

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE DIN CRAIOVA
ȘCOALA DOCTORALĂ**



***TEZĂ DE DOCTORAT
REZUMAT***

***PROFILUL IMUNOLOGIC AL PACIENȚILOR CU POLIARTRITĂ
REUMATOIDĂ PRECOCE ȘI EVALUAREA RĂSPUNSULUI LA TRATAMENT***

CONDUCĂTOR DE DOCTORAT:

Prof. Univ. Dr. PAULINA LUCIA CIUREA

STUDENT-DOCTORAND:

Carmen Mitran (Sîrbuleț)

CRAIOVA

2016

CUPRINS

STADIUL CUNOAȘTERII	pg. 3
SCOPUL ȘI OBIECTIVELE STUDIULUI	pg. 4
MATERIAL ȘI METODĂ	pg. 5
REZULTATE ȘI DISCUȚII	pg. 7
CONCLUZII	pg. 15
BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ	pg. 17

STADIUL CUNOAȘTERII

Poliartrita reumatoidă (PR) este o afecțiune inflamatorie cronică, cu stigmat autoimun, caracterizată prin distrucție articulară progresivă încă din primele săptămâni de evoluție. Un obiectiv comun al clinicienilor reumatologi este recunoașterea precoce a artritei inflamatorii și diagnosticul precoce al PR, obiectiv nu întotdeauna ușor de atins în practica curentă. Având în vedere paleta terapeutică variabilă disponibilă la momentul actual, diagnosticul precoce și managementul terapeutic „treat to target”, personalizat fiecărui caz, poate duce la remisiune clinică și biologică și ameliorarea calității vieții pacienților.

Evaluarea imagistică recunoaște o importanță majoră în evaluarea și monitorizarea pacienților cu PR, iar utilizarea diverselor metode trebuie să fie complementară, și datele ulterior integrate în vederea conturării unor algoritmi, cost-eficienți, atât în scop diagnostic, cât și de orientare terapeutică. Explorarea ultrasonografică, o metodă imagistică cu valoare incontestabilă, abordată din ce în ce mai frecvent în această patologie, a oferit noi oportunități și date incontestabile legate de prezența inflamației sinoviale, modificare patologică caracteristică la pacienții cu PR.

În alegerea temei de cercetare am pornit de la ipoteza că determinarea și integrarea în context clinic și imagistic a anumitor markeri imunologici, ar putea îmbunătăți evaluarea în timp real a activității de boală și a funcționalității articulare, și ar putea optimiza tratamentul, printr-o abordare terapeutică individualizată.

Astfel, am ales determinarea serologică a trei markeri imunologici, cu specificitate diagnostică recunoscută de multiple studii publicate în literatura de specialitate, doi dintre aceștia incluși în criteriile de diagnostic ACR/EULAR 2010 (American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism), anticorpii (ac)antipeptide ciclice citrullinate (anti-CCP) și factorul reumatoid (FR), împreună cu ac-anti RA33 și evaluarea imagistică, canalizată în principal, pe examinarea ultrasonografică, pentru evaluarea răspunsului la terapie, alături de cercetarea posibilelor inter-relații între aceste variabile, la un lot de pacienți cu PR precoce.

SCOPUL ȘI OBIECTIVELE STUDIULUI

Scopul studiului constă în abordarea duală, prin evaluare imunologică și ultrasonografică, a unui lot de pacienți cu PR precoce, în vederea aprecierii răspunsului la tratament. Cercetarea personală s-a orientat spre studiul corelațiilor dintre profilul imunologic și aspectele decelate prin efectuarea ecografiei musculo-scheletale.

Obiectivele studiului sunt reprezentate de:

- Evaluarea prezenței și cuantificarea titrului seric al ac anti-RA33 la un lot de pacienți cu PR precoce.
- Aprecierea pozitivității și a nivelului seric al ac anti-CCP la lotul studiat.
- Determinarea titrului seric al FR la lotul studiat.
- Cuantificarea markerilor de inflamație, la momentul diagnosticului și la 12 luni de la includere;
- Evaluarea activității de boală prin intermediul DAS28_(4v), atât la momentul diagnosticului, cât și la 12 luni.
- Examinarea ultrasonografică, atât prin GSUS, cât și PDUS, la momentul inițial și la 12 luni de la includere.
- Stabilirea corelațiilor între datele imunologice și activitatea de boală;
- Analiza corelațiilor între parametrii ultrasonografici și markerii imunologici;
- Identificarea corelațiilor între gradul de activitate de boală și modificările decelate prin efectuarea ecografiei musculo-scheletale.

MATERIAL ȘI METODĂ

Am efectuat un studiu longitudinal, prospectiv, ce a inclus 29 de subiecți diagnosticați cu PR precoce, conform criteriilor ACR/EULAR 2010 [28], în cadrul Clinicii de Reumatologie, Spitalul Clinic Județean de Urgență Craiova, pe o perioadă de 19 luni (martie 2014-octombrie 2015), monitorizați ulterior timp de 1 an; evaluările au fost realizate la 0, 3, 6 și 12 luni. Ca și date relevante, vor fi prezentate rezultatele evaluărilor inițială și la 12 luni de la includere. Lotul martor, a inclus 21 de subiecți, similari ca sex și vârstă, fără afecțiuni inflamatorii acute sau cronice sau istoric de boli conjunctivo-vasculare sau alte afecțiuni autoimune. Investigațiile biologice și imunologice s-au efectuat în Laboratorul Spitalului Clinic Județean de Urgență Craiova, iar cele imagistice în cadrul Spitalului Clinic Județean de Urgență Craiova și al Centrului de Cercetare în Reumatologie din cadrul UMF Craiova.

