

Związek polimorfizmu genów HLA-DRB1 z występowaniem i wykładnikami ciężkości przebiegu reumatoidalnego zapalenia stawów

Association between HLA-DRB1 polymorphism and markers of severity of rheumatoid arthritis

MAREK L. KOWALSKI ^{1/}, JOANNA HILT ^{2/}, JOANNA STAŃCZYK ^{1/}, MACIEJ BOROWIEC ^{1/}, GRZEGORZ WOSZCZEK ^{1/}

^{1/} Katedra i Zakład Immunologii Klinicznej AM w Łodzi, ul. Pomorska 251, 92-213 Łódź

^{2/} Poradnia Reumatologii i Immunologii Klinicznej CSK w Łodzi

Chociaż tradycyjnie antygeny HLA-DR4 i DR1 są kojarzone ze zwiększoną podatnością na zachorowanie na RZS, to szereg danych wskazuje na to, że mogą one być związane z ciężkością przebiegu choroby.

Celem pracy była ocena związku między częstością występowania alleli HLA-DRB1 a klinicznymi i laboratoryjnymi wykładnikami reumatoidalnego procesu chorobowego w grupie pacjentów z RZS pozostających pod opieką poradni przyklinicznej. Badaniem objęto 76 chorych z RZS, których scharakteryzowano pod względem cech klinicznych, radiologicznych oraz immunologicznych. Typowanie alleli HLA-DRB1 przeprowadzono metodą molekularną (DynaL RELI SSO HLA-DRB). W grupie chorych częstość występowania alleli DRB1*04 jest statystycznie istotnie wyższa (47,4%) niż w grupie kontrolnej populacyjnej (25%) (WR=2,7; $p_c=0,01$). W grupie chorych z rodzinnym występowaniem RZS, z obecnością czynnika reumatoidalnego i pierwotnie przewlekłym początkiem choroby allele DRB1*04 występowały znacznie statystycznie częściej niż w grupie chorych bez rodzinnego występowania RZS, z seronegatywnym przebiegiem oraz ostrym początkiem choroby. Allele DRB1*04 występowały częściej u chorych z nasiloną destrukcją stawów (wyrażoną Wskaźnikiem Dynamiki Choroby WDC/R \geq 1). Nie zaobserwowaliśmy różnic częstości występowania alleli HLA-DRB1*01 pomiędzy grupą chorych i grupą kontrolną. Nie stwierdzono związku między występowaniem HLA-DRB1*01 a wybranymi cechami klinicznymi RZS.

Badania nasze potwierdzają istnienie związku alleli HLA-DRB1*04 ze zwiększoną predyspozycją do zachorowania na RZS oraz z pewnymi cechami przebiegu klinicznego procesu chorobowego. *Alergia Astma Immunologia, 2001, 6(1), 51-56*

Słowa kluczowe: reumatoidalne zapalenie stawów, genetyka, allele HLA-DR

It is now well established that genetic variations in HLA-DRB1 region may influence susceptibility to RA. The clinical manifestation of rheumatoid arthritis (RA) varies considerably among individual patients but genetic component of the disease severity has not been elucidated.

The goal of the study was to assess the association of the HLA-DRB1 gene with different markers of severity of the disease. Seventy six patients with RA and 152 healthy controls were typed for HLA-DRB1 gene by molecular method (DynaL RELI SSO HLA-DRB). Clinical, radiographic and immunological assessment of patients was conducted. DRB1*04 alleles were present in 47% of RA patients vs 25% of healthy controls (OR=2,7; $p_c=0,01$). The frequency of DRB1*04 genes was higher in patients with: rheumatoid factor (RF) positive RA (OR=14,9; $p_c=0,001$), primarily chronic course of disease (OR=4,7; $p_c=0,03$) and familial incidence of RA (OR=7,8; $p_c=0,02$) comparing to RF-negative patients, with acute course of disease and without familial history of RA. DRB1*04 alleles were significantly more frequent in patients with more intensive joint destruction reflected by index (defined as the number of eroded joints/duration of the disease) \geq 1 (OR=12; $p_c=0,001$). We did not observe differences in frequencies of DRB1*01 alleles neither between studied group and controls nor between subgroups of RA patients.

