

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
“VICTOR BABEȘ” DIN TIMISOARA
FACULTATEA DE MEDICINĂ
Departamentul II MORFOLOGIE MICROSCOPICĂ

BLAGA LILIANA



TEZĂ DE DOCTORAT

**STATUSUL NON RESPONDER ȘI IDENTIFICAREA
DE NOI BIOMARKERI TISULARI CU IMPACT
PROGNOSTIC ȘI TERAPEUTIC ÎN PATOLOGILE
AUTOIMUNE ARTICULARE**

R E Z U M A T

Conducător de doctorat
PROF. UNIV. DR. ANCA MARIA CÎMPEAN
MD, PhD, Hab.Dr.

Conducător de doctorat cotutelă:
CONF. UNIV. DR. MELNIC EUGEN

Timișoara

2023

Prezenta teză de doctorat a avut ca scop principal analiza clinică și experimentală a poliartritei reumatoide și, într-o mai mică măsură a artritei psoriazice printr-o abordare interdisciplinara a acestor patologii.

Poliartrita reumatoidă, cunoscută și sub numele de PR, este o boală autoimună degenerativă care afectează articulațiile în timp. Se distinge printr-o inflamație treptată și simetrică a articulațiilor care sunt afectate, ceea ce duce în cele din urmă la descompunerea cartilajului, eroziunea oaselor și invaliditate [1]. În stadiile incipiente ale bolii, doar câteva articulații sunt afectate; cu toate acestea, pe măsură ce boala progresează, numărul de articulații afectate crește, iar simptomele extraarticulare sunt frecvente.

Poliartrita reumatoidă este o boală cronică, ce determină deformare articulară și anchiloze, astfel poliartrita reumatoidă nu este doar o problemă medicală ci și o problemă socială datorită că peste 50 % din pacienți își încetează activitatea în primii 5 ani de boală, iar 10 % prezintă o invaliditate gravă în primii doi ani de evoluție. Se estimează că la nivel mondial, incidenta bolii este de aproximativ 1,7% pentru femei și 0,7% pentru bărbați.

Evoluția cronică a poliartritei reumatoide, cu potențialul ei invalidant, implică o evaluare permanentă, pentru aprecierea consecințelor îmbolnăvirii și a recuperării. Stabilirea formelor clinico-evolutive și a stadiilor de boală, a perioadelor active și de remisiune, a gradului de activitate articulară și sistemică, a factorilor de risc, prognosticului și complicațiilor, necesită multiple investigații și instrumente de lucru, în examinări repetate. Prognosticul, triplu evaluat, pentru muncă, sănătate și viață, orientează asupra posibilităților evolutive ale bolii. Diagnosticul precoce și de certitudine al poliartritei reumatoide declanșează monitorizarea evoluției, prognosticului și tratamentului pentru oprirea procesului inflamator și a consecințelor acestuia, în scopul ameliorării calității vieții pacientului reumatoid și a familiei acestuia. Evoluția în PAR este importantă și pentru evaluarea costurilor bolii, sociale și personale, ce constau în:

- costuri directe (îngrijirea în spital și ambulatoriu);
- costuri indirecte (incapacitatea de muncă a bolnavului cu PAR și neplata zilelor de muncă ale celor ce îl îngrijesc);
- costuri personale (potențial redus de câștig, scurtarea speranței de viață, costuri în termenii durerii și ai handicapului);
- costuri psiho-sociale (deteriorarea calității vieții pacienților, precum și a familiilor și a prietenilor lor).

Un diagnostic precoce și unul de certitudine ce apare în bolile cronice, progresive și invalidante necesită o permanentă monitorizare a evoluției, prognosticului și tratamentului, cu scopul opririi sau cel puțin al întârzierii progresiei procesului inflamator și a consecințelor acestuia, pentru ameliorarea

calității vieții pacienților cu poliartrită reumatoidă. Poliartrita reumatoidă constituie reumatismul inflamator cel mai frecvent, această formă de boală afectând aproximativ 1 la sută din populația României, adică în jur de 230.000 de persoane. Ameliorarea calității vieții pacienților cu poliartrită reumatoidă, impune o reinserție socială și astfel o augmentare a nivelului de trai economic și social.