Toți pacienții au semnat consimțământul informat, după primirea unui formular standard care precizează detalii despre determinarea anticorpilor, etapele efectuării examenului ecografic și faptul că rezultatele vor fi folosite în scop de cercetare.

Criteriile de includere au fost reprezentate de:

- Diagnostic cert de PR, conform criteriilor ACR/EULAR 2010;
- Vârsta \geq 18 ani;
- Durata bolii $<$ 12 luni.

Criterii de excludere din studiu au fost reprezentate de:

- Paciente în perioada de sarcină și alăptare;
- Afecțiuni maligne;
- Diagnosticul sau suspiciunea de afecțiuni conjunctivo-vasculare autoimune;
- Pacienți cu infecții severe: stare septică, abcese, tuberculoză activă, infecții oportuniste;
- Pacienți necooperanți sau care nu semnează formularul de consimțământ informat.

Diagnosticul pozitiv a fost formulat pe baza elementelor complexe de anamneză analizate, informațiilor furnizate de examenul obiectiv complet și a investigațiilor paraclinice coroborate, conform criteriilor în vigoare. Pentru fiecare pacient a fost efectuată o anamneză amănunțită referitoare la antecedentele heredocolaterale, cu axare pe cele reumatologice sau autoimune, ca și la antecedentele personale patologice și medicația concomitentă.

Evaluarea afectării articulare a luat în calcul numărul de articulații dureroase, tumefiate și evaluarea globală a bolii, apreciată atât de pacient cât și de medic, utilizând o scală analogă vizuală de la 0 la 100 mm.

Evaluarea activității bolii a fost apreciată prin intermediul scorului DAS28, varianta simplificată cu 28 de articulații, care include numărul de articulații dureroase (NAD), numărul de

articulații tumefiate (NAT), valoarea proteinei C reactive (CRP) și VAS (aprecierea globală a activității bolii prin măsurarea acesteia pe o scală vizuală analogă de la 0 la 100mm). Pentru **aprecierea funcționalității articulare și a calității vieții** am utilizat indicele funcțional HAQ.

Pentru aprecierea răspunsului la tratament, am folosit **criteriile de răspuns EULAR** care implică nu numai un anumit grad de îmbunătățire/ameliorare a stării generale, dar și atingerea unei activități de boală moderate, și sunt bazate pe calculul DAS/DAS28. Conform acestora, răspunsul poate fi absent/moderat/bun.

Explorarea paraclinică a inclus analizele uzuale, parametrii inflamatori, imunologici și explorarea imagistică prin intermediul radiologiei convenționale și a ultrasonografiei.

Testele imunologice au fost efectuate conform instrucțiunilor producătorului kiturilor. Pentru a determina ac anti-RA33 am utilizat un Kit Human anti-RA33; după prelevare, probele de la pacienți au fost centrifugate la 9700 de rotații/minut și stocate la -80°C până la momentul analizei. Pentru dozarea cantitativă a ac anti-RA33 s-a utilizat tehnica ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay).

Explorarea ultrasonografică a fost efectuată la nivelul articulațiilor II-V metacarpofalangiene și interfalangiene, radio-cubito-carpiei, la nivelul feței dorsale, și la nivelul tendoanelor flexorilor (flexor al degetelor, flexor lung al policelui, flexor ulnar al carpului și flexor radial al carpului), extensorilor (lung abductor al policelui, lung extensor al policelui, extensor al degetelor și indexului, extensorul degetului V, extensor ulnar al carpului). Examinarea a fost efectuată utilizând un ecograf MyLab 25 (Esaote SpA Genoa, Italy) cu o sondă lineară de 7-12 MHz, conform ghidurilor EULAR, înregistrând tenosinovita și sinovita. Prezența sinovitei a fost efectuată atât în scară gri (GSUS) cât și folosind power Doppler (PDUS), conform consensului OMERACT-EULAR.

Pentru **prelucrarea statistică** a datelor s-au folosit programul Microsoft Excel (Microsoft Corp., Redmond, WA, USA), împreună cu suita XLSTAT pentru MS Excel (Addinsoft SARL, Paris, Franța) și programul IBM SPSS Statistics 20.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA).

Informațiile obținute au fost stocate în fișiere Microsoft Excel, fiind apoi prelucrate statistic, în vederea analizării relațiilor dintre datele clinice și paraclinice ale pacienților. Pentru realizarea testelor statistice complexe (testul Chi pătrat / Fisher exact, testul Student) am folosit modulul XLSTAT sau programul SPSS. Pentru compararea valorilor medii ale datelor numerice, am folosit testul Student sau testul ANOVA. Corelațiile au fost stabilite utilizând coeficientul de corelație **Spearman și Pearson**. În cazul parametrilor care nu sunt reprezentați prin date numerice, continue sau discrete, nu putem calcula coeficienții de corelație tradiționali, enumerați anterior. În cazul datelor ordinale sau nominale trebuie să apelăm la teste care analizează tabelele de incidență (contingență) generate prin aplicarea încrucișata („cross tabulation”) a unor perechi de factori, pentru a identifica legăturile dintre categoriile acelor variabile (**testul Chi pătrat, testul exact Fisher**).

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Evaluarea lotului la includerea în studiu

Am inclus în studiu un număr de 29 de pacienți, diagnosticați cu PR precoce, conform criteriilor ACR/EULAR 2010, cu o vârstă medie de 41.72 ± 9.38 ani, majoritatea de sex feminin (28). 2 pacienți s-au încadrat în grupa de vârstă 21-30 de ani, 11 pacienți între 31-40 de ani, 12 pacienți între 41-50 de ani și 4 pacienți peste 50 de ani.