Our study confirmed association of DRB1*04 alleles not only with susceptibility to RA but with clinical features of the disease as well. *Alergia Astma Immunologia, 2001, 6(1), 51-56*

Key words: rheumatoid arthritis, genetics, HLA-DR alleles

Reumatoidalne zapalenie stawów (RZS) jest przewlekłą chorobą zapalną mogącą prowadzić do destrukcji stawów i w konsekwencji do trwałego kalectwa. Choroba ma charakter autoimmunizacyjny a w jej etiologii mają udział czynniki genetyczne i środowiskowe [1]. Badania nad rodzinnymi powiązaniem, wskazujące np., że dla bliźniąt jednojajowych ryzyko zachorowania na RZS jest bar-

dzo wysokie – 12 do 62 razy większe niż dla osób niespokrewnionych i znacznie wyższe niż ryzyko zachorowania dla bliźniąt dwujajowych, są potwierdzeniem silnych uwarunkowań genetycznych w rozwoju RZS [2]. Kluczowym obszarem genowym związanym z predyspozycją do rozwoju RZS są geny drugiej klasy układu zgodności tkankowej (HLA), a w szczególności region DR. W badaniach

porównujących częstości występowania alleli HLA-DRB1 w grupie chorych z RZS oraz w populacji ogólnej wykazano częstsze występowanie pewnych alleli HLA-DRB1 w grupie pacjentów z RZS [3]. Cechą związanych z RZS alleli DRB1 jest posiadanie tak zwanego „wspólnego epitopu”- sekwencji aminokwasów w pozycjach 67-74 łańcucha [4]. Sekwencję tę posiadają pewne wybrane allele DRB1*04 (DR4), DRB1*01 (DR1) oraz DRB1*1001 (DR10) i DRB1*1402 (DR6) [5]. Jednakże badania ostatnich lat wskazują, że nie tylko podatność na zachorowanie, ale i obraz kliniczny RZS może być uwarunkowany genetycznie. Weyand i wsp. stwierdzili, że obecność alleli HLA-DRB1*04 wiąże się z szybkością progresji choroby oraz z ciężkością jej przebiegu [6]. Wykazali oni, że pacjenci z homo- lub heterozygotycznym układem skojarzonych z RZS alleli HLA-DRB1 cechują się większą dynamiką rozwoju procesu chorobowego niż pacjenci ich nie posiadający [6,7]. Zależności te nie zostały jednak jednoznacznie potwierdzone przez innych badaczy.

Celem naszej pracy była ocena związku między obecnością alleli HLA-DRB1 a klinicznymi, immunologicznymi i radiologicznymi cechami RZS.

PACJENCI I METODY

Pacjenci

Badaniem objęto grupę 76 chorych z RZS pozostających pod opieką Poradni Reumatologii i Immunologii Klinicznej, Katedry Immunologii AM w Łodzi. Wśród 76 chorych w wieku od 24 do 85 lat znajdowało się 60 kobiet (79%, średni wiek 55 lat) oraz 16 mężczyzn (21%, średni wiek 62 lata). Czas trwania choroby wynosił od 1 roku do 34 lat, średnio 10 lat. Reumatoidalne zapalenie stawów było rozpoznane zgodnie z kryteriami Amerykańskiego Towarzystwa Reumatologicznego z 1987 roku [8]. Wszyscy chorzy otrzymywali leki modyfikujące przebieg choroby, a u niektórych stosowano leczenie skojarzone.

Na podstawie wywiadu, badania przedmiotowego oraz dokumentacji chorobowej pacjentów określano:

- czas trwania choroby - od wystąpienia pierwszych objawów;
- charakter początku choroby – wyróżniając: a) przebieg pierwotnie przewlekły (pierwszy rzut choroby trwający powyżej 6 miesięcy), b) przebieg z ostrym początkiem i remisją przed upływem 6 miesięcy;
- manifestacje objawów pozastawowych pod postacią obecności guzków reumatoidalnych.

