.

Stratificarea cotei de risc (odds ratio) a adus în prim plan alela *10 (OR=4,63), urmată de alelele *04 și *07 (OR=2,07 și respectiv OR=2,15) care au avut o cotă asemănătoare cu cea a alelelor potențial conținătoare de epitop comun (OR=2,80). Având în vedere numărul mic de cazuri, este dificil de concluzionat ca fiind riscul cel mai semnificativ, dar totuși trebuie consemnat acest rezultat. Alelele *01 și *14 au avut un trend paralel – OR=1,91 și respectiv OR=1,82 (Fig. 1).

**FIGURA 1.** Riscul relativ calculat pentru principalele alele potențial conținătoare de epitop comun

Corelarea a inclus și alela *13, considerată a avea un efect protectiv pentru riscul de apariție al AR, dar

TABELUL 3. Corelații ale alelelor HLA-DRB1 cu parametrii clinici, biologici, imagistici și de severitate ai bolii

	EC*01	EC*04	EC*10	EC*14	*16	*13
Ac. antiCCP	$p=0,797$	$p=0,030$	$p=0,038$	$p=0,006$	$p=0,985$	$p=0,420$
FR	$p=0,726$	$p=0,318$	$p=0,544$	$p=0,050$	$p=0,643$	$p=0,052$
Activitate înaltă (DAS28 > 5,1)	$p=0,756$	$p=0,510$	$p=0,384$	$p=0,708$	$p=0,217$	$p=0,708$
Manifestări extraarticulare	$p=0,123$	$p=0,304$	$p=0,999$	$p=0,214$	$p=0,875$	$p=0,722$

și alela *16 cu o frecvență destul de mare în populațiile studiate. Semnificativă statistic a fost asocierea negativă dintre alela *13 și prezența factorului reumatoid ($p = 0,052$) (Tabelul 2).

Analizând detaliat serologia pozitivă care s-a corelat global și cu alela *04, s-a observat o corelație semnificativă statistic cu anticorpii anti-peptid ciclic citrulinat ($p = 0,030$), în contrast cu factorul reumatoid (Tabelul 3). O altă asociere deosebit de importantă a fost dată de indicatorul de severitate al bolii DAS28 care s-a corelat semnificativ cu principalele alele potențial conținătoare de epitop comun ($p=0,014$), dar și cu alelele *04 sau *14 în particular (Tabelul 4).

TABELUL 4. Asocieri între indicatorul de severitate al bolii DAS28 și prezența principalelor alele potențial conținătoare de epitop comun

	Alele potențial conținătoare de EC (suma)	*04	*01	*10	*14
DAS28	$p=0,014$	$p=0,052$	$p=0,658$	$p=0,258$	$p=0,054$

În ceea ce privește alela considerată protectoare pentru riscul de apariție a artritei reumatoide HLA-DRB1*13, aceasta s-a asociat negativ foarte bine

global cu reacțanții de fază acută ($p = 0,016$) și durata simptomatologiei ($p = 0,017$), criteriile cu pondere aparținând clasificării ACR/EULAR 2010, dar și cu prezența factorului reumatoid ($p = 0,052$).

Pacienții seronegativi au avut o distribuție genetică interesantă, analiza lor relevând o frecvență crescută pentru alela *01, spre deosebire de alelele *04 sau *14. În Fig. 2 se poate observa ponderea diferitelor tipuri de alele globale, pentru seronegativii la ambele tipuri de anticorpi (FR și antiCCP).

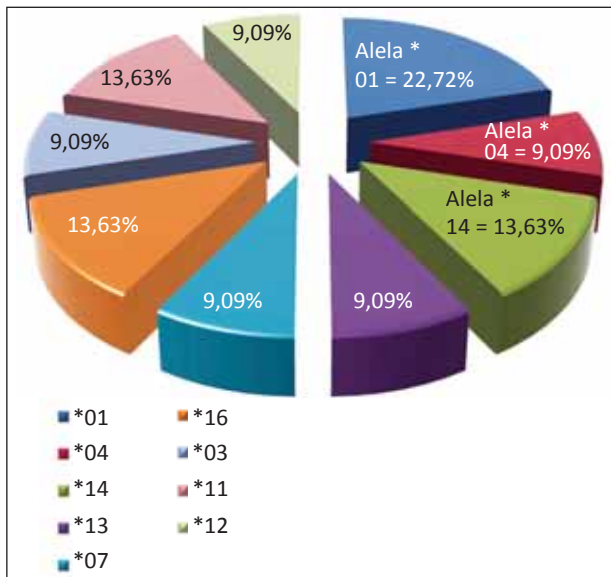


FIGURA 2. Frecvența alelelor principale la pacienții cu AR precoce seronegativi pentru antiCCP și FR