	<i>Media±DS</i>
Vârsta (ani)	41.72±9.38
Sex (femei), n; %	28
Durata bolii (ani)	6.72±2.55
VSH (mm/h)	48.76±37.27
CRP (mg/l)	12.37±1.85
Ac anti-RA33(ng/ml)	0.139±0.138
FR (UI/ml)	86.65±105.7
FR pozitivi (%)	62.08
Ac anti-CCP (UI/ml)	254.0±531.3
Ac anti-CCP pozitivi (n, %)	17 (58.62)
NAD	8.241±1.88
NAT	3.758±1.52
VASp	66.206±1.65
VASm	59.310±7.22
DAS28 _(4v)	4.61±0.76
HAQ	1.23±0.50

Aprecierea markerilor de inflamație, a relevat o valoare medie a VSH de 48.76 ± 37.27 mm, cu un minim de 15mm/h și un maxim de 110mm/h, CRP 12.37 ± 1.85 mg/l (limite între 5-54 mg/l), iar pentru fibrinogen am înregistrat o medie de 437.29 ± 137.32 mg/dl (limite 304-847 mg/dl)

	<i>Media</i>	<i>DS</i>	<i>Minim</i>	<i>Maxim</i>
VSH (mm/h)	48.76	37.27	15	110
CRP (mg/l)	12.37	1.85	5	54
Fibrinogen (mg/dl)	437.29	137.32	304	847

Identificarea *profilului imunologic* al pacientului reprezintă o etapă deosebit de importantă atât pentru diagnostic, cât și pentru identificarea subiecților cu risc înalt de apariție a PR, dar și pentru caracterizarea anumitor subgrupuri cu particularități evolutive diferite. Beneficiul diagnostic al determinării profilului optim de anticorpi, cost-eficient, a constituit obiectul a numeroase studii, cu rezultate uneori divergente, consecutiv designului diferit, al arealului geografic și, implicit, a influenței genetice, ca și a vârstei pacienților și duratei medii a simptomatologiei.

Analiza profilului imunologic în cadrul lotului studiat a identificat un procent de pozitivitate de 58.62% (17) pentru ac anti-CCP, cu o valoare medie de 254.0 ± 531.3 UI/ml. Multiple studii au evaluat rolul și sensibilitatea diagnostică a *ac anti-CCP*, folosind teste care determină atât ac anti-CCP1, cât și anti-CCP2. O metaanaliză publicată recent, ce a inclus peste 18000 de pacienți cu PR, a raportat un procent de pozitivitate de 71.7 pentru ac anti-CCP2, comparativ cu 1% în lotul martor, de aproximativ 5000 de subiecți sănătoși, și 6% în peste 15000 cu alte afecțiuni în afara PR. Mai mult, la pacienții cu PR precoce, la 61.6% dintre cazuri s-a decelat prezența ac anti-CCP2. Referitor la inter-relația titrului ac anti-CCP cu progresia erozivă a bolii, s-a dovedit a fi direct asociat cu progresia la 5 ani a scorului Sharp, a scorului de eroziuni și a JSN.

FR, o familie de anticorpi ce constituie criteriu de diagnostic și marker prognostic la pacienții cu AR, sunt decelați la aproximativ 60-80% din cazurile cu evoluție îndelungată, și doar la aproximativ 50% dintre cazurile precoce; datele noastre au identificat un procent de 62.06 pacienți (18) cu seropozitivitate. Din cei 18 pacienți care au înregistrat valori pozitive ale FR, la 12 (66.66%) am identificat pozitivitatea concomitentă a ac anti-CCP, comparativ cu 3 (25%) dintre cei cu FR negativ ($p=0.060$). În ciuda utilității diagnostice moderate la pacienții cu PR precoce, titrurile crescute ale IgM sau IgG au o valoare prognostică deosebită, direct asociate cu severitatea bolii și apariția manifestărilor extra-articulare și astfel este încă cel mai utilizat marker, chiar și la pacienții cu PR precoce. Determinarea concomitentă a FR și ac anti-CCP poate îmbunătăți valoarea predictivă, din punct de vedere al prognosticului.

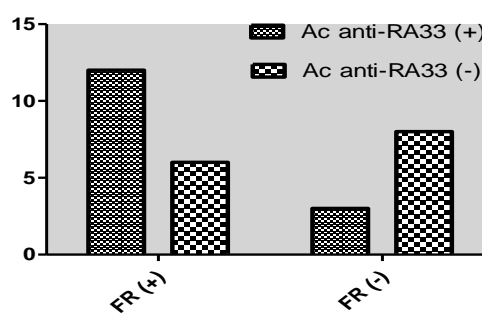
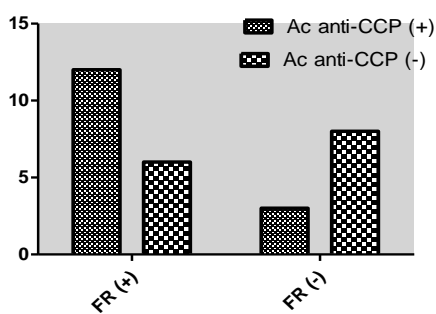
Ac anti-RA33, decelați la aproximativ 2/3 din pacienții cu PR precoce, cu o sensibilitate variabilă, între 6 și 58%, în funcție de arealul geografic, variația etnică sau severitatea bolii, cu o specificitate de până la 96%.

