

UNIVERSITATEA “OVIDIUS” DIN CONSTANTA

SCOALA DOCTORALA DE MEDICINĂ

DOMENIUL DE DOCTORAT MEDICINĂ

TEZA DE DOCTORAT

**CONSIDERAȚII ASUPRA
DIAGNOSTICULUI PRECOCE
AL
ARTRITEI REUMATOIDE**

- REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT -

Conducator de doctorat
Prof.univ.dr. ȘUȚA MARIA

Doctorand
PAZARA D. (HANZU-PAZARA) LOREDANA

CONSTANȚA, 2014

CUPRINS

INTRODUCERE

PARTEA I - STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

CAPITOLUL I

1. Aspecte epidemiologice	11
---------------------------------	----

CAPITOLUL II

2. Aspecte etiologice ale artritei reumatoide.....	15
2.1. Susceptibilitatea genetică.....	15
2.1.1. HLA în asocierea cu artrita reumatoidă.....	15
2.1.1.1. Sistemul HLA, metode de tipare și nomenclatură.....	16
2.1.1.2. Asocierea antigenelor HLA de clasă II cu artrita reumatoidă.....	18
2.1.1.2.1. Alele individuale și epitopul comun.....	19
2.1.1.2.2. Asocieri cu diferite grupuri etnice.....	22
2.1.1.2.3. Asocierea cu severitatea artritei reumatoide.....	24
2.1.1.2.4. Implicații patogenice ale epitopului comun.....	25
2.1.2. Alte potențiale genetice de susceptibilitate pentru artrita reumatoidă.....	27
2.1.3. Utilitatea clinică a markerilor genetici.....	30
2.1.3.1. Implicații asupra diagnosticului și screening-ului artritei reumatoide.....	30
2.1.3.2. Evaluarea prognosticului artritei reumatoide.....	31
2.1.3.3. Evaluarea răspunsului la tratament.....	31
2.2. Factori biologici și de mediu.....	32
2.2.1. Factorii hormonală.....	32
2.2.2. Fumatul.....	33
2.2.3. Agenții infecțioși.....	34
2.2.4. Superantigenele.....	35
2.2.5. Auto anticorpii.....	36
2.2.6. Expunerea la noxe profesionale.....	36

CAPITOLUL III

3. Aspecte patogenice și markeri biologici în diagnosticul artritei reumatoide precoce	37
3.1. Mecanisme imune în artrita reumatoidă.....	37
3.2. Citokine implicate în răspunsul inflamator din artrita reumatoidă.....	40
3.3. Markerii biologici.....	42

CAPITOLUL IV

4. Aspecte clinico-diagnostice ale artritei reumatoide precoce.....	47
4.1. Manifestări clinice ale artritei reumatoide.....	47
4.1.1. Manifestări articulare.....	48
4.1.2. Manifestări extra-articulare.....	52
4.2. Criterii de diagnostic pentru artrita reumatoidă.....	61
4.3. Criterii de clasificare pentru artrita reumatoidă.....	65
4.3.1. Criteriile de clasificare ACR1987.....	65
4.3.2. Criteriile de clasificare ACR/EULAR 2010.....	67

BIBLIOGRAFIE PARTEA I.....	71
----------------------------	----

PARTEA a II - a - CONTRIBUȚII PERSONALE

CAPITOLUL V

5. Direcțiile de cercetare și obiectivele studiului.....	89
5.1. Obiectivele studiului I	90
5.2. Obiectivele studiului II	91

CAPITOLUL VI

6. Material și metodă	93
6.1. Evaluarea caracteristicilor clinico-statutare ale loturilor de studiu.....	93
6.2. Evaluarea imagistică.....	96
6.3. Analiza genetică	100
6.4. Analiza statistică	104

CAPITOLUL VII

7. Rezultate	107
7.1. Rezultate studiu I	107
7.2. Rezultate studiu II	126

CAPITOLUL VIII

8. Discuții	145
8.1. Discuții studiul I	145
8.2. Discuții studiul II	160

CAPITOLUL IX

9. Concluzii	169
--------------------	-----

BIBLIOGRAFIE PARTEA aIIa.....	175
-------------------------------	-----

ANEXE.....	183
------------	-----

INTRODUCERE

Artrita reumatoidă (AR) reprezintă o patologie care a afectat omul încă din atichitate, în ciuda faptului că a atins apogeul de incidență abia în ultimele secole. Garrod a fost primul care făcut diferența între AR și alte patologii reumatismale ca guta sau reumatismul articular acut. Actualmente, atât incidența, cât și severitatea AR sunt în scădere.

Deși cauzele de apariție a AR rămân încă necunoscute pe deplin, au fost identificați mai mulți vinovați posibili. Elemente etiologice importante au fost aduse de selectarea unor caracteristici unice în cadrul populațiilor predispuse la AR. La apariția AR contribuie, în proporții diferite, alături de factorii de mediu, factorii hormonal, genetici, infecțioși, ca și o serie întreagă de alte variabile.

Grație noilor metode de diagnostic și variante terapeutice, numărul pacienților în stadii avansate, invalidante de boală, s-a redus în ultima vreme. Poate cel mai important element pentru continuarea realizării acestui deziderat îl reprezintă stabilirea unui diagnostic complex, complet și cât mai rapid, care să permită instituirea unei terapii optime și o urmărire eficientă a evoluției sub tratament. Scopul medicului devine obținerea unei remisiuni, și chiar vindecarea.

Motivația principală a cercetării de față este dată pe de-o parte de incidența încă mare a artritei reumatoide, care astăzi beneficiază de posibilități terapeutice moderne foarte eficiente în fazele precoce, și pe de altă parte de revoluția cunoașterii, pe baze solide de cercetare, în ceea ce privește analiza genotipică a acestor pacienți. Noile criterii ACR/EULAR 2010 au fost concepute pentru a putea clasifica formele precoce de boală care să permită studiul amanunțit al acestui grup de pacienți, mai ales pentru identificarea cazurilor cu risc crescut de afectare persistentă și distructivă ce ar putea beneficia de terapii cu droguri modificatoare de boală.

Diagnosticul are actualmente șansa de a depăși limita criteriilor clinice și radiologice convenționale, care evidențiază modificări suficiente în stadiile tardive ale bolii, pierzând timp în instituirea terapiilor noi, modificatoare de boală și biologice. „Toate-s noi și vechi sunt toate”, spunea Eminescu definind un adevăr absolut, aplicabil și în cazul investigării etiopatogenice a artritei reumatoide, care deși a reprezentat obiectivul a sute de studii internaționale, continuă să suscite un interes deosebit în lumea medicală. Este necesară o viziune nouă, integrată, care să aducă datele rezultate în urma cercetării fundamentale în mâna clinicianului, ca unealtă optimă pentru diagnosticarea, tratarea și prevenirea bolii. Un management optim nu mai este un deziderat ideal, iar calitatea vieții pacienților cu acest tip de patologie poate fi îmbunătățită prin stabilirea unui diagnostic clinico-genetico-biochimico-imagistic, care va permite o integrare mai bună a pacienților și o reducere globală a costurilor pentru sănătate.

Alături de cele descrise mai sus, lipsa studiilor naționale care să ofere un pattern genotipic al pacientului cu artrită reumatoidă și accesul la metodele moderne de investigație biologică și imagistică, au stat la baza inițierii acestui studiu.

CONTRIBUȚII PERSONALE

Cea de-a doua parte, partea specială, cuprinde două mari direcții de cercetare, centralizate sub forma a două studii:

- analiza comparativă a criteriilor de clasificare clasice ACR 1987 și a criteriilor noi, moderne ACR/EULAR 2010 în stransă corelație cu markerii clinico-biologici și imagistici, și
- aportul adus de factorul genetic la îmbunătățirea diagnosticului și evaluarea prognosticului artritei reumatoide precoce, prin analiza corelată cu markerii clinico-biologici și imagistici în evaluarea pacienților.

5.1. Obiectivele studiului I

Studiul I își propune o analiză amănunțită a criteriilor de clasificare folosite în cercetarea clinică a artritei reumatoide existente, aplicate pacienților cu artrită reumatoidă precoce, implicând varianta clasică, bine cunoscută și cercetată, definită prin criteriile de clasificare ACR 1987, dar mai ales cea modernă ACR/EULAR 2010 care permite includerea timpurie, înainte de apariția modificărilor structurale la nivel articular, a pacienților, în stransă corelare cu markeri biologici și imagistici.

Elementul principal de noutate este analiza comparativă a criteriilor din cele două clasificări, cu evidențierea celor mai semnificativ corelate cu elementele de severitate a bolii, având în vedere un background impresionant pentru primele, dar și nevoia de ajustare a dovezilor științifice la noua clasificare.

Obiectivele principale sunt reprezentate de:

1. Descrierea caracteristicilor populației disponibile în termeni de vârstă, sex, mediul de proveniență, perioada de la debutul simptomatologiei și diagnosticul final de etapă, stabilit în urma coroborării datelor clinice cu cele biochimice și imagistice; analiza factorilor asociați, a antecedentelor heredocolaterale și a patologiilor asociate diagnosticului principal;
2. Analiza parametrilor indicatori de activitate a bolii, definirea ariilor articulare principal afectate, analiza directă și comparativă a modificărilor radiologice și ultrasonografice articulare;
3. Analiza criteriilor variabile folosite pentru clasificarea pacienților cu artrită reumatoidă precoce, necesare în diagnosticarea pacienților, coroborate cu datele biochimice, și secundar, stabilirea unor corelații între criteriile de clasificare clasice și cele noi, în corelație cu parametri urmăriți prin examinările biochimice, radiologice și ultrasonografice.

5.2. Obiectivele studiului II

Este departe ideea folosirii datelor genetice în diagnosticarea directă a AR. 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. 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 ca un simplu model în toate grupurile de pacienți. Dacă în cazul spondilitei anchilozante, asocierea cu alela HLA-B27 a dovedit un success remarcabil în definirea bolii,

varietatea foarte mare alelică în cazul AR face ca acest subiect să rămână deschis și aduce încă corelări nebănuite. Mai mult decât atât, studiile 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.

Elementul de noutate al lucrării noastre este dat de lipsa datelor naționale referitoare la susceptibilitatea genetică oferită de portajul diferitelor alele HLA-DRB1 în grupurile etnice din România, fapt datorat în mare parte costurilor ridicate date de genotipare. Aceasta se adaugă unei viziuni proprii, care încearcă să asocieze manifestarea fenotipică dată de caracteristicile principale ale bolii, definite prin criteriile de clasificare folosite în cercetare, cu fondul genotipic.

Prin urmare, obiectivele principale ale studiului II sunt reprezentate de:

1. Descrierea caracteristicilor genetice exprimate de tipajul HLA-DRB1 la pacienții cu artrită reumatoidă precoce comparative cu un lot control din populația generală (ajustat în funcție de caracterele demografice) și în corelație cu datele clinice, biochimice și imagistice; analiza coroborată cu factorii asociați și cu parametrii indicatori de activitate a bolii;
2. Analiza asocierilor componente genetice cu fiecare dintre criteriile de clasificare clasice și noi (ACR 1987 și ACR/EULAR 2010, și secundar, stabilirea unor corelații între factorul genetic și instituirea terapiilor modificatoare de boală, cu focalizare pe potențialele efecte adverse ale tratamentului.

MATERIALUL ȘI METODA DE CERCETARE

Pentru realizarea cercetării și pentru satisfacerea obiectivelor propuse am selectat un lot de 50 de pacienți diagnosticați cu artrita reumatoidă precoce conform criteriilor de clasificare ACR/EULAR 2010. Cercetarea a inclus pacienții aflați în evaluare în Clinica de Reumatologie a Spitalului Clinic Județean de Urgență Constanța, respectiv clinica ambulatorie a Centrului Medical IOWEMED, Constanța. Suplimentar, pentru realizarea Studiului II, a fost selectat un lot de referință din mediul extraspitalicesc în număr de 83 subiecți, cu vârstă și sex comparabile cu grupul de studiu de bază.

Diagnosticul de AR a fost definit pe baza criteriilor de clasificare ACR/EULAR 2010, luând în considerare afectarea articulară, serologia, reacției de fază acută și durata simptomelor. Toți pacienții au îndeplinit un scor ≥ 6 .

Menționăm faptul că pentru grupul de studiu s-au aplicat în paralel și criteriile de clasificare ACR 1987. 60% din pacienții incluși în studiu au îndeplinit criteriile ACR 1987 cu criterii de boala activă = ≥ 6 art dureroase + redoare matinală $>45'$.

Pentru fiecare dintre pacienți s-a făcut o anchetă amanunțită a afecțiunilor heredocolaterale, cu focalizarea pe afecțiunile reumatismale musculo-scheletale și a celor cu patogenie auto-imună, de asemenea a antecedentelor patologice și afecțiunilor asociate/concomitente (boli cardio-vasculare, boli metabolice, boli tiroidiene, boli digestive, boli genito-urinare, boli obstructive pulmonare, boli neurologice și în mod particular portajul de virus hepatitic B). Nu mai puțin importantă a fost acordată statusului de fumător/fost fumător/nefumător și mediului de proveniență urban/rural.

O atenție deosebită a fost acordată evaluării manifestărilor extra-articulare care implică alte sisteme și organe. Evaluarea lor s-a făcut pe baza consulturilor interdisciplinare și examenelor paraclinice.

Evaluarea imunologică a presupus detectarea FR prin metoda latex-imunoturbidimetrică cu valoare de referință $<14\text{UI/mL}$, și a anticorpilor anti-CCP prin metoda imunoenzimatică cu detecție prin fluorescență (FEIA) cu valori de referință $<7\text{UI/mL}$ – negativ, $7-10\text{UI/mL}$ – echivoc, $>10\text{UI/mL}$ pozitiv.