10% dintre pacienții cu artrită reumatoidă precoce studiați au fost de etnie asiatică și a fost interesant de urmărit manifestările fenotipice ale acestui subgrup, în corelație cu genotipul dat de alelele HLA-DRB1, chiar dacă numărul redus nu a permis o analiză statistică importantă (Fig. 3).

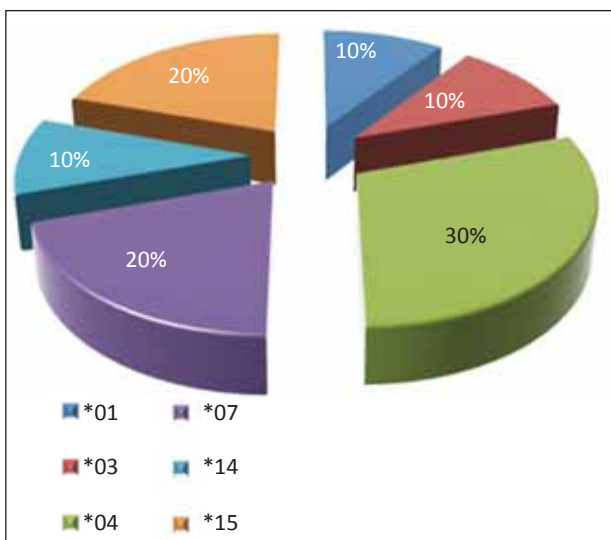


FIGURA 3. Distribuția alelelor HLA-DRB1 la pacienții asiatici cu AR precoce

Dominanța grupului de etnici asiatici a fost alela *04, urmată îndeaproape de *07 și *15, și mai puțin *01, *03 și *14. Caracteristicile acestui subgrup au fost cel puțin interesante: un singur pacient asiatic a fost seronegativ pentru FR și/sau ACP, 80% au fost seropozitivi pentru FR (cu media titrului de $63,80 \text{ UI/mL} \pm 49,77$), și numai 60% au fost seropozitivi pentru antiCCP (cu media titrului $296,79 \text{ UI/mL} \pm 202,79$).

Trebuie subliniată constatarea faptului că pacienții de etnie asiatică au prezentat titruri net inferioare de FR comparativ cu lotul general. Și mai spectaculos decât atât, au prezentat titruri foarte mari de anticorpi antiCCP comparativ cu lotul general. Având în vedere frecvența net superioară a alelei *04 (30%) comparativ cu pacienții caucasieni (15,55%), s-a efectuat compararea celor două grupuri, însă nu au existat diferențe semnificative din punct de vedere statistic (Tabelul 5).

Punctajul criteriilor de clasificare ACR/EULAR 2010 a fost în medie $8 \pm 1,22$, iar parametrii indicatori de severitate a bolii au avut valori mari (Tabelul 6).

Dacă ne raportăm la lotul general, frecvența alelelor principale potențial conținătoare de EC în grupul pacienților de origine asiatică devine semnificativă statistic ($p = 0,05$; OR = 3,56 95% CI 0,98-12,94), cu o cotă de risc net superioară lotului general de pacienți (3,56 vs. 2,80).

DISCUȚII

Studiul a vizat tocmai această identificare a posibilelor corelații între prezența alelelor cu potențial în dezvoltarea patologiei și expresia lor fenotipică, clinic, tradusă prin ponderea criteriilor din noua clasificare ACR/EULAR 2010, cu rezerva testării corelațiilor cu vechile criterii ACR 1987.

Distribuția frecvențelor alelelor HLA-DRB1 observate la pacienți în comparație cu lotul martor a reliefat încă o dată varietatea datelor din literatură. Câteva meta-analize efectuate în Europa au demonstrat deja posibilitatea evaluării riscului clinic informativ de AR folosind cohorte largi ca WTCCC (the Wellcome Trust Case Control Consortium) și UKRAGG (UK RA Genetics Group Consortium), folosind numai informații legate de componenta genetică, vârstă și statusul de fumător (3).