Rezultatele noastre au indicat o valoare medie de 0.139 ± 0.138 ng/ml, semnificativ statistic diferită de valoarea medie obținută în cadrul lotului martor ($p=0.0103$), cu un procent de 48.27% (14) pacienți pozitivi. Astfel, am calculat o sensibilitate de 40%, specificitate de 90% pentru ac anti-RA33 în diagnosticul pacienților cu PR precoce, cu o valoare predictivă pozitivă de 0.875 și o valoare predictivă negativă de 0.475. O meta-analiză recentă, care a inclus toate datele publicate între ianuarie 2000 și septembrie 2015, a concluzionat că ac anti-RA33 sunt înalt

specificali pentru PR, cu un procent de până la 90%. Este de asemenea de notat că, dintre pacienții cu FR pozitiv, rezultatele noastre au identificat un procent redus al celor cu ac anti-RA33 pozitivi (21.42%; 4), pe când procentul celor cu ac anti-CCP pozitivi s-a suprapus peste 64.49% dintre cazuri. Date similare au fost raportate de *Nell VPK et al*, în 2005, într-o cohortă de 102 pacienți cu PR precoce și de *Al-Mughales et al* în 2015.

Referitor la inter-relația ac anti-RA33 cu FR, aceștia au înregistrat valori pozitive la 4 (22.22%) dintre pacienții cu FR pozitiv (18) și la 10 (90.90%) dintre cei cu FR negativ (11) ($p=0.0005$). Împreună cu ACPA și FR, pot să fie prezenți în stadiile inițiale ale PR, dar, pe parcursul evoluției se pot nega, odată cu remisiunea sau activitatea joasă de boală, spre deosebire de ACPA. Prezența ac anti-RA33 la pacienții cu FR pozitiv, pot prezice o boală mai puțin erozivă, dar, în condițiile seronegativității, situația se inversează. Au o importanță deosebită în diagnosticul diferențial cu alte afecțiuni manifeste clinic prin artrită (osteoartrită, artropatie psoriazică, spondilartrite), mai ales la pacienții cu ACPA sau FR negativi, datorită specificității destul de mari.

	<i>Media</i>	<i>DS</i>	<i>Minim</i>	<i>Maxim</i>
FR (UI/ml)	86.65	105.7	8	365.87
Ac anti-CCP (UI/ml)	254	531.3	7	2813
Ac anti-RA33 (ng/ml)	0.139	0.138	0.078	0.833



Aprecierea activității de boală la momentul includerii în studiu a relevat o valoare medie a DAS28_(4v) de 4.61 ± 0.76 , cu un minim de 2.99 și un maxim de 6.29. 4 pacienți (13.79%) s-au încadrat în definiția activității crescute de boală, 24 (82.75%) au înregistrat o activitate moderată și 1 pacient activitate joasă (3.44%).

Aprecierea funcționalității articulare a redat o valoare medie a HAQ de 1.23 ± 0.50 , cu un minim de 0.7 și un maxim de 2.8.

Evaluarea ultrasonografică este utilizată din ce în ce mai frecvent în practica curentă, în evaluarea pacienților cu modificări inflamatorii articulare precoce, cu o acuratețe considerabilă, având avantajul lipsei de iradiere, a reproductibilității relativ facile și posibilității efectuării în mod repetat, la toate vizitele pacientului. La lotul vizat, US a fost efectuată atât în scală gri (GSUS), cât și folosind PD (PDUS), la toți subiecții. Evaluarea în scală gri, a identificat prezența sinovitei la toți cei 29 de pacienți; folosind PDUS, am identificat gradul 1 la 20 (68.96%) dintre pacienți, 2 la 23 pacienți (79.31%) și 3 la 6 (20.68%), cu un scor mediu PDUS 7.31 ± 0.70 . Eroziunile au fost identificate la un procent de 17.24% dintre pacienți (5), iar tenosinovita a fost decelată la 8 pacienți (27.58%) în GS, cu prezența PDUS grad 1 la toți pacienții, 2 la 3 și 3 la 2 subiecți.

Analiza corelațiilor între modificările ecografice și activitatea de boală a identificat un număr mediu de 6.93 ± 1.33 articulații cu sinovită activă la pacienții cu activitate mare de boală, pe când la cei cu activitate moderată, numărul mediu calculat a fost de 5.21 ± 1.85 , diferență semnificativă statistic ($p=0.007$). În plus, la pacienții cu activitate mare de boală, numărul mediu de articulații cu sinovită activă gradul 1 a fost de 6.26 ± 1.28 , gradul 2 0.66 ± 0.69 iar gradul 3 a fost identificat la 3 subiecți, la 2 dintre aceștia la nivelul unui singur situs articular, iar la unul la nivelul a 2 situsuri. La pacienții cu activitate moderată de boală, gradul 1 a fost identificat la un număr mediu de 4.57 ± 2.02 articulații iar gradul 2 la 0.50 ± 0.62 . Cercetând literatura de specialitate, am regăsit constatări US similare, referitoare la relația activitate de boală-sinovită activă, în câteva rapoarte științifice relevante din punct de vedere statistic.

Analiza corelațiilor între parametrii apreciați ultrasonografic și activitatea de boală a stabilit o corelație pozitivă, atât pentru examinarea GSUS, cât și pentru PDUS. Studiul publicat de *Scire et al*, a subliniat de asemenea o corelație semnificativă statistic între DAS 28(4v) și rezultatele evaluării ultrasonografice, atât folosind GSUS, cât și PDUS, rezultate raportate și de alte publicații recente, cum ar fi cel publicat în *Arthritis&Rheum*, în 2009, by *Bachaus et al*, *Watanabe et al* în 2012, în *Clinical Rheumatology*, *Naredo et al* în 2007, *Arthritis&Rheum*, etc.