Atât pacienții, cât și candidații din lotul control au semnat formularul de consimțământ informat la înrolarea în studiu, după explicarea detaliată a obiectivelor și procedurilor medicale. Cu excepția analizei genetice, toate procedurile efectuate sunt uzuale în România. Pentru această investigație, pacienții diagnosticați cu AR precoce au semnat un formular separat de informare și consimțământ asupra prelevării probelor (anexa 1). Conform reglementărilor, materialul genetic izolat a fost distrus după efectuarea analizelor. Rezultatele analizelor au fost puse la dispoziția pacientului (anexa 2).

Pentru evaluarea imagistică a sinovitei și a modificărilor structurale articulare s-au folosit radiografia standard pentru mâini și/sau alte arii articulare (urmărindu-se osteoporoza juxtaarticulară, eroziuni sau echivalent, anchiloze, deformări), ultrasonografia și/sau rezonanța magnetică. 35 de pacienți au efectuat radiografie convențională, 23 ecografie musculoscheletala și unul singur rezonanță magnetică pentru documentarea afectării articulare. Costurile net inferioare ale primelor două tipuri de investigare imagistică au dus la un raport atât de scăzut pentru rezonanța magnetică.

Pentru determinarea parametrilor genetici necesari studiului II, mai exact pentru determinarea tipului de alele HLA DRB1, am folosit kituri SSP HLA-READY GENE DR low (INNO-TRAIN Diagnostik GmbH, Germany, via BIO SUPPLY S.R.L., București, România) (Anexa 4 și anexa 5), iar pentru subgrupurile de alele, kituri HLA high resolution PROTRANS (Protrans medizinische diagnostische Produkte GmbH, Germany via BIO SUPPLY S.R.L., București, România), mai precis pentru subgrupurile HLA-DRB1*04 (cu specificități de la DRB1*04:01 la *04:98, cu 31 de combinații de primeri). Pentru izolarea materialului genetic (AND) s-au folosit kituri Ready-DNA Isolation Spin (INNO-TRAIN Diagnostik GmbH, Germany, via BIO SUPPLY S.R.L., București, România). Probele de sânge au fost recoltate în flacoane conținând EDTA, și nu heparină – pentru a nu inhiba amplificarea), după semnarea prealabilă a acordului pacientului conform procedurii de lucru în laboratorul de genetică al Facultății de Medicină, Universitatea “OVIDIUS” din Constanța.

Software-ul pentru analiză a fost pus la dispoziție de producător la un loc cu kitul de evaluare, oferind posibilitatea analizei individuale, personalizate a fiecărei probe. Înregistrarea probelor în soft s-a făcut în conformitate cu protocolul de confidențialitate al laboratorului.

În cadrul analizei statistice, datele obținute pentru loturile studiate au servit la completarea unei baze de date utilizând programul SPSS v. 20.0. Pentru interpretarea testelor a fost considerată semnificativă statistic orice valoare a p sub 0,05 calculată de soft, relevând asocieri între variabilele correlate.

REZULTATE

Rezultate studiu I

Caracteristicile demografice ale pacienților cu artrită reumatoidă precoce înrolați în studiu sunt sumarizate în tabelul VIII.

Tabelul VIII. Caracteristici demografice și biologice la pacienții cu AR precoce

Caracteristici demografice si biologice	No. = 50
Vârsta, media +/- SD (ani)	58.54 ±12.223
Debut <3 luni (nr., %)	22 (44%)
Debut <12 luni	42 (84%)
Debut <36 luni	50 (100%)
Bărbați (nr., %)	10 (20%)
Femei (nr., %)	40 (80%)
Raport femei:bărbați	4:1
Mediu de proveniență urban/rural	37 (74%) / 13 (26%)
Scor ACR/EULAR2010 (media)	7.24 ± 1.422
FR pozitiv	34 (68%)
FR media +/-SD (UI/mL)	128.71 ± 158.474
AntiCCP pozitiv	26 (52% din nr total) (57,77% din cei 45 care au efectuat analiza)
AntiCCP media +/-SD (UI/mL)	155.9 ± 175,044
Fumători (nr., %)	23 (46%)
Fumători/nefumători (ratio)	23/27 (0,85)
Heterozigoti / homozigoti HLA-DRB1	45/5

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% din pacienți provin din orașe).

Ponderea fumătorilor a fost relativ asemănătoare, determinând un raport de 0.85 în defavoarea fumătorilor (numai 46% dintre pacienți au fost fumători). Statusul de fumător/nefumător s-a corelat semnificativ statistic cu mediul de proveniență ($p = 0.030$), cei mai mulți fumători provenind din mediul urban (Tabelul IX).

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. Astfel, ponderea pacienților seropozitivi cu AR precoce a atins o valoare de 78%.

Nu s-a evidențiat o corelație semnificativă statistic a prezenței anticorpilor anti-peptid ciclic citrulinat cu fumatul ($p = 0.841$) sau a pozitivității pentru factorul reumatoid cu fumatul ($p = 0.113$), antiCCP fiind prezenți în proporții egale la pacienții fumători, cât și la nefumători (tabelul X). FR a arătat o evoluție asemănătoare, cu o ușoară pondere mai ridicată în rândul nefumătorilor (tabelul XI).

Tabelul X. Corelarea prezenței anticorpilor anti-peptid ciclic citrulinat cu statusul de fumător/nefumător

	Fumători	Nefumători
<i>AntiCCP prezent</i>	12	13
<i>AntiCCP absent</i>	9	11
$p = 0.841$		

Odds ratio 1.1282

95 % CI 0.3468 to 3.6705

- 5 pacienți nu au efectuat antiCCP

Tabelul XI. Corelarea prezenței factorului reumatoid cu statusul de fumător/nefumător

	Fumători	Nefumători
<i>FR prezent</i>	13	21
<i>FR absent</i>	10	6
$p = 0.113$		

Odds ratio 0.3714

95 % CI 0.1090 to 1.2656

Cea mai importantă corelație în cadrul analizei caracteristicilor demografice a fost cea care a vizat statusul de seropozitiv/seronegativ pentru antiCCP și FR. AntiCCP s-au corelat semnificativ statistic cu factorul reumatoid – $p = 0.008$ (tabelul XII). Numai 11 pacienți au fost seronegativi pentru ambii anticorpi.

Tabelul XII. Corelarea prezentei factorului reumatoid cu prezenta de anticorpi anti-peptid ciclic citrulinat

	AntiCCP +	AntiCCP -
<i>FR prezent</i>	21	9
<i>FR absent</i>	4	11
p= 0.008		

*(5 pacienți nu au efectuat anti CCP)

Odds ratio 6.4167

95 % CI 1.6056 to 25.6445

Mediul de proveniență nu aratat o asociere semnificativă statistic nici cu prezența factorului reumatoid ($p = 0.423$), nici cu prezența anticorpilor anti-peptid ciclic citrulinat ($p = 0.938$) (Tabelul XIII).

Tabelul XIII. Corelarea mediului de proveniență cu prezența anticorpilor anti-peptid ciclic citrulinat

	AntiCCP +	AntiCCP -
<i>Mediul urban</i>	19	15
<i>Mediul rural</i>	6	5
p= 0.938		

Odds ratio 1.0556

95 % CI 0.2692 to 4.1388

Studiul nostru a arătat neta diferență între gradul ridicat de activitate al bolii la bărbații cu un debut sub 3 luni comparativ cu cei care s-au prezentat ulterior (anexa7).

Tabelul XIV. Caracteristici demografice și biologice la pacienți cu artrită reumatoidă precoce grupați pe sexe

Caracteristici demografice si biologice	Bărbați Nr. = 10 (20%)	Femei Nr. = 40 (80%)
Vârsta, media +/- SD (ani)	62.40 ±12.859	57,25±11.833
Mediu de proveniență urban/rural	7/3	30/10
Scor ACR/EULAR2010 (media)	7.50 ± 1.354	7.27 ± 1.501
FR pozitiv	6 (60%)	29 (72,50% din nr.)
FR media +/-SD (UI/mL)	128.60 ± 231,168	128,69±138.681
AntiCCP pozitiv	5 (50% din nr.) (11,11% din nr total care au efectuat analiza)	21 (58,33% din nr.) (46,66% din nr total care au efectuat analiza)
AntiCCP media +/-SD (UI/mL)	157.65 ± 181.529	141,07±176.030
Fumători (nr., %)	8 (80%)	15 (37,50%)
Fumători/nefumători (ratio)	8/2 (4)	15/25 (0,6)
VSH media +/-SD (mm/h)	49,50±24.99	46,62±25.045
PCR media +/-SD (UI/mL)	5,88±3.255	2,84±3.438
DAS 28– Media totală (min-max)	6.646±0,892	6,170±0.9916

Media FR a fost practic similară la femeii, comparative cu bărbații, spre deosebire de media anticorpilor antiCCP care a fost net superioară la bărbați (tabelul XIV). Interesante au fost valorile reactanților de fază acută net superioare la bărbați comparative cu femeile.

Tabelul XV. Corelarea prezenței anticorpilor antiCCP cu sexul pacientilor

	Femei	Bărbați
<i>antiCCP prezent</i>	21	5
<i>antiCCP absent</i>	19	4
p= 0,868		

Odds ratio 0.8842
95 % CI 0.2066 to 3.7842

- 4 femei nu au efectuat antiCCP; 1 bărbat nu a efectuat antiCCP

Tabelul XVI. Corelarea prezenței FR cu sexul pacienților

	Femei	Bărbați
<i>FR prezent</i>	29	7
<i>FR absent</i>	11	3
	p= 0.874	

Odds ratio	1,129
95 % CI	0.2471 to 5.1671

Corelațiile între prezența diferitelor tipuri de anticorpi și sexul pacienților (tabelele XV și XVI), nu au fost semnificative din punct de vedere statistic, chiar dacă au existat diferențe notabile între cele două subgrupuri separate pe sexe (tabelul XIV) în privința seropozitivității pentru anticorpi.

Astfel, 40% dintre bărbați au fost seropozitivi pentru FR, comparativ cu numai 27,50% dintre femei. Pentru anticorpii antiCCP, dacă în cazul bărbaților ponderea seropozitivilor a fost egală cu cea a seronegativilor, la femei s-a observat un procent mai mic de 41,66%.

80% dintre bărbați au fost fumători și numai 37,50% dintre femei au fost fumătoare.

Statusul de fumător nu s-a corelat semnificativ statistic în subgrupuri divizate pe sexe cu FR sau anticorpii antiCCP, chiar dacă după cum se poate observa în figura 23, femeile nefumătoare au fost mai mult seropozitive pentru FR ($p = 0,523$; $OR = 0.63$; $95\%CI = 0.15-2,59$). În mod contrar în cazul bărbaților, fumătorii au fost mai mult seronegativi, dar și în acest caz insuficient statistic, foarte probabil datorită numărului redus ($p = 0,223$; $OR = 0.12$; $95\%CI = 0.004$ to $3,51$). Anticorpii antiCCP au avut o evoluție asemănătoare (figura 25).

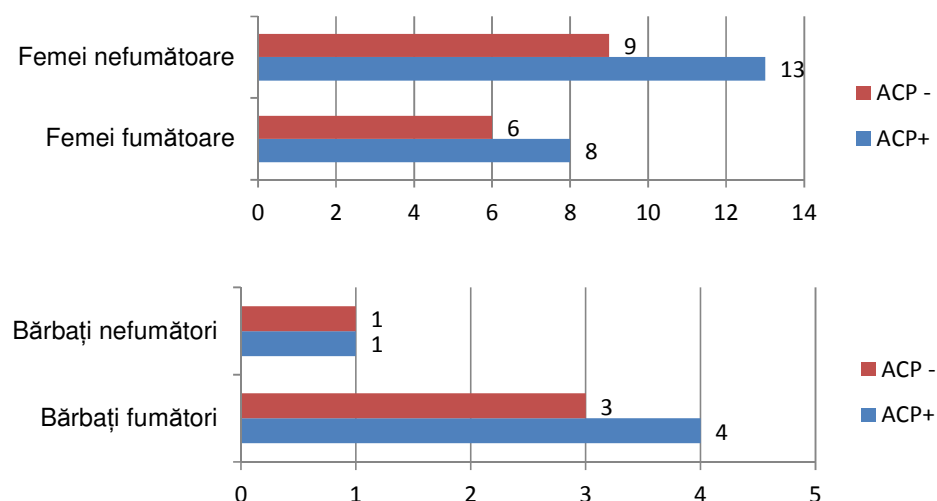


Figura 25. Corelații ale seropozitivității pentru ACP cu statusul de fumător divizate în funcție de sex
(ACP – anticorpi antiCCP)

În general, serologia nu s-a corelat semnificativ statistic cu sexul pacienților (pentru FR – $p = 0,874$, respectiv pentru antiCCP – $p = 0,868$).

Mai mult decât atât, mai bine de jumătate din pacienții de sex masculin au fost pozitivi fie pentru FR, fie pentru anticorpii anti-CCP, iar 40 % fiind sero-negativi comparativ cu procentul de 22% per lot total, arătând un status aparte comparativ cu cei de sex feminin. 80% dintre bărbații cu AR precoce au fost fumători, fiind într-un procent de 50% pozitivi pentru anti-CCP, și 70% pozitivi pentru FR. Este interesant titrul de anticorpi, care pare să urmărească paralel titrurile demonstrate în analiza generală a lotului de pacienți cu AR precoce, mai exact 128,6 UI/mL pentru FR (comparativ cu 128,71 UI/mL în lotul general) și de 157,65 UI/mL pentru anti-CCP (comparativ cu 155,9 UI/mL în lotul general).