Ciężkość choroby oceniano poprzez stopień zniszczenia stawów określane na podstawie zdjęć radiologicznych stawów rąk i stóp oraz wybranych, zajętych procesem zapalnym stawów (według skali Steinbrockera).

W celu odniesienia stopnia zaawansowania zmian radiologicznych do zróżnicowanej długości trwania choroby

zaproponowano nowy oryginalny Wskaźnik Dynamiki Choroby (WDC/R), który zdefiniowano jako liczbę zniszczonych stawów (w skali Steinbrockera II° - IV°) odniesioną do długości trwania choroby w latach według wzoru: $WDC/R = \text{liczba zniszczonych stawów} / \text{długość trwania choroby w latach}$. U wszystkich chorych wykonano podstawowe badania laboratoryjne (OB, CRP, morfologia krwi, płytki) oraz oznaczono czynnik reumatoidalny metodą lateksową.

Grupa kontrolna

Grupę kontrolną stanowiły 152 niespokrewnione, zdrowe osoby obojga płci i w różnym wieku, u których w wywiadzie nie stwierdzono schorzeń reumatycznych. Byli to pracownicy Katedry i Zakładu Immunologii Klinicznej oraz rodzeni dawcy szpiku.

Typowanie alleli HLA-DRB1

DNA izolowano z komórek krwi obwodowej pacjentów i osób zdrowych wykorzystując zestaw „Easy Blood DNA Prep” (A&A Biotechnology, Polska). Molekularne typowanie alleli HLA-DRB1 przeprowadzono w oparciu o zestaw Dynal RELI SSO HLA-DRB (Dynal A.S Norwegia) wykorzystujący układ 36 sond molekularnych.

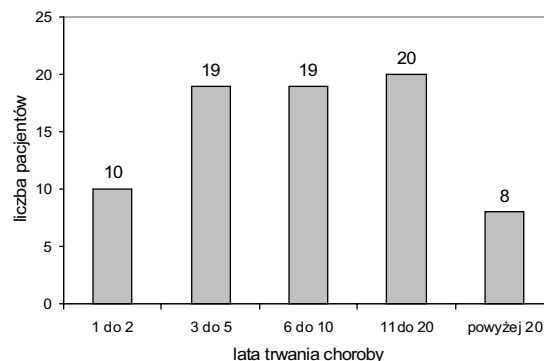
Analiza statystyczna

Częstość alleli HLA-DRB1 w grupie chorych i zdrowych porównano dokładnym testem Fishera. Za znamienne statystycznie przyjęto wartości $p_c < 0,05$ ($p_c = p$ z korektą uwzględniającą liczbę badanych alleli). Wskaźniki względnego ryzyka (WR) liczone z tabeli 2x2.

WYNIKI

Czas trwania choroby

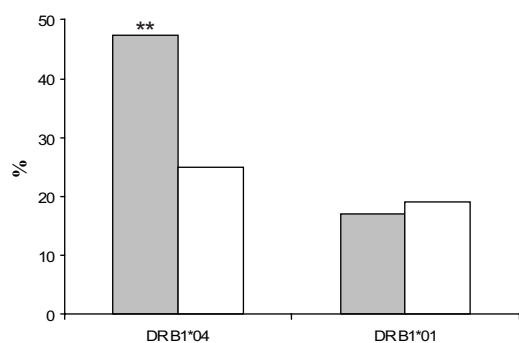
W grupie 76 chorych na RZS znajdowali się pacjenci o zróżnicowanym czasie trwania choroby od 1 do 34 lat. W wyróżnionych przedziałach czasowych znalazło się od 8 do 20 pacjentów (ryc.1).