Stadiul incipient de PR este definit de simptome de boală larg răspândite, cum ar fi oboseala, o senzație de tip gripal, articulațiile umflate și dureroase și rigiditatea matinală; este însoțită de niveluri crescute de proteină C reactivă (PCR) și de o rată crescută de sedimentare a hematiilor (VSH). Stadiul incipient al PAR este, de asemenea, marcat de o rată crescută de sedimentare a hematiilor (VSH). În contrast, poliartrita reumatoidă care nu a fost tratată în mod adecvat poate prezenta un tablou clinic complicat, incluzând dezvoltarea de manifestări sistemice grave, cum sunt revărsatele pleurale, nodulii pulmonari și boala pulmonară interstițială, limfoamele, vasculita din arterele mici sau mijlocii, keratoconjunctivita, ateroscleroza, anomaliile hematologice (cum sunt anemia, leucopenia, neutropenia). Dacă sunt considerate ca un întreg, aceste simptome sistemice, care sunt provocate de starea inflamatorie persistentă a pacienților cu PR, determină o rată crescută a mortalității. Deși nu se știe ce cauzează RA, cercetările [8] au arătat că atât variabilele genetice, cât și cele de mediu pot juca un rol în evoluția bolii. Este probabil ca stabilirea inițială a PAR să necesite două evenimente distincte, așa cum se presupune pentru alte boli autoimune: o predispoziție genetică a pacientului respectiv, care determină generarea de celule T și B autoreactive și un eveniment declanșator, cum ar fi infecțiile virale și bacteriene sau leziunile tisulare, care asigură celulele activate care prezintă antigen (APC) pentru a activa limfocitele autoreactive generate anterior, ducând la întreruperea toleranței.

În poliartrita reumatoidă, afecțiunea inflamatorie cunoscută sub numele de sinovită afectează capsula articulară, care include membrana sinovială, lichidul sinovial și oasele însele. Celulele dendritice (CD), celulele T, macrofagele, celulele B, neutrofilele, fibroblaștii și osteoclastele joacă roluri importante în inițierea și menținerea inflamației articulare. Durerea și tumefierea articulațiilor sunt simptome ale poliartritei reumatoide (PR), o afecțiune caracterizată prin activarea persistentă a sistemului imunitar ca răspuns la autoantigenele specifice PR care sunt prezente în articulație și nu pot fi eliminate. Eroziunea osoasă și deteriorarea cartilajului provin din mediul inflamator persistent al articulației artritice, care determină panusul, o extensie a membranei sinoviale, să se infiltreze în osul periarticular la interfața cartilaj-os. Capacitatea celulelor dendritice de a capta, prelucra și prezenta antigeni celulelor T naive este crucială pentru reglarea răspunsurilor imunologice. În acest context, echilibrul dintre activarea sistemului imunitar și inducerea și menținerea toleranței este determinat de fenotipul celulelor dendritice, care se caracterizează prin expresia moleculelor de suprafață și producerea atât a citokinelor, cât și a chemokinelor.

Acest lucru sugerează că starea activată a CD, împreună cu creșterea producției pro-inflamatorii de citokine, poate încuraja prezentarea de autoantigene pentru celulele T și menținerea

răspunsurilor inflamatorii. Activarea DC în micromediul sinovial inflamator modifică nu numai modelele de secreție de citokine, ci și modelul de expresie al, de exemplu, receptorilor de chemokine care guvernează mișcarea DC. În cazul artritei reumatoide (AR), de exemplu, s-a raportat că DC sinoviale exprimă niveluri mai scăzute de CCR7, ceea ce duce la rate scăzute de emigrare a DC mature din țesuturile inflamate și la persistența inflamației locale.

Prognosticul PR este considerat a fi influențat de trei factori: pozitivitatea pentru factorul reumatoid (RF) și/sau anticorpii proteino-peptidici anti-citrulinați (ACPA), prezența precoce a leziunilor structurale și o activitate crescută a bolii. Factorii de prognostic joacă un rol crucial în diagnosticarea PAR, precum și în determinarea opțiunilor de tratament adecvate și în estimarea gravității bolii. În prezent, nu există o definiție standardizată a factorilor de prognostic deficitari. Factorii principali care sunt luați în considerare atunci când se iau decizii de tratament sunt activitatea crescută a bolii, prezența precoce a eroziunilor și pozitivitatea autoanticorpilor.

Adalimumab, Etanercept și Infliximab sunt substanțe neutralizatoare potente a bioactivității factorului de necroză tumorală alfa, care este citokina cheie în patogeneza RA și APs, dar există diferențe fundamentale între cele trei substanțe. Adalimumabul este un anticorp monoclonal umanizat, Infliximabul este un anticorp monoclonal himeric cu o variabilă murinică și umană IgG1, Etanercept este o fuziune genetică a unui receptor p75 TNFalfa solubil recombinat și porțiunea Fc umană IgG. Etanerceptul se leagă de limfotxină, o citokina găsită în țesutul sinovial. Complexul format între Etanercept și TNF alfa solubil și transmembranar este mai puțin stabil decât cel format cu Infliximab. Infliximabul și Etanerceptul și-au dovedit eficiența în inducerea apoptozei macrofagelor, dar nu și a limfocitelor din membrana sinovială.