Prezența anticorpilor a fost discret mai crescută la femei comparativ cu bărbații – 72,50% pentru FR, iar antiCCP într-o proporție de 58,33%.

80 % dintre pacienți nu au menționat în cadrul analizei anamnestice antecedente heredocolaterale de afectare reumatismală sau colagenoze, spre deosebire de 14% care au avut cazuri de artrită reumatoidă la rudele de gradul I (mama, tatăl, sora/frate) și numai 6% cu alte colagenoze la frați (în special psoriazis).

Dintre bolile asociate cu AR la pacienții studiați, s-au evidențiat în mod deosebit afecțiunile cardio-vasculare și endocrine, și într-o proporție mai mică cele genito-urinare (figura 27).

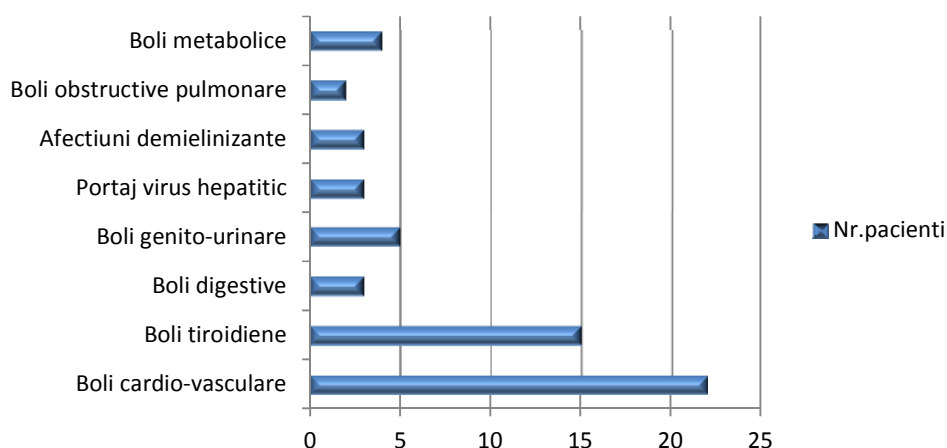


Figura 27. Distribuția bolilor asociate AR în lotul studiat

Sindromul biologic de inflamație a evidențiat într-un procent de 34% leucocitoza, iar viteza de sedimentare a hematiilor a avut o medie de 46.28 mm/h +/- 25.059 și proteina C reactiva de 3.28 UI/mL +/- 3.454. Alături de acestea, sunt sumarizate în tabelul XVII valorile VAS (scala vizuală analogă) cu medie totală de 67,9, dar și DAS 28 cu o medie totală de 6.25 și o deviație standard foarte apropiată de 1 (0.957), demonstrând un procent de 88% pacienți cu AR precoce înalt activă, spre deosebire de formele moderat și slab active.

Tabelul XVII. Parametrii indicatori de activitate a bolii la pacienții cu AR precoce

Parametrii		No. = 50
Nr. art. dureroase – Media totală (min-max)		17.96 ± 11.514 (min 3- max 47)
Nr. art. tumefiate – Media totală (min-max)		7.32 ± 6.384 (min 1- max 34)
VAS – Media totală (min-max)		67.90 ± 16.228 (min 40- max 100)
DAS 28– Media totală (min-max)		6.251 ± 0.957 (min 4.22- max 8.21)
Inalt active: >5.1 (nr. - pondere)		44 (88%)
Moderat active: 3.2-5.1 (nr. - pondere)		6 (12%)
Manifestari extraart. total (nr. - pondere)		15 (30%)
Tipul manif extraarticulare (nr. – pondere din totalul pac cu AR precoce)	Anemie cr.simpla	9 (18%) (45% din manif.extraarticulare)
	Afectare pulm.	4 (8%) (20% din manif.extraarticulare)
	Sdr.canal carpian	4 (8%) (20% din manif.extraarticulare)
	altele	3 (6%) (15% din manif.extraarticulare)
VSH media +/-SD (mm/h)		46.28 ± 25.059
PCR media +/-SD (UI/mL)		3.28 ± 3.454

Manifestările extraarticulare au însoțit un procent de 30% (Figura 28) din totalul pacienților cu AR precoce, din care ponderea cea mai mare a avut-o anemia cronică simplă, spre deosebire de celelalte manifestări extraarticulare ca sindromul de canal carpian și afectarea pulmonară. (tabelul XVII).

În cazul subgrupului cu manifestări extraarticulare, factorul reumatoid a fost pozitiv la 66,66% (aproape similar cu cel din lotul general), dar cu o valoare medie măsurată de 169,28 UI/mL. Mai mult decât atât, chiar dacă în mod convergent, procentul seropozitivilor pentru anti-peptid ciclic citrulinat cu manifestări extraarticulare a fost de 53,33%, valoarea medie măsurată de 225 UI/mL a fost net superioară.

Numărul de articulații dureroase a avut o medie de 17.96, cu un minim de 3 și un maxim de 47 de articulații implicate, iar numărul de articulații tumefiate a însumat o medie de 7.32 +/- 6.384.

În ceea ce privește distribuția ariilor articulare, s-au evidențiat net ca și principale articulații dureroase metacarpofalangienele, interfalangienele proximale, aria radiocubitocarpiană, dar și cea a genunchilor, iar ca principale arii articulare tumefiate se distanțează net articulația radiocubitocarpiană și metacarpofalangienele.

Investigarea imagistică a pacienților cu AR precoce a permis evidențierea modificărilor structurale articulare prin intermediul radiografiei și a ecografiei articulare. Principalele modificări radiologice sunt prezentate în tabelul XVIII, observându-se o prezență în totalul pacienților cu AR precoce de 20 % a osteoporozei juxtaarticulare, care reprezintă în fapt un procent 28.57% din cei 35 de pacienți care au efectuat investigația. În proporții mai mici, de 22.85% și respectiv 8.57% din pacienții radiografiați, au putut fi relevate modificările erozive și deformările articulare. Ce este important de observat, este raportul net favorabil pacienților seropozitivi în ceea ce privește prezența modificărilor radiologice (un raport de 16/5 – 3.2 pacienți seropozitivi față de seronegativi cu modificări radiologice), chiar dacă fiecare tip de serologie luată în parte nu s-au corelat semnificativ statistic cu modificările radiologice ($p = 0.719$ pentru antiCCP și $p = 0.999$ pentru FR).

Tabelul XVIII. Caracteristicile modificărilor radiologice la pacienții cu AR precoce

Modificari radiologice	Nr. = 35 pacienți care au efectuat Rx
Raportul pacienți cu modificari/pacienți fără modificări radiologice	21:14 (1.5)
Eroziuni/geode (nr., %)	8 (16% din 50, 22.85% din cei 35 care au Rx)
Osteoporoza juxtaarticulară (nr., %)	10 (20% din 50, 28.57% din cei 35 care au Rx)
Luxații/deformări articulare (nr., %)	3 (6% din 50, 8.57% din cei 35 care au Rx)
Raportul sero+/sero- cu modificări radiologice	16/5 (3.2)

A fost observată o pondere mai mare a nefumătorilor cu modificări radiologice, chiar dacă diferențele nu au fost semnificative statistic între pacienții fumători cu modificări radiologice comparative cu nefumătorii ($p = 0.487$) (tabelul XIX).

Tabelul XIX. Corelarea modificărilor radiologice cu statusul de fumător/nefumător

	Fumători cu Rx efectuat	Nefumători cu Rx efectuat
Modificări Rx	6	11
Fără modificări Rx	8	9
$p = 0.487$		

Odds ratio 0.6136

95 % CI 0.1548 to 2.4322

Nu s-a evidențiat același raport în privința modificărilor articulare decelabile echografice (tabelul XX). Raportul pacienților seropozitivi/seronegativi cu modificări echografice indiferent de aria examinată a fost de numai 1.22 (11/9) și s-a păstrat în aceleași limite 1-1.28 și la analiza separată a ariilor articulare. 82.6% din totalul pacienților care au efectuat examen echografic pentru diferite grupe articulare au prezentat efuziuni/proliferări sinoviale (93.8% din cei care au efectuat echografie mâini și 57.14% din cei cu echografia altor grupe articulare), 69.56% au prezentat tendinită/tenosinovită/rupturi de tendoane (87.5% din cei care au efectuat echografie mâini și 28.57% din cei cu echografia altor grupe articulare), și numai 4.34% au prezentat eroziuni osoase decelabile (6.3% din cei care au efectuat echografie mâini).

Tabelul XX. Caracteristicile modificărilor echografice la pacienții cu AR precoce

Modificări echografice la articulațiilor mîinilor	Nr. = 16 pacienți cu echo mîini
Efuziuni/proliferare sinovială (nr., %)	15 (30% din 50, 93.8% din cei 16 care au echo)
Tendinită/tenosinovită/ruptură tendon (nr.,%)	14 (28% din 50, 87.5% din cei 16 care au echo)
Eroziuni (nr., %)	1 (2% din 50, 6.3% din cei 16 care au echo)
Raportul sero+/sero- cu modificări echo mîini	9/7 (1.28)
Modificări echografice alte arii articulare	Nr. = 7 pacienți cu echo alte arii articulare
Efuziuni/proliferare sinovială (nr., %)	4 (8% din 50, 57.14% din cei 7 care au echo)
Tendinită/tenosinovită/ruptură tendon (nr.,%)	2 (4% din 50, 28.57% din cei 7 care au echo)

Eroziuni (nr., %)	0
Raportul sero+/sero- cu modificări echo alte arii articulare	2/2 (1)
Modificări echografice articulare per total (articulații mîini și alte arii articulare)	No. = 23 pacienți cu echo
Raportul pacienți cu modificări/pacienți fără modificări echo	20:3 (6.66)
Efuziuni/proliferare sinovială (nr., %)	19 (38% din 50, 82.6% din cei 23 care au efectuat echo)
Tendinită/tenosinovită/ruptură tendon (nr.,%)	16 (32% din 50, 69.56% din cei 23 care au efectuat echo)
Eroziuni (nr., %)	1(2% din 50, 4.34% din cei 23 care au echo)
Raportul sero+/sero- cu modificări echo total	11/9 (1.22)

AntiCCP cu modif. Echo: p=0.096; FR cu modif Echo: p=0.230

Anticorpii antiptid ciclic citrulinat s-au corelat mai bine cu modificările echografice decât factorul reumatoid, dar totuși insuficient statistic ($p = 0.096$ pentru antiCCP, comparativ cu 0.230 pentru FR).

Raportul total al pacienților cu modificări echografice / fără modificări echografice a fost net superior celui prezent pentru modificările radiologice (6.66 față de 1.5).

Analiza criteriilor variabile folosite pentru clasificarea artritei reumatoide este prezentată comparativ în tabelul XXI. Criteriile ACR 1987 au fost îndeplinite într-un procent de 60%, comparativ cu cele ACR/EULAR 2010 de 100%. Trebuie făcută mențiunea că acest lucru nu este surprinzător, deoarece criteriile de includere în studiu au fost foarte stricte în ceea ce privește diagnosticul diferențial cu alte artropatii.

Interesantă a fost calcularea frecvenței fiecărui criteriu care a evidențiat proporții egale ($\approx 90\%$) pentru criteriile 1 și 3 (artrita la cel puțin 3 articulații și artrita mîinilor) din criteriile de clasificare ACR 1987 și criteriul C (reactanții de fază acută) din cadrul criteriilor de clasificare ACR/EULAR 2010.

În ceea ce privește criteriile ACR 1987 la pacienții cu AR precoce, tabloul a fost dominat net de artrita mîinilor, simetrie, redoare matinală și FR pozitiv. Cele mai puțin frecvent îndeplinite criterii au fost reprezentate de modificările radiologice specifice și nodulii reumatoizi (18% și respectiv, 2%). Intralot, s-au corelat foarte bine simetria articulară cu afectarea a cel puțin 3 articulații.

Analiza criteriilor de clasificare ACR/EULAR 2010 a evidențiat un punctaj total de 7.34 (practic sinonim cu un diagnostic pozitiv de AR pentru toți pacienții); 40% dintre aceștia au prezentat cel puțin 10 articulații afectate, 56% titruri mari pentru FR sau antiCCP, 92% un sindrom biologic de inflamație caracterizat de VSH sau PCR crescute și 84% o persistență a simptomelor peste 6 săptămâni (tabelul XXI).

Tabelul XXI. Analiza criteriilor de clasificare ACR 1987 vs. ACR/Eular 2010

Criterii de clasificare ACR 1987		Criterii de clasificare ACR/EULAR 2010	
Criterii îndeplinite per total (nr.%)	30 (60%)	Criterii îndeplinite per total (nr.%)	50 (100%)
		Punctaj total (media +/-SD)	7.34 +/- 1.422
1. Artrită la cel puțin 3 articulații	45 (90%)	A. Afectare articulară (media punctaj +/- SD)	3.5 +/- 1.359
		1 articulație mare	0 (0%)
2. Redoare matinală ≥ 60 min	31 (62%)	2-10 articulații mari	4 (8%)
		1-3 articulații mici (+/- art. mari)	7 (14%)
3. Artrita mîinilor	45 (90%)	4-10 articulații mici (+/- art. mari)	19 (38%)
		>10 articulații (cel puțin 1 art.mica)	20 (40%)
4. Artrita simetrică	36 (72%)	B. Serologie (media punctaj +/- SD)	2.08 +/- 1.309
		FR neg. și antiCCP neg.	11*(24%)
5. Noduli reumatoizi	1 (2%)	FR sau antiCCP poz. în titru mic	10 (20%)
		FR sau antiCCP poz. în titru mare	28 (56%)
6. FR pozitiv	34 (68%)	C. Reactanți de fază acută (sdr.biologic de inflamație) (media punctaj +/- SD)	0.92 +/- 0.274
		VSH și PCR normale	4 (8%)
		VSH sau PCR crescute	46 (92%)
7. Modificări radiologice tipice	9 (18%)	D. durată simptomelor (media punctaj +/- SD)	0.84 +/- 0.370
		< 6 săptămîni	8 (16%)
		≥ 6 săptămîni	42 (84%)

* 1 pacient seronegativ pentru FR nu a efectuat antiCCP.