Ryc.1 Rozkład czasu trwania choroby w grupie chorych (n=76), w zakresie od 1 do 34 lat

Porównanie częstości występowania alleli DRB1*04 u osób zdrowych i chorych na RZS

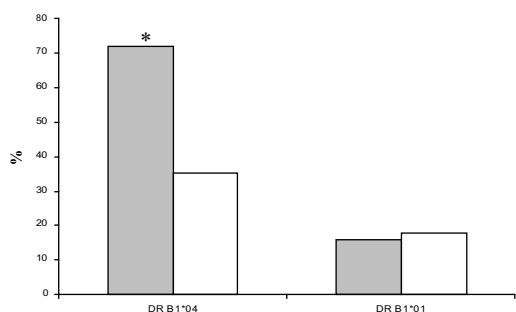
Typowanie alleli HLA DRB1 przeprowadzono w grupie 76 osób chorych na RZS i w grupie kontrolnej, którą stanowiły 152 osoby zdrowe. Allele DRB1*04 i DRB1*01 były obecne u 49 osób chorych (69%) oraz u 67 osób zdrowych (44%). Allele DRB1*04 posiadało 36 osób chorych (47,4%) oraz 38 osób zdrowych (25%). Allele DRB1*01 stwierdzono u 13 chorych (17,1%) oraz u 29 osób zdrowych (19,1%). Porównanie częstości występowania alleli DRB1*04 w grupie osób zdrowych oraz w grupie osób chorych wykazało znamienne częstsze występowanie alleli DRB1*04 u osób chorujących na RZS a wskaźnik ryzyka względnego (WR) wynosił 2,7 ($p_c=0,01$). Częstość pozostałych analizowanych alleli w tym DRB1*01 nie różniła się między obiema grupami (ryc.2).



Ryc.2. Porównanie częstości występowania alleli DRB1*04 i DRB1*01 u chorych na RZS (szary) i osób zdrowych (biały) WR=2,7; $**p_c=0,01$

Porównanie częstości występowania alleli DRB1*04 u chorych z pierwotnie przewlekłym lub ostrym początkiem choroby

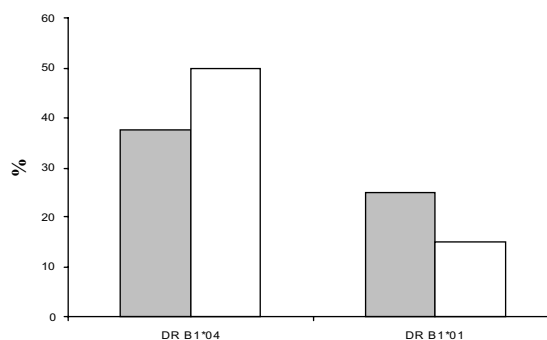
U 25 osób pierwszy rzut choroby trwał ponad 6 miesięcy (początek pierwotnie przewlekły), u pozostałych 51 osób pierwsza remisja pojawiła się przed upływem sześciu miesięcy (ostry początek). Z 25 osób z pierwotnie przewlekłym początkiem choroby allele DRB1*04 posiadało 18 osób (72%), a spośród 51 osób z ostrym początkiem choroby 18 chorych (35,5%). Częstość występowania alleli DRB1*04 była istotnie większa w grupie osób z pierwotnie przewlekłym początkiem choroby (WR=4,7; $p_c=0,03$) (ryc.3).



Ryc.3. Częstość występowania alleli DRB1*04 i DRB1*01 u chorych z pierwotnie przewlekłym (szary) i ostrym (biały) początkiem choroby WR=4,7; $*p_c=0,03$

Porównanie częstości występowania alleli DRB1*04 u chorych z obecnością lub brakiem guzków reumatoidalnych

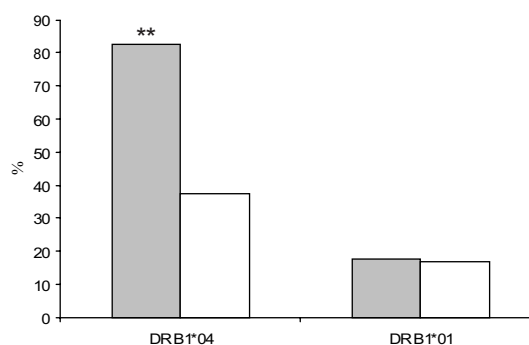
U 16 osób stwierdzono guzki reumatoidalne, u 60 osób nie wykazano ich obecności. Spośród 16 osób z obecnością guzków allele DRB1*04 stwierdzono u 6 osób (37,5%), a spośród 60 osób bez guzków u 30 osób (50%). Stwierdzono, że częstości występowania alleli DRB1*04 nie różniły się istotnie w obu grupach (WR=0,6; $p_c>0,05$) (ryc.4).