	DAS 28(4v)		
	r	p	95% CI
GSUS	0.453	0.013	0.10-0.70
PDUS	0.427	0.020	0.07-0.68

Analiza corelațiilor între profilul imunologic și activitatea de boală, a redat date semnificative pentru cei trei markeri utilizați. Astfel pentru ac anti-RA33 s-a stabilit o corelație negativă, $r=-0.3683$, semnificativă statistic, $p=0.049$; pentru ac anti-CCP, am identificat un coeficient de corelație de 0.395, semnificativ statistic, $p=0.033$, iar pentru FR, deși diferențele au fost evidente, nu a fost atinsă semnificația statistică, probabil datorită numărului relativ mic de probe studiate.

	Ac anti-CCP	Ac anti-RA33	FR
r	0.395	-0.3683	0.313
p	0.033	0.049	0.096
IC 95%	0.022-0.671	-0.009 to 0.654	-0.069-0.618

Evaluarea lotului la 12 luni

Evaluarea la 12 luni a redat modificări semnificative ale markerilor de inflamație; pentru VSH, s-a înregistrat o valoare medie de 17.21 ± 13.66 mm, cu un minim de 7mm și un maxim de 65mm; CRP a avut o valoare medie de 1.980 ± 1.25 mg/l, iar pentru fibrinogen o medie de 286.9 ± 89.48 mg/dl.

Aprecierea activității de boală prin intermediul DAS28_(4v), a identificat o valoare medie a acestui indice de 2.82 ± 0.33 , cu limite 2.4-3.58; astfel, pentru 17 pacienți (58.62%) s-a calculat un DAS28_(4v) corespunzător unei activități scăzute de boală, 8 (27.58%) au fost în remisiune și 3 (10.34%) au înregistrat un DAS28_(4v), corespunzător unei activități moderate de boală. Rata de remisiune s-a dovedit a fi similară altora raportate anterior de *Scire et al*, în 2009, ce a inclus 106 subiecți cu AR precoce, cu cel publicat de *Vasquez et al* în 2009, ca și de *Mottonen et al*.

Titrul inițial al ac anti-RA33 s-a dovedit a fi semnificativ statistic diferit în cadrul celor trei grupuri: 0.1436 ± 0.1786 ng/ml pentru pacienții cu activitate joasă de boală, 0.153 ± 0.073 ng/ml la cei în remisiune și 0.087 ± 0.094 ng/ml la cei cu activitate moderată, cu un p calculat prin testul Kruskal Wallis test-ANOVA de 0.044 fără a obiectiva diferențe semnificative statistic între cei cu activitate joasă de boală și cei cu remisiune ($p=0.115$).

Analiza posibilelor inter-relații ale valorii DAS28_(4v) cu titrul inițial al celor trei markeri imunologici determinați la subiecții incluși în studiu, a oferit date relevante în ceea ce privește ac anti-RA33, care s-au dovedit a fi semnificativ statistic diferit în cadrul celor trei grupuri. Asocierea unui titru mai mare al ac anti-RA33 cu o evoluție mai puțin severă a fost identificată și de rezultatele altor studii publicate în literatura de specialitate; un raport relevant este cel publicat de *Al-Mughales et al*, în 2015, iar un altul, ce a analizat 102 subiecți, publicat în 2005.

	DAS28 jos	DAS moderat	Remisiune
Ac anti-RA33(ng/ml)	0.143 ± 0.178	0.087 ± 0.094	0.153 ± 0.073
Ac anti-CCP (UI/ml)	104.5 ± 173.6	762.9 ± 116	199.4 ± 231.9
FR (UI/ml)	78.05 ± 97.33	105.3 ± 173.9	69.82 ± 90.63

Aprecierea nivelului seric inițial al ac anti-CCP în cadrul celor trei categorii de subiecți, din punct de vedere al activității de boală apreciată prin intermediul DAS28_(4v), a identificat valori diferite ale acestuia, astfel: pentru pacienții cu răspuns moderat 762.9±116 UI/ml, versus 199.4±231.9UI/ml pentru cei aflați în remisiune și 104.5±173.6 UI/ml pentru cei cu activitate joasă de boală, semnificative statistic, p=0.040.

Nu s-au identificat diferențe semnificative statistic (p=0.88), între titrul FR la cele trei grupuri de pacienți, corespunzător activității de boală; valoarea medie înregistrată la pacienții cu activitate moderată a fost de 105.3±173.9 UI/ml, la cei cu activitate joasă 78.05±97.33 UI/ml, iar la cei în remisiune 69.82±90.63UI/ml.

Aprecierea îmbunătățirii DAS, a relevat un ΔDAS mediu de 1.79+0.86; astfel, 7 pacienți (24.13%) s-au încadrat în categoria de răspuns EULAR “moderat”, 2-fără răspuns (6.89%) și 20 răspuns bun (68.96%).

Nu s-au constatat diferențe semnificative între cele trei grupuri, în ceea ce privește nivelul seric al ac anti-RA33 (0.158/0.097/0.01 ng/ml, p= 0.360). Pentru ac anti-CCP, valorile au fost diferite în cadrul celor trei grupuri: 131±194 UI/ml pentru pacienții cu răspuns bun, 206.4±211 UI/ml pentru cei cu răspuns moderat și 1651.2±121UI/ml pentru cei fără răspuns (p=0.031). Nu am sesizat diferențe semnificative statistic (p=0.250) între valoarea FR în cadrul celor trei grupuri, în funcție de răspunsul EULAR: 48.95±64.58 la pacienții cu răspuns bun, 186.2±142UI/ml la cei cu răspuns moderat și 100.3±114.6 UI/ml la cei fără răspuns.