Criteriile ACR/EULAR 2010 s-au corelat mai bine cu statusul de fumător/nefumător decât criteriile ACR 1987, dar aceste corelații nu s-au dovedit semnificative statistic (ACR 1987 per total cu fumatul: $p = 0.105$; ACR/EULAR 2010 per total cu fumatul: $p = 0.099$).

Analizînd sindromul biologic de inflamație relevat prin reacții de fază acută VSH și PCR în cadrul criteriilor de clasificare ACR/EULAR 2010, acesta s-a corelat semnificativ statistic cu indicele de activitate al bolii DAS28 ($p = 0.045$) și mai ales cu prezența manifestărilor extraarticulare la pacienții cu AR precoce ($p = 0.0507$). Corelațiile cu FR și antiCCP nu au fost semnificative statistic ($p = 0.578$ și respectiv $p =$

0.842), la fel ca și corelațiile cu modificările radiologice ($p = 0.999$). Afectarea articulară simetrică din cadrul criteriilor clasice de clasificare ACR1987 a fost cea care s-a corelat cel mai bine cu sindromul biologic de inflamație ($p = 0.021$) (anexa14), implicit cu VSH și PCR ($p = 0.026$, respective $p = 0.017$) și deosebit de semnificativ statistic ($p = 0.002$) cu indicele de activitate al bolii DAS28 (vezi tabelul XXII).

Corelația cu modificările echografice a fost mai slabă pentru acest criteriu ($p = 0.082$), dar suficientă pentru a observa că 78.26% din pacienții cu artrită simetrică au prezentat și modificări echografice. Criteriile de redoare matinală și artrită a mâinilor s-au corelat foarte bine cu valori crescute ale proteinei C reactive ($p = 0.039$, respectiv 0.018) (tabelul XXII). Criteriul redorii matinale nu s-a corelat semnificativ statistic nici ca prezență, nici ca valoare cu nici unul dintre noile criterii de clasificare ACR/EULAR 2010 (tabelul XXIII).

Tabelul XXII. Corelarea criteriilor de clasificare ACR 1987 cu parametrii indicatori de activitate a bolii, sindromul biologic de inflamație și modificările echografice

Criterii ACR 1987	VSH	PCR	DAS28	Modificări echografice
Artrita 3 articulații	$p=0.102$	$p=0.447$	$p=0.045$	$p=0.923$
Redoarea matinală	$p=0.645$	$p=0.039$	$p=0.689$	$p=0.183$
Artrita mâini	$p=0.120$	$p=0.018$	$p=0.073$	$p=0.923$
Artrită simetrică	$p=0.026$	$p=0.017$	$p=0.002$	$p=0.082$
Noduli reumatoizi	$p=0.917$	$p=0.200$	$p=0.808$	$p=0.429$

În privința corelării modificărilor radiologice din criteriile ACR1987 cu fiecare din criteriile noi ACR/EULAR 2010, sau evidențiat net serologia ($p = 0.048$ semnificativ statistic) (anexa 17), dar și reactanții de fază acută ($p = 0.086$) chiar dacă mai puțin semnificativ statistic, aceștia mergând foarte bine cu simetria artritei.

Tabelul XXIII. Corelarea criteriilor de clasificare ACR/EULAR 2010 cu redoarea matinală, simetria articulară și modificările radiologice

	Redoarea matinală	Artrită simetrică	Modificări radiologice
Afectarea articulară	$p=0.890$	$p=0.009$	$p=0.174$
Serologie	$p=0.531$	$p=0.454$	$p=0.048$
Sindrom inflamator	$p=0.106$	$p=0.021$	$p=0.086$
Durata simptomatologiei	$p=0.413$	$p=0.134$	$p=0.152$

Rezultate studiu II

O analiză de departe mai relevantă din punct de vedere al implicațiilor diagnostice și prognostice, este reprezentată de studiul caracteristicilor genetice ale pacienților cu AR precoce, studiu care a beneficiat de prezența unui lot control din populația generală.

Tabelele XXIV și XXV prezintă distribuția frecvențelor alelelor HLA-DRB1 observate la pacienți comparative 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 allele. 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 allele 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 (44% vs. 21.91%; $p = <0.0001$). 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 (5% vs. 12.35%, $p = 0.0467$), toate semnificative statistic.

Frecvența homozigoților per total nu a diferit semnificativ statistic în lotul cu AR comparativ cu lotul control ($p = 0.8480$), fapt similar cu frecvența homozigoților potențial conținători de epitop comun (*01, *04, *10, *14; $p = 0.8497$). Nici portajul de două allele diferite, dar potențial conținătoare de epitop comun nu a conferit un profil cu semnificanță statistică (tabelul XXIV).

Tabelul XXIV. Frecvențele alelelor HLA-DRB1 la pacienții cu artrită reumatoidă precoce și în lotul control

Alele HLA-DRB1	AR precoce (2 x nr. = 100)		Control (2 x nr. = 178)		p (<0.05)	O.R	95%CI
	Nr.	Frecv. (%)	Nr.	Frecv. (%)			
*01	15	15%	15	8.42%	0.0900	1.91	0.89-4.10
*03	14	14%	24	13.48%	0.9041	1.04	0.51-2.12
*04	17	17%	16	8.98%	0.0474	2.07	0.99-4.31
*07	7	7%	6	3.37%	0.1689	2.15	0.74-6.60
*08	0	0%	2	1.12%	-		
*10	5	5%	2	1.12%	0.0477	4.63	0.88-24.32
*11	12	12%	36	20.22%	0.0816	0.53	0.26-1.08
*12	1	1%	0	0.00%	-		
*13	6	6%	26	14.60%	0.0309	0.37	0.14-0.94
*14	6	6%	6	3.37%	0.3005	1.82	0.57-5.83
*15	5	5%	22	12.35%	0.0467	0.37	0.13-1.01
*16	12	12%	23	12.92%	0.8241	0.91	0.43-1.93

Purtatori de 2 alele EC	9	18% (din nr.)	10	11,23% (din nr.)	0.2835	1.66	0.65-4.23
Homoziгоți per total	5	10% (din nr.)	8	8,98% (din nr.)	0.8480	1.11	0.35-3.51
Homoziгоți potențial cu EC	2	4% (din nr.)	3	3,73% (din nr.)	0.8497	1.19	0.19-7.24
Alele principale potențial conținătoare de EC (suma *01,*04,*10,*14)	44	44%	39	21.91%	<0.000 1	2.80	1.64-4.76

În ceea ce privește distribuția subgrupurilor de alele HLA-DRB1*04, calculul a fost mai dificil având în vedere dimensiunea redusă a loturilor și a necesitat folosirea testului binominal exact. Astfel, s-a înregistrat o frecvență semnificativ crescută pentru *04:04 (23.52% vs. 6.25%; $p = 0.0003$), dar și pentru *04:08, chiar dacă în acest caz nu a fost semnificativă statistic (11.76% vs. 6.25%; $p = 0.1382$) – relevanța este evidențiată și de valoarea O.R. net superioară pentru *04:04 și *04:08 (4,61, respectiv 2). În contrast, s-a evidențiat *04:02 care a fost semnificativ mai scăzut la pacienții cu AR (11.76% vs. 31.25%; $p < 0.00001$). Subgrupurile de alele *04:01, *04:03 și *04:05 au fost ușor mai reduse ca frecvență la grupul cu artrită reumatoidă precoce, dar diferențele nu sunt semnificative statistic (tabelul XXV).

Tabelul XXV. Frecvența subgrupurilor de alele HLA-DRB1 la pacienții cu artrită reumatoidă precoce și în lotul control

Subgrupuri DRB1*04	AR precoce (nr.total alele *04 = 17)		Control (nr.total alele *04 = 16)		p (<0.05)	O.R	95%CI
	No.	Freq. (%)	No.	Freq. (%)			
*04:01	3	17.64%	3	18.75%	0.8555	0.92	0.15-5.44
*04:02	2	11.76%	5	31.25%	<0.00001	0.29	0.04-1.80
*04:03	2	11.76%	2	12.5%	0.8306	0.93	0.11-7.55
*04:04	4	23.52%	1	6.25%	0.0003	4.61	0.45-46.67
*04:05	3	17.64%	3	18.75%	0.8555	0.92	0.15-5.44
*04:06	0	0%	1	6.25%			
*04:07	1	5.88%	0	0%			
*04:08	2	11.76%	1	6.25%	0.1382	2.00	0.16-24.48

Riscurile relative calculate (figura 31) pentru indivizii studiați au permis o startificare a alelelor principale potențial conținătoare de epitop comun. La pacienții noștri cu AR precoce, cel mai mare risc relative calculate 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. A fost calculat și riscul relativ (figura 32) pentru

subgrupurile HLA-DRB1*04, unde valoarea cea mai mare a prezentat-o *04:04 (RR = 4.34), comparative cu riscuri mai mici la *04:08 (RR = 2) sau *04:01 și *04:05 (RR similar de 0.93).

Risc relativ

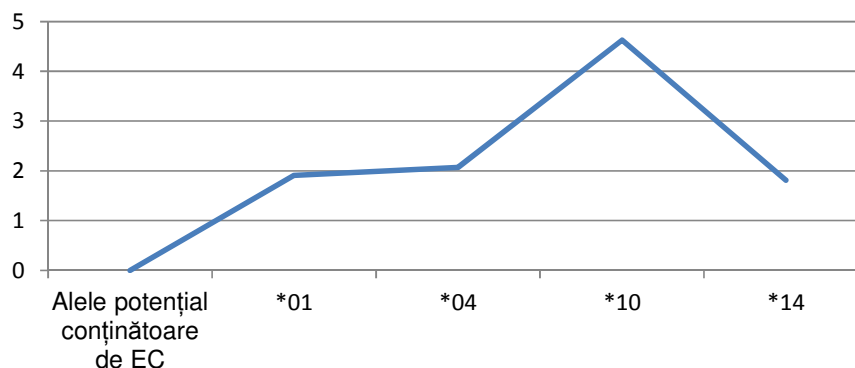


Figura. 31. Riscul relativ calculat pentru principalele alele potențial conținătoare de epitop comun

Risc relativ

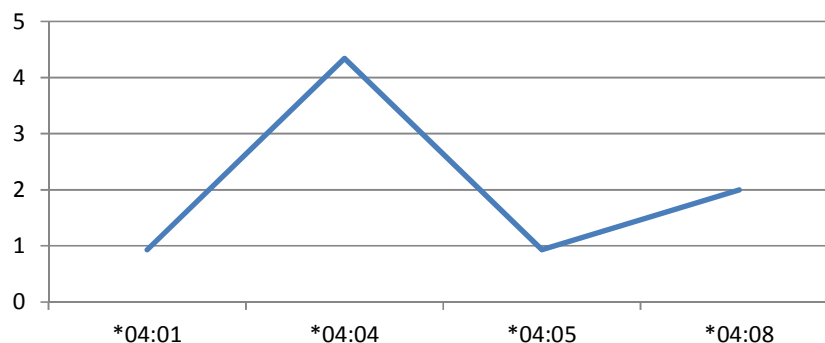


Figura 32. Riscul relativ calculat pentru subgrupurile HLA-DRB1*04

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 ce a alelelor potențial conținătoare de epitop comun (OR=2,80). Alelele *01 și *14 au avut un trend paralel – OR=1,91 și respectiv OR=1,82.

Tabelul XXVI. Frecvența alelelor HLA-DRB1 la pacienții cu artrită reumatoidă precoce fumători

Alele HLA-DRB1	AR precoce (2 x nr. = 46)	
	Nr.	Frecv. (%)
*01	6	13,04%
*03	3	6,52%
*04	11	23,91%
*07	4	8,69%
*08	0	0%
*10	1	2,17%
*11	4	8,69%
*12	1	2,17%
*13	3	6,52%
*14	3	6,52%
*15	2	4,34%
*16	8	17,39%
Purtători de 2 alele EC	4	17,3% (din nr.)
Homoziгоți per total	3	13% (din nr.)
Homoziгоți potențial cu EC	2	8,69% (din nr)
Alele principale potențial conținătoare de EC (suma *01,*04,*10,*14)	19	41,30%

De departe alelele cele mai frecvente regasite la pacienții cu AR precoce fumători au fost *04 (23,91%), urmate de aproape de *01 (13,04%) și poate cel mai semnificativ aspect a fost frecvența de 41,30% pentru alelele principale potențial conținătoare de EC, aproape similar cu cea regasită la analiza genetică general a lotului cu AR precoce (Tabelul XXVI). În privința frecvenței subgrupurilor *04, în cazul pacienților fumători *04:04, *04:05 și *04:02 par să domine tabloul componentei genetice de risc, oarecum paralelă cu analiza globală (Tabelul XXVII).

Lipsa anchetei referitoare la fumat în lotul martor din populația generală, nu a permis stabilirea semnificației statistice a valorilor înregistrate pentru alelele și subgrupurile de alele HLA-DRB1 în lotul de pacienți cu AR precoce.