Ryc.4. Częstość występowania alleli DRB1*04 i DRB1*01 u chorych z obecnością guzków reumatoidalnych (szary) i chorych nie posiadających guzków (biały)

Porównanie częstości występowania alleli DRB1*04 u chorych z rodzinnym występowaniem RZS

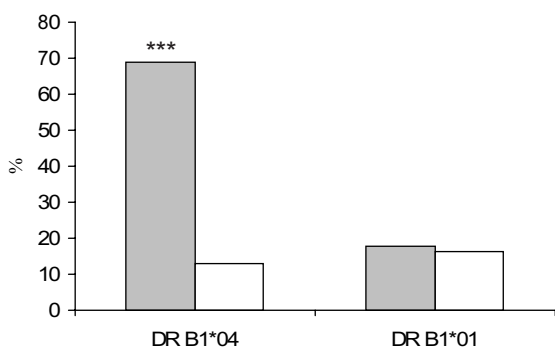
Spośród 76 badanych dodatni wywiad rodzinny miało 17 chorych, w tym 3 osoby posiadały po 2 krewnych chorych na RZS. Allele DRB1*04 były obecne u 14 spośród 17 osób z dodatnim wywiadem rodzinnym (82,4%) oraz u 22 spośród 59 osób z ujemnym wywiadem rodzinnym (37,2%). Stwierdzono, że w grupie chorych z rodzinnym występowaniem RZS allele DRB1*04 były obecne znamienne częściej niż w grupie chorych z ujemnym wywiadem rodzinnym (WR=7,8; $p_c=0,02$) (ryc.5).



Ryc.5. Częstość występowania alleli DRB1*04 i DRB1*01 u chorych w zależności od występowania (szary) lub nie występowania (biały) RZS w rodzinie WR=7,8; $**p_c=0,02$

Porównanie częstości występowania alleli DRB1*04 u chorych z seropozytywnym lub seronegatywnym przebiegiem choroby

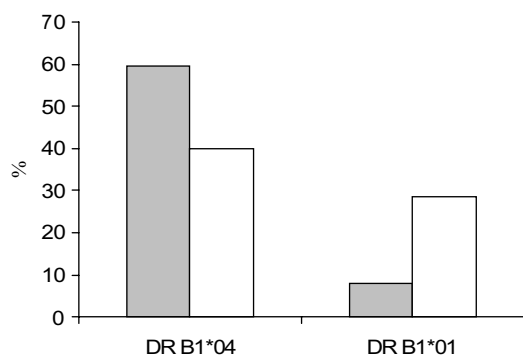
U 45 chorych stwierdzono obecność czynnika reumatoidalnego (RF), a 31 osób było seronegatywnych. Allele DRB1*04 były obecne u 31 spośród 45 chorych z RF(+) (68,9%) oraz u 4 z 31 chorych z RF (-) (12,9%). W grupie pacjentów seropozytywnych allele DRB1*04 występowały znacznie częściej w porównaniu z grupą chorych seronegatywnych (WR=14,9; $p_c=0,001$). Stwierdzono następujący rozkład alleli DRB1*04 (ryc.6).



Ryc.6 Częstość występowania alleli DRB1*04 i DRB1*01 u chorych z seropozytywnym (szary) i seronegatywnym (biały) RZS WR=14,9; *** $p_c=0,001$

Porównanie częstości występowania alleli DRB1*04 u chorych z destrukcją stawów do 2 lat i powyżej 2 lat trwania choroby

