



Anna Mihailova

**ĢENĒTISKIE ASPEKTI  
REIMATOĪDĀ ARTRĪTA  
GADĪJUMĀ**

Promocijas darba kopsavilkums  
Specialitāte – reimatoloģija

Rīga, 2012

PRK-3921

1737411



RĪGAS STRADIŅA  
UNIVERSITĀTE

Anna Mihailova

**ĢENĒTISKIE ASPEKTI  
REIMATOĪDĀ ARTRĪTA  
GADĪJUMĀ**

6158009120

Promocijas darba  
kopsavilkums

Specialitāte – reimatoloģija

Rīga, 2012

**Promocijas darbs izstrādāts:**

Rīgas Austrumu klīniskās universitātes slimnīcas klīnikā Linezers  
Reimatoloģijas centrā  
Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrā

**Darba zinātniskais vadītājs:**

*Dr. med.*, profesore **Helēna Mikažāne**,  
Rīgas Stradiņa universitāte

**Darba zinātniskais konsultants:**

*Dr. med.*, **Liene Ņikitina-Zaķe**,  
Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrs

**Recenzenti:**

*Dr. med.*, profesore **Iona Hartmane**, Rīgas Stradiņa universitāte  
*Dr. med.*, profesore **Liliana Groppa**, State Medical and Pharmaceutical  
University Nicolae Testemitanu, Moldovas Republika  
*Dr. biol.*, asociēta profesore **Inese Kokina**, Daugavpils Universitāte

Promocijas darba aizstāvēšana notiks 2012. gada 18. jūnijā plkst. 14.00 Rīgas Stradiņa universitātes Internās medicīnas Promocijas padomes atklātā sēdē Rīgā, Dzirciema ielā 16, Hipokrāta auditorijā.

Ar promocijas darbu var iepazīties RSU bibliotēkā un RSU mājas lapā:  
[www.rsu.lv](http://www.rsu.lv)

**Promocijas padomes sekretāre:**

*Dr. med.*, profesore **Ināra Logina**



# SATURS

Darbā lietotie saīsinājumi .....	4
Ievads.....	6
1. Materiāli un metodes .....	11
2. Darba rezultāti .....	14
2.1. Slimnieku un kontrolgrupas raksturojums .....	14
2.2. Alēļu un genotipu iedalījums reimatoīdā artrīta pacientiem .....	17
2.3. Genotipu iedalījums reimatoīdā artrīta sievietēm .....	21
2.4. Genotipu asociācija ar reimatoīdā artrīta sākšanās vecumu .....	22
2.5. Genotipu iedalījums atkarībā no antivielu klātbūtnes .....	24
2.6. Genotipu asociācija ar reimatoīdā artrīta aktivitāti .....	26
2.7. Genotipu asociācija ar reimatoīdā artrīta smagumu .....	27
3. Diskusija .....	30
4. Secinājumi .....	42
5. Praktiskas rekomendācijas .....	43
6. Literatūras saraksts .....	44
Publikācijas par darba tēmu .....	48
Pateicības .....	51

## DARBĀ LIETOTIE SAĪSINĀJUMI

- A – adenīns
- ACPA – anticitrulinēto peptīdu antivielas, angl. *anti-citrullinated peptide antibodies*
- AntiCCP – anticikliski citrulinētais peptīds
- ASV – Amerikas Savienotās Valstis
- bp – bāzu pāris
- C – citozīns
- CRO – C reaktīvais olbaltums
- DAS28 – slimības aktivitātes rādītājs, angl. *disease activity score 28*
- DNS – dezoksiribonukleīnskābe
- EGĀ – eritrocītu grimšanas ātrums
- FN – funkcionāla nepietiekamība
- G – guanīns
- GWAS – genoma mēroga asociācijas pētījums, angl. *genome-wide association study*
- HLA – cilvēka leikocītu antigēns, angl. *human leukocyte antigen*
- IL – interleikīns
- JLS – jutīgo locītavu skaits
- KLF12 – Kruppel līdzīgo 12. faktors, angl. *Kruppel-like factor 12*
- PĶR – polimerāzes ķēdes reakcija, angl. *polymerase chain reaction*
- PLS – pietūkušo locītavu skaits
- PTPN22 – olbaltuma tirozīnfosfatāzes non-receptors 22, angl. *protein tyrosine phosphatase non-receptor22*
- RA – reimatoīdais artrīts
- RF – reimatoīdais faktors
- RTG – rentgenoloģisks
- SE – kopējais epitops, angl. *shared epitope*

SMARM – slimību modificējošie antireimatiskie medikamenti

SNP – viena nukleotīda polimorfisms, angl. *single nucleotide polymorphism*

T – timidīns

TNF – audzēja nekrozes faktors, angl. *tumor necrosis factor*

VAS – vizuālā analoga skala

## IEVADS

Reimatoīdais artrīts (RA) ir hroniska destruktīva locītavu iekaisuma slimība ar būtisku personisku, sociālu un ekonomisku ietekmi. Vietēji iekaisušās šūnas iebūr aculārā sinovijā, veicinot hiperplāziju un pannus audu veidošanos, kas izraisa skrimšļa destrukciju, blakusesošā kaula eroziju un funkciju zudumu skartajā locītavā. Iekaisumam raksturīga progresējoša gaita ar remisijas un uzliesmojuma periodiem, kas gala rezultātā izraisa izteiktu locītavu deformāciju, kontraktūru, ankiložu izveidošanos. Progresējošs locītavu bojājums, iekšējo orgānu iesaistīšanās procesā, pastāvīga slimības aktivitāte rada ilgstošu darba nespēju. 10 gadus pēc slimības sākuma tikai mazāk nekā puse pacientu var turpināt strādāt vai normāli darboties ikdienā. Sistēmiskais iekaisums ilgtermiņā ietekmē dažādus orgānus, krietni palielinot aterosklerozes un limfomas risku. Kopā ar neizbēgamām ilggadējām antireimatisko zāļu blaknēm un psiholoģisku slogu, kas saistīts ar agrīnu invaliditāti un sociālu nestabilitāti, neārstēts RA izraisa mūža ilguma samazināšanos vidēji par 10 gadiem.

Pastāv lielas atšķirības gan RA klīniskajā ainā, gan arī slimības gaitā. Slimniekiem, kas ilgstoši slimo, RA var noritēt locītavu formā, locītavu bojājumam var pievienoties arī ekstraartikulāras izpausmes, klīniskā aina var pārklāties ar citām reimatiskām slimībām – tā saucamie pārklāšanās (angl. *overlap*) sindromi, vai ar citām autoimūnām slimībām, kā, piemēram, Šegrēna sindroms un Hašimoto tireoidīts. Slimības gaita ir ļoti dažāda, sākot no viegliem gadījumiem ar neerozīvu, dažkārt pat spontāni remitējošu slimību līdz smagam, strauji progresējošam un destruktīvam RA. Ģenētisko riska faktoru analīze, autoantivielu atbildes un terapeitiskie pētījumi liecina, ka tomēr klīniski RA kā slimību kopumu varētu sastādīt patoģenētiski atšķirīgas apakšgrupas un ka tām jāpiemēro atšķirīga ārstēšanas taktika.

RA uzlūko par autoimūnu slimību, kas nozīmē imunoloģiskās tolerances sabrukumu kādā konkrētā pacienta dzīves brīdī. Šī destruktīvā procesa cēlonis līdz šim nav zināms. Autoantivielu klātie un lēnām pieaugošais C reaktīvā olbaltuma līmenis vairākus gadus pirms klīnisko simptomu rašanās liecina, ka iekaisums var būt sācies jau ilgi pirms slimnieka vēršanās pie ārsta. Atšķirības starp etniskām grupām saslimstībā ar RA, slimības gaitas nevienmērīgums un variācijas klīniskās, radioloģiskās un laboratorijas pārbaudēs liecina, ka vairāki faktori ietekmē RA rašanos un progresēšanu. Liela ietekme te ir ģenētiskajam komponentam. Ģenētiskajiem marķieriem ir daudz svarīgu priekšrocību, salīdzinājumā ar vispārpieņemtiem bioloģiskiem marķieriem: genotipi ir stabili, nosakāmi slimības sākumā vai pat pirms tās, nemainās ārstēšanās laikā.

Pierādīts, ka agrīna un agresīva RA ārstēšana ir daudz efektīvāka un nodrošina labvēlīgu klīnisku, radioloģisku un funkcionālu iznākumu, palielina slimības remisijas iespējamību. Ir zināms, ka erozīvas izmaiņas attīstās samērā agri. Ir ļoti svarīgi identificēt RA dažu nedēļu vai mēnešu laikā pēc tā sākšanās, jo, nekavējoties uzsākot ārstēšanu ar slimību modificējošiem antireimatiskiem medikamentiem (SMARM, angl. *disease modifying anti-rheumatic drugs*, DMARD), var panākt labāku rezultātu nekā tad, ja SMARM lieto ar vairāku mēnešu novēlošanos. Ar radioloģiskām metodēm noteikts, ka bojājums mazāk progresē slimniekiem, kas bāzes terapiju saņēmuši slimības sākuma periodā, nekā tiem, kas to saņēmuši ar novēlošanos. Bioloģisko medikamentu un metotreksāta kombināciju vai tradicionālo SMARM kombināciju lietošana daudz efektīvāk palēnina radioloģiskām metodēm konstatēto izmaiņu progresēšanu, salīdzinājumā ar metotreksāta monoterapiju. Tā kā laika gaitā novērojama korelācija starp radioloģisko metožu noteiktiem bojājumiem un invaliditātes attīstību, tad pastāv hipotēze, ka ar radioloģiskām metodēm konstatētu bojājumu novēršana mazina invaliditātes attīstības iespējamību. Slimniekiem, kas agrāk ārstēti, ir lielāka iespēja sasniegt remisiju. Tādējādi



reimatoīdā artrīta diagnoze, neapšaubāmi, ir jānosaka cik ātri vien iespējams, lai SMARM ārstēšanu var sākt nekavējoties. Bioloģiskie preparāti ļoti efektīvi palīdz smaga RA ārstēšanā, bet plaša to izmantošana daudzās valstīs ir ierobežota preparātu dārdzības, kā arī nezināmu attālinātu blakus efektu dēļ.

Nepietiek tikai ar klīniskiem un seroloģiskiem raksturlielumiem, lai paredzētu slimības prognozi konkrētam slimniekam. Papildu zināšanas par RA ģenētiku var palīdzēt identificēt slimniekus ar prognostiski smagu un agresīvu slimības gaitu un veicināt mērķtiecīgu terapiju ar potenciālu klīnisku un ekonomisku ieguvumu.

Pēdējos desmit gados sasniegts liels progress RA gēnu pētniecībā. Papildus HLA lokusiem, vairāk nekā 30 ģenētiskie marķieri ir pārliecinoši saistīti ar RA saslimšanas risku. Lai gan tas ir ievērojams sasniegums, lielu daļu ģenētisko riska faktoru vēl ir nepieciešams precizēt. Daži no šiem trūkstošajiem faktoriem ir retas ģenētiskas variācijas ar alēļu biežumu, mazāku par pieciem vai pat vienu procentu, un to identificēšanai nepieciešama plašāka RA slimnieku genoma izmeklēšana. Turklāt, ar dažiem izņēmumiem, atklāto ģenētisko faktoru loma nav zināma. Tādējādi, marķieru identificēšana paredz jaunu, uz hipotēzēm balstītu, pētījumu nepieciešamību, lai noteiktu šo marķieru lomu slimības patoģenēzē.

RA ģenētiskie marķieri plaši pētīti dažādās populācijās, bet nav tik plaši analizēti RA slimniekiem Latvijā. Ņemot vērā faktu, ka ģenētiskie polimorfismi var prevalēt noteiktā populācijā, izmantojot šajā darbā iegūtos datus, var spriest par ģenētisko faktoru ietekmi uz RA izpausmēm Latvijā.

Pievērsties RA izpētei rosināja fakts, ka RA ir visbiežāk sastopamā iekaisuma artrīta forma. Pēc statistikas var uzskatīt, ka Latvijā ir vairāk nekā 10 tūkstoši reimatoīdā artrīta slimnieku un katru gadu saslimst apmēram 500 cilvēku. Iegūto rezultātu apkopojums un analīze var papildināt jau zināmos datus par RA etioloģiju un patoģenēzi, par faktoriem, kuri ietekmē RA aktivitāti, smagumu un prognozi, tas nosaka arī pētījuma aktualitāti.

## **Darba mērķis**

Izpētīt ģenētisko faktoru asociāciju ar risku saslimt ar reimatoīdo artrītu un tā izpausmēm Latvijas populācijā.

## **Darba uzdevumi**

1. Izveidot labi raksturotu RA slimnieku paraugkopu.
2. Precizēt RA uzņēmībā iesaistītos ģenētiskos marķierus.
3. Izpētīt ģenētisko marķieru saistību ar RA sākšanās vecumu.
4. Pārbaudīt autoantivielu esamības atkarību no ģenētiskajiem marķieriem.
5. Izpētīt ģenētisko marķieru korelāciju ar reimatoīdā procesa aktivitāti.
6. Izpētīt ģenētisko marķieru saistību ar RA smagumu.