Tabelul XXIV XXVII. Frecvența subgrupurilor de allele HLA-DRB1 la pacienții cu artrită reumatoidă precoce fumători

Subgrupuri DRB1*04	AR precoce (nr.total allele *04 = 11)	
	No.	Freq. (%)
*04:01	1	9,09%
*04:02	2	18,18%
*04:03	1	9,09%
*04:04	3	27,27%
*04:05	2	18,18%
*04:06	0	0%
*04:07	1	9,09%
*04:08	1	9,09%

Dintre allelele potențial conținătoare de epitop comun, *04, *10 și *14 (tabelul XXVIII) s-au corelat pozitiv cel mai bine cu prezența anticorpilor anti-peptid ciclic citrulinat ($p = 0.030$, $p = 0.038$, respectiv $p = 0.006$) (anexele 19,20,21), spre deosebire de alela *01. Alela *14 s-a corelat bine cu prezența factorului reumatoid ($p = 0.05$).

Corelarea a presupus includerea alelei *13 considerată a avea un efect protectiv pentru riscul de apariție al AR, dar și a alelei *16 cu o frecvență destul de mare în populațiile studiate (tabelul XXVIII). Semnificativă statistic a fost asocierea negativă dintre alela *13 și prezența factorului reumatoid ($p = 0.052$).

Tabelul XXVIII. Corelații ale alelelor HLA-DRB1 cu parametrii biologici și de severitate ai bolii

	EC*01	EC*04	EC*10	EC*14	*16	*13
Modificări radiologice	$p=0.999$	$p=0.697$	$p=0.999$	$p=0.545$	$p=0.999$	$p=0.146$
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	$p=0.123$	$p=0.304$	$p=0.999$	$p=0.214$	$p=0.875$	$p=0.722$

Pacienții seronegativi au avut o distribuție genetică interesantă, analiza lor relevând o frecvență crescută pentru alela *01, spre deosebire de allelele *04 sau *14. În figurile 33, 34 și 35 se poate observa ponderea diferitelor tipuri de allele atât global, pentru seronegativii la ambele tipuri de anticorpi (FR și antiCCP), cât și pentru seronegativii la fiecare tip de anticorp în parte.

10% din pacienții cu artrită reumatoidă precoce studiați au fost etnici de origine 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.

Dominanta grupului de asiatici a fost alela *04, cu repartitie egală pentru *04:01, *04:04, *04:05, urmată îndeaproape de *07 și *15, și mai puțin *01, *03 și *14.

Caracteristicile acestu 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 UI/mL $\pm$ 49.77), și numai 60% au fost seropozitivi pentru antiCCP (cu media titrului 296,79 UI/mL $\pm$ 202.79).

Trebuie subliniată constatarea faptului că pacienții de origine asiatică au prezentat titruri net inferioare de FR comparative cu lotul general, și mai spectaculos decât atât, au prezentat titruri foarte mari de anticorpi antiCCP comparative cu lotul general. Având în vedere frecvența net superioară a alelei *04 (30%) comparative cu pacienții caucazieni (15,55%), s-a efectuat compararea celor două grupuri, dar diferențele nu au relevat diferențe semnificative statistic (tabelul XXIX).

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

Alele HLA-DRB1	AR precoce asiatici (2 x nr. = 10)		AR precoce caucazieni (2 x nr. = 90)		p (<0.05)	O.R	95%CI
	Nr.	Frecv. (%)	Nr.	Frecv. (%)			
*04	3	30%	14	15,55%	0,2595	2,32	0,53-10,09
Alele principale potențial conținătoare de EC (suma *01,*04,*10,*14)	5	50%	34	37,77%	0,4556	1,64	0,44-6,10

Punctajul criteriilor de clasificare ACR/EULAR 2010 a fost în medie 8 ± 1.22 , iar parametri indicatori de severitate a bolii au avut valori mari (tabelul XXX).

Dacă 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).

Tabelul XXX. Parametrii indicatori de severitate a bolii la pacienții asiatici cu AR precoce

Parametrii	No. = 5
DAS 28- Media totală (min-max)	6.72 ± 0.91
VSH media +/-SD (mm/h)	57 ± 20.95
PCR media +/-SD (UI/mL)	4.37 ± 3.52

Dintre aceștia 80% au fost fumători, raportul femei:bărbați fiind 3:2, provenind exclusiv din mediu urban.

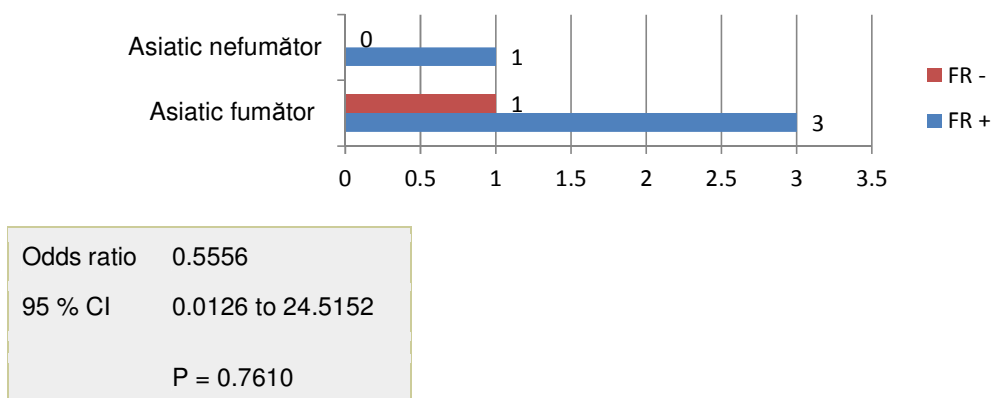


Figura 37. Corelarea statusului de fumător cu seropozitivitatea pentru FR la pacienții de etnie asiatică cu AR precoce

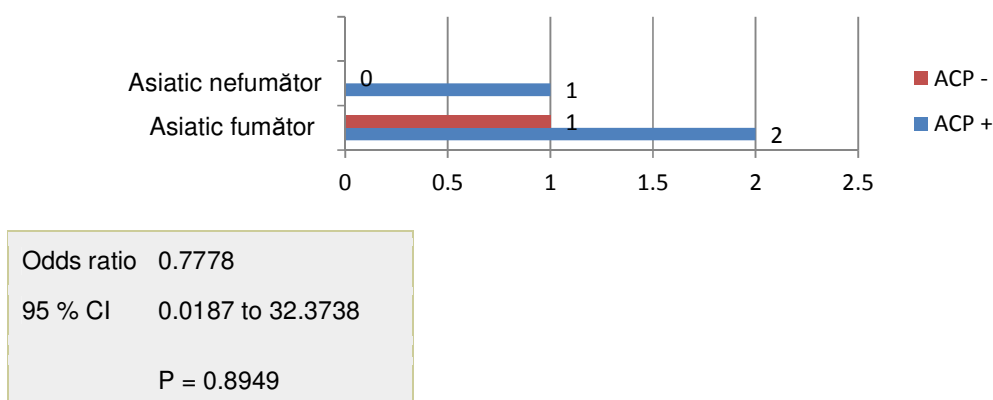


Figura 38. Corelarea statusului de fumător cu seropozitivitatea pentru anticorpi anti-CCP la pacienții de etnie asiatică cu AR precoce (ACP- anticorpi anti-CCP)

Corelațiile seropozitivității fie pentru FR fie pentru antiCCp nu s-au corelat semnificativ statistic cu statusul de fumător (figurile 37 și 38).

40% dintre pacienții asiatici au prezentat modificări ecografice și 40% modificări radiologice, toți fiind fumători. Corelația modificărilor imagistice cu fumatul în grupul pacienților asiatici nu a fost semnificativă statistic ($p = 0,55$), dar cota de risc crescută ($OR = 3$), pare să susțină riscul crescut al fumătorilor de origine asiatică de a dezvolta forme distructive de boală.

Trebuie menționat faptul că un singur pacient de origine asiatică a prezentat manifestări extra-articulare, de tip pulmonar (noduli reumatoizi pulmonari asociați cu pleurezie), acesta fiind nefumător.

Ca o observație, pacienții cu subgrupul *04:05 au prezentat modificări decelabile radiologic, comparativ cu cei cu modificări ecografice *04:01 și *04:04.

Analiza statusului de homozigot pentru cei cu alele potențial conținătoare de epitop comun *01 sau *04 nu a relevat asocieri semnificative statistic cu serologia (FR sau antiCCP), modificările radiologice sau severitatea bolii (Tabelul XXXI).

Tabelul XXXI. Corelații ale alelelor HLA-DRB1 cu parametrii biologici și de severitate ai bolii la homozigoți

	Homozigoți EC*01	Homozigoți EC*04	Homozigoți *16	Homozigoți *13
Modificari Rx	p=0.310	p=0.310	-	-
Ac antiCCP	p=0.246	p=0.246	-	-
FR	p=0.488	p=0.488	p=0.578	-
Activitate înaltă	p=0.709	p=0.709	p=0.594	-
Manifestări extraarticulare	p=0.409	p=0.409	p=0.239	-

Cea mai interesantă analiză a fost reprezentată de observarea asocierilor dintre alelele potențial conținătoare de epitop comun, dar și a subgrupurilor de alele *04 cu fiecare dintre criteriile de clasificare ACR 1987 (tabelele XXXII și XXXIII) și ACR/EULAR 2010. (tabelele XXXIV și XXXV).

Tabelul XXXII. Asocieri între criteriile de clasificare ACR 1987 și principalele alele potențial conținătoare de epitop comun

Criterii ACR 1987	Alele potențial conținătoare de EC	*04	*01	*10	*14
Artrita ≥ 3 articulații	p=0.157	p=0.675	p=0.675	p=0.432	p=0.384
Redoare matinală	p=0.566	p=0.392	p=0.836	p=0.285	p=0.802
Artrita mâinilor	p=0.157	p=0.142	p=0.529	p=0.432	p=0.562
Artrită simetrică	p=0.089	p=0.955	p=0.178	p=0.675	p=0.103
Noduli reumatoizi	p=0.488	p=0.529	p=0.105	p=0.736	p=0.709
Modificări radiologice	p=0.925	p=0.694	p=0.670	p=0.269	p=0.928

Tabelul XXXIII. Asocieri între criteriile de clasificare ACR 1987 și subgrupurile HLA-DRB1*04

Criterii ACR 1987	*04:01	*04:02	*04:03	*04:04	*04:05	*04:08
Artrita ≥ 3 articulații	p=0.551	p=0.551	p=0.101	p=0.423	p=0.448	p=0.551
Redoare matinală	p=0.360	p=0.423	p=0.360	p=0.930	p=0.080	p=0.360
Artrita mâinilor	-	-	-	-	-	-
Artrită simetrică	p=0.423	p=0.360	p=0.423	p=0.930	p=0.770	p=0.360
Noduli reumatoizi	-	-	-	-	-	-
Modificări radiologice	p=0.423	p=0.360	p=0.360	p=0.930	p=0.770	p=0.423

Dacă în ceea ce privește criteriile ACR 1987 asocierea fiecărui criteriu cu caracterele genetice nu a relevat date semnificative statistic, corelarea HLA-DRB1 cu criteriile ACR/EULAR 2010 a pus în evidență asocieri promițătoare cum ar fi asocierea alelelor potențial conținătoare de epitop comun cu sindromul biologic de inflamație ($p=0,036$) (anexa 22), și în particular a subgrupului *04:08 cu sindromul biologic de inflamație evidențiat prin reactivitatea de fază acută ($p = 0.036$, respectiv $p = 0.011$), dar și a alelei *14 cu serologia pozitivă pentru factor reumatoid și/sau anticorpi antiCCP și a punctajului folosit în determinarea criteriului de serologie ($p = 0.001$).

Tabelul XXXIV. Asocieri între criteriile de clasificare ACR/EULAR 2010 și principalele alele potențial conținătoare de epitop comun

Criterii ACR/EULAR 2010	Alele potențial conținătoare de EC	*04	*01	*10	*14
Afectare articulară	p=0.491	p=0.519	p=0.268	p=0.918	p=0.301
Serologie	p=0.889	p=0.0509	p=0.277	p=0.971	p=0.001
Sindrom inflamator (VSH;PCR)	p=0.036	p=0.890	p=0.198	p=0.491	p=0.446
Durata simptomatologiei	p=0.238	p=0.518	p=0.292	p=0.799	p=0.963

Tabelul XXXV. Asocieri între criteriile de clasificare ACR/EULAR 2010 și subgrupurile HLA-DRB1*04

Criterii ACR/EULAR 2010	*04:01	*04:02	*04:03	*04:04	*04:05	*04:08
Afectare articulară	p=0.642	p=0.114	p=0.642	p=0.392	p=0.937	p=0.095
Serologie	p=0.466	p=0.466	p=0.224	p=0.262	p=0.679	p=0.224
Sindrom inflamator (VSH;PCR)	p=0.695	p=0.695	p=0.695	p=0.546	p=0.617	p=0.011
Durata simptomatologiei	p=0.271	p=0.463	p=0.271	p=0.259	p=0.533	p=0.463

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 XXXVI).

Tabelul XXXVI. Asocieri între anticorpii responsabili de serologia pozitivă și subgrupurile HLA-DRB1*04

	*04	*04:01	*04:02	*04:03	*04:04	*04:05	*04:08
Ac antiCCP	p=0.030	p=0.569	p=0.326	p=0.326	p=0.279	p=0.279	p=0.326
FR	p=0.318	p=0.448	p=0.448	p=0.255	p=0.243	p=0.519	p=0.255

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 XXXVII). Nu s-a putut evidenția aceeași semnificație statistică la compararea cu subgrupurile HLA-DRB1*04 (tabelul XXXVIII).