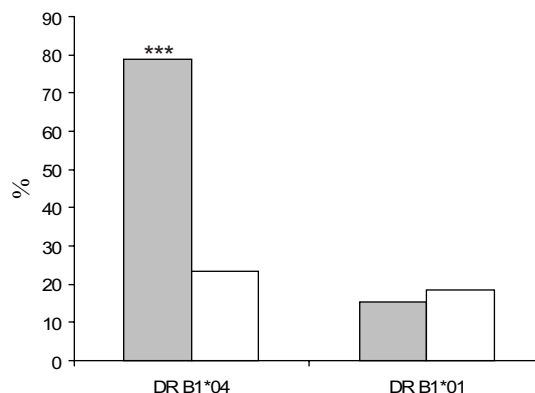
Oceniając progresję choroby na podstawie momentu wystąpienia zmian radiologicznych w stawach podzielono chorych na 2 grupy. Do pierwszej grupy zakwalifikowano chorych, u których nadżerki pojawiły się w ciągu pierwszych 2 lat trwania choroby (37 chorych), a w drugiej grupie znaleźli się chorzy, u których nadżerki wystąpiły po upływie pierwszych 2 lat trwania choroby (35 chorych). W pierwszej grupie allele DRB1*04 były obecne u 22 osób (59,5%), w drugiej grupie u 14 chorych (40%). Różnice te nie były istotne statystycznie (WR=2,2; $p_c>0,05$). Stwierdzono następujący rozkład alleli DRB1*04 (ryc.7).



Ryc.7. Częstość występowania alleli DRB1*04 i DRB1*01 u chorych z destrukcją stawów do 2 lat (szary) i powyżej 2 lat (biały) trwania choroby

Porównanie częstości występowania alleli DRB1*04 u chorych z różnym wskaźnikiem dynamiki choroby (WDC/R)

Przyjęto, że $WDC/R \geq 1$ świadczy o agresywnym przebiegu choroby ze znacznymi zmianami anatomicznymi stawów, a $WDC/R < 1$ to łagodniejsza postać RZS, z mniejszą destrukcją stawów na przestrzeni lat. W grupie chorych ze wskaźnikiem WDC/R powyżej 1 znalazło się 33 chorych, a niski wskaźnik WDC/R (poniżej 1) posiadały 43 osoby. W grupie z $WDC/R \geq 1$ allele DRB1*04 były obecne u 26 osób (78,8%). W grupie z $WDC/R < 1$ znalazło się 10 osób (23,3%) posiadających allele DRB1*04. Częstość alleli DRB1*04 w grupie chorych z wysokim Wskaźnikiem Dynamiki Choroby była znacznie większa w porównaniu z grupą chorych z niską wartością. Zależności te były statystycznie istotne (WR=12,2; $p_c=0,001$). Stwierdzono następujący rozkład alleli DRB1*04 (ryc.8).



Ryc.8. Częstość występowania alleli DRB1*04 i DRB1*01 u chorych z $WDC/R \geq 1$ (szary) i $WDC/R < 1$ (biały) WR=12,2; *** $p_c=0,001$

DYSKUSJA

W ciągu ostatnich 15 lat ukazały się liczne doniesienia wskazujące na fakt, że posiadanie pewnych alleli HLA-DRB1 związane jest ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na RZS [9,10]. Badania te obejmowały głównie pacjentów leczonych w ośrodkach specjalistycznych a więc z reguły z cięższym przebiegiem choroby. W naszym badaniu obejmującym chorych pozostających pod opieką ośrodka ambulatoryjnego potwierdziliśmy zjawisko częstszego występowania alleli DRB1*04 u chorych na RZS w porównaniu z grupą osób zdrowych. Mimo, że nasi pacjenci stanowili dużą i heterogenną grupę związku takiego nie stwierdziliśmy dla DRB1*01 i innych podtypów HLA-DRB1. Dowiedzono również, że pewne kombinacje alleli HLA-DRB1 są związane nie tylko z wrażliwością na zachorowanie, ale także z ciężkością przebiegu choroby. Uważa się, że allele DRB1*04 wiążą się z wczesnym rozwojem nadżerek w stawach i koniecznością wdrożenia agresywnego leczenia modyfikującego, na-

tomiast allele DRB1*01, lub brak związanych z RZS alleli HLA-DRB1, wskazuje na łagodną postać RZS [6]. W naszej grupie pacjentów sprawdziliśmy, czy istnieje związek między posiadaniem wybranych alleli DRB1*04 i *01 a manifestacją kliniczną RZS, parametrami laboratoryjnymi oraz zmianami radiologicznymi w stawach.