## **Darbā izvirzītā hipotēze**

Ģenētiskie polimorfismi PTPN22 gēnā (rs2476601), KLF12 gēnā (rs1324913), TNFA gēna promoterā -308 pozīcijā (rs1800629), IL6 gēna promoterā -174 pozīcijā (rs1800795), IL18 gēna promoterā -607, -656 pozīcijā (rs1946519, rs1946518), IL10 gēna promoterā -592, -819, -1082 pozīcijā (rs1800872, rs1800871, rs1800896) ir saistīti ar risku saslimt ar reimatoīdo artrītu un fenotipisko izpausmi Latvijas populācijā.

## **Darba zinātniskā un praktiskā novitāte**

Promocijas darbā apkopoti dati par RA slimniekiem Latvijā. Noteiktas slimības stadijas, aktivitāte un smaguma pakāpe saskaņā ar aktuāliem slimības vērtēšanas kritērijiem. Noteikti deviņi polimorfismi – PTPN22 gēnā (rs2476601), KLF12 gēnā (rs1324913), TNFA gēna promoterā -308 pozīcijā (rs1800629), IL6 gēna promoterā -174 pozīcijā (rs1800795), IL18 gēna promoterā -607, -656 pozīcijā (rs1946519, rs1946518), IL10 gēna promoterā -

592, -819, -1082 pozīcijā (rs1800872, rs1800871, rs1800896), un analizēti dati par slimības uzņēmību, aktivitāti un smagumu.

Pētījumā iegūti zinātniski ticami rezultāti par ģenētisko marķieru asociāciju ar uzņēmību pret RA un slimības fenotipisku izpausmi. Statistiski ticami pierādīts, ka PTPN22 1858C/T, KLF12C/A, IL6 un IL18 polimorfismi saistīti ar risku saslimt ar RA Latvijas iedzīvotājiem. KLF12C/A, nesen precizētais polimorfisms, atšķirībā no citiem pētījumiem pasaulē [14] saistīts ar uzņēmību pret slimību Latvijas populācijā. KLF12C/A un IL6 polimorfismi asociējas ar antivielu esamību. PTPN22 1858T alēli nesošie genotipi un KLF12 A alēles homozigotiskais genotips ir iespējamie erozīvās slimības priekšvēstneši. TNFA genotipi var iespaidot slimības patogēnēzi atkarībā no slimības sākšanās vecuma, un IL10 promotera polimorfismi var ietekmēt slimības aktivitāti. Pamatojoties uz izmeklētajiem polimorfismiem, ir iespējams, ka RA sievietēm pārstāv atsevišķu slimības apakšgrupu.

Papildu zināšanas par RA ģenētiku var palīdzēt RA agrīnajā diagnostikā, slimības izpausmju prognozēšanā un ārstēšanas plānošanā ar potenciālu klīnisko un ekonomisko ieguvumu, kā arī sniegt ieskatu audu bojājuma mediatoros, kas var potenciāli pārstāvēt jaunus terapeitiskos mērķus RA gadījumā.

### **Promocijas darba apjoms un struktūra**

Promocijas darbs uzrakstīts latviešu valodā. Promocijas darba sadaļas: ievads, literatūras apskats, materiāli un metodes, rezultāti, diskusija, secinājumi un izmantotās literatūras saraksts. Darbs sastāv no 153 lpp., to skaitā 55 tabulas, 34 attēli un viens pielikums. Vēres aptver 253 nosaukumus.

Par disertācijas materiālu publicēti un pieņemti publicēšanai 5 zinātniskie raksti, 6 tēzes un 3 stenda referāti.

Promocijas darba aprobācija notika 2011. gada 30. augustā Rīgas Stradiņa universitātes Iekšējīgo slimību katedras sēdē P. Stradiņa Medicīnas Vēstures muzejā, Antonijas ielā 1, Rīgā.

## 1. MATERIĀLI UN METODES

Pētījumā iekļauti 105 slimnieki ar RA, diagnoze noteikta atbilstoši 1987. gada Amerikas Reimatologu kolēģijas izveidotiem diagnostiskiem kritērijiem [1], un 242 veselie Latvijas iedzīvotāji. Katram dalībniekam, kas piedalījās pētījumā, tika piešķirts identifikācijas numurs. Visi iepazinās un parakstīja piekrišanas formas bioloģiskā materiāla (asins) ģenētiskai izpētei.

Visi slimnieki ārstējās RAKUS Rīgas Reimatoloģijas centrā ambulatori vai stacionārā laika posmā no 2008. gada 10. janvāra līdz 30. oktobrim. Katram RA slimniekam tika izveidota anketa, kurā atspoguļoti šādi dati: dzimums, vecums, slimības ilgums, biometriskie raksturlielumi (svars, augums, vēdera apkārtmērs), rīta stīvuma ilgums, sāpju un slimības aktivitātes vērtējums, jutīgo locītavu skaits, pietūkušo locītavu skaits, locītavu protēžu esamība; laboratoriski raksturlielumi (reimatoīdais faktors (RF), anticikliska citrulinēta peptīda (antiCCP) antivielas, C reaktīvais olbaltums (CRO) un eritrocītu grimšanas ātrums (EGĀ)); rentgenoloģiska stadija; funkcionāla nepietiekamības pakāpe; medikamentozā terapija.

Pētījuma kontrolgrupa sastādīta, izmantojot datus no Valsts iedzīvotāju genoma datubāzes Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrā. Kontrolgrupā iekļauti 242 potenciāli veseli (bez autoimūnām saistaudu sistēmas slimībām) Latvijas iedzīvotāji, kas pēc dzimuma un vecuma saskaņoti ar pētāmo grupu, vecumā no 17 līdz 84 gadiem, mediāna – 53 gadi, 195 (81,3%) sievietes un 45 (18,8%) vīrieši; smēķētāji /bijušie smēķētāji 72 (34,8%), nesmēķētāji 135 (65,2%).

RA aktivitātes novērtēšanai tika izmantoti sekojoši raksturlielumi: sāpīgo un pietūkušo locītavu skaits, slimnieka sāpju un slimības aktivitātes vērtējums, izmantojot vizuālo analogo skalu (VAS), ārsta vērtējums par vispārēju slimības aktivitāti, izmantojot VAS, slimnieka funkcionālā stāvokļa novērtējums, akūtās fāzes raksturlielumi (EGĀ un CRO), aprēķināts DAS28. Funkcionālās nepietiekamības pakāpe vērtēta, izmantojot Amerikas Reimatologu kolēģijas 1991. gadā pārskatītus kritērijus funkcionāla stāvokļa klasifikācijai RA slimniekiem. Roku un kāju rentgenogrammas analizētas pēc Steinbrokera metodes lai noteiktu eroziju esamību.

PTPN22 (rs2476601) un KLF12 (rs1324913) genotipēšana: iegūtā ar standarta fenola-hloroforma ekstrakcijas protokolu DNS izšķīdināta ddH<sub>2</sub>O līdz koncentrācijai 7ng/mkl. PTPN22 (rs2476601) un KLF12 (rs1324913) genotipēšana veikta, izmantojot pieejamos Taqman SNP genotipēšanas kitus, kas izgatavoti atbilstošam SNP (Taqman Pre-Designed SNP Genotyping Assays, *Applied Biosystems*) [2], un reālā laika polimerāzes ķēžu reakcijas (PĶR) sistēmu (ABI 7500 Real-Time PCR system, *Applied Biosystems*) saskaņā ar piegādātāja ieteikumiem.

Citokīnu SNP (TNFA gēna -308 pozīcijā (rs1800629), IL6 gēna -174 pozīcijā (rs1800795), IL18 gēna -607, -656 pozīcijā (rs1946519, rs1946518), IL10 gēna -592, -819, -1082 pozīcijā (rs1800872, rs1800871, rs1800896)) DNS sekvences analīze: DNS daļas, kas satur interesējošos polimorfismus, polimerāzes ķēdes reakcijā (PĶR) tika pavairotas, izmantojot specifiskus oligonukleotīdus (komplementāras DNS sekvences). Tālāk šie fragmenti attīrīti no piemaisījumiem, izmantojot SAP-ExoI protokolu. DNS sekvences iegūtas ar tiešu amplificēta produkta sekvenēšanu, izmantojot 3100 ABI prizmas DNS sekvenātoru (*Applied biosystems*, ASV). Oligonukleotīdu amplifikācijas un sekvenēšanas praimeru sniegti 1.1. tabulā. Izmantoti sekojošie PĶR maisījumi un nosacījumi. 1 PĶR stobrs satur 15mkl 2x PCR Master Mix (*Fermentas life sciences*, Lietuva), atbilstošo oligonukleotīdu pāro (10 mM) un 28 ng sausu

genomisko DNS. PĶR cikla nosacījumi bija sekojoši: 5 minūtes sākotnēja denaturēšana 95 °C, kam seko 32 cikli – 15 s 95 °C, 30 s 56 °C, 30 s 72 °C, tam seko 10 min 72 °C.

1.1. tabula

**Praimeri citokīnu SNP noteikšanai**

Praimeris	DNS secība	Produkta izmērs (bp)
TNFA-308F	5'-ACAGGCCTCAGGACTCAACA-3'	364bp
TNFA-308R	5'-GCACCTTCTGTCTCGGTTTC-3'	
TNFA-308SEQ	5'-AACACAGCTTTTCCCTCCAA-3'	
IL6-174F	5'-TCGTGCATGACTTCAGCTT-3'	328bp
IL6-174R	5'-GCCTCAGACATCTCCAGTCC-3'	
IL18-607F	5'- ATTCAGGACTTCCCCTTCCT-3'	
IL18-607R	5'-CACTCTGCTCTTCAAACGTTACAT-3'	402bp
IL18-656F	5'- ATTCAGGACTTCCCCTTCCT-3'	685bp
IL10-PĶR-F	5'-TTCCCCAGGTAGAGCAACAC-3'	
IL10-PĶR-R	5'-ATCCTCAAAGTCCCAAGCA-3'	
IL10-819, 592SEQ	5'-TCTAAGGCCAATTTAATCCAAGG-3'	
IL10-1082SEQ	5'-GATGGGGTGAAGAAGTTGA-3'	

F – praimeris uz priekšu, *angl. forward*, R – reversā praimeris, *angl. reverse*, SEQ – sekvenēšanas praimeris

Hipotēžu pārbaudei atbilstoši izvirzītiem uzdevumiem un datu veidam tika izmantotas sekojošas statistikas metodes: Hī kvadrāta tests, Fišera precīzais tests, Kolmogorova–Smirnova tests, Kruskal Valisa, viena faktora dispersiju analīze ANOVA (*Analysis Of Variance*), Spīrmana korelācijas koeficients, loģistiskas regresijas analīze. Ģenētisku saistību ar definēto fenotipu vērtēja alēlēm, dominantajā un recesīvajā ģenētiskajā modelī. P vērtība, kas mazāka nekā 0,050, uzskatīta par statistiski nozīmīgu. P vērtība lielāka par 0,050, bet mazāka par 0,100, pieņemta par statistiskās atšķirības tendenci. Izredžu attiecība (*angl. odds ratio, OR*), aprēķināta ar 95% ticamību intervālu (TI) (*angl. confidence interval, CI*). Statistisku datu apstrāde veikta ar programmatūras paketi SPSS (*angl. statistical package for the social sciences, SPSS Inc, Chicago, IL*), versija 13.0, 2004.

## 2. DARBA REZULTĀTI

### 2.1. Slimnieku un kontrolgrupas raksturojums

Darbā analizēti dati par 105 pacientiem ar diagnosticētu RA. Demogrāfiskie raksturlielumi apkopoti 2.1. tabulā.

2.1. tabula

#### Demogrāfiskie raksturlielumi reimatoīda artrīta pacientiem

Raksturojums	Slimnieki n=105	Kontrolgrupa n=242
Vecums (gadi)	58 (26 – 83)	53 (17–84)
Sievietes (%)	89 (84,8)	195 (81,3)
Vīrieši (%)	16 (15,2)	45 (18,8)
Smēķētāji/bijušie smēķētāji	32 (30,5)	72 (34,8)
Nesmēķē	73 (69,5)	135 (65,2)
Slimnieka vecums slimības sākumā	52 (16 – 80)	
Slimības ilgums (gadi)	4,7 (0,1 – 49,4)	
RA sākums pirms 50 gadu vecuma	47 (44,8)	
pēc 50 gadu vecuma	58 (55,2)	

Vērtības parādītas kā mediāna (diapazons) vai n – daudzums (%)

Izmeklētas 89 (84,8%) sievietes un 16 (15,2%) vīrieši ar vidējo vecumu 58,71±11,18 gadi, vidējo vecumu saslimšanas brīdī 50,52±13,38. Pirms 50 gadu vecuma RA bija sācies 47 (44,8%) pacientiem un pēc 50 gadu vecuma 58 (55,2%) pacientiem. Smēķētāji vai bijušie smēķētāji sastādīja 30,5%.

Klīniskie un laboratoriskie raksturlielumi apkopoti 2.2. tabulā.