Tabelul XXXVII. Asocieri între indicatorul de severitate al bolii DAS28 și prezența modificărilor radiologice/echografice cu principalele alele potențial conținătoare de epitop comun

	Alele potențial conținătoare de EC	*04	*01	*10	*14
DAS28	p=0.014	p=0.052	p=0.658	p=0.258	p=0.054
Modificări radiologice	p=0.999	p=0.697	p=0.999	p=0.999	p=0.545
Modificări echografice	p=0.960	p=0.659	p=0.392	p=0.382	p=0.519

Tabelul XXXVIII. Asocieri între indicatorul de severitate al bolii DAS28 și prezența modificărilor radiologice/echografice și subgrupurile HLA-DRB1*04

	*04:01	*04:02	*04:03	*04:04	*04:05	*04:08
DAS28	p=0.368	p=0.999	p=0.234	p=0.695	p=0.999	p=0.865
Modificări radiologice	p=0.251	p=0.154	p=0.154	p=0.621	p=0.087	p=0.251
Modificări echografice	p=0.919	p=0.104	p=0.919	p=0.876	p=0.605	p=0.155

O corelație importantă s-a observat analizând asocierea alelelor potențial conținătoare de epitop comun cu manifestările extraarticulare demonstrate la pacienții cu artrită reumatoidă precoce (tabelul XXXIX). Cel mai bine s-a asociat alela *01 cu anemia cronică simplă ($p = 0,042$) per total, iar în ceea ce privește subgrupurile de HLA-DRB1*04, alelele *0403 s-a corelat cu aceeași manifestare ($p = 0,008$). Și alela *0405 a prezentat o corelare surprinzătoare cu afectarea pulmonară ($p = 0,038$) (tabelul XL).

Tabelul XXXIX. Asocierea alelelor potențial conținătoare de EC cu manifestările extraarticulare

	Alele potențial conținătoare de EC	*04	*01	*10	*14
Manifestări extraarticulare	p=0.322	p=0.304	p=0.123	p=0.999	p=0.214
Anemie cronică simplă	p=0.377	p=0.213	p=0.042	-	p=0.928
Afectare pulmonară	p=0.421	p=0.889	p=0.889	p=0.297	-
Sindrom canal carpian	p=0.754	p=0.307	p=0.889	p=0.297	-

Tabelul XL. Asocierea subgrupurilor HLA-DRB1*04 cu manifestările extraarticulare la pacienții cu artrită reumatoidă precoce

	*04:01	*04:02	*04:03	*04:04	*04:05	*04:08
Manifestări extraarticulare	p=0.591	p=0.283	p=0.591	p=0.680	p=0.999	p=0.591
Anemie cronică simplă	-	-	p=0.008	-	-	-
Afectare pulmonară	-	-	-	-	p=0.038	-
Sindrom canal carpian	p=0.101	-	-	-	p=0.255	-

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 reactanții de fază acută ($p = 0,016$) și durata simptomatologiei ($p = 0,017$), criterii cu pondere aparținând clasificării ACR/EULAR 2010. Criteriile clasice s-au asociat cu această alelă într-o rată redusă, singurul semnificativ statistic fiind criteriul prezenței factorului reumatoid ($p = 0,052$). Nu au existat asocieri cu criteile care au inclus nodulii reumatoizi (tabelul XLI).

Tabelul XLI – Asocieri între criteriile de clasificare ACR 1987 - ACR/EULAR 2010 și prezența alelei *13

Criterii de clasificare ACR 1987	Alela *13	Criterii de clasificare ACR/EULAR 2010	Alela *13
1. Artrită la cel puțin 3 articulații	p=0.562	A. Afectare articulară	p=0.679
2. Redoare matinală ≥ 60 min	p=0.802		
3. Artrita mîinilor	p=0.384		
4. Artrita simetrică	p=0.201	B. Serologie (FR, antiCCP global)	p=0,483
5. Noduli reumatoizi	-	C. Reactanti de faza acuta (sdr.biologic de inflamatie - global)	p=0,016
6. FR pozitiv	p=0.052		
7. Modificări radiologice tipice	p=0.146	D. Durata simptomelor	p=0,017

Importantă a fost și abordarea terapeutică în cazul pacienților cu AR precoce care au beneficiat de inițierea tratamentului cu droguri modificatoare de boală (DMARDs – disease modifying antirheumatic drugs) (tabelul XLII). 6 au refuzat sau nu au putut începe terapia modifictoare de boală, primind corticoterapie cronică. Jumătate din pacienții cu artrită reumatoidă precoce au beneficiat de inițierea tratamentului cu metotrexat, într-o doză medie calculată de 12 mg, 20,45% din pacienți au primit tratament cu leflunomida în doză medie de 20 mg, 15,90% tratament cu hidroxiclorochina și numai 6,82% terapie cu sulafasalazină.

Tabelul. XLII. Terapii inițiale cu DMARDs în lotul cu AR precoce

DMARDs (disease modifying antirheumatic drugs)	No. = 44 pac cu inițiere DMARDs	Doza medie de inițiere (mg)	DMARDs per total ever (nr)
METOTREXAT (nr., %)	22 (50%)	12 mg	24
SULFASALAZINA (nr., %)	3 (6,82%)	2250 mg	4
HIDROXICLOROCHINA (nr., %)	7 (15,90%)	400 mg	11
LEFLUNOMIDA (nr., %)	9 (20,45%)	20 mg	15
Combinatii (nr., %)	3 (6,82%)	-	6
CICLOFOSFAMIDA*(nr., %)	0	-	1
RA la tratam.cu DMARDs (nr., %)	Total	11 (25%)	
	neurologice	1	
	digestive	7	
	cutanate	2	
	generale	3	

*pacienți cu afecțiuni demielinizante asociate

Reacțiile adverse la tratamentul cu DMARDs au fost prezente într-un procent de 25%, fiind dominate de cele digestive, și într-o mai mică măsură de cele generale.

Nu au existat corelații semnificative statistic între apariția reacțiilor adverse la tratamentul cu droguri modificatoare de boală și alelele potențial conținătoare de epitop comun (tabelul XLIII).

Tabelul XLIII– Corelații între apariția reacțiilor adverse la tratamentul cu droguri modificatoare de boală și alelele potențial conținătoare de epitop comun

	Alele potențial conținătoare de EC	*04	*01	*10	*14
Reacții adverse la DMARDs	p=0.910	p=0.791	p=0.316	p=0.377	p=0.654

Terapia antiinflamatorie a fost cvasi-prezentă la pacienții diagnosticați cu AR precoce (tabelul XLIV), 84% folosind anti-inflamatorii nesteroidiene și 72% tratament cu corticosteroizi. Procentul reacțiilor adverse a fost destul de redus, atât pentru AINS, cât și pentru corticosteroizi (2%).

Tabelul XLIV. Tratament anti-inflamator steroidian Și non-steroidian la pacienții cu AR precoce

Terapie anti-inflamatoare	AINS	corticosteroizi
Nr.pac și % din total	42 (84%)	36 (72%)
RA la tratamentul cu anti-inflamatorii	1 (2%)	1 (2%)

CONCLUZII

1. Artrita reumatoidă reprezintă cea mai frecventă afecțiune reumatică de tip inflamator, cu etiologie multi-factorială și patogenie autoimună, caracterizată în principal de afectarea articulară cu evoluție cronică, progresivă, deformantă, distructivă, dar și de manifestări extra-articulare și sistemice, care implică un tratament individualizat, complex, format din agenți modifikatori de boală și terapii biologice.

2. Analiza studiilor epidemiologice subliniază caracterul dinamic al bolii, cu variații ale incidenței și prevalenței care atestă necesitatea monitorizării permanente a cazurilor.

3. Stabilirea unui diagnostic complex, complet și cât mai rapid, care să permită instituirea unei terapii optime și o urmărire eficientă a evoluției sub tratament reprezintă elementul cel mai important în abordarea pacientului, pentru a reduce numărul stadiilor avansate, invalidante de boală. Scopul medicului devine obținerea unei remisiuni, și chiar vindecarea.

4. Având în vedere faptul că nu există încă o modalitate efectivă și sigură pentru diagnosticarea artritei reumatoide precoce și foarte precoce, nevoia unor reguli de clasificare judicioase este imperativă și justificată, iar identificarea lor reprezintă un real ajutor în orientarea diagnosticului clinic.

5. În prezent, factorul reumatoid și anticorpii anti-peptide ciclice citrinate reprezintă elementele cheie acceptate atât pentru diagnosticarea bolii, cât și pentru estimarea predictivă a modificărilor funcționale și radiologice. Pondere mare a seropozitivilor, exprimați prin prezența factorului reumatoid și/sau anticorpi anti-peptide ciclice citrinate, pare să susțină îndeajuns importanța serologiei în clasificarea și diagnosticarea artritei reumatoide precoce. Testarea combinată pentru cei doi anticorpi poate fi mai eficientă.

6. Sindromul biologic de inflamație exprimat prin prezența leucocitozei și a reactanților de fază acută, în special viteza de sedimentare a hematilor și proteina C reactivă este absolut necesar de evaluat, atât pentru monitorizarea activității bolii, dar și pentru estimarea a modificărilor funcționale și radiologice. Valorile crescute din lotul nostru cu artrită reumatoidă precoce s-au corelat semnificativ cu indicii de activitate al bolii DAS 28 și mai ales cu prezența manifestărilor extraarticulare.

8. Asocierea bolilor cardio-vasculare este net legată de statusul pro-inflamator și de multitudinea de citokine implicate în patogeniza bolii, dar și de folosirea tratamentului cu inhibitori de ciclooxigenază. Comparativ cu populația generală, morbiditatea și mortalitatea de cauză cardio-vasculară sunt semnificativ crescute la pacienții cu boli reumatismale și în special cu artrită reumatoidă, fapt demonstrat de ponderea mare a comorbidităților de acest tip în lotul studiat.

9. Artrita reumatoidă este cunoscută ca fiind asociată în mod tradițional cu boli autoimune ca cele tiroidiene, dar ele au fost considerate entități diferite, în special datorită manifestărilor clinice diferite, fie organ specifice (cum ar fi tiroidita) Datele oferite de studiul nostru cu evidențierea primelor locuri ocupate în topul afecțiunilor asociate de către cele cardio-vasculare și respectiv tiroidiene arată importanța stratificării pacienților cu AR în subpopulații specifice pentru prevenția sporită prin metode farmacologice sau non-farmacologice în prezența unui teren deja susceptibil cu risc cardiovascular.

10. Manifestările extraarticulare au însoțit un procent de 30% din totalul pacienților cu AR precoce, din care ponderea cea mai mare a avut-o anemia cronică simplă, spre deosebire de celelalte manifestări extraarticulare ca sindromul de canal

carpian și afectarea pulmonară, analiza biologică a acestui subgrup făcând dovada importanței, nu numai a prezenței anticorpilor în patologia manifestărilor extraarticulare din AR, dar și mai mult, a titrului acestora.

11. Investigarea imagistică a pacienților cu AR precoce a permis evidențierea modificărilor structurale articulare prin intermediul radiografiei și a ecografiei articulare. Ultrasonografia are o mare sensibilitate în depistarea leziunilor inflamatorii ale țesuturilor moi, iar rezonanța magnetică este considerată mai sensibilă în diferențierea eroziunilor incipiente, dar din păcate greu de utilizat datorită costurilor ridicate.

12. Ecografia articulară a permis evidențierea “standardului de aur” – sinovita, în diagnosticul artritei reumatoide precoce, 82.6% din totalul pacienților care au efectuat examen ecografic pentru diferite grupe articulare prezentând efuziuni/proliferări sinoviale, și în special la nivelul mâinilor.

13. Decelarea echografică a eroziunilor nu a pus date importante în evidență, fapt datorat în mare parte momentului precoce în diagnosticarea pacienților, iar raportul seropozitivilor cu modificări radiologice decelabile a fost net superior seropozitivilor cu modificări echografice, atestând încă o dată importanța momentului diagnosticării artritei reumatoide.

14. În ceea ce privește criteriile ACR 1987 la pacienții cu AR precoce, tabloul a fost dominat net de artrita mâinilor, simetrie, redoare matinală și FR pozitiv. Cele mai puțin frecvent îndeplinite criterii au fost reprezentate de modificările radiologice specifice și nodulii reumatoizi.

15. Criteriile ACR/EULAR 2010 au avut o performanță remarcabilă, prezentând asocieri importante stratificate pe fiecare criteriu în parte cu parametrii indicatori de activitate a bolii fapt care subliniază încă o dată importanța identificării precoce a pacienților cu artrită reumatoidă și în special a celor predispuși la forme distructive de boală.

16. Tot mai multe studii subliniază o creștere a riscului de boală la pacienții pozitivi pentru alelele epitopului comun care asociază ca factor de risc fumatul. Concluzia surprinzătoare în cazul lotului studiat, a fost lipsa de semnificață statistică între prezența anticorpilor și fumat, antiCCP fiind prezenți în proporții egale la pacienții fumători, cât și la nefumători, iar FR arătând o evoluție asemănătoare, cu o ușoară pondere mai ridicată în rândul nefumătorilor.

17. 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 ca un simplu model în toate grupurile de pacienți, varietatea foarte mare alelică în cazul AR făcând ca acest subiect să rămână deschis și aducând încă corelări nebănuite.

18. Studiile 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.

19. 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 (5% vs. 1.12%; $p = 0.0477$), dar și a celorlalte alele potențial conținătoare de epitop comun ca *01. 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, determinându-se o

frecvență mare în lotul cu artrită reumatoidă precoce. O frecvență crescută, dar nesemnificativă statistic, a prezentat și alela considerată suspectă *07.