Valoarea asocierii între susceptibilitatea particulară a alelelor HLA cu AR este diferită în multe studii. O mare parte din aceste diferențe se datorează criteriilor variate de includere a pacienților, bazelor genetice ale populațiilor studiate, dar și diferitelor

TABELUL 5. Frecvența subgrupurilor de alele HLA-DRB1 la pacienții cu artrită reumatoidă precoce asiatici vs. caucazieni

Tip alele HLA-DRB1	Nr. alele pac. asiatici	Frecvență alele pac. asiatici	Nr. alele pac. caucazieni	Frecvență alele pac. caucazieni	Odds ratio	95% CI	p
*04	3	30%	14	15,55%	2,32	0,53-10,09	0,25
Suma *01, *04, *10, *14	5	50%	34	37,77%	1,64	0,44-6,10	0,45

(nr. pacienți asiatici = 5; nr. total alele pacienți asiatici = 10; nr. caucazieni = 84; nr. total alele caucazieni = 168)

TABELUL 6. Parametrii indicatori de severitate a bolii la pacienții asiatici cu AR precoce

Parametri	No. = 5
DAS 28 – Media totală	6,72 ± 0,91
VSH media +/-SD (mm/h)	57 ± 20,95
PCR media +/-SD (UI/mL)	4,37 ± 3,52
Scor ACR/EULAR 2010 media	8 ± 1,22

metode de tipare a HLA. Există totuși o rată remarcabilă de consens atunci când aceste variabile sunt controlate, un exemplu fiind dat de rezultatele similare ale mai multor studii diferite care au folosit numai caucazieni, iar tiparea s-a făcut pe bază de ADN (4,5), cum ar fi pentru HLA-DRB1*10 – prezent în proporție de 1,5% cu risc relativ de 2,3.

Sub rezerva numărului mic de pacienți cu AR precoce, cel mai mare risc relativ calculat a fost pentru alela *10 (RR = 4,63), urmat de alela *04 (RR = 2,07), pe ultimele locuri situându-se alelele *01 și *14 cu RR = 1,91, respectiv RR = 1,81. Foarte importantă pare să fie însă distribuția generală a alelelor potențial conținătoare de epitop comun (EC), determinându-se o frecvență mare în lotul cu artrită reumatoidă precoce. Acest grup stratificat pe baza rezultatelor schemei propuse de Tezenas du Montcel și colaboratorii (6), care are în vedere ca principale alele conținătoare de epitop comun alelele *01, *04, *10, *14, pare să fie cel mai interesant de studiat mai departe pentru determinarea secvențelor de aminoacizi suspecți în clasificare, dar are și neajunsuri, omițând backgroundul etnic genetic, care poate fi diferit în alte populații decât cea caucaziană (de exemplu, populațiile est-asiatice, unde s-a raportat o susceptibilitate crescută pentru alela *09 (7)). Un proiect internațional recent a permis o meta-analiză a patru populații europene – din Norvegia, Suedia, Olanda și Spania, centrată pe determinarea alelelor potențial protectoare pentru artrita reumatoidă (8). Adițional obiectivului principal, studiul a evidențiat frecvențe importante ale alelelor conținătoare de epitop comun, în special *04 și *10, dar și a altor alele suspecte ca frecvență, cum ar fi *09 și *16 (8). Acest set de alele relativ rar DRB1*10, care a prezentat în cadrul studiului nostru riscul relativ cel mai crescut

și frecvența cea mai semnificativă statistic, a fost demonstrat și în populații portugheze, dar și în alte țări din sudul Europei (39,7%, $p < 0,001$ și respectiv 12%, $p = 0,031$) (9), alături de susceptibilitate recunoscută conferită de prezența alelelor HLA-DRB1 *04 pentru apariția AR.

Prezența epitopului comun este considerată a se asocia puternic cu pozitivitatea pentru anticorpii anti-CCP. 74% dintre pacienții înrolați într-un studiu din Olanda au fost pozitivi pentru EC (10), iar în Suedia 90% dintre pacienții cu AR (11). Având dezavantajul că nu s-au putut determina proteinele epitopului comun în lotul nostru, grație motivelor financiare, analiza a relevat un procent de 55,88% seropozitivi pentru anti-CCP dintre pacienții cu alele potențial conținătoare de epitop comun, cu o medie calculată a titrului de 172,13 UI/ML.