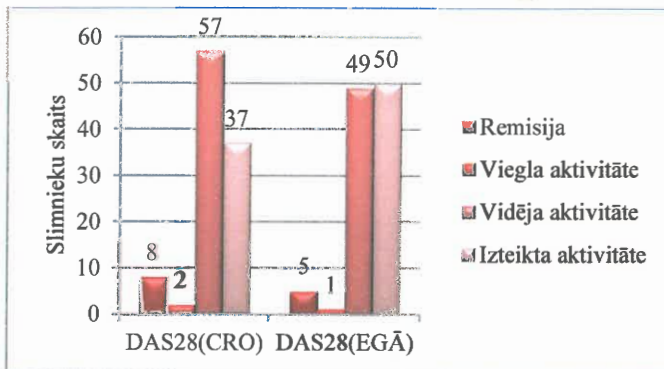
**Kliniskie un laboratoriskie raksturlielumi reimatoīda artrīta pacientiem**

Raksturojums	Vērtība	Pacientu skaits
PLS (28)	6 (0-20)	105
JLS (28)	8 (0-26)	105
VAS sāpju vērtējums (mm)	49 (1-97)	105
VAS slimības aktivitātes vērtējums (mm)	50 (2-93)	105
Ārsta VAS slimības aktivitātes vērtējums (mm)	34 (4-89)	105
EGĀ (mm/h)	26 (2-76)	105
CRO (mg/l)	6,90 (0,00-113,4)	104
DAS28 (EGĀ)	5,04 (0,93-7,77)	105
DAS28 (CRO)	4,5 (1,84-7,6)	104
Reimatoīdais faktors +	79 (76,7)	103
Reimatoīdais faktors -	24 (23,3)	103
AntiCCP antivielas +	58 (79,45)	73
AntiCCP antivielas -	15 (20,55)	73

Vērtības parādītas kā mediāna (diapazons) vai n – daudzums (%)

PLS – pietūkušo locītavu skaits, JLS – jutīgo locītavu skaits, VAS – vizuālā analoga skala, EGĀ – eritrocītu grimšanas ātrums, CRO – C reaktīvais olbaltums, DAS28 – slimības aktivitātes rādītājs, AntiCCP – anticikliski citrulīnētais peptīds

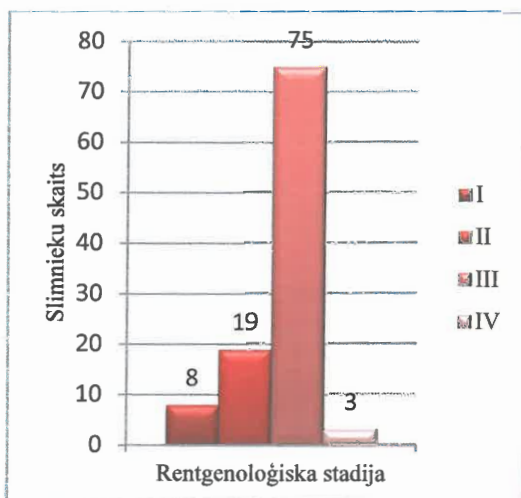
Pētījumā ir iekļauti slimnieki ar pārsvara aktīvu, erozīvu RA, ar izteiktu funkcionālu nepietiekamību (sk. 2.1 – 2.3. att.).



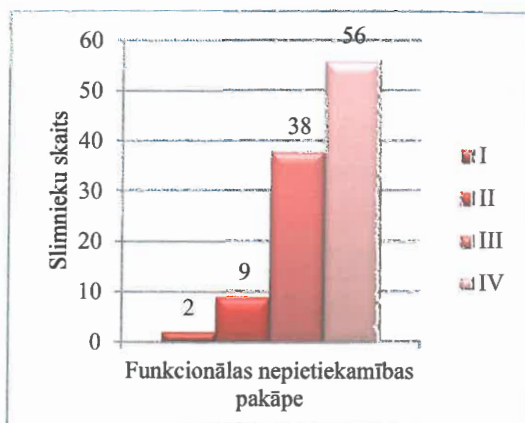
2.1. att. Slimnieku iedalījums pēc DAS28

CRO – C reaktīvais olbaltums, EGĀ – eritrocītu grimšanas ātrums, DAS28 – slimības aktivitātes rādītājs





2.2. att. Slimnieku iedalījums pēc rentgenoloģiskas stadijas



2.3. att. Slimnieku iedalījums atkarībā no funkcionālas nepietiekamības

Lai atrastu korelāciju starp klīniskiem raksturlielumiem RA slimniekiem veikta korelācijas analīze. Pozitīva korelācija novērojama starp slimības aktivitātes raksturlielumiem (DAS28 CRO, DAS28 EGĀ) un rentgenoloģiskām stadijām, jo lielāka ir slimības aktivitāte, jo lielāka rentgenoloģiskā stadija

(smagāks ir RA) ( $p=0,005$ ;  $p=0,009$ , attiecīgi); starp rentgenoloģiskām stadijām un funkcionālās nepietiekamības pakāpi, jo lielāka ir rentgenoloģiskā stadija, jo izteiktāka ir funkcionālā nepietiekamība ( $p<0,001$ ); starp slimības ilgumu un rentgenoloģiskām stadijām, un starp slimības ilgumu un funkcionālās nepietiekamības pakāpēm, jo lielāks ir slimības ilgums, jo lielāka rentgenoloģiskā stadija ( $p<0,001$ ) un funkcionālās nepietiekamības pakāpe ( $p<0,001$ ).

## 2.2. Alēļu un genotipu iedalījums reimatoīdā artrīta pacientiem

Pētījumā izmantotie polimorfismu marķieri sniegti 2.3. tabulā.

2.3. tabula

### Darbā izmantotie SNP marķieri

SNP gēns	Parasta alēle	Reta alēle	MAB kontrolgrupā	MAB pacienti m	HVV kontrolgrupā p
rs2476601 <b>PTPN22</b>	C	T	0,10	0,24	0,68
rs1324913 <b>KLF12</b>	C	A	0,32	0,35	0,04
rs1800629 <b>TNF-308</b>	G	A	0,10	0,11	0,06
rs1800795 <b>IL6-174</b>	G	C	0,50	0,60	0,30
rs 1946519 <b>IL18-607</b>	C	A	0,36	0,37	0,48
rs 1946518 <b>IL18-656</b>	G	T	0,36	0,37	0,54
rs1800872 <b>IL10-592</b>	C	A	0,26	0,27	0,27
rs1800871 <b>IL10-819</b>	C	T	0,26	0,27	0,25
rs1800896 <b>IL10-1082</b>	A	G	0,44	0,40	0,71

MAB – mazas alēles biežums; HVV – Hārdija Veinberga vienādojums (angl. *Hardy-Weinberg equilibrium, HWE*)

Pastāv statistiski būtiskas atšķirības starp PTPN22 C1858T alēļu un genotipu iedalījumu RA slimniekiem (sk. 2.4. tab.). T alēle sastopama 23,6% RA slimniekiem un 10,1% kontrolgrupā, C alēle sastopama 75,5% RA slimniekiem un 89,9% kontrolgrupā ( $p=0,000006$ ).

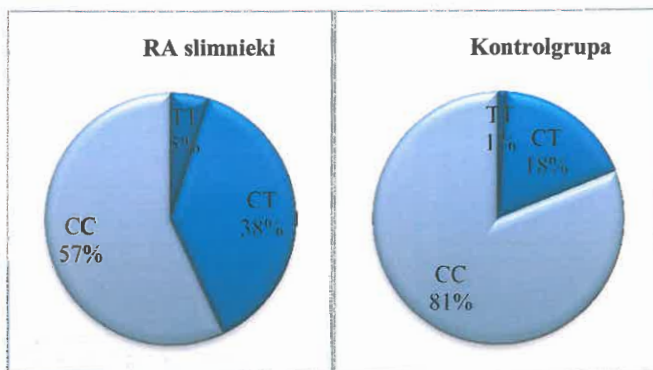
2.4. tabula

**PTPN22 C1858T (rs2476601) alēļu un genotipu iedalījums RA slimniekiem**

Ģenētiskais modelis	Slimnieki n=94	Kontrolgrupa n=238	p	OR [95% TI]
Alēles T/C	46/142	48/428	0,000006	1,96 [1,53-2,53]
TT/CT/CC	5/36/53	3/42/193	0,00001	
Dominantais (TT+CT/CC)	41/53	45/193	0,000007	2,21 [1,60-3,06]
Recesīvais (TT/CT+CC)	5/89	3/235	0,044	2,28 [1,29-4,00]

Dati parādīti kā n (%)

Homozigotisks TT genotips un T alēli nesošie genotipi sastopas biežāk RA slimnieku grupā (sk. 2.4. att.).



2.4. att. PTPN22 C1858T genotipu iedalījums RA slimniekiem  
TT – homozigotisks TT genotips, CT – heterozigotisks CT genotips, CC – homozigotisks CC genotips, n – genotipu skaits.

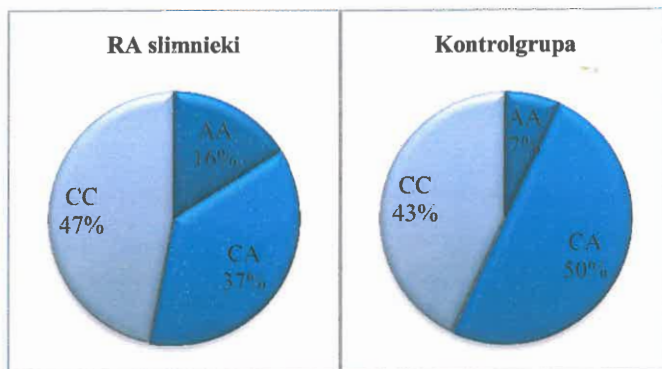
Pastāv statistiski būtiskas atšķirības starp KLF12 genotipu iedalījumu starp RA slimniekiem un kontrolgrupai (sk. 2.5. tab.). AA genotips sastopas biežāk RA slimnieku grupā (sk. 2.5. att.).

2.5. tabula

**KLF12 C/A (rs1324913) alēļu un genotipu iedalījums RA slimniekiem**

Ģenētiskais modelis	Slimnieki n=94	Kontrolgrupa n=242	p	OR [ 95% TI]
Alēles A/C	65/123	156/328	0,584	1,08 [0,84-1,39]
AA/CA/CC	15/35/44	18/120/104	0,024	
Dominantais AA+CA/CC	50/44	138/104	0,542	0,90 [0,64-1,26]
Recesīvais AA/AC+CC	15/79	18/224	0,024	1,74 [1,15-2,65]

Dati parādīti kā n (%)



2.5. att. **KLF12 C/A genotipu iedalījums RA slimniekiem** AA – homozigotisks AA genotips, CA – heterozigotisks CA genotips, CC – homozigotisks CC genotips, n – genotipu skaits

Pastāv statistiski būtiskas atšķirības IL6-174G/C alēļu un genotipu izplatībā RA slimniekiem (sk. 2.6. tab.)

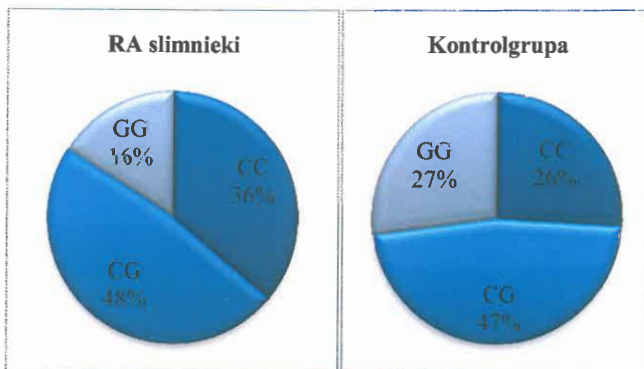
**IL6-174 (rs1800795) alēļu un genotipu iedalījums RA slimniekiem**

Ģenētiskais modelis	Slimnieki n=105	Kontrolgrupa n=240	p	OR [ 95% TI]
Alēles C/G	126/84	238/242	0,013	1,34 [1,07-1,69]
CC/GC/GG	38/50/17	63/112/65	0,047	
Dominantais CC+GC/GG	88/17	175/65	0,029	1,61 [1,02-2,55]
Recesīvais CC/GC+GG	38/67	63/ 177	0,072	1,37 [0,99-1,89]

Dati parādīti kā n (%)

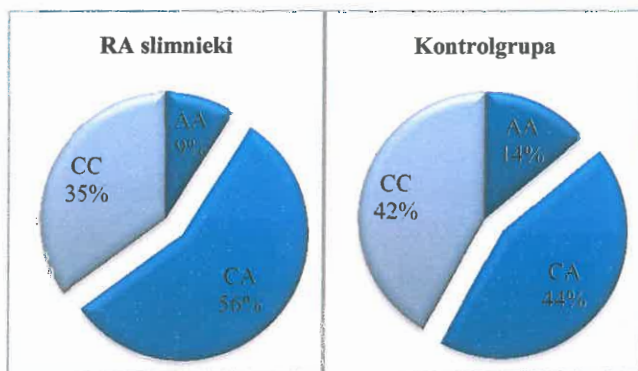
\*p=0,015, salīdzinot CC/GG frekvencēs starp RA slimniekiem un kontrolgrupu  
 OD=1,81 95%CI=1,11-2,97 (Fišera precīzs tests)

C alēle sastopama 126 (60,0%) RA slimniekiem un 238 (49,6%) kontrolgrupā un G alēle sastopama 84 (40,0%) RA slimniekiem un 242 (50,4%) kontrolgrupā. Homozigotisks CC genotips un C alēli nesošie genotipi sastopas biežāk RA slimnieku grupā, p=0,047 (Hī kvadrāta tests) un p=0,029 (Fišera precīzs tests), respektīvi (sk. 2.6. att.).



2.6. att. **IL6-174 G/C genotipu iedalījums RA slimniekiem**  
 CC – homozigotisks CC genotips, CG – heterozigotisks CG genotips, GG – homozigotisks GG genotips, n – genotipu skaits.