20. Cu mici diferențe procentuale, frecvența homozigoților per total nu a diferit semnificativ statistic în lotul cu AR comparativ cu lotul control, fapt similar cu frecvența homozigoților potențial conținători de epitop comun (*01, *04, *10, *14) sau portajul de două allele diferite, dar potențial conținătoare de epitop comun care nu a conferit un profil cu semnificație statistic.

21. Cel mai mare risc relativ calculat a fost pentru alela *10, urmat de alela *04 (RR = 2.07), pe ultimele locuri situându-se allelele *01 și *14 cu RR = 1.91, respectiv RR = 1.81, iar pentru subgrupurile HLA-DRB1*04, valoarea cea mai mare a prezentat-o *04:04 (RR = 4.34), comparativă cu riscuri mai mici la *04:08 (RR = 2) sau *04:01 și *04:05 (RR similar de 0.93).

22. Dintre allelele 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.

23. Mai bine de jumătate dintre fumătorii cu allelele potențial conținătoare de epitop comun au prezentat anticorpi anti-CCP pozitivi, iar jumătate din aceștia au prezentat titruri mari, chiar dacă corelarea stusului de fumător cu pozitivitatea pentru anti-CCP la grupul de pacienți cu allelele potențial conținătoare de EC nu a fost semnificativă statistic.

24. Pacienții seronegativi au avut o distribuție genetică interesantă, analiza lor relevând o frecvență crescută pentru alela *01, spre deosebire de allelele *04 sau *14, și poate cel mai interesant aspect a fost dat de absența alelei *10, cea mai frecventă în lotul nostru cu AR precoce, la pacienții seronegativi pentru anti-CCP și cei seronegativi pentru ambii anticorpi, părănd să demonstreze o entitate fenotipică distinctă, cel mai probabil legată de prezența anticorpilor anti-CCP.

25. Corelarea factorilor genetici a presupus și includerea alelei *13, care a prezentat o asociere negativă semnificativă statistic în lotul cu AR precoce comparative cu lotul martor din populația generală, dar și a alelei *15 cu o frecvență redusă în lotul studiat, și o asociere negativă semnificativă statistic cu prezența factorului reumatoid.

26. În analiza asocierilor fenotipice ale alelelor și subgrupurilor de allele evidențiate în lotul nostru cu criteriile de clasificare ACR1987, nu au existat corelații semnificative statistic, fapt ce ar putea pune în balanță o revizuire definitivă a vechii clasificări care a stat la baza studiilor populaționale de până acum.

27. Rezultatele asocierilor cu noile criterii de clasificare ACR/EULAR 2010 care au evidențiat corelații semnificative, chiar dacă fruste, cu diferite allele cu potențial, pune în discuție nevoia unei alte abordări, mult mai comprehensive a pacientului cu AR.

28. 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, dar și o puternică asociere cu indicele de severitate a bolii DAS 28.

29. Alela *13, demonstrată a avea efect protectiv, a prezentat o asociere negativă foarte bună cu reactanții de fază acută și durată simptomatologiei, criterii cu pondere aparținând clasificării ACR/EULAR 2010.

30. Asocierea alelelor potențial conținătoare de epitop comun cu manifestările extraarticulare demonstrate la pacienții cu artrită reumatoidă precoce a fost dominată de cea a alelei *01 cu anemia cronică simplă, iar în ceea ce privește subgrupurile de HLA-DRB1*04, allelele *0403 s-a corelat cu aceeași manifestare ($p = 0,008$). Și alela *0405 a prezentat o corelare surprinzătoare cu afectarea pulmonară.

31. Baza abordării terapeutice a pacientului cu artrită reumatoidă o constituie tratamentul farmacologic, având ca scop oprirea evoluției leziunilor distructive, reducerea inflamației, a durerilor articulare și implicit creșterea calității vieții. Inițierea unui tratament potențial remisiv în primul an de boală țintește “fereastra de oportunitate” care este greu de obiectivat în lipsa unui diagnostic precoce.

32. Eficacitatea strategiilor terapeutice noi, inclusive a agenților biologici, asupra distrucțiilor articulare, activității bolii, funcției articulare și a supra calității vieții au un impact profund economic. O terapie eficientă poate duce la reducerea costurilor directe și indirecte reprezentate de reajustarea și chiar menținerea capacității de muncă a pacienților cu AR, creșterea vârstei de pensionare și îmbunătățirea și preservarea calității vieții.

33. Un management optim nu mai este un deziderat ideal, iar calitatea vieții pacienților cu acest tip de patologie poate fi îmbunătățită prin stabilirea unui diagnostic clinico-genetico-biochimico-imagistic, care va permite o integrare mai bună a pacienților și o reducere globală a costurilor pentru sănătate, iar lipsa studiilor naționale care să ofere un pattern genotipic al pacientului cu artrită reumatoidă și accesul la metodele moderne de investigație biologică și imagistică devin o barieră în realizarea lui.

BIBLIOGRAFIE

1. Aggarwal R, Liao K, Nair R, Ringold S, Costenbader KH. Anti-citrullinated peptide antibody assays and their role in the diagnosis of rheumatoid arthritis [review]. *Arthritis Rheum* 2009; 61:1472–1483.
2. Alethala D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO 3rd, Birnbaum NS, Burmester GR, Bykerk VP, Cohen MD, Combe B, Costenbader KH, Dougados M, Emery P, Ferraccioli G, Hazes JM, Hobbs K, huizinga TW, Kawanaugh A, Kay J, Kvien TK, Laing T, Mease P, Menard HA, Moreland LW, Naden RL, Pincus T, Smolen JS, Stanislawska-Biernat E, Symmons D, Tak PP, Upchurch KS, Vencovsky J, Wolfe F, Hawker G. 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American college of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis*. 2010 Sep; 69(9):1580-1588. doi: 10.1136/ard.2010.138461
3. Ambreen Gul Muazzam, Atika Mansoor, Lubna Ali, Saima Siddiqi, Abdul Hameed, Muhammad Ajmal, Kehkashan Mazhar. Association of HLA-DRB1 and -DQB1 alleles and haplotypes with rheumatoid arthritis in a Pakistani population. *Arthritis Res Ther* 2013, **15**:R95. doi:10.1186/ar4275.
4. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, Fries JF, Cooper NS, Healey LA, Kaplan SR, Liang MH, Luthra HS, Medsger TA, Mitchell DM, Neustadt DH, Pinals RS, Schaller JG, Sharp JT, Wilder RL, Hunder GG. et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988;31(3):315-324
5. Auger I, Sebbag M, Vincent C, Balandraud N, Guis S, Nogueira L, Svensson B, Cantagrel A, Serre G, Roudier J. Influence of HLA-DR genes on the production of rheumatoid arthritis-specific autoantibodies to citrullinated fibrinogen. *Arthritis Rheum* 2005; 52:3424-3432.
6. Avouac J, Gossec L, Dougados M. Diagnostic and predictive value of anti-cyclic citrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis: a systematic literature review. *Ann Rheum Dis*. 2006;65:845-851.
7. Backhaus M, Burmester GR, Sandrock D, Loreck D, Hess D, Scholz A, Blind S, Hamm B, Bollow M. Prospective two year follow up study comparing novel and conventional imaging procedures in patients with arthritic finger joints. *Ann Rheum Dis*. 2002;61(10):895-904.
8. Balsa A, Cabezon A, Orozco G, Cobo T, Miranda-Carus E, López-Nevot MA, Vicario JL, Martín-Mola E, Martín J, Pascual-Salcedo D. Influence of HLA DRB1 alleles in the susceptibility of rheumatoid arthritis and the regulation of antibodies against citrullinated proteins and rheumatoid factor, *Arthritis Research & Therapy* 2010 12:R62 doi:10.1186/ar2975.
9. Berglin E, Padyukov L, Sundin U, Hallmans G, Stenlund H, Van Venrooij WJ, Klareskog L, Dahlqvist SR. A combination of autoantibodies to cyclic citrullinated peptide (CCP) and HLA-DRB1 locus antigens is strongly associated with future onset of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2004;6:R303-308.
10. Borg AA, Dawes PT. Measures of pain and disease activity in rheumatoid arthritis. *Br J Rheumatol* 1993; 32: 1028-1029.
11. Calgüneri M, Ureten K, Akif Oztürk M, Onat AM, Ertenli I, Kiraz S, Akdogan A. Extra-articular manifestations of rheumatoid arthritis: results of a university hospital of 526 patients in Turkey. *Clin Exp Rheumatol*. 2006;24:305-308.
12. Choo SY. The HLA system: genetics, immunology, clinical testing, and clinical implications. *Yonsei Med J*. 2007 Feb 28;48(1):11-23. doi: 10.3349/ymj.2007.48.1.11
13. Dale J, Porter D. Optimising the strategy of care in early rheumatoid arthritis, *Best Practice & Research Clinical Rheumatology* nr.24, Elsevier, 2010; 443-455.
14. Davis H, McPherson RA. Human Leukocyte Antigen: The Major Histocompatibility Complex of Man. In *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*, Saunders-Elsevier, Ediția 2, 2007, 8, 876-886
15. de Vries-Bouwstra JK, Goekoop-Ruiterman YP, Verpoort KN, Schreuder GM, Ewals JA, Terwiel JP, Ronda HK, Kerstens PJ, Toes RE, de Vries RR, Breedveld FC, Dijkmans BA,

- Huizinga TW, Allaart CF. Progression of joint damage in early rheumatoid arthritis: association with HLA-DRB1, rheumatoid factor, and anti-citrullinated protein antibodies in relation to different treatment strategies. *Arthritis Rheum* 2008; 58:1293-1298.
16. Dessein PH, Joffe BI, Stanwix AE. Effect of disease modifying agents and dietary intervention on insulin resistance and dyslipidaemia in inflammatory arthritis. *Arthritis Res Ther* 2002;4:R12.
17. Dixey J, Solymossy C, Young A, Early RA Study. Is it possible to predict radiological damage in early rheumatoid arthritis (RA)? A report on the occurrence, progression, and prognostic factors of radiological erosions over the first 3 years in 866 patients from the Early RA Study (ERAS). *J Rheumatol Suppl* 2004; 69:48-54.
18. Donahue KE, Gartlehner G, Jonas DE, Lux LJ, Thieda P, Jonas BL, Hansen RA, Morgan LC, Lohr KN. Systematic effectiveness and harms of disease-modifying medications for rheumatoid arthritis. *Ann Intern Med.* 2008 Jan 15;148(2):124-134.
19. Doran MF, Pond GR, Crowson CS, O'Fallon WM, Gabriel SE. Trends in incidence and mortality in rheumatoid arthritis in Rochester, Minnesota over a forty-year period. *Arthritis Rheum* 2002;46:625-631.
20. Dougados M, Jousse Jolin S, Mistretta F, d'Agostino MA, Backhaus M, Bentin J, Chales G, Chary-Valkenaere I, Conaghan P, Etcepare F, Gaudin P, Grassi W, van der Hajde D, Sellam J, Naredo E, Szudlarek M, Wakefield R, Saraux A: Evaluation of several ultrasonography scoring systems of synovitis and comparison to clinical examination: Results from a prospective multicenter study of Rheumatoid Arthritis. *Ann Rheum Dis* 2010, 69:828–33
21. du Montcel ST, Michou L, Petit-Teixeira E, Osorio J, Lemaire I, Lasbleiz S, Pierlot C, Quillet P, Bardin T, Prum B, Cornelis F, Clerget-Darpoux F. New classification of HLA-DRB1 alleles supports the shared epitope hypothesis of rheumatoid arthritis susceptibility, *Arthritis rheum* 2005, 52:1063-1068.
22. Fahri Ucar, Murat Karkucak, Emel Alemdaroglu, Erhan Capkin, Burcu Yucel, Mehmet Sonmez, Mehmet Tosun, Adem Karaca. HLA-DRB1 allele distribution and its relation to rheumatoid arthritis in eastern Black Sea Turkish population. *Rheumatol Int* 2012 32:1003–1007.
23. Falgarone G, Zerkak D, Bauer C, Messow M, Dougados M: How to define a Minimal Clinically Individual State (MCIS) with pain VAS in daily practice for patients suffering from musculoskeletal disorders. *Clin Exp Rheumatol* 2005; 23: 235-238.
24. Fries JF, Wolfe F, Apple R, Erlich H, Bugawan T, Holmes T, Bruce B. 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.
25. Fuchs HA, Kaye JJ, Callahan LF, Nance EP, Pincus T. Evidence of significant radiographic damage in rheumatoid arthritis within the first 2 years of disease. *J Rheumatol* 1989; 16:585-591.
26. Geordiadis AN, Papavasiliou EC, Lourida ES, Alamanos Y, Kostara C, Tselepis AD, Drosos AA. Atherogenic lipid profile is a feature characteristic of patients with early rheumatoid arthritis: effect of early treatment – a prospective controlled study. *Arthritis Res Ther* 2006;8:R82.
27. Gregersen PK, Silver J, Winchester RJ. The shared epitope hypothesis. An approach to understanding the molecular genetics of susceptibility to rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1987;30:1205-1213.
28. Hanzu-Pazara L, Martinescu A, Suta M. HLA-DRB1 Frequency in Romanian patients with early rheumatoid arthritis. *ARS Medica Tomitana* 2013 Volume 18, Issue 4, Pages 204–208, ISSN (Online) 1841-4036, Doi: 10.2478/v10307-012-0034-6.
29. Harkness EF, MacFarlane GJ, Silman AJ, McBeth J: Is musculoskeletal pain more common now than 40 years ago? Two population-based cross-sectional studies. *Rheumatology (Oxford)* 2005; 44: 890-895.
30. HLA Nomenclature Changes Effective April 1, 2010. www.ashi-hla.org
31. HLA Nomenclature. IMGT/HLA database. www.ebi.ac.uk/imgt/hla/nomenclature/index.html