Dintre alelele potențial conținătoare de epitop comun, *04, *10 și *14 s-au corelat cel mai bine cu prezența anticorpilor anti-peptid ciclic citrulinat, spre deosebire de alela *01. Alela *14 s-a corelat bine cu prezența factorului reumatoid. Cercetătorii au emis și ipoteza că artrita anti-CCP pozitivă ar reprezenta o entitate distinctă; un studiu foarte recent efectuat pe o populație din nord-estul Turciei evidențiază un set relativ distinct pentru seropozitivii pentru antiCCP (*04 și *09) comparativ cu seropozitivii pentru FR (*01 și *04) (12), ca și efectele potențial protective ale alelei *13.

Pacienții seronegativi au avut o distribuție genetică interesantă, analiza lor relevând o frecvență crescută pentru alela *01, spre deosebire de alelele *04 sau *14. Poate cel mai interesant aspect a fost dat de absența alelei *10, cea mai frecventă în lotul nostru cu AR precoce, părând să demonstreze o entitate fenotipică distinctă, cel mai probabil legată de prezența anticorpilor anti-CCP. Tabloul net dominat de alela *01 merită urmărit îndeaproape în viitor, relevând rezultate surprinzătoare în ceea ce privește entitatea pacientului cu artrită reumatoidă seronegativ. Este devreme de concluzionat sub acest aspect având în vedere că mulți dintre pacienții diagnosticați precoce se vor pozitiva pe parcursul evoluției bolii. Tocmai de aceea este nevoie în continuare de studii

care să urmărească evoluția pacienților cu un teren genetic distinct, deoarece rezultatele studiilor efectuate până în acest moment vin în contradicție cu această constatare.

Efectele protective ale alelelor HLA-DRB1 sunt foarte puțin cunoscute. În general, studiile pe diferite grupuri etnice au demonstrat un efect aparent protectiv în cazul alelei *13 (93) și, în mod surprinzător *14 (81). În studiul de față, corelarea factorilor genetici a presupus și includerea alelei *13, care a prezentat o asociere negativă semnificativă statistic în lotul cu AR precece comparativ cu lotul martor din populația generală, dar și a alelei *15 cu o frecvență redusă în lotul studiat. Dacă ar fi să estimăm în funcție de cota de risc, alelele cu frecvența cea mai mică și implicit presupus protective au fost *15, *13 și *11, celelalte două aflate în clasament – *16 și *03, prezentând frecvențe similare cu cele din populația generală.

Analizând detaliat serologia pozitivă care s-a corelat global și cu alela *04, s-a observat o corelație semnificativă statistic cu anticorpii antipeptid ciclic citrulinat, în contrast cu factorul reumatoid.

O altă asociere deosebit de importantă a fost dată de indicatorul de severitate al bolii DAS28 care s-a corelat semnificativ cu principalele alele potențial conținătoare de epitop comun, dar și cu alelele *04 sau *14 în particular.

Un genotip distinct, dar din păcate insuficient ca număr de pacienți, a fost dat de pacienții de etnie asiatică ce au asociat în principal alela *04, dar și alele potențial conținătoare de epitop comun. Cea mai importantă observație a fost reflectată de rezultatele net superioare ale parametrilor de severitate a bolii, comparativ cu pacienții caucazieni, și nu în ultimul

rând titrul mare de anticorpi anti-peptid ciclic citrulinat în cadrul acestui subgrup, care vine să susțină necesitatea unor studii diferențiate ca entitate fenotipică în funcție de tiparul genetic.

CONCLUZII

Studiile genetice existente au vizat populații mici, pe eșantioane etnice variate, care trebuie integrate într-o bază de date comună. Implicarea patogenică în mecanismul imun pare să fie din ce în ce mai clară, grație definirii citrulinării proteinelor în AR.

Genotiparea alelelor HLA-DRB1 a arătat diferențe semnificative statistic atât pentru alelele potențial conținătoare de epitop comun, cât și pentru un număr mare de alte alele. Cele mai importante au fost reprezentate de frecvența semnificativ crescută a alelelor *04 și *10, dar și a celorlalte alele potențial conținătoare de epitop comun ca *01. Alela *14 a avut o frecvență comparabilă cu cea din lotul control.

Foarte importantă pare să fie distribuția generală a alelelor potențial conținătoare de epitop comun, determinându-se o frecvență mare în lotul cu artrită reumatoidă precece.