	Răspuns moderat	Răspuns bun	Fără răspuns
Ac anti-RA33(ng/ml)	0.097±0.015	0.158±0.163	0.0117±0.117
Ac anti-CCP (UI/ml)	206.4±211	131±194	1651.2±121
FR (UI/ml)	186.2±142	48.95±64.58	100.3±114.6

Examinarea ultrasonografică, la 12 luni de la includerea în studiu, a relevat prezența sinovitei GSUS la 25 dintre cei 29 de subiecți, cu un număr mediu de articulații interesate de 1.58±1.27; toți cei 8 pacienți aflați în remisiune DAS28_(4v) s-au regăsit în această categorie. Identificarea hipertrofiei sinoviale, prin examinarea GS, la pacienții în remisiune clinică, a fost descrisă și de alte publicații, incluzând studiul publicat de *Scire et al*, în 2009, ce a raportat un procent de 95%, sau de *Wakefield et al*, în 2007, cu un procent de 73%.

Examinarea PDUS a constatat prezența sinovitei active la 12 pacienți, cu un scor mediu PDUS de 2.24±3.02. Astfel, examinarea ultrasonografică, utilizând PD, s-a dovedit a fi de utilitate practică majoră pentru aprecierea activității inflamatorii subclinice. Rolul US, și în special al PDUS, ca și indicator al activității de boală, sensibil la modificările survenite consecutiv aplicării unui plan terapeutic individualizat și eficient, a fost dovedit de multiple

studii relevante. Astel, putem concluziona că evaluarea cu acuratețe a instalării remisiunii necesită utilizarea de rutină a examinării PDUS.

Referitor la aprecierea activității de boală, prin intermediul DAS28_(4v), raportat la decelarea sinovitei active prin intermediul PDUS, deși au suferit modificări oarecum paralele pe parcursul evoluției, nu s-au corelat semnificativ statistic; mai mult, dintre cei 12 pacienți cu sinovită activă, 4 (30%) se aflau în remisiune conform scorului DAS.

Datele constatate în studiul nostru concordă cu rezultatele raportate de numeroase alte studii din literatura de specialitate; *Salem et al* au dovedit prezența semnalului Doppler la 15% dintre subiecții aflați în remisiune clinică, ca și *Harman H. et al*, în 2015, pe un lot de 64 de subiecți. Nu am identificat nici o relație între numărul de articulații tumefiate și prezența semnalului Doppler la examinarea US, ceea ce subliniază, în plus, importanța majoră a acestei examinări în aprecierea corectă a activității bolii la pacienții cu PR.

	GSUS -	GSUS +	PDUS +	PDUS -
Anti-RA33 (ng/ml)	0.1053±0.151	0.144±0.026	0.107±0.056	0.159±0.177
p	0.3772		0.031	
Anti-CCP (UI/ml)	139.4+212.7	703.3+1226	961+1179	125.6+191.7
p	0.490		0.0051	

Analiza diferențelor între titrul ac anti-RA33, dependent de evaluarea ultrasonografică, nu a identificat diferențe semnificative statistic între pacienții GSUS + și cei GSUS negativi. Raportat la examinarea PDUS, la pacienții cu sinovită activă valoarea înregistrată a fost semnificativ statistic diferită de valoarea calculată la pacienții la care nu s-a făcut această constatare. Și pentru ac anti-CCP am obținut valori diferite, dependent de prezența sau absența sinovitei GSUS, fără a fi semnificative statistic, p=0.490. Raportat la sinovita activă, titrul a fost semnificativ diferit la cei PDUS +, p=0.0051.

În plus, am stabilit corelație moderată, negativă, (r=-0.519), semnificativă statistic (p=0.0039), între titrul inițial al ac anti-RA33 și prezența sinovitei active, după 12 luni de tratament. Pentru ceilalți doi markeri imunologici relevanți, ac anti-CCP și FR, s-a stabilit o corelație moderată, pozitivă, semnificativă statistic pentru FR. Impactul celor doi markeri imunologici asupra evoluției mai active a bolii și absența corelației cu remisiunea ultrasonografică, a fost descrisă și de *Harman H.* și colaboratorii.

În ceea ce privește ac anti-CCP, a fost dovedit faptul că sunt direct corelați cu o boală mai erozivă și mai agresivă, cu impact important asupra progresiei distructive articulare și, consecutiv, asupra evoluției și prognosticului pacienților. Analizând constatările examenului ultrasonografic, am constatat o corelație moderată, pozitivă, dar nesemnificativă statistic între titrul inițial al ac anti-CCP și prezența sinovitei active, după 12 luni de tratament. O observație

similară a fost raportată de *Harman et al*, într-un studiu publicat în 2015, care a inclus 64 pacienți cu PR.

	<i>anti-RA33</i>	<i>anti-CCP</i>	<i>RF</i>
r	-0.5193	0.4128	0.4720
p	0.0039	0.0260	0.0097

În ciuda existenței a numeroase incertitudini referitoare la patogeneza artritei reumatoide, prezența intervenției precoce a anumitor autoanticorpi a fost dovedită de numeroase studii desfășurate în acest sens, iar utilizarea anumitor biomarkeri serologici ca și markeri prognostici este de utilitate practică. Ca urmare a acestui studiu se poate afirma că profilul optim imunologic, înalt specific pentru diagnosticul de certitudine precoce și foarte precoce, s-a dovedit util în acest scop, atât prin datele prezentate cât și prin cele publicate anterior, și poate ajuta clinicianul în aprecierea evoluției ulterioare a afecțiunii și în alegerea conduitei terapeutice adecvate.