32. Hodgson RJ, O'Connor P, Moots R. MRI of rheumatoid arthritis image quantitation for the assessment of disease activity, progression and response to therapy. *Rheumatology* (Oxford). 2008 Jan;47(1):13-21
33. Huizinga TW, Amos CI, van der Helm-van Mil AH, Chen W, van Gaalen FA, Jawaheer D, Schreuder GM, Wener M, Breedveld FC, Ahmad N, Lum RF, de Vries RR, Gregersen PK, Toes RE, Criswell LA. Refining the complex rheumatoid arthritis phenotype based on specificity of the HLA-DRB1 shared epitope for antibodies to citrullinated proteins. *Arthritis Rheum* 2005;52:3433–3438.
34. Jansen LM, van Schaardenburg D, van der Horst-Bruinsma I, van der Stadt RJ, de Koning MH, Dijkmans BA. The predictive value of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in early arthritis. *J Rheumatol* 2003; 30:1691-1695.
35. Jawaheer D, Lum RF, Gregersen PK, Criswell LA. Influence of male sex on disease phenotype in familial rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2006; 54:3087-3094.
36. Kaneko Y, Kuwana M, Kameda H, Takeuchi T. Sensitivity and specificity of 2010 rheumatoid arthritis classification criteria. *Rheumatology* (Oxford). 2011 Jul;50(7):1268-1274. doi: 10.1093/rheumatology/keq442.
37. Kapitany A, Zilahi E, Szanto S, Szucs G, Szabo Z, Vegvari A, Rass P, Sipka S, Szegedi G, Szekanecz Z. Association of rheumatoid arthritis with HLA-DR1 and HLA-DR4 in Hungary. *Ann N Y Acad Sci*.2005 1051:263-70
38. Kochi Y, Yamada R, Kobayashi K, Takahashi A, Suzuki A, Sekiene A, Mabuchi A, Akiyama F, Tsunoda T, Nakamura Y, Yamamoto K. 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.
39. Laivoranta-Nyman T, Möttönen T, Hermann R, Tuokko J, Luukkainen R, Hakala M, Hannonen P, Korpela M, Yli-Kerttula U, Toivanen A, Ilonen J; FIN-RACo Trial Group. HLA-DR-DQ haplotypes and genotypes in Finnish patients with rheumatoid arthritis, *Ann Rheum Dis* 2004;63:1406–1412. doi: 10.1136/ard.2003.009969
40. Lassere M, McQueen F, Ostergaard M, Conaghan P, Shnier R, Peterfy C, Klarlund M, Bird P, O'Connor P, Stewart N, Emery P, Genant H, Edmonds J. OMERACT Rheumatoid Arthritis Magnetic Resonance Imaging Studies. Exercise 3: an international multicenter reliability study using the RA-MRI Score. *J Rheumatol* 2003;30:1366-1375
41. Lazurova I, Benhatchi K, Rovensky J, Kozakova D, Wagnerova H, Tajtakova M, Shoenfeld Y, Macejova Z. Autoimmune thyroid disease and autoimmune rheumatic disorders: a two-sided analysis. *Ann N Y Acad Sci* 2009; 1173:211-216.
42. Ligeiro D, Fonseca JE, Abade O, Abreu I, Cruz M, Nero P, Cavaleiro J, JTeles J, Trindade H, Caetano JM, Branco J. 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.
43. Lindqvist E, Saxne T, Geborek P, Eberhardt K. Ten year outcome in a cohort of patients with early rheumatoid arthritis: health status, disease process, and damage. *Ann Rheum Dis* 2002; 61: 1055-1059,
44. Lindqvist, E, Eberhardt, K, Bendtzen, K, Heinegård D, Saxne T. Prognostic laboratory markers of joint damage in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2005; 64:196-201.
45. Linn-Rasker SP, van der Helm-van Mil AH, van Gaalen FA, Kloppenburg M, de Vries RR, le Cessie S, Breedveld FC, Toes RE, Huizinga TW. Smoking is a risk factor for anti-CCP antibodies only in rheumatoid arthritis patients who carry HLA-DRB1 shared epitope alleles. *Ann Rheum Dis* 2006.65:366-371.
46. Lundström E, Källberg H, Smolnikova M, Ding B, Rönnelid J, Alfredsson L, Klareskog L, Padyukov L. Opposing effects of HLA-DRB1*13 alleles on the risk of developing anti-citrullinated protein antibody positive and anti-citrullinated protein antibody-negative rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2009;60:924-930. Doi:10.1002/art.24410.
47. Naredo E, Rodriguez M, Campos C, Rodriguex-Heredia JM, Medina J, Giner E, Martinez O, Toyos J, Ruiz T, Ros I, Tuneu R, Corominas H, Moragues C, Minguez D, Willisch

- A, Gonzalez-Cruz I, Aragon A, Iglesias G, Salvador G, Puigdollers A, Galinez E, Garrido N, Salaberri J, Raya E, Salles M, Diaz C, Cuadra JL, Garrido J: Validity, Reproducibility and Responsiveness of a Twelve-Joint Simplified Power Doppler Ultrasonographic Assessment of Joint Inflammation in Rheumatoid Arthritis. *ArthritisRheum* 2008, 59:515–522
48. Neogi t, Aletaha D, Silman AJ, Naden RL, Felson DT, Aggarwal R, Bingham CO 3rd, Birnbaum NS, Burmester GR, Bykerk VP, Cohen MD, Combe B, Costenbader KH, Dougados M, Emery P, Ferraccioli G, Hazes JM, Hobbs K, Huizinga TW, Kavanaugh A, Kay J, Khanna D, Kvien TK, Laing T, Liao K, Mease P, Ménard HA, Moreland LW, Nair R, Pincus T, Ringold S, Smolen JS, Stanislawska-Biernat E, Symmons D, Tak PP, Upchurch KS, Vencovský J, Wolfe F, Hawker G. The 2010 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism classification criteria for rheumatoid arthritis: phase 2 methodological report. *Arthritis Rheum* 2010;62:2582–2591.
49. Nishimura K, Sugiyama D, Kogata Y, Tsuji G, Nakazawa T, Kawano S, Saigo K, Morinobu A, Koshiba M, Kuntz KM, Kamae I, Kumagai S. Meta-analysis: Diagnostic accuracy of anti-cyclic citrullinated peptide antibody and rheumatoid factor for rheumatoid arthritis. *Ann Intern Med* 2007; 146:797-808.
50. Ostergaard M, Peterfy C, Conaghan P, McQueen F, Bird P, Ejbjerg B, Shnier R, O'Connor P, Klarlund M, Emery P, Genant H, Lassere M, Edmonds J. OMERACT Rheumatoid Arthritis Magnetic Resonance Imaging Studies. Core set of MRI acquisitions, joint pathology definitions, and the OMERACT RA-MRI scoring system. *J Rheumatol* 2003;30: 1385-1386
51. Padyukov L, Silva C, Stolt P, Alfredsson L, Klareskog L. A gene-environment interaction between smoking and shared epitope genes in HLA-DR provides a high risk of seropositive rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2004; 50:3085-3092.
52. Palm O, Purinszky E. Women with early rheumatoid arthritis are referred later than men. *Ann Rheum Dis* 2005; 64:1227-1228
53. Pincus T, Yazici Y, Yazici Y, Sokka T, Aletaha D, Smolen JS. Methotrexate as the anchor drug for the treatment of early rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2003, 21(5 Suppl 31):S179-185.
54. Reed E, Ho E, Lupu F, McManus P, Vasilescu R, Foca-Rodi A, Suciu-Foca N. Polymorphism of HLA in the Romanian population. *Tissue Antigens*. 1992 Jan;39:8-13.
55. Robert J. Winchester. The Major Histocompatibility Complex. In *Clinical Immunology. Principles and Practice*, Mosby, Elsevier, Ediția a IIIa, 2008, 79-89
56. Ronningen KA, Spurkland A, Egeland T, Iwe T, Munthe E, Vartdal F, Thorsby E. Rheumatoid arthritis may be primarily associated with HLA-DR4 molecules sharing a particular sequence at residues 67-74. *Tissue Antigens* 1990; 36:235-240.
57. Rothschild BM, Turner KR, DeLuca MA. Symmetrical erosive peripheral polyarthritis in the late Archaic period of Alabama. *Science* 1988; 241:1498-1501.
58. Sahatçiu-Meka V, Rexhepi S, Manxhuka-Kerliu S, Rexhepi M.et al. Extra-articular manifestations of seronegative and seropositive rheumatoid arthritis. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*.2010;10:26–31
59. Scott IC, Seegobin SD, Steer S, Tan R, Forabosco P, Hinks A, Eyre S, Morgan AW, Wilson AG, Hocking LJ, Wordsworth P, Barton A, Worthington J, Cope AP, Lewis CM. Predicting the Risk of Rheumatoid Arthritis and Its Age of Onset through Modelling Genetic Risk Variants with Smoking, PLoS Genet. 2013 September; 9(9). doi: 10.1371/journal.pgen.1003808
60. Seidl C, Koch U, Buhleier T, Frank R, Moler B, Markert E, Koller-Wagner G, Seifried E, Kaltwasser JP. HLA-DRB1*04 subtypes are associated with increased inflammatory activity in early rheumatoid arthritis, *British Journal of Rheumatology* 1997; 36: 941-944.
61. Shoenfeld Y, Isenberg DA. The mosaic of autoimmunity. *Immunol Today* 1989; 10(4):123-126.
62. Smolen JS, Han C, Bala M, Maini RN, Kalden JR, van der Heijde D, Breedveld FC, Furst DE, Lipsky PE; ATTRACT Study Group. Evidence of radiographic benefit of treatment with infliximab plus methotrexate in rheumatoid arthritis patients who had no clinical

- improvement: a detailed subanalysis of data from the anti-tumor necrosis factor trial in rheumatoid arthritis with concomitant therapy study. *Arthritis Rheum* 2005, 52:1020-1030.
63. Terslev L, Torp-Pedersen S, Savnik A, von der Recke P, Qvistgaard E, Danneskiold-Samsøe B, Bliddal H. Doppler ultrasound and magnetic resonance imaging of synovial inflammation of the hand in rheumatoid arthritis: a comparative study. *Arthritis Rheum*. 2003 Sep; 48(9):2434-2441.
 64. Turesson C, O'Fallon W, Crowson C, Gabriel SE, Matteson EL. Extra-articular disease manifestations in rheumatoid arthritis: incidence trends and risk factors over 46 years. *Ann Rheum Dis*. 2003;62:722-727.
 65. Uçar F, Çapkin E, Karkucak M, Yücel B, Sönmez M, Alver A, Kaklıkkaya N, Tosun M, Alemdaroğlu E, Solak M. 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.
 66. van der Heijde DM. Joint erosions and patients with early rheumatoid arthritis. *Br J Rheumatol*. 1995;34 Suppl 2:74-78.
 67. Van der Helm-van Mil AH, Detert J, le Cessie S, Filer A, Bastain H, Burmester GR, Huizinga TW, Raza K. Validation of a prediction rule for disease outcome in patients with recent-onset undifferentiated arthritis: moving toward individualized treatment decision-making. *Arthritis Rheum* 2008;58:2241-2247.
 68. van der Helm-van Mil AH, Huizinga TW, Schreuder GM, Breedveld FC, de Vries RR, Toes RE. An independent role of protective HLA class II alleles in rheumatoid arthritis severity and susceptibility. *Arthritis Rheum* 2005; 52:2637-2644.
 69. van der Woude D, Benedicte AL, Lundstrom E, Balsa A, Feitsma AL, Houwing-Duistermaat JJ, Verdujin W, Nordang GBN, Alfredson L, Klareskog L, Pascual-Salcedo D, Gonzales-Gay MA, Lopez-Nevot MA, Valero F, Roep BO, Huizinga TW, Kvien TK, Martin J, Padyukov L, de Vries RP, Toes RE. 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.
 70. Van Zeben D, Hazes JMW, Zwinderman AHD, Cats A, van der Voort EA, Breedveld FC. Clinical significance of rheumatoid factors in early rheumatoid arthritis: results of a follow-up study. *Ann Rheum Dis* 1992; 51:1029-1035.
 71. Vesperini V, Lukas C, Fautrel B, Le Loet X, Rincheval N, Combe B. Association of tobacco exposure and reduction of radiographic progression in early rheumatoid arthritis: results from a French multicenter cohort. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2013 Dec;65(12):1899-1906. doi: 10.1002/acr.22057
 72. Vlad V, Berghia F, Libianu S, Balanescu A, Bojinca V, Constantinescu C, Abobului M, Predeteanu D, Ionescu R. Ultrasound in rheumatoid arthritis volar versus dorsal synovitis evaluation and scoring. *BMC Musculoskelet Disord*. 2011;12:124. doi: 10.1186/1471-2474-12-124.
 73. Wakefield RJ, Balint PV, Szkudlarek M, Filippucci E, Backhaus M, D'Agostino MA, Sanchez EN, Iagnocco A, Schmidt WA, Bruyn GA, Kane D, O'Connor PJ, Manger B, Joshua F, Koski J, Grassi W, Lassere MN, Swen N, Kainberger F, Klauser A, Ostergaard M, Brown AK, Machold KP, Conaghan PG OMERACT 7 Special Interest Group: musculoskeletal ultrasound including definitions for ultrasonographic pathology. *J Rheumatol* 2005;32:2485-2487