Nav statistiski būtiskas atšķirības starp alēļu ( $p=0,863$ ) un genotipu ( $p=0,102$ ) IL18-607 polimorfisma iedalījumu RA slimniekiem. Pastāv statistiski būtiskas atšķirības IL18-607 heterozigotiska genotipa izplatībā, salīdzinot ar homozigotiem starp RA slimniekiem un kontrolgrupu ( $OR=1,39$ ,  $95\% TI=1,01-1,93$ ,  $p=0,046$ ) (sk. 2.7. att).



2.7. att. IL18 -607 C/A genotipu iedalījums RA slimniekiem  
 AA – homozigotisks AA genotips, CA – heterozigotisks CA genotips, CC – homozigotisks CC genotips, n – genotipu skaits.

Līdzīgs genotipu iedalījums novērojams IL18-656 C/T polimorfismam, heterozigotisks GT genotips sastopas biežāk RA slimniekiem nevis kontrolgrupā, salīdzinot ar homozigotiskiem GG un TT genotipiem ( $OR=1,38$ ,  $95\% TI=1,00-1,90$ ,  $p=0,060$ ).

### 2.3. Genotipu iedalījums reimatoīdā artrīta sievietēm

Analizējot genotipu iedalījumu starp RA slimniekiem un kontrolgrupu atkarībā no dzimuma (sk. 2.7. tab.), PTPN22 C1858T, KLF12 C/A polimorfismiem novēroja statistiski būtiskas atšķirības genotipu iedalījumā RA sievietēm un kontrolgrupai ( $p=0,00002$ ,  $p=0,040$ ).

**Genotipu izplatība sievietēm un vīriešiem ar RA un kontrolgrupu**

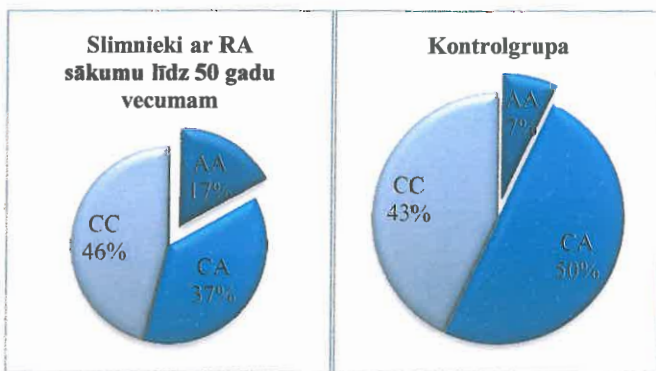
SNP	Dzimums	Genotips	Slimnieki	Kontrolgrupa	p
PTPN22	S	TT/CT/CC	4/32/44	1/37/156	0,00002
	V	TT/CT/CC	1/4/9	2/5/35	0,300
KLF12	S	AA/CA/CC	14/30/36	16/97/82	0,040
	V	AA/CA/CC	1/5/8	2/21/22	0,746

Dati parādīti kā n (%), S – sievietes, V – vīrieši

Statistiskas atšķirības tendence genotipu iedalījumā novēroja IL18-607 C/A, -656 G/T polimorfismiem, attiecīgi  $p=0,084$ ,  $p=0,097$ . Būtiskas atšķirības parādās, salīdzinot heterozigotiskus genotipus ar homozigotiskiem, IL18-607 CA gadījumā  $p=0,041$ . Tā kā vīriešu grupa nav pietiekami liela, genotipu iedalījums starp vīriešiem un kontrolgrupu nav analizēts.

**2.4. Genotipu asociācija ar reimatoīdā artrīta sākšanās vecumu**

Statistiskas atšķirības tendence KLF12 genotipu iedalījumā novērota RA slimniekiem, kas saslimuši pirms 50 gadu vecuma ( $p=0,081$ ). AA genotips (recesīvais KLF12 polimorfisma modelis) sastopas biežāk RA slimniekiem, kas saslimuši pirms 50 gadu vecuma (OR=2,13, 95%TI 1,05-4,29,  $p=0,067$ ) (sk. 2.8. att.).



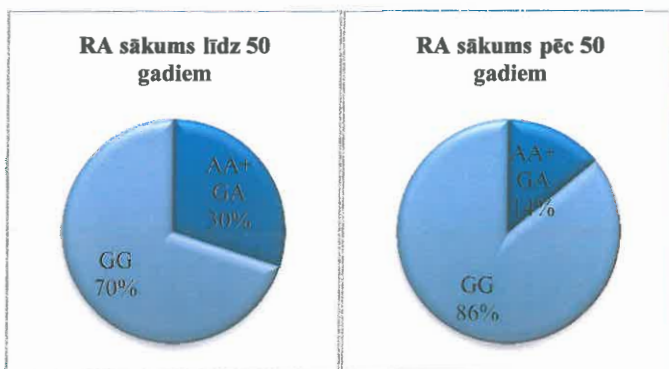
2.8. att. **KLF12 genotipu iedalījums RA slimniekiem, kas saslimuši līdz 50 gadu vecumam** AA – homozigotisks AA genotips, CA – heterozigotisks CA genotips, CC – homozigotisks CC genotips, n – genotipu skaits

Statistiskas atšķirības tendence novērota starp IL6 -174 genotipu iedalījuma RA slimniekiem ar slimības sākumu pirms 50 gadu vecuma ( $p=0,075$ ). CC genotips (recesīvais IL6-174 polimorfisma modelis) sastopas biežāk RA slimniekiem ar slimības sākumu pirms 50 gadu vecuma,  $OR=1,82$ ,  $95\%TI$  1,08-3,06,  $p=0,034$ .

IL18 -607C/A un -656G/T heterozigotiskie genotipi novērotas biežāk slimniekiem ar RA sākumu pēc 50 gadiem ( $OR=1,61$ ,  $95\% TI=1,01-2,58$ ,  $p=0,056$  un  $OR=1,59$ ,  $95\% TI=0,99-2,54$ ,  $p=0,057$ , attiecīgi).

Analizējot genotipu asociāciju slimnieku grupā atkarībā no slimības sākšanās vecuma līdz vai pēc 50 gadiem, statistiskas atšķirības tendence novērota starp TNFA -308 genotipu izplatību un RA saslimšanas vecumu pirms vai pēc 50 gadiem (sk. 2.9. att.). A alēli nesošie genotipi sastopas biežāk slimniekiem ar RA sākumu līdz 50 gadiem ( $OR=1,60$   $95\%TI$  1,06–2,42,  $p=0,056$ ).

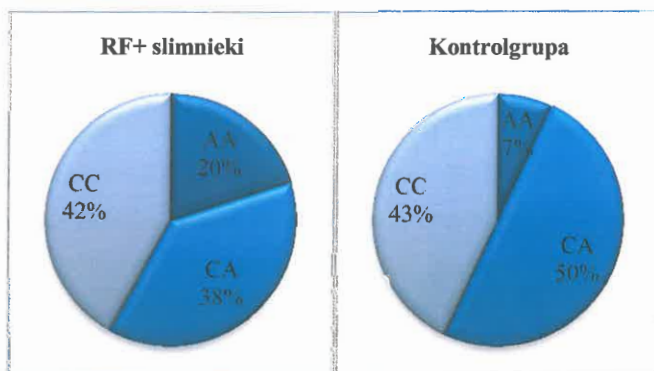




2.9. att. TNFA-308 G/A genotipu izplatība atkarībā no RA sākumu līdz/pēc 50 gadiem AA – homozigotisks AA genotips, GA – heterozigotisks GA genotips, GG – homozigotisks GG genotips, n – genotipu skaits.

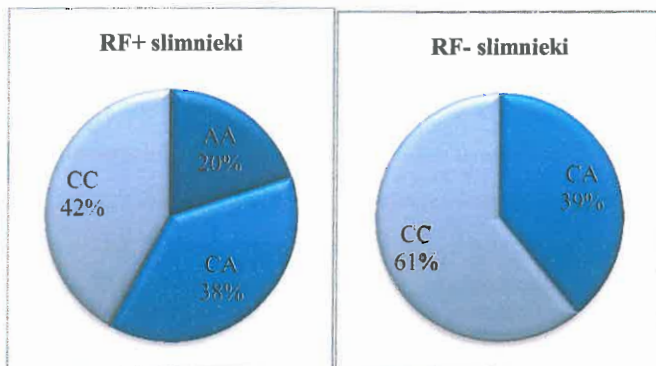
## 2.5. Genotipu iedalījums atkarībā no antivielu klātbūtnes

Statistiski būtiskas atšķirības novērotas starp KLF12 genotipu iedalījumu RF+ RA slimniekiem ( $p=0,006$ ), kā arī recesīvā KLF12 gēna modeļa sastopamību RF+ RA slimniekiem. Homozigotisks AA genotips sastopas biežāk RF+ RA slimnieku grupā (OR=2,22, 95% TI=1,40-3,51,  $p=0,006$ ) (sk. 2.10. att.).



2.10. att. KLF12 C/A genotipu asociācija RF+ RA slimniekiem AA – homozigotisks AA genotips, CA – heterozigotisks CA genotips, CC – homozigotisks CC genotips, n – genotipu skaits.

Analizējot genotipu izplatību RA slimnieku grupā atkarībā no RF esamības, novērotas lielas atšķirības KLF12 polimorfisma genotipu izplatībā ( $p=0,05$ ) (sk. 2.11. att.).



2.11. att. **KLF12 C/A genotipu asociācija ar pozitīvu/negatīvu RF RA slimniekiem**  
AA – homozigotisks AA genotips, CA – heterozigotisks CA genotips, CC – homozigotisks CC genotips, n – genotipu skaits.

Recesīvais AA genotips sastopams tikai slimniekiem ar pozitīvu RF ( $OR=1,41$ , 95%  $TI=1,23-1,63$ ,  $p=0,018$ ). Salīdzinot homozigotiskus AA un CC genotipus, arī novērotas statistiski būtiskas atšķirības ( $OR=1,48$ , 95% $TI$  1,20-1,83,  $p=0,013$ ).

Statistiskas atšķirības tendence novērota starp IL6-174 genotipu iedalījumu RF+ RA slimniekiem ( $p=0,055$ ). C alēli nesošie genotipi (dominantais modelis) sastopas biežāk RF+ RA slimnieku grupā,  $n=68$  (86%), nekā kontrolgrupā,  $n=175$  (73%) ( $OR=1,93$ , 95% $TI$  1,08–3,46,  $p=0,022$ ).

Statistiskas atšķirības tendences novērotas starp IL6-174 genotipu iedalījuma antiCCP+ RA slimniekiem ( $p=0,051$ ). C alēli nesošie genotipi sastopami biežāk antiCCP+ RA slimnieku grupā,  $n=51$  (88%), nekā kontrolgrupā,  $n=175$  (73%) ( $OR=2,32$ , 95% $TI$  1,10–4,89,  $p=0,017$ ).

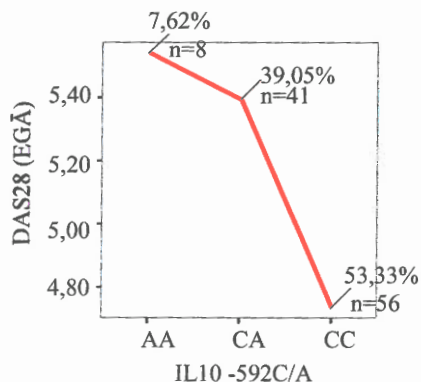
## 2.6. Genotipu asociācija ar reimatoīdā artrīta aktivitāti

Lai atrastu imūnsupresīvās terapijas atšķirības pacientiem ar dažādām slimības aktivitātes pakāpēm, izdalītas divas imunosupresīvās terapijas grupas:

**grupa A:** nesaņem terapiju, saņem monoterapiju, saņem divus un trīs preparātus;

**grupa B:** nesaņem terapiju, saņem glikokortikoīdus mono vai kombinētā terapijā un saņem citus imunosupresīvos medikamentus. Neskatoties uz to, ka kombinēta terapija (grupa A) un glikokortikoīdi (grupa B) var aktīvi ietekmēt slimības aktivitāti, Hī kvadrāta tests parāda, ka imunosupresīvās terapijas grupas starp noteiktām RA aktivitātes grupām statistiski ticami neatšķiras. Tādēļ turpmākajā analizē šīs slimnieku grupas pēc saņemtiem medikamentiem netiks dalītas.

Darbā salīdzināti RA aktivitātes raksturlielumi ar pētāmo SNP genotipu izplatību. Pastāv būtiskas atšķirības starp IL10 -592 C/A genotipu izplatību un RA aktivitāti: JLS28 ( $p=0,009$ ), VAS ārsta vērtēta slimības aktivitāte ( $p=0,025$ ), EGĀ ( $p=0,049$ ), DAS28 EGĀ ( $p=0,018$ ) (sk. 2.12. att.), ka arī ir atšķirības tendence starp IL10-592 C/A genotipu izplatību un DAS28 CRO ( $p=0,063$ ). AA genotips sastopams biežāk ar lielāku vidējo vērtību.



2.12. att. **IL10-592 C/A genotipu asociācija ar vidējo DAS28 (EGĀ)**  
 DAS28 (EGĀ) – slimības aktivitātes radītājs, aprēķināts, izmantojot EGĀ  
 raksturlielumi, EGĀ – eritrocītu grimšanas ātrums (mm/st), n – genotipu skaits

Līdzīgas būtiskas atšķirības novērotas IL10-819 C/T polimorfismam, kur TT genotips sastopams biežāk ar lielāku vidējo vērtību. Nav atrasta saistība starp šo genotipu izplatību un EGĀ, slimnieka VAS sāpju un slimības aktivitāti.