Explorarea ultrasonografică, o metodă imagistică cu valoare incontestabilă, abordată din ce în ce mai frecvent în această patologie, a oferit noi oportunități și date incontestabile legate de prezența inflamației sinoviale, modificare patologică caracteristică la pacienții cu PR. Examinarea este utilă oferind date asupra oricăror modificări minime, atât în scopul unui diagnostic foarte precoce, cât și pentru monitorizarea evoluției, în asociere cu datele clinice și biologice. În plus, este metoda de elecție pentru explorarea structurilor tendinoase, frecvent afectate în stadiile precoce. Remisiunea, ținta finală a oricărei strategii terapeutice, este decelată cu o acuratețe superioară prin utilizarea PDUS, iar rezultatele studiului prezentat certifică identificarea acelor pacienți cu sinovită activă reziduală, în ciuda remisiunii clinice, cu un risc crescut de recădere și evoluție distructivă articulară progresivă.

La pacienții cu artrită reumatoidă precoce, identificarea pacienților ce pot avea o evoluție nefavorabilă, rapid progresivă, constituie obiectivul major, iar alcătuirea unui algoritm de diagnostic și monitorizare ce integrează datele clinice, serologice și imagistice, în principal prin utilizarea PDUS, poate permite instituirea strategiei terapeutice optime, îmbunătățirea prognosticului și prevenirea dizabilității.

CONCLUZII

- ❑ PR este o afecțiune inflamatorie cronică, cu potențial distructiv articular, cu caracter dizabilitant, iar diagnosticul precoce reprezintă o provocare continuă în practica clinică curentă, având în vedere faptul că acesta implică posibilitatea instituirii prompte a terapiei și, consecutiv, îmbunătățirea prognosticului și ameliorarea calității vieții pacienților.
- ❑ Ac anti-RA33 sunt decelați în general la aproximativ 2/3 din pacienții cu PR precoce, cu o sensibilitate variabilă și o specificitate de până la 96%; rezultatele noastre au identificat la aproximativ o jumătate dintre cazuri pozitivitatea acestora, cu o sensibilitate diagnostică de 40% și o specificitate de 90%.
- ❑ Explorarea ultrasonografică, o metodă imagistică cu valoare incontestabilă, abordată din ce în ce mai frecvent în această patologie, a oferit noi oportunități și date incontestabile legate de prezența inflamației sinoviale, modificare patologică caracteristică la pacienții cu PR.
- ❑ Anticorpul anti-RA33 s-a dovedit a fi indicatori ai unei boli mai puțin severe, cu un coeficient de corelație negativ, semnificativ statistic, la momentul diagnosticului, dar și a unei evoluții mai blânde, având în vedere că la 12 luni de la includerea în studiu, marea majoritate a pacienților cu un titru pozitiv au fost încadrați în categoria remisiune sau activitate joasă de boală.
- ❑ Identificarea hipertrofiei sinoviale, prin examinarea GS, la 12 luni de la includerea în studiu, a fost observată la marea majoritate a pacienților, toți cei 8 pacienți aflați în remisiune DAS28_(4v) fiind regăsiți în această categorie; examinarea PDUS a constatat prezența sinovitei active la 12 pacienți.
- ❑ Referitor la aprecierea activității de boală, prin intermediul DAS28_(4v), raportat la decelarea sinovitei active prin intermediul PDUS, deși ambele variabile au cunoscut modificări oarecum paralele pe parcursul evoluției, nu s-au corelat statistic; mai mult, dintre cei 12 pacienți cu sinovită activă, aproximativ o treime se aflau în remisiune DAS28_(4v).
- ❑ Analizând diferențele între titrul ac anti-RA33, dependent de evaluarea ultrasonografică, raportată la examinarea PDUS, la pacienții cu sinovită activă valoarea înregistrată a fost semnificativ statistic diferită de valoarea calculată la subiecții la care nu s-a dovedit prezența acesteia.

- ❑ Pentru ac anti-CCP am obținut valori diferite, semnificative statistic, dependent de prezența sau absența sinovitei active.
- ❑ Ca urmare a acestui studiu se poate afirma că profilul optim imunologic, înalt specific pentru diagnosticul de certitudine precoce și foarte precoce, s-a dovedit util în acest scop.
- ❑ Explorarea ultrasonografică este de utilitate majoră în aprecierea cu acuratețe a inflamației sinoviale și a atingerii remisiunii, ținta oricărui algoritm terapeutic la pacienții cu artrită precoce.
- ❑ La pacienții cu PR precoce, identificarea pacienților ce pot avea o evoluție nefavorabilă, rapid progresivă, constituie obiectivul major, iar alcătuirea unui algoritm de diagnostic și monitorizare ce integrează datele clinice, serologice și imagistice, în principal prin utilizarea PDUS, poate permite instituirea strategiei terapeutice optime, îmbunătățirea prognosticului și prevenirea dizabilității.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Tobón GJ, Youinou P, Saraux A. The environment, geo-epidemiology, and autoimmune disease: Rheumatoid arthritis. *Journal of Autoimmunity* 2010; 35 (1) :10-4.
2. Harman H, Tekeoglu I, Kaban N. Factors influencing ultrasonographic remission in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int* 2015; 35: 485-491.
3. Conrad K, Roggenbuck D, Reinhold D, Dorner Thomas. Profiling of rheumatoid arthritis associated autoantibodies. *Autoimmunity Reviews* 2010; 9: 431-435.
4. Aletaha D, Negoi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum* 2010; 62: 2569-81.
5. Yang X, Wang M, Zhang X, Li X, Cai G, Xia Q, Wang L, Xin L, Xu S, Pan F. Diagnostic accuracy of anti-RA33 antibody for rheumatoid arthritis: systematic review and meta-analysis. *Clin Exp Rheumatol*. 2016 Apr 6. [Epub ahead of print]
6. Nell VPK, Machold KP, Stamm TA, Eberl G, Heinzl H, Uffman M, Smolen JS. Autoantibody profiling as early diagnostic and prognostic tool for rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2005; 64: 1731-1736.
7. Senolt L, Grassi W, Szodoray P. Laboratory biomarkers or imaging in the diagnostics of rheumatoid arthritis? *BMC Medicine* 2014; 12:49.
8. Vreju F, Ciurea M, Roșu A, Mușetescu A, Grecu D, Ciurea P. Power Doppler sonography, a non-invasive method of assessment of the synovial inflammation in patients with early rheumatoid arthritis. *Rom J Morphol Embryol*. 2011; 52(2):637-43.
9. Vreju FA, Chisalau BA, Parvanescu CD, Barbulescu A, Rogoveanu O, Firulescu S, Rosu A, Ciurea P. High Frequency Ultrasonography of the Hand in Rheumatoid Arthritis, Psoriatic Arthritis, Gout and Osteoarthritis Patients. *Current Health Sciences Journal* 2016; 42 (1): 35-39
10. Bruce, J.F. Fries. The Health Assessment Questionnaire (HAQ). *Clinical and Experimental Rheumatology*, 23 (2005), pp. S14–S18
11. Wells G, Becker J.C, Teng J, Dougados M, Schiff M, Smolen J,= et al. – Validation of the 28-joint Disease Activity Score (DAS28) and European League Against Rheumatism response criteria based on C-reactive protein against disease progression in patients with rheumatoid arthritis, and comparison with the DAS28 based on erythrocyte sedimentation rate. *Ann Rheum Dis* 2009; 68(6):954-960
12. Backhaus M, Burmester GR, Gerber T, Grassi W, Machold KP, Swen WA, Wakefield RJ, Manger B; Working Group for Musculoskeletal Ultrasound in the EULAR Standing