Charakter początku choroby jest jednym z czynników prognostycznych jej przebiegu. Pierwotnie przewlekły początek choroby trwający ponad 6 miesięcy determinuje jej cięższy przebieg w przyszłości. Z naszej analizy wynika, że posiadanie alleli DRB1*04 predysponuje do pierwotnie przewlekłego początku, co rokuje bardziej agresywny przebieg RZS.

Manifestacja pozastawowa RZS to kolejna cecha kliniczna, uważana za wyraz ciężkości choroby. Weyand i wsp. [7] wykazali istnienie powiązań między pewnymi kombinacjami alleli HLA-DRB1 (w szczególności DRB1*04), a występowaniem guzków reumatoidalnych i zmian narządowych. W naszej grupie pacjentów nie wykazaliśmy zależności między obecnością alleli HLA-DRB1, a występowaniem guzków reumatoidalnych, co prawdopodobnie wynika z małej liczby chorych z obecnością guzków reumatoidalnych w badanej grupie.

U chorych obciążonych wywiadem rodzinnym w kierunku występowania RZS ryzyko zachorowania jest znacznie wyższe, a przebieg choroby cięższy [11]. Dowodem na znaczenie uwarunkowań genetycznych w rozwoju RZS jest obserwacja, że częstość zachorowania na RZS dla bliźniąt jednojajowych jest wyższa niż dla dwujajowych [2]. W badanej grupie wykazaliśmy istnienie związku między obecnością alleli DRB1*04, a rodzinnym występowaniem RZS, co może przemawiać za rodzinnym uwarunkowaniem przebiegu choroby.

Występowanie czynnika reumatoidalnego w przebiegu RZS jest czynnikiem prognostycznym aktywnego procesu destrukcji w stawach [12]. Istnieją liczne dane wskazujące na to, że seropozytywna i seronegatywna postać RZS ma uwarunkowania w zakresie alleli HLA-DRB1 [13]. Obecność czynnika reumatoidalnego wykazuje dużą korelację z posiadaniem wybranych alleli DRB1*04, natomiast allele DRB1*01 występują częściej u pacjentów z seronegatywnym i słabo seropozytywnym RZS [14]. Nasze wyniki potwierdzają powyższe obserwacje. Stwierdziliśmy istnienie silnego związku między obecnością alleli DRB1*04, a rozwojem seropozytywnej postaci RZS.

Progresja procesu chorobowego w RZS wiąże się z pojawieniem się nadżerek i następową destrukcją stawów. Ocena szybkości niszczenia stawów w zależności od rodzaju posiadanych alleli HLA-DRB1 jest przedmiotem licznych badań, których wyniki są niejednoznaczne [15]. Wydaje się, że na rozwój nadżerek ma wpływ podłoże genetyczne i modyfikacja procesu zapalnego lekami [16]. W badanej grupie nie stwierdziliśmy istnienia zależności między obecnością alleli DRB1*04, a wczesnym pojawieniem się nadżerek (w ciągu pierwszych 2 lat choroby). Brak takiej zależności może wynikać z faktu, że część naszych pacjentów od wielu lat otrzymywała leczenie modyfikujące przebieg choroby, które hamuje rozwój zmian destrukcyjnych stawów.

Innym parametrem obrazującym stopień nasilenia procesu chorobowego jest liczba zajętych stawów, która jest jednak również zależna od długości trwania choroby. W celu uwzględnienia czynnika czasu trwania choroby oraz w związku z heterogennością badanej grupy pod względem czasu trwania choroby i zaawansowania zmian radiologicznych w stawach do analizy wprowadziliśmy Wskaźnik Dynamiki Choroby. W rozkładzie jego wartości zarysowały się dwie grupy pacjentów: z niskim oraz wysokim wskaźnikiem (odpowiednio $WDC/R < 1$ i ≥ 1). Wśród chorych z wysokim Wskaźnikiem Dynamiki Choroby allele DRB1*04 występowały częściej co może wskazywać, że posiadanie alleli DRB1*04 predysponuje do większej progresji choroby pod postacią wcześniejszego zajęcia większej liczby stawów.