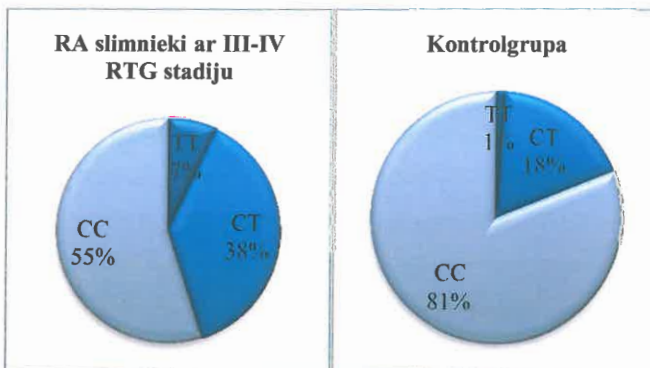
## 2.7. Genotipu asociācija ar reimatoīdā artrīta smagumu

Slimnieki ar erozīvu artrītu III un IV stadijā apvienoti vienā grupā un pārējie slimnieki ar I un II stadiju citā grupā. Statistiski būtiskas atšķirības PTPN22 genotipu iedalījumā novērotas RA slimniekiem atkarībā no RTG stadijas (sk. 2.8. tab.). T alēli nesošie genotipi sastopami biežāk RA slimniekiem ar III–IV RTG stadiju. Statistiski būtiskas atšķirības saglabājas arī pēc loģistikas regresijas lietošanas ar koriģēšanu pēc dzimuma, vecuma un smēķēšanas statusa (OR=1,11, 95% TI=1,02-1,22, p=0,017 un OR=1,28, 95% TI=1,06-1,20, p=0,00006) (sk. 2.13. att.).

**PTPN22 C1858T genotipu sadalījums RA slimniekiem atkarībā no  
rentgenoloģiskās stadijas**

Ģenētiskais modelis	Slimnieki	Kontrolgrupa	p <sup>a</sup>	p <sup>b</sup>	OR [95%TI]
I-II RTG stadija					
	n=25	n=238			
TT/CT/CC	0/10/15	3/42/193	0,026	0,017	1,11 [1,02-1,22]
Dominantais TT+ CT/CC	10/15	45/193	0,020	0,016	3,00 [1,23-7,31]
Recesīvais TT/CT +CC	0/25	3/235	1,000	0,999	--
III-IV RTG stadija					
	n=69	n=238			
TT/CT/CC	5/26/38	3/42/193	0,00002	0,00006	1,28 [1,06-1,20]
Dominantais TT+ CT/CC	31/38	45/193	0,00003	0,00008	3,35 [1,84-6,10]
Recesīvais TT/CT +CC	5/64	3/235	0,016	0,023	5,8 [1,28-26,07]

p<sup>a</sup> vērtība iegūta no  $\chi^2$  vai Fišera precīzā testa, p<sup>b</sup> vērtība iegūta no loģistikas regresijas ar korekciju pēc dzimuma, vecuma un smēķēšanas statusa. Varbūtību attiecība (OR) atbilst Exp (B) vērtībai no loģistikas regresijas



2.13. att. **PTPN22 C1858T genotipu asociācija RA slimniekiem ar III-IV RTG stadiju** TT – homozigotisks TT genotips, CT – heterozigotisks CT genotips, CC – homozigotisks CC genotips, n – genotipu skaits

Nav statistiski būtiskas atšķirības starp KLF12 polimorfisma genotipu izplatību RA slimniekiem atkarībā no RTG stadijas. Izskatot recesīvu alēļu ģenētisko modeli III-IV RTG grupā, pastāv statistiski būtiskas atšķirības AA genotipa izplatībā RA slimniekiem. Homozigotisks AA genotips sastopams biežāk RA slimniekiem ar III-IV RTG stadiju, OR=2,93, 95%TI 1,29-6,66,  $p=0,010$  (loģistiska regresija). Statistiski būtiskas atšķirības saglabājas arī pēc loģistikas regresijas lietošanas ar koriģēšanu pēc dzimuma, vecuma un smēķēšanas statusa, OR=2,93, 95%TI 1,29-6,66,  $p=0,01$ .

Analizējot genotipu saistību ar RTG stadijām RA slimnieku grupā, nav vērojamas statistiski būtiskas atšķirības starp genotipu izplatību visiem pētāmiem polimorfismiem.

Ņemot vērā, kā RA ilgums ietekmē eroziju attīstību, darbā arī analizēta genotipu saistība ar RTG stadijām atkarībā no slimības ilguma līdz pieciem gadiem, pieciem un vairāk gadiem. Nav atrastas atšķirības starp genotipu izplatību visiem pētāmiem polimorfismiem.

### 3. DISKUSIJA

Šī darba mērķis bija izpētīt ģenētisko faktoru ietekmi uz reimatoīdā artrīta izpausmēm Latvijas populācijā. Šim pētījumam izvēlēto gēnu un citokīnu svarīgā loma RA patoģenēzē ir aprakstīta vairākos līdzšinējos pētījumos. PTPN22 (rs2476601) ir pierādīts RA riska faktors, kurš aprakstīts dažādās populācijās. Parādot šo polimorfismu saistību ar RA, mēs pierādām, ka RA Latvijas populācijā ir ģenētiski līdzīgs RA citās baltās rases Eiropas populācijās. KLF12 ir nesēns aprakstītais gēns ar samērā pretrunīgu saistību ar RA, bet ar polimorfismu, kurš var izskaidrot parvovīrusa B19 ietekmes mehānismu uz RA attīstību, parādot ar to ģenētiskā un vides faktora saistību. Ņemot vērā, ka tagad RA ārstēšanā liela uzmanība pievērsta jauniem bioloģiskiem medikamentiem, no tiem TNF $\alpha$  un IL6 inhibitori, izvēlējamies pēc literatūras datiem nozīmīgākos viena nukleotīda kandidātu polimorfismus TNFA gēna promotera -308. pozīcijā (rs1800629) un IL6 gēna promotera -174. pozīcijā (rs1800795). IL18 ir citokīns ar daudzām bioloģiskām funkcijām, var pārstāvēt potenciālu terapeitisku mērķi, tāpēc izvēlējamies divus polimorfismus IL18 gēna promotera -607. un -656. pozīcijā (rs1946519, rs1946518). IL10 ir pretiekaisuma citokīns, lai precizētu ģenētiskā faktora saistību ar RA, pētīti SNP IL10 gēna promotera -592, -819, -1082. pozīcijā (rs1800872, rs1800871, rs1800896).

Saskaņā ar darba uzdevumiem, pētījuma rezultātā ir iegūti, sistematizēti un statistiski apstrādāti 105 pieaugušo RA pacientu demogrāfiskie, klīniskie un laboratoriskie (tajā skaitā arī ģenētiskie) dati. Pirmo reizi Latvijā šai slimnieku populācijai ir tipizēti gēnu un citokīnu gēnu polimorfismi un iegūtā informācija attiecināta uz slimības fenotipiskām izpausmēm. Salīdzinot pētījumā iegūtos demogrāfiskos un klīniskos raksturlielumus ar literatūrā ziņotajiem, būtiskas atšķirības nav novērotas, kas liecina par zināmo pētāmās populācijas

metožu līdzību un sniedz iespēju salīdzināt pētījumā iegūtos datus ar citiem autoriem.

Slimnieku demogrāfiskās īpatnības analizētas gan kopējā pētījuma grupā, gan salīdzinātas izdalītās apakšgrupās. Kopējā pētījuma populācijā vidējais vecums bija 58 gadi (sievietēm vidēji 58 gadi, vīriešiem 60,5 gadi). Vidēji slimības sākšanās vecums bija 50 gadi (sievietēm 51 gadi, vīriešiem 48 gadi). Smēķētāji vai bijušie smēķētāji bija 30,5% (21,3% no visām sievietēm un 81,3% no vīriešiem). Analizējot dzimumu, kopējā populācijā dominē sievietes (84,8%) ar sieviešu un vīriešu attiecību 6:1. Šie novērojumi daļēji apstiprina iepriekšējās publikācijās ziņoto par RA incidences pozitīvo korelāciju ar vecumu, kā arī ar sieviešu dzimumu [3]. RA ir viena no daudzām autoimūnām slimībām, kas dominē sievietēm ar sieviešu un vīriešu attiecību 2:1 līdz 3:1. Dzimuhormoni var būtiski ietekmēt šūnas, kas piedalās RA patoģenēzē. Tomēr specifiskie mehānismi, kas atbild par palielinātu RA uzņēmību sievietēm ir neskaidra. Analizējot ģenētisku asociāciju ar RA, *Padjukovs L. u. c.* [4] pierādīja IL10 -1087 genotipu asociāciju sievietēm ar RA, salīdzinot ar vīriešiem un kontrolgrupu. Mēs atradām saistību genotipu izplatībā RA sievietēm PTPN22 1858C/T, KLF12 C/A un IL18 -607 C/A, -656 G/T polimorfismiem. Pamatojoties uz izmeklētiem polimorfismiem, sieviešu RA, šķiet, pārstāv atsevišķu slimību apakšgrupu. Nepieciešami turpmākie pētījumi un, iespējams, lielākās pacientu grupās.

AntiCCP antivielas noteiktas 70% slimniekiem, no tiem antiCCP antivielu pozitivitāte noteikta 80% gadījumos (kopā 58 slimniekiem). Pēdējā laikā padziļināti pētīta HLA-DRB1 SE alēļu un ACPA nozīme RA predispozīcijā un ir novērots, ka SE alēles rada ACPA risku un ka šīs antivielas izskaidro SE alēļu saistību ar RA. Turklāt šie novērojumi ir pirmais pierādījums, ka ACPA-pozitīva RA un ACPA-negatīva RA etiopatoloģija atšķiras [5]. Nesen GWAS *Padyukov L. u. c.* [6], veicot analīzi 1147 ACPA-pozitīviem un 774 ACPA-negatīviem slimniekiem ar RA, pierādīja atšķirību



riska alēļu starpībā, kas īstenībā uztur hipotēzi par dažādu etiopatogēnēzi ACPA pozitīvam un ACPA negatīvam RA. Promocijas darbā ir analizēta pētāmo polimorfismu saistība ar risku saslimt ar antiCCP pozitīvu un antiCCP negatīvu RA, bet citas fenotipiskas īpatnības analizētas kopējā RA slimnieku grupā, nedalot pēc antiCCP esamības salīdzinoši nelielas slimnieku grupas dēļ.

Slimības aktivitāte novērtēta pēc DAS28, izmantojot CRO vai EGĀ raksturlielumus. Pētāmā grupā novēroti slimnieki pārsvarā ar aktīvu smagu RA. Analizējot medikamentozās terapijas iespējamo ietekmi uz slimības aktivitāti, nav atrastas RA aktivitātes atšķirības starp dažādām imunosupresīvās terapijas grupām. Tādēļ turpmākajā analizē šīs slimnieku grupas pēc saņemtas ārstēšanas netiks dalītas un novērotās atšķirības pētāmās apakšgrupās (analizējot genotipu saistību ar slimības aktivitātes rādītājiem) attiecināti uz testējamo polimorfismu efektiem.

Saskaņā ar korelācijas analīzi, jo lielāks ir slimības ilgums, jo lielāka rentgenoloģiskā stadija un funkcionālās nepietiekamības pakāpe. Tā, kā slimības ilgums ietekmē rentgenoloģisko stadiju, darbā analizēta genotipu saistība ar rentgenoloģiskām stadijām atkarībā no slimības ilguma un nebija atrastas atšķirības genotipu izplatībā visiem pētāmiem polimorfismiem. Tādēļ turpmākajā analizē šīs slimnieku grupas pēc slimības ilguma netiks dalītas un novērotās atšķirības pētāmās apakšgrupās (analizējot genotipu saistību ar rentgenoloģiskām stadijām) attiecināti uz testējamo polimorfismu efektiem.

Šobrīd saistība starp PTPN22 C1858T un RA demonstrēta dažādās populācijās [7-10]. Tā kā Japānā PTPN22 1858T alēle ir ļoti reti sastopama [11], visticamāk, ka PTPN22 ir gēns, kura loma RA predispozīcijā ir specifiska noteiktām etniskām un rasu grupām. Arī Latvijas populācijas pētījumā ir pierādīta asociācija starp PTPN22 gēnu 1858C/T polimorfismu un palielinātu risku saslimt ar RA. PTPN22 1858T alēle var paaugstināt risku saslimt ar RA. Mūsu pētījumā T alēles biežums bija 23,6% RA slimnieku un 10,1% kontrolgrupā. Šīs alēļu frekvences PTPN22 C1858T polimorfismam ir lielākas

slimnieku un kontrolgrupā mūsu pētījumā nekā dažās citās populācijās, piemēram, spāņu [12,13], vācu [14], angļu [7] un mazākas nekā zviedru populācijā [15]. Tādēļ mūsu rezultāti saskan ar iepriekš ziņotu 1858T alēles dienvidziemeļu gradienta pieaugumu Eiropas baltās rases populācijās [15,16].

Statistiski būtiskas atšķirības PTPN22 C1858T genotipu iedalījumā novērotas starp RA slimniekiem ar slimības sākumu gan pirms, gan pēc 50 gadu vecuma un kontrolgrupu. Tā kā nav atrastas statistiski būtiskas atšķirības PTPN22 C1858T genotipu izplatībā RA slimniekiem atkarībā no slimības sākumvecuma līdz vai pēc 50 gadiem, minētie dati attiecas uz T alēles asociāciju un risku saslimt ar RA.