- Committee on International Clinical Studies including Therapeutic Trials. Guidelines for musculoskeletal ultrasound in rheumatology. *Ann Rheum Dis* 2001;60:641-9.
13. Torp-Pedersen ST, Terslev L. Settings and artefacts relevant in colour/power Doppler ultrasound in rheumatology. *Ann Rheum Dis* 2008; 67:143-9.
 14. Naredo E, Wakefield RJ, Iagnocco A et al. The OMERACT ultrasound task force--status and perspectives. *J Rheumatol*. 2011; 38(9):2063-7.
 15. 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;32:2485-7
 16. Vreju FA, Filippucci E, Gutierrez M, Di Geso L, Ciapetti A, Ciurea ME, Salaffi F, Grassi W. Subclinical ultrasound synovitis in a particular joint is associated with ultrasound evidence of bone erosions in that same joint in rheumatoid patients in clinical remission. *Clin Exp Rheumatol*. 2016; 34(4):673-8
 17. Naredo E, Collado P, Cruz A et al. Longitudinal Power Doppler Ultrasonographic Assessment of Joint Inflammatory Activity in Early Rheumatoid Arthritis: Predictive value in disease activity and radiologic progression. *Arthritis & Rheumatism* 2007; 57: 116-124.
 18. Kawashiri SY, Kawakami A, Iwamoto N, Fujikawa K, Satoh K, Tamai M et al. The power Doppler ultrasonography score from 24 synovial sites or 6 simplified synovial sites, including the metacarpophalangeal joints, reflects the clinical disease activity and level of serum biomarkers in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2011; 50 (5): 962-965.
 19. Mendoca R, Mendoca JA, Brenol C, Xavier RM, Brenol JC. Assessing rheumatoid arthritis disease activity with ultrasound. *Clin Rheumatology* 2013; 32: 1249-1254.
 20. Damjanov N, Radunovic G, Prodanovic S, Vukovic V, Milic V, Simic Pasalic K et al. Construct validity and reliability of ultrasound disease activity score in assessing joint inflammation in RA: comparison with DAS-28. *Rheumatology (Oxford)* 2012; 51(1):120-128
 21. Scire C.A, Montecucco C, Codullo V, et al. Ultrasonographic evaluation of joint involvement in early rheumatoid arthritis in clinical remission: power Doppler signal predicts short-term relapse. *Rheumatology (Oxford)* 2009; 48(9):1092-1097
 22. Trouw L., Mahler M. Closing the serological gap: promising novel biomarkers for the early diagnosis of rheumatoid arthritis. *Autoimmunity Reviews* 2012; 12: 318-322.
 23. Maslyanskiy A, Lazareva N, Olinek P, Schierack P, Hentschel C, Cuccato J et al. Anti-hnRNP B1 (RA33) autoantibodies are associated with the clinical phenotype in Russian patients with rheumatoid arthritis and systemic sclerosis. *J Immunol Res*. 2014; 2:1-7

24. Al-Mughales JA. Immunodiagnostic significance of anti-RA33 autoantibodies in Saudi patients with rheumatoid arthritis. *J Immunol Res.* 2015; 604305.
25. Al-Ani MM. Comparison of anti-filaggrin, anti-RA33 and anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in the diagnosis of rheumatoid arthritis in Iraqi patients. *Iraqi Journal of Community Medicine.* 2012; 337-340.
26. Lashkari M, Noori A, Hajiimanouchehri F, Oveisi S, Kazemifar M. Determination of specificity and sensitivity of anti-RA33 in diagnosis of early rheumatoid arthritis. *Global Journal of Health Science.* 2014; 6 (4): 292-297.
27. Peluso G, Michelutti A, Bosello S, Gremese E, Tulusso B, Ferraccioli G. Clinical and ultrasonographic remission determines different chances of relapse in early and long standing rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2011; 70(1):172-5.