Pacienții seronegativi au avut o distribuție genetică interesantă, analiza lor relevând o frecvență crescută pentru alela *01, spre deosebire de alelele *04 sau *14, și cel mai interesant absența alelei *10.

Înțelegerea patologiei AR a evoluat și continuă să evolueze exponențial în ultimele decenii, ducând la schimbarea dramatică a designului trialurilor clinice, dar și a practicii medicale, și la o îmbunătățire a abordării pacienților, în vederea unei terapii de succes. Datele oferite de studiul nostru reprezintă o mică parte din cercetarea globală, dar un început pentru o abordare nouă locală și, de ce nu, națională.

BIBLIOGRAFIE

1. Gregersen P.K., Silver J., Winchester R.J. The shared epitope hypothesis. An approach to understanding the molecular genetics of susceptibility to rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1987; 30:1205-1213
2. Alethala D., Neogi T., Silman A.J., Funovits J. et al. 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American college of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis.* 2010 Sep; 69:1580-1588
3. Scott I.C., Seegobin S.D., Steer S. et al. Predicting the Risk of Rheumatoid Arthritis and Its Age of Onset through Modelling Genetic Risk Variants with Smoking. *PLoS Genet.* 2013 September; 9(9)
4. Ronningen K.A., Spurkland A., Egeland T. et al. Rheumatoid arthritis may be primarily associated with HLA-DR4 molecules sharing a particular sequence at residues 67-74. *Tissue Antigens* 1990; 36:235-240
5. Fries J.F., Wolfe F., Apple R. et al. HLA-DRB1 genotype associations in 793 white patients from a rheumatoid arthritis inception cohort: frequency, severity, and treatment bias. *Arthritis Rheum* 2002; 46:2320-2329
6. du Montcel S.T., Michou L., Petit-Teixeira E., Osorio J. et al. New classification of HLA-DRB1 alleles supports the shared epitope hypothesis of rheumatoid arthritis susceptibility. *Arthritis Rheum* 2005; 52:1063-1068
7. Kochi Y., Yamada R., Kobayashi K. et al. Analysis of a single-nucleotide polymorphisms in Japanese rheumatoid arthritis patients shows additional susceptibility markers besides the classic shared epitope susceptibility sequences. *Arthritis Rheum.* 2004; 50:63-71
8. van der Woude D., Benedicte A.L., Lundstrom E. et al. A meta-analysis of HLA-DRB1 associations with anti-citrullinated protein antibody-positive and anti-citrullinated protein antibody-negative

- rheumatoid arthritis in four European populations, *Arthritis Rheum* vol. 62, No. 5, 2010, 1236-1245
9. **Ligeiro D., Fonseca J.E., Abade O. et al.** Influence of human leucocyte antigen DRB1 on the susceptibility to rheumatoid arthritis and on the production of anti cyclic citrullinated peptide antibodies in a Portuguese population *Ann Rheum Dis.* 2007 February; 66:246-248
 10. **van der Helm-van Mil A.H., Verpoort K.N., Breedveld F. et al.** The HLA-DRB1 shared epitope alleles are primarily a risk factor for anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and are not an independent risk factor for development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2006; 54:1117-1121
 11. **Klareskog L., Stolt P., Lundberg K. et al.** A new model for an etiology of rheumatoid arthritis: smoking may trigger HLA-DR (shared epitope)-restricted immune reactions to autoantigens modified by citrullination. *Arthritis Rheum* 2006; 54:38-46
 12. **Uçar F., Çapkin E., Karkucak M., Yücel B. et al.** Associations of HLA-DRB1 alleles with anti-citrullinated protein antibody positive and anti-citrullinated protein negative rheumatoid arthritis in northern east part of Turkey. *Int J Rheum Dis.* 2012 Dec; 15(6):538-545
 13. **van der Helm-van Mil A.H., Huizinga T.W., Schreuder G.M. et al.** An independent role of protective HLA class II alleles in rheumatoid arthritis severity and susceptibility. *Arthritis Rheum* 2005; 52:2637-2644
 14. **Ambreen Gul Muazzam, Atika Mansoor, Lubna Ali et al.** Association of HLA-DRB1 and -DQB1 alleles and haplotypes with rheumatoid arthritis in a Pakistani population. *Arthritis Res Ther* 2013, 15:R95