PTPN22 1858T alēles asociācija ar risku saslimt ar RA apstiprināta vairākos pētījumos, daži autori pierādīja arī asociāciju ar antivielām (RF, antiCCP) un dzimumu. *Begovich A.* u. c. [12] novēroja biežāku 1858T alēles frekvenci starp RA slimniekiem (n = 475) 13,8%, salīdzinot ar kontrolgrupu (n = 475) 8,8%, Ziemeļamerikas iedzīvotājiem un replicēja iegūtos datus, izmantojot cita kohorta pētījuma cilvēkus. Autori ziņojuši arī par asociāciju starp PTPN22 polimorfismu un RF pozitīvu slimību. *Orozco G.* u. c. [13] pētīja PTPN22 genotipu izplatību Spānijas iedzīvotājiem starp RA slimniekiem (n=826) un kontrolgrupu (n=1036) un konstatēja A alēles biežumu 10,4% RA gadījumā, salīdzinot ar 7,4% kontrolgrupā. Viņi neatrada saistību ar RF pozitivitāti, bet novēroja biežāku 1858T nesošo genotipu frekvenci pacientiem vīriešiem un pacientiem bez ekstraartikulārām slimības izpausmēm, lai gan tās nerasniedza statistisku nozīmīgumu pēc korekcijas ar vairākiem testiem. *Johansson M.* u. c. [17] konstatēja, ka pastāv asociācija starp PTPN22 1858T un antiCCP antivielām un kombinācija dod 100% specifitāti RA diagnosticēšanā. *Pierer M.* u. c. [14] konstatēja, ka PTPN22 1858T polimorfisma biežums vāciešiem bija lielāks RA vīriešiem, salīdzinot ar RA sievietēm, kas norāda, ka šī ģenētiskā ietekme patoģenēzē varētu būt lielāka vīriešiem. Atšķirībā no *Pierer M.* u. c. pētījuma [14] mēs konstatējām PTPN22

1858T alēli nesošo genotipu iedalījumu sievietēm. Viens no iespējamajiem paskaidrojumiem par šiem atklājumiem ir tāds, ka vīriešu un sieviešu RA ir daļēji atšķirīgas slimības formas, kas bija noteiktas iepriekš, pamatojoties uz klīniskiem novērojumiem [18].

Iedalot slimniekus pēc RF un antiCCP esamības, atrasta PTPN22 C1858T saistība ar slimību abās RF+ un RF- grupās, ka arī antiCCP+ un antiCCP- grupā. Līdzīgu ainu aprakstījis *Simkins H.* u. c. [19], pētot PTPN22 C1858T polimorfismu RA slimniekiem (n=869) Jaunzēlandē, un skaidroja to ar klīniskām, ģenētiskām un vides atšķirībām starp populācijām. No otras puses, Jaunzēlandes pētījumā antivielas statuss nebija precizēts kontrolgrupā un salīdzināšana veikta ar visu kontrolgrupu (n=563). Tā kā attiecībā uz antivielu esamību pētījumā nav atrastas atšķirības starp genotipu izplatību un RF vai antiCCP antivielu esamību slimnieku grupā, minētās asociācijas mūsu pētījumā saistītas ar 1858T alēles ietekmi uz risku saslimt ar RA.

Nedaudz zināms par PTPN22 1858T alēles ietekmi uz slimības smagumu un aktivitāti [20]. Vairumā pētījumu par PTPN22 1858T ietekmi uz RA klīniskiem raksturlielumiem neatradām 1858T saistību ar slimības aktivitāti un smagumu [14, 21]. Mēs arī neatradām PTPN22 1858T saistību ar slimības aktivitāti, taču spēcīga asociācija konstatēta starp PTPN22 1858T genotipu izplatību pacientiem ar erozīvu RA, salīdzinot ar kontrolgrupu, kur asociācijas saglabājas arī pēc korekcijas ar dzimumu, vecumu un smēķēšanas statusu. Interesanti, ka *Marinou I.* u. c. [22] ziņoja, ka RA slimniekiem (n=964) ar PTPN22 1858T riska alēli ir stiprāks ar rentgenoloģiskās metodes konstatēts bojājums nekā pacientiem bez 1858T alēles. Kaut gan, novērojot dinamikā, *Wesoly J.* u. c. [23] pārbaudīja locītavu destrukcijas ātrumu, izmantojot vidējo sākumā un katru nākamo gadu Šarpa rādītājus (*Sharp van der Heijde*) [24] roku un kāju rentgenogrammām RA slimniekiem ar dažādiem PTPN22 genotipiem, un konstatēja, ka nav atšķirības starp riska alēles nēsātājiem un nenēsātājiem.

Iespējams, ka ar 1858T alēli varētu prognozēt erozīvu slimību, bet ne slimības progresēšanu.

Atšķirībā no pētījuma, ko veica *Julia A.* u. c. [25], pierādot aizsargājošu efektu no **KLF12 C/A** polimorfisma (GWAS un replikācijas pētījumos OR bija 0,73 un 0,77), mēs savukārt atradām saistību starp KLF12 C/A gēnu polimorfismu un risku saslimt ar RA, kur AA genotips biežāk ir RA slimniekiem nekā kontrolgrupā, kas liecina, ka šis genotips var predisponēt RA attīstību. Līdzīga asociācija novērota arī sieviešu grupā.

RF ir vairumam RA slimniekiem un tā nozīme RA etioloģijā joprojām ir neskaidra. Noskaidrojot jebkuras ģenētiskās atšķirības starp RF pozitīviem un RF negatīviem pacientiem, var precizēt RF nozīmi slimības patoģenēzē. Mūsu pētījumā homozigoti pēc AA genotipa sastopami tikai RF pozitīviem pacientiem ( $p=0,018$ ). Šie dati liecina, ka pastāv saistība starp KLF12 AA genotipu un RF producēšanu.

Asociācija arī konstatēta starp KLF12 genotipu izplatību recesīva ģenētiskā modeļa gadījumā starp pacientiem ar erozīvu RA, salīdzinot ar kontrolgrupu. Iespējams, ka KLF12 AA genotips var ietekmēt eroziju attīstību.

No otras puses, nesēn *Eyre S.* u. c. [26] Lielbritānijas lielā kohorta pētījumā neatrada saistību KLF12 gēna polimorfismiem (rs1887346, rs9565072) ar RA, izskaidrojot to vai nu ar saistību ar citiem polimorfismiem gēnu ietvaros, vai ar citiem gēniem, vai ar iespējamām nelīdzsvarotības variācijām starp etniskām grupām.

**IL6 -174 G/C** polimorfisms saistīts ar uzņēmību pret sistēmisku juvenila idiopātiska artrīta sākumu [27,28], lai gan citi dati izslēdz jebkādu nozīmi šim polimorfismam uzņēmībā pret RA. *Pascual M.* u. c. [29] neatrada atšķirības IL6-174 genotipu vai alēļu frekvences izplatībā starp RA slimniekiem ( $n=163$ ) un kontrolgrupu ( $n=157$ ), tomēr novēroja būtisku atšķirību starp vidējo slimības sākumvecumu un IL6 genotipiem.

IL6 -174 polimorfisms attiecībā uz RA smagumu un slimības aktivitāti nav plaši pētīts. *Pawlik A.* u. c. [30], neatrodot atšķirības starp IL6 genotipu iedalījumu 98 RA slimniekiem un kontrolgrupā, atklāja, ka aktīvs RA ar augstāku DAS28, EGĀ un lielāku pietūkušo un jutīgo locītavu skaitu visbiežāk diagnosticēts pacientiem ar GG genotipu, salīdzinot ar CC un GC genotipiem. *Marinou I.* u. c. [22] pierādīja, ka IL6-174G alēle saistīta ar palielinātiem rentgenoloģisku metožu konstatētiem bojājumiem, Larsena indeksu, bet tikai RF pozitīviem vai antiCCP pozitīviem slimniekiem.

TNFA-308G/A promotera polimorfisms ir plaši pētīts attiecībā uz RA saslimstību un/vai smagumu, bet ar pretrunīgiem rezultātiem. Dažos pētījumos RA saslimstība bija saistīta ar A alēli [31], citās ar G [32], bet lielākā daļa iepriekšējo pētījumu nevarēja pierādīt saistību starp TNFA-308 promotera polimorfismu un saslimstību ar RA [33]. Saskaņā ar vairākiem iepriekšējiem pētījumiem nav atrasta saistība starp TNFA-308 promotera polimorfismu un RA saslimstību mūsu pētījumā.

*Cuenca J.* u. c. [34] secināja, ka TNF2 alēļu izplatībā pēc etniskās piederības eksistē gradients. Arī TNF2 alēles klātbūtnē ir saistīta ar autoimūnās un iekaisuma slimības smagākajiem gadījumiem, to starpā RA [35]. *Khanna D.* u. c. [36] pierādīja saistību starp AA/GA genotipiem un ar rentgenoloģiskas metodes konstatētu bojājumu progresēšanu pacientiem ar agrīnu seropozitīvu RA. *Cvetkovic J.* u. c. [32] pierādīja, ka RA slimniekiem GA heterozigotiem pēc TNFA-308 bija smagāka slimības gaita. No otras puses, *Barton A.* u. c. [37] konstatēja, ka -308 G alēle sniedz sliktāku rentgenoloģisku iznākumu piecu gadu periodā, ņemot vērā eroziju esamību vai neesamību pacientiem ar iekaisuma artrītu. *Nemec P.* u. c. [33] konstatēja pozitīvu asociāciju GG genotipam ar smagāku slimību. Turklāt viņi pierādīja, ka -308G alēle saistīta ar sliktāku funkcionālo stāvokli RA slimniekiem. *Pawlik A.* u. c. [38] neatrada saistību starp TNFA-308 genotipiem un slimības aktivitāti un smagumu. Mūsu

iegūtie rezultāti saskan ar *Pawlik A.* u. c. pētījumu. Mēs neatradām saistību TNFA-308 polimorfismā ar slimības aktivitāti un erozijas esamību.

Šajā darbā minētie dati izslēdz TNFA-308 polimorfisma nozīmi attiecībā uz risku saslimt ar RA. Tomēr tas var sekmēt slimības patogēnēzi, ietekmējot slimības sākšanās vecumu. Interesanti, ka tas atkarīgs no A alēles esamības mūsu pētījumā. AA un GA genotipi biežāk sastopami pacientiem ar slimības sākumu līdz 50 gadu vecumam ( $p = 0,056$ ).

Ziņojumi par IL18 promotera polimorfismu nozīmi RA slimniekiem ir dažādi. Dažādie polimorfismi pētīti ar dažādiem rezultātiem. *Sivalingam S.* u. c. [39] konstatēja, ka kontrolgrupā ir daudz augstākas frekvences IL18-607 AA genotipam, salīdzinot ar RA slimniekiem, un secināja, ka IL18-607 AA genotips saistīts ar aizsargājošu iedarbību uz RA attīstību Ķīnas iedzīvotājiem. *Rueda B.* u. c. [40] nenovēroja statistiski būtiskas atšķirības IL18-607 C/A un -137 C/G alēļu un genotipu frekvencēs starp RA slimniekiem un kontrolgrupu. RA slimnieki tika iedalīti pēc dzimuma, vecuma slimības sākumā, RF esamības, ekstraartikulārām izpausmēm, un nebija atrastas asociācijas ar minētiem polimorfismiem. Tāpēc secināts, ka nav lielas nozīmes pērito polimorfismu IL18-promotera reģionā RA predispozīcijā. *Gracie J.* u. c. [41] konstatēja, ka IL18-607C/-137C haplotips biežāk sastopams baltās rases RA slimniekiem nekā kontrolgrupā un secināja, ka SNP abas pozīcijas ietekmē ģenētisko fonu RA patogēnēzē. *Pawlik A.* u. c. [42], pētot septiņus IL18 gēna polimorfismus, konstatēja, ka vecums RA diagnostikas brīdī bija mazāks pacientiem ar rs1946519 (IL18-607) CC un rs187238 GG genotipiem. Erozivā slimība biežāk diagnosticēta pacientiem ar rs1946519 (IL18-607) CC un AC genotipiem nekā AA homozigotiem. Mēs savukārt atradām statistiski būtiskas atšķirības IL18 -607 heterozigotiskā genotipā, salīdzinot ar homozigotu iedalījumu starp RA slimniekiem un kontrolgrupu ( $p=0,046$ ), kā arī statistiskas atšķirības tendenci heterozigotiskā genotipā, salīdzinot ar homozigotu iedalījumu starp RA slimniekiem ar slimības sākumvecumu pēc 50 gadiem un

kontrolgrupu ( $p=0,056$ ). Nav atrasta būtiska saistība genotipiem ar erozīvu RA, antivielu statusu, slimības aktivitāti.

Iespējamais skaidrojums diskordantiem rezultātiem varētu būt saistība ar citiem polimorfismiem gēnu ietvaros vai citiem gēniem, cits skaidrojums varētu būt pārmaiņas ģenētiskā uzņēmībā starp etniskām grupām [43]. Alēliska heterogenitāte starp etniskajām grupām un dažādas variācijas vienā un tajā pašā gēnā var veicināt slimības risku [44].