Podsumowując, w badaniu naszym stwierdziliśmy, że w grupie chorych z RZS częstość występowania alleli HLA-DRB1*04 jest istotnie wyższa niż w grupie kontrolnej, co potwierdza związek polimorfizmu HLA-DRB1 z podatnością na zachorowanie na RZS. Allele DRB1*04 występowały częściej w grupie chorych z pierwotnie przewlekłym początkiem choroby, z nasiloną destrukcją stawów (wyrażoną Wskaźnikiem Dynamiki Choroby $WDC/R \geq 1$) oraz obecnością czynnika reumatoidalnego, co stanowi potwierdzenie związku obszaru genowego HLA-DRB1 z ciężkością a być może również dynamiką rozwoju reumatoidalnego zapalenia stawów.

Badania nasze potwierdzają zatem, że allele HLA-DRB1*04 mogą determinować zarówno zwiększoną predyspozycję do zachorowania na reumatoidalne zapalenie stawów, jak i pewne cechy przebiegu klinicznego RZS.

Piśmiennictwo

1. Kontny E, Jesień-Dudzińska E, Romicka AM, Maśliński W. Immunologia chorób stawów. w: Immunologia Kliniczna, wyd. ML Kowalski, Łódź: Mediton Oficyna Wydawnicza, 2000; 357-384.
2. Weyand CM. New insights into the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Rheumatol* 2000; 39(suppl.1):3-8.
3. Płoski R. Immunogenetyka chorób stawów. w: Immunologia Kliniczna, wyd. ML Kowalski, Łódź: Mediton Oficyna Wydawnicza, 2000; 385-392.
4. Andersson EC, Svendsen P, Svejgaard A i wsp. A molecular basis for the HLA association in rheumatoid arthritis. *Rev Immunogenet* 2000; 2: 81-87.
5. Hansen JA, Nelson JL. Autoimmune diseases and HLA. *Crit Rev Immunol* 1990; 10: 307-328.
6. Weyand CM, McCarthy TG, Goronzy JJ. Correlation between disease phenotype and genetic heterogeneity in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest* 1995; 95: 2120-2126.
7. Weyand CM, Congping X, Goronzy JJ. Homozygosity for the HLA-DRB1 allele selects for extraarticular manifestations in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest* 1992; 89: 2033-2039.
8. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA i wsp. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988; 31: 315.
9. Weyand CM, Goronzy JJ. Inherited and noninherited risk factors in rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 1995; 7: 206-213.
10. Porawska W, Łącki JK, Mackiewicz SH. Antygeny HLA-DR u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów leczonych w Klinice Reumatologii w Poznaniu. *Reumatologia* 1997; T XXXV: 25-30.
11. Deighton CM, Heslop P, McDonagh J i wsp. Does genetic anticipation occur in familial rheumatoid arthritis? *Ann Rheum Dis* 1994; 833.
12. Scott DL. Prognostic factors in early rheumatoid arthritis. *Rheumatol* 2000; 39(suppl.1): 24-29.
13. Weyand CM, Klimiuk PA, Goronzy JJ. Heterogeneity of rheumatoid arthritis: from phenotypes to genotypes. *Springer Semin Immunopatol* 1998; 20: 5-22.
14. Płoski R, Mellbye OJ, Rønningen KS i wsp. Seronegative and weakly seropositive rheumatoid arthritis differ from clearly seropositive rheumatoid arthritis in HLA class II associations: *J Reumatol* 1994; 21: 1397-1402.
15. Rau R, Herborn G, Zueger S i wsp. The effect of HLA-DRB1 genes, rheumatoid factor, and treatment on radiographic disease progression in rheumatoid arthritis over 6 years. *J Rheumatol* 2000; 27: 2566-2575.
16. Listing J, Rau R, Müller B i wsp. HLA-DRB1 genes, rheumatoid factor, and elevated C-reactive protein: independent risk factors of radiographic arthritis. *J Rheumatol* 2000; 27: 2100-2109.