Ir labi zināms, ka gēna promotera polimorfismi var ietekmēt olbaltumu producēšanas līmeni. Gēna secība var saistīties ar citokīnu fenotipu. Tātad izšķir homozigoti pēc vienas alēles, kuras rezultātā producējas vairāk citokīnu, homozigoti pēc otras alēles, kuras rezultātā producējas mazāk citokīnu un heterozigoti ar, attiecīgi, vidēju citokīnu produkciju. Bet, no otras puses, ņemot vērā citus iespējamus ģenētiskos modeļus, mēs varam pieņemt, ka homozigoti pēc jebkuras alēles producē mazāku citokīnu daudzumu un heterozigoti ir vislielākie citokīnu producētāji. *Khripko O.* u. c. [45] pētīja IL18-607 C/A un -137 G/C alēļu variantu izplatību veseliem Sibīrijas donoriem un šo alēļu ietekmi uz IL18 līmeni ar perifēro asiņu mononukleārām šūnām. Autori konstatēja, ka IL18 ar lipopolisaharīdu veicinātā producēšana veseliem donoriem daudz lielāka ir IL18-607 CA heterozigotām nekā homozigotām pēc CC genotipa.

IL10 ir citokīns ar vairākiem pretiekaisuma efektiem, kam loma RA patoģenēzē ir saistīta ar sistēmiskās iekaisuma reakcijas inhibīciju. IL10 promotera polimorfismi arī pētīti saistībā ar RA uzņēmību un/vai slimības smagumu. *Hee C.* u. c. [46] novēroja būtisku atšķirību genotipu frekvencēs (IL10 -824 CT, TT, -597 AA, CA) starp RA slimniekiem ( $n=84$ ) un veseliem voluntieriem ( $n=95$ ) un pierādīja, ka -1087A/-824T/-597A (ATA) haplotips, kas satur visas mutantu alēles, saistīts ar mazāku IL10 producēšanu, salīdzinot ar citiem haplotipiem. *Padyukov L.* u. c. [4] pierādīja IL10-1087 genotipu saistību sievietēm ar RA. *Marinou I.* u. c. [22] secināja, ka IL10 -592 CC

genotips saistīts ar smagāku rentgenoloģiskas metodes konstatētu bojājumu, bet tikai antiCCP un RF negatīviem pacientiem. *Moreno O.* u. c. [47] secināja, ka IL10 promotera polimorfismi nav svarīgi uzņēmībai pret RA vai slimības gaitai Kolumbijas iedzīvotājiem. *Pawlik A.* u. c. [48] arī konstatēja, ka nav korelācijas starp IL10 polimorfismiem un slimības aktivitātes raksturlielumiem, tādiem kā EGĀ, CRO, pietūkušo un sāpīgo locītavu skaits.

Savukārt mēs atradām būtiskas atšķirības starp IL10 -592, -819 polimorfismu genotipu izplatību un slimības aktivitātes raksturlielumiem. IL10 -592 AA, CA un IL10 -819 TT, CT konstatēti pacientiem ar aktīvāku slimību, salīdzinot ar CC genotipu abās pozīcijās. Tādēļ, mazas alēles IL10 -592, -819 polimorfismiem saistīts ar aktīvāku RA.

Ņemot vērā visu iepriekš minēto, ir redzams, ka viens noteikts polimorfisms ir saistāms ar dažādu slimības pazīmju attīstību. Tajā pašā laikā pie noteikta fenotipa formēšanas piedalās dažādi ģenētiski faktori. PTPN22 1858C/T, KLF12C/A, IL6 un IL18 polimorfismu esamība Latvijas iedzīvotājiem ir saistīta ar risku saslimt ar RA. Antivielu esamību var ietekmēt KLF12C/A un IL6 polimorfismi. Iespējamie priekšvēstneši erozīvai slimībai ir PTPN22 1858T alēli nesošie genotipi un KLF12 A alēles homozigotiskais genotips. TNFA genotipi var iespaidot slimības patoģenēzi saistībā ar slimības sākšanās vecumu, savukārt IL10 promotera polimorfismi var ietekmēt slimības aktivitāti (sk. 3.1. tab.).



**Pētījumā novēroto saistību apkopojums**

SNP	Risks saslimt ar RA	RA sāksnās vecums	Antivielu esamība	RA aktivitāte	RA smagums
PTPN221858C/T	+				+
KLF12C/A	+	+	+		+
TNF-308G/A		+			
IL6-174G/C	+	+	+		
IL18-607C/A	+	+			
IL18-656G/T	+				
IL10-592C/A				+	
IL10-819C/T				+	
IL10-1082A/G					

Palielinoties izpratnei par RA molekulāro patoģenēzi, ir izveidoti bioloģiskie medikamenti, kas darbojas pret specifiskiem imūnās sistēmas komponentiem. Mūsdienās RA slimniekiem ir pieejams plašs bioloģisko terapiju spektrs. Klīniskie pētījumi un dzīves pieredze liecina par ievērojamu ārstēšanas efektivitātes nevienādīgumu dažādiem slimniekiem, turklāt minētie preparāti izraisa nopietnus blaknes. Lai gan atbildes reakcija uz šīm zālēm ir pietiekoši liela, ievērojamai daļai slimnieku tā nav paredzama. Lai maksimāli palielinātu ieguvumu /riskā attiecības un samazinātu locītavu bojājumus, ir jānosaka ārstēšanas prognozes radītājus un, ideālā gadījumā, arī medikamentu blakus efektu prognozes radītājus. Šo zāļu augstās izmaksas prasa individuālu pieeju katra pacienta ārstēšanā. Tas ir tā saucamā "personalizētā medicīna", kas ļauj optimāli pieskaņot pacientam ārstēšanu, maksimāli saīsināt slimības aktivitātes periodu, pasargāt pacientus no iespējamām neefektīvas terapijas blakus parādībām, paralēli nodrošinot ārstēšanas izmaksu samazināšanu. RA ir multigēniska slimība ar plašu ģenētisku polimorfismu, kas ietekmē slimības uzņēmību un izpausmi. Ģenētisku polimorfismu identifikācija var, pirmkārt, palīdzēt RA agrīnā diagnostikā agrīna nediferencēta artrīta gadījumā, slimībai ar netipisku gaitu. To nav tik viegli noteikt, kad RA faktiski sākas klīniski, bet

ir svarīgi atpazīt RA preklīniskajā stadijā, lai novērstu progresiju līdz pilnīgi nobriedušai klasificējamai slimībai, kura kļūst persistējoša un destruktīva. Otrkārt, kopā ar zināmiem bioloģiskajiem marķieriem var palīdzēt prognostiska algoritma izstrādāšanā, kas veicina ārstniecisku mērķtiecību, īpaši prognostiski sliktākajā slimības gadījumā, kad slimības kontrole sāka agrāk un ir mazāks locītavu bojājums. Treškārt, var sniegt ieskatu audu bojājuma mediatoros, kuri var potenciāli pārstāvēt jaunus terapeitiskus mērķus RA gadījumā.

Apkopojot esošās zināšanas par RA ģenētisko marķieru svarīgumu, kļūst skaidrs, ka atsevišķiem ģenētiskiem marķieriem ir neliela ietekme, un tas izskaidro tikai nelielu RA pārmantošanas daļu. Tādēļ pašreiz atsevišķu marķieru noteikšanai ir neliela nozīme klīniskajā praksē. Tomēr zināšanas par asociāciju starp ģenētiskajiem faktoriem un slimību, un īpaši bioloģisko procesu izpratne, kuri radušies no tiem faktoriem, palielina izpratni par slimības etioloģiju un patoģenēzi un nosaka ceļu jaunai terapijai. Turklāt, izpratnes uzlabošana par gēnu un vides faktoru savstarpējo ietekmi ir nozīmīgs faktors nākotnes atklājumiem.

## 4. SECINĀJUMI

1. **Promocijas darbā apkopoti dati par RA slimniekiem Latvijā.** Ir ievākta informācija par slimības stadiju, aktivitāti un smaguma pakāpi saskaņā ar aktuāliem RA vērtēšanas kritērijiem. Izveidota fenotipu un genotipu datu bāze turpmākiem pētījumiem.
2. **Precizēti reimatoīdā artrīta uzņēmībā iesaistītie ģenētiskie marķieri Latvijas populācijā.** PTPN22 1858T alēle ir spēcīgs riska faktors saslimt ar RA. KLF12 C/A polimorfisms homozigotiskā stāvoklī ietekmē risku saslimt ar RA. IL6 -174G/C un IL18 -607C/A, -656G/T polimorfismi arī saistīti ar RA uzņēmību Latvijas iedzīvotājiem. Sieviešu RA pārstāv atsevišķu slimību apakšgrupu.
3. **Novērota ģenētisko marķieru saistība ar RA sākšanās vecumu.** KLF12 AA un IL6 -174 CC genotipi saistīti ar slimības sākumu līdz 50 gadu vecumam. IL18 -607 heterozigotisks genotips saistīts ar slimības sākumu pēc 50 gadiem. TNFA -308 polimorfismam A alēli nesošie genotipi biežāk ir slimniekiem, kas saslimuši līdz 50 gadu vecumam.
4. **Precizēta ģenētisku marķieru saistība ar autoantivielu esamību.** Ar RF pozitīvu RA saistīts KLF12 AA genotips un IL6 -174 C alēli nesošie genotipi. Ar antiCCP pozitīvu RA saistīti IL6 -174 C alēli nesošie genotipi.
5. **Pastāv ģenētisko marķieru korelācija ar reimatoīdā procesa aktivitāti.** Aktīvāka slimība novērota mazas alēles nesošiem IL10 -592 C/A, -819 C/T genotipiem, analizējot JLS 28, slimības aktivitātes vērtējumu, EGĀ, DAS28.
6. **Novērota ģenētisko marķieru saistība ar RA smagumu.** PTPN22 1858T alēli nesošie genotipi un KLF12 AA genotips saistīti ar smagu erozīvu RA.

## 5. PRAKTISKAS REKOMENDĀCIJAS

Praktizējošiem ārstiem, balstoties uz pētījumā iegūtajiem datiem, var ieteikt:

1. turpināt novērot un izmeklēt RA slimniekus, izmantojot aktuālos slimības vērtēšanas kritērijus par slimības aktivitāti, smaguma pakāpi, prognozi, lai precīzāk izvērtētu slimības izpausmi un gaitu;
2. identificēt ģenētiskos polimorfismus slimniekiem ar agrīnu, nediferencētu artrītu, artrītu ar netipisku gaitu, lai atpazītu RA agrīnāko stadiju un savlaicīgi uzsāktu nepieciešamo ārstēšanu;
3. identificēt ģenētiskos polimorfismus RA slimniekiem slimības gaitas prognozēšanai un ārstēšanas taktikas izraudzīšanai.

## 6. LITERATŪRAS SARAKSTS

1. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, *et al.* The american rheumatism association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988;31:315-24.
2. Livak KJ. Allelic discrimination using fluorogenic probes and the 5' nuclease assay. *Genet Anal* 1999;14:143-9.
3. Alamanos Y, Voulgari PV, Drosos AA. Incidence and prevalence of rheumatoid arthritis, based on the 1987 american college of rheumatology criteria: A systematic review. *Semin Arthritis Rheum* 2006;36:182-8.
4. Padyukov L, Hytonen AM, Smolnikova M, *et al.* Polymorphism in promoter region of *il10* gene is associated with rheumatoid arthritis in women. *J Rheumatol* 2004;31:422-5.
5. van der Helm-van Mil AH, Verpoort KN, Breedveld FC, Huizinga TW, Toes RE, de Vries RR. The *hla-drb1* shared epitope alleles are primarily a risk factor for anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and are not an independent risk factor for development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2006;54:1117-21.
6. Padyukov L, Seielstad M, Ong RT, *et al.* A genome-wide association study suggests contrasting associations in *acpa*-positive versus *acpa*-negative rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*;70:259-65.
7. Steer S, Lad B, Grumley JA, Kingsley GH, Fisher SA. Association of *r602w* in a protein tyrosine phosphatase gene with a high risk of rheumatoid arthritis in a british population: Evidence for an early onset/disease severity effect. *Arthritis Rheum* 2005;52:358-60.
8. Seldin MF, Shigeta R, Laiho K, *et al.* Finnish case-control and family studies support *ptpn22 r620w* polymorphism as a risk factor in rheumatoid arthritis, but suggest only minimal or no effect in juvenile idiopathic arthritis. *Genes Immun* 2005;6:720-2.
9. Plenge RM, Padyukov L, Remmers EF, *et al.* Replication of putative candidate-gene associations with rheumatoid arthritis in >4,000 samples from north america and sweden: Association of susceptibility with *ptpn22*, *ctla4*, and *padi4*. *Am J Hum Genet* 2005;77:1044-60.
10. Mastana S, Gilmour A, Ghelani A, Smith H, Samanta A. Association of *ptpn22* with rheumatoid arthritis among south asians in the uk. *J Rheumatol* 2007;34:1984-6.
11. Ikari K, Momohara S, Inoue E, *et al.* Haplotype analysis revealed no association between the *ptpn22* gene and *ra* in a japanese population. *Rheumatology (Oxford)* 2006;45:1345-8.
12. Begovich AB, Carlton VE, Honigberg LA, *et al.* A missense single-nucleotide polymorphism in a gene encoding a protein tyrosine phosphatase

- (ptpn22) is associated with rheumatoid arthritis. *Am J Hum Genet* 2004;75:330-7.
13. Orozco G, Sanchez E, Gonzalez-Gay MA, *et al.* Association of a functional single-nucleotide polymorphism of ptpn22, encoding lymphoid protein phosphatase, with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2005;52:219-24.
  14. Pierer M, Kaltenhauser S, Arnold S, *et al.* Association of ptpn22 1858 single-nucleotide polymorphism with rheumatoid arthritis in a german cohort: Higher frequency of the risk allele in male compared to female patients. *Arthritis Res Ther* 2006;8:R75.
  15. Kokkonen H, Johansson M, Innala L, Jidell E, Rantapaa-Dahlqvist S. The ptpn22 1858c/t polymorphism is associated with anti-cyclic citrullinated peptide antibody-positive early rheumatoid arthritis in northern sweden. *Arthritis Res Ther* 2007;9:R56.
  16. Gregersen PK, Lee HS, Batliwalla F, Begovich AB. Ptpn22: Setting thresholds for autoimmunity. *Semin Immunol* 2006;18:214-23.
  17. Johansson M, Arlestig L, Hallmans G, Rantapaa-Dahlqvist S. Ptpn22 polymorphism and anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in combination strongly predicts future onset of rheumatoid arthritis and has a specificity of 100% for the disease. *Arthritis Res Ther* 2006;8:R19.
  18. Weyand CM, Schmidt D, Wagner U, Goronzy JJ. The influence of sex on the phenotype of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1998;41:817-22.
  19. Simkins HM, Merriman ME, Highton J, *et al.* Association of the ptpn22 locus with rheumatoid arthritis in a new zealand caucasian cohort. *Arthritis Rheum* 2005;52:2222-5.
  20. Marinou I, Maxwell JR, Wilson AG. Genetic influences modulating the radiological severity of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*;69:476-82.
  21. Harrison P, Pointon JJ, Farrar C, Brown MA, Wordsworth BP. Effects of ptpn22 c1858t polymorphism on susceptibility and clinical characteristics of british caucasian rheumatoid arthritis patients. *Rheumatology (Oxford)* 2006;45:1009-11.
  22. Marinou I, Healy J, Mewar D, *et al.* Association of interleukin-6 and interleukin-10 genotypes with radiographic damage in rheumatoid arthritis is dependent on autoantibody status. *Arthritis Rheum* 2007;56:2549-56.
  23. Wesoly J, van der Helm-van Mil AH, Toes RE, *et al.* Association of the ptpn22 c1858t single-nucleotide polymorphism with rheumatoid arthritis phenotypes in an inception cohort. *Arthritis Rheum* 2005;52:2948-50.
  24. van der Heijde DM. Plain x-rays in rheumatoid arthritis: Overview of scoring methods, their reliability and applicability. *Baillieres Clin Rheumatol* 1996;10:435-53.
  25. Julia A, Ballina J, Canete JD, *et al.* Genome-wide association study of rheumatoid arthritis in the spanish population: Klf12 as a risk locus for rheumatoid arthritis susceptibility. *Arthritis Rheum* 2008;58:2275-86.

26. Eyre S, Flynn E, Martin P, *et al.* No evidence for association of the *klf12* gene with rheumatoid arthritis in a large uk cohort. *Ann Rheum Dis*;69:1407-8.
27. Fishman D, Faulds G, Jeffery R, *et al.* The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL6) gene on IL6 transcription and plasma IL6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *J Clin Invest* 1998;102:1369-76.
28. Ogilvie EM, Fife MS, Thompson SD, *et al.* The -174g allele of the interleukin-6 gene confers susceptibility to systemic arthritis in children: A multicenter study using simplex and multiplex juvenile idiopathic arthritis families. *Arthritis Rheum* 2003;48:3202-6.
29. Pascual M, Nieto A, Mataran L, Balsa A, Pascual-Salcedo D, Martin J. IL6 promoter polymorphisms in rheumatoid arthritis. *Genes Immun* 2000;1:338-40.
30. Pawlik A, Wrzesniewska J, Florczak M, Gawronska-Szklarz B, Herczynska M. IL6 promoter polymorphism in patients with rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 2005;34:109-13.
31. Waldron-Lynch F, Adams C, Amos C, *et al.* Tumour necrosis factor 5' promoter single nucleotide polymorphisms influence susceptibility to rheumatoid arthritis (ra) in immunogenetically defined multiplex ra families. *Genes Immun* 2001;2:82-7.
32. Cvetkovic JT, Wallberg-Jonsson S, Stegmayr B, Rantapaa-Dahlqvist S, Lefvert AK. Susceptibility for and clinical manifestations of rheumatoid arthritis are associated with polymorphisms of the *tnf-alpha*, *il-1beta*, and *il-1ra* genes. *J Rheumatol* 2002;29:212-9.
33. Nemeč P, Pavkova-Goldbergova M, Stouracova M, Vasku A, Soucek M, Gatterova J. Polymorphism in the tumor necrosis factor-alpha gene promoter is associated with severity of rheumatoid arthritis in the czech population. *Clin Rheumatol* 2008;27:59-65.
34. Cuenca J, Perez CA, Aguirre AJ, Schiattino I, Aguilon JC. Genetic polymorphism at position-308 in the promoter region of the tumor necrosis factor (*tnf*): Implications of its allelic distribution on susceptibility or resistance to diseases in the chilean population. *Biol Res* 2001;34:237-41.
35. Aguilon JC, Cruzat A, Aravena O, Salazar L, Llanos C, Cuchacovich M. Could single-nucleotide polymorphisms (snps) affecting the tumour necrosis factor promoter be considered as part of rheumatoid arthritis evolution? *Immunobiology* 2006;211:75-84.
36. Khanna D, Wu H, Park G, *et al.* Association of tumor necrosis factor alpha polymorphism, but not the shared epitope, with increased radiographic progression in a seropositive rheumatoid arthritis inception cohort. *Arthritis Rheum* 2006;54:1105-16.

37. Barton A, Platt H, Salway F, *et al.* Polymorphisms in the tumour necrosis factor gene are not associated with severity of inflammatory polyarthritis. *Ann Rheum Dis* 2004;63:280-4.
38. Pawlik A, Florczyk M, Ostanek L, Brzosko M, Brzosko I, Szklarz BG. Tnf-alpha -308 promoter polymorphism in patients with rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 2005;34:22-6.
39. Sivalingam SP, Yoon KH, Koh DR, Fong KY. Single-nucleotide polymorphisms of the interleukin-18 gene promoter region in rheumatoid arthritis patients: Protective effect of aa genotype. *Tissue Antigens* 2003;62:498-504.
40. Rueda B, Gonzalez-Gay MA, Mataran L, Lopez-Nevot MA, Martin J. Interleukin-18-promoter polymorphisms are not relevant in rheumatoid arthritis. *Tissue Antigens* 2005;65:544-8.
41. Gracie JA, Koyama N, Murdoch J, *et al.* Disease association of two distinct interleukin-18 promoter polymorphisms in caucasian rheumatoid arthritis patients. *Genes Immun* 2005;6:211-6.
42. Pawlik A, Kurzawski M, Drozdziak M, Dziedziczko V, Safranow K, Herczynska M. Interleukin-18 gene (il18) promoter polymorphisms in patients with rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 2009;38:159-65.
43. Burchard EG, Ziv E, Coyle N, *et al.* The importance of race and ethnic background in biomedical research and clinical practice. *N Engl J Med* 2003;348:1170-5.
44. Colhoun HM, McKeigue PM, Davey Smith G. Problems of reporting genetic associations with complex outcomes. *Lancet* 2003;361:865-72.
45. Khripko OP, Sennikova NS, Lopatnikova JA, *et al.* Association of single nucleotide polymorphisms in the IL18 gene with production of IL18 protein by mononuclear cells from healthy donors. *Mediators Inflamm* 2008;2008:309721.
46. Hee CS, Gun SC, Naidu R, Gupta E, Somnath SD, Radhakrishnan AK. Comparison of single nucleotide polymorphisms in the human interleukin-10 gene promoter between rheumatoid arthritis patients and normal subjects in malaysia. *Mod Rheumatol* 2007;17:429-35.
47. Moreno OM, Gonzalez CI, Saaibi DL, *et al.* [polymorphisms of IL10 gene promoter and rheumatoid arthritis in a colombian population]. *Biomedica* 2007;27:56-65.
48. Pawlik A, Kurzawski M, Szklarz BG, Herczynska M, Drozdziak M. Interleukin-10 promoter polymorphism in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* 2005;24:480-4.



## PUBLIKĀCIJAS PAR DARBA TĒMU

### Zinātniskie raksti

1. *Mihailova A*, Mikazane H., Klovinš J., Nikitina-Zake L. Promoter polymorphisms of the TNFA (-308) and Interleikin-6 (-174) genes in Latvian patients with rheumatoid arthritis. RSU Collection of Scientific Papers, 2010, 146–152.
2. *Mihailova A*, Mikazane H., Klovinš J., Nikitina-Zake L. IL -18-607 is associated with erosive RA in women with disease onset after age 50. RSU Collection of Scientific Papers, 2010, 153–161.
3. *Mihailova A*, Mikazane H., Klovinš J., Nikitina-Zake L. Interleukin 18 gene promoter polymorphisms in Latvian patients with rheumatoid arthritis. Proceedings of the Latvian Academy of Sciences, Section B, Vol. 65, 2011, 20–30.
4. *Mihailova A*, Mikazane H., Klovinš J., Nikitina-Zake L. Association of protein tyrosine phosphatase non-receptor 22 (PTPN22) (rs2476601) and Kruppel-like factor 12 (KLF12) (rs1324913) single nucleotide polymorphisms with rheumatoid arthritis in Latvian population. Scand J Rheumatol 2011;40:491–498.
5. *Mihailova A*, Mikazane H., Klovinš J., Nikitina-Zake L. Influence of interleukin 10 gene polymorphisms on disease activity in Latvian patients with rheumatoid arthritis. RSU Collection of Scientific Papers, 2011 (in press).

## Konferenču/kongresu tēzes

1. *Mihailova A, Kakurina N., Mikazane H., Klovins J., Nikitina-Zake L.* Influence of interleukin 10 gene polymorphisms on disease activity in Latvian patients with rheumatoid arthritis. Tēzes; RSU Zinātniskā konference, Aprīlis, 2011, Rīga; 122.lpp.
2. *Mihailova A, Kakurina N., Mikazane H., Klovins J., Nikitina-Zake L.* Genetic polymorphisms in Latvian rheumatoid arthritis *Ann Rheum Dis* 2010;69(Suppl3):160. Travelling bursary.
3. *Mihailova A, Mikazane H., Klovins J., Nikitina-Zake L.* Cytokine gene polymorphisms in Latvian patients with rheumatoid arthritis. Tēzes; RSU Zinātniskā konference, Marts, 2010, Rīga; 101. lpp.
4. Kakurina N., Mikažāne H., *Mihailova A.* B19 Parvovirusa nozīme reimatoīda artrīta etiopatogēnēze un iespējama korelācija ar slimības aktivitāti, stadiju un klīnisko ainu. Tēzes; RSU Zinātniska konference, Aprīlis, 2009, Rīga; 128 .lpp.
5. Kakurina N., Mikažāne H., Lejnieks A, Murovska M., Skozireva S., *Mihailova A.* Rheumatoid arthritis and parvovirus B19, clinical aspects. *Ann Rheum Dis* 2009; 68:736
6. *Mihailova A., Nikitina-Zake L., Kakurina N., Kadisa A, Mikazane H.* Cytokine gene polymorphisms in Latvian rheumatoid arthritis. Abstract, EULAR 2009.

## Prezentācijas

1. Cytokine gene polymorphisms in Latvian patients with rheumatoid arthritis. Stenda referāts II–29. Rīgas Stradiņu Universitātes Medicīnas nozares zinātniskajā konferencē. Rīga 2010. gada 19. martā.

2. Genetic polymorphisms in Latvian rheumatoid arthritis. Poster THU0029. Annual European congress of Rheumatology EULAR2010; Roma, Italy, June 17, 2010.
3. Influence of interleukin 10 gene polymorphisms on disease activity in Latvian patients with rheumatoid arthritis. Stenda referāts II-66. Rīgas Stradiņu Universitātes Medicīnas nozares zinātniskajā konferencē. Rīga 2011. gada 15. aprīlī.

## PATEICĪBAS

No sirds pateicos mana zinātniskā darba vadītājai *Dr.med.*, profesorei *Helēnai Mikažānei*. Par zinātniskiem ieteikumiem sirsnīgs paldies *Dr.med.*, *Lienei Ņikitinai-Zaķei* un *Dr.biol.*, *Jānim Kloviņam*. Pateicos *Dr.med.*, profesorei *Valdai Staņēvičai* par vērtīgiem padomiem un diskusijām. Par metodiskiem ieteikumiem iegūto rezultātu statistiskā analīzē pateicos *Dr.biol.*, profesoram *Uldim Teibem* un doc. *Svetlanai Ignatjevai*. Paldies RSU zinātņu prorektorei *Dr.habil.med.*, profesorei *Ivetai Ozolantai*, zinātniskajai sekretārei *Ingrīdai Kreilei*, *Dr.med.*, profesoram *Aivaram Lejniekam*, *Dr.med.*, profesorei *Sandrai Lejniecei* par padomiem un atbalstu doktorantūras laikā. Paldies dr. *Valentīnai-Marijai Maksimovai* un *Dr.habil.sc.ing.*, profesoram *Robertam Maksimovam* par morālu atbalstu un vērtīgām rekomendācijām.

Pateicos kolēģiem par atsaucību, atbalstu un izpalīdzību ikdienas darba veikšanā.

Mīļi pateicos savai ģimenei par sapratni, ticību, pacietību un vispusīgu atbalstu.