Angiogeneza (pro-inflamator) și limfangiogeneza (anti-inflamator) joacă un rol important în modularea inflamației conform studiilor în vitro și în vivo demonstrate strict pe model animal.

Bolile reumatologice sistemice autoimune, inclusiv bolile țesutului conjunctiv, poliartrita reumatoidă și spondiloartrita, prezintă implicare articulară alături de manifestări extra-articulare. Afecțiunile cutanate servesc frecvent ca cea mai semnificativă și ilustrativă prezentare clinică, așa cum s-a observat în afecțiuni precum artrita psoriazică, sclerodermia și lupusul eritematos sistemic. În acest context special, ar fi avantajos pentru reumatologi să își îmbunătățească înțelegerea afecțiunilor cutanate și a caracteristicilor histopatologice corespunzătoare. Examinarea probelor de biopsie cutanată poate oferi asistență valoroasă în verificarea diagnosticului variațiilor clinice tipice și atipice, precum și în îmbunătățirea înțelegerii mecanismelor patologice subiacente și a corelării puternice dintre tulburările cutanate și articulare.

Ca în majoritatea bolilor autoimune, mecanismele etio-patogenice de declanșare și progresie a poliartritei reumatoide și a artritelor psoriazice sunt incomplet cunoscute și, mai mult, evoluția și

progresia bolii sunt imprevizibile. Variabilitatea criteriilor etiopatogenice determină o inconsistență în stabilirea terapiei precum și în răspunsul la terapia de primă linie, secundară sau terapia biologică.

Cea mai cunoscută leziune cutanată este nodul reumatoid. Alte manifestări cutanate sunt slab definite.

Celulele T activate migratoare interacționează cu macrofagele rezidente, celulele dendritice, sinoviocitele și osteoclastele din sinovială. Aceasta este o zonă în care multe subseturi de celule T pot contribui la patogeneza PR prin interacțiuni complicate [examinată în [20].

Celulele T, celulele B și monocitele sunt celulele predominante care se infiltrează în articulațiile afectate [7]. Acest proces este inițiat de celulele epiteliale sinoviale și se continuă cu prezentarea de antigen activat care amorsează răspunsurile celulelor T și B autoantigen-specifice în ganglionii limfatici și organele locale.

Celulele Th1, prin secreția de IL-2, IFN- și TNF-, susțin puternic alte celule imunitare, activarea macrofagelor și a celulelor B și declanșarea și menținerea reacțiilor inflamatorii în sinovială [20,21,22]. Studii recente au demonstrat că celulele CD4+CD28nule care exprimă în mod concomitent perforină și granzime, molecule mai frecvent întâlnite în celulele T citotoxice CD8+, sunt crescute în sângele periferic al unor pacienți cu PR [23,24,25]. S-a dovedit că aceste celule joacă un rol de ajutor în inflamația PR. Există dovezi că celulele CD4+ care exprimă perforina sunt prezente în lichidul sinovial și țesutul pacienților cu PAR [25,26,27]. Aceste celule pot avea un rol atât în leziunile tisulare, cât și în menținerea inflamației.

Biopsiile cutanate sunt cel mai facil de obținut din punct de vedere tehnic dar dificil totuși prin prisma acordului pacientului de a realiza acest lucru. Cum această manevră a necesitat un acord suplimentar acesta a fost obținut doar de la 30 din cei 115 pacienți incluși în studiu.

Chiar și pe un număr redus de biopsii am demonstrat o variabilitate a expresiei CLIC1 dependentă sau influențată semnificativ statistic de tipul de terapie aplicată dar și de alți factori clinico-biologici. Rezultatele noastre susțin continuarea cercetării CLIC1 în artritele reumatoide și cele psoriazice și inițierea cuantificării acestuia în serul pacienților cu artrită reumatoidă și artrite psoriazice.

Date despre expresia CLIC1 în biopsiile cutanate de la pacienți sunt extrem de rare și unele sunt parte componentă a acestui studiu (141). Lipsa dateleor expresiei CLIC1 pe biospiile umane a reprezentat de altfel și una din motivațiile studiului de față.

Canalele de clor intracelulare sunt legate la nivelul membranei și participă la diferite procese patologice, inclusiv inflamația asociată cu bolile neurodegenerative, ateroscleroza, spondilita anchilozantă progresia tumorii și metastazarea cancerului vezicii urinare, carcinoame cu celule renale sau carcinoame hepatocelulare. CLIC1 are o capacitate mare de translocare între compartimentele

citoplasmic și nuclear în funcție de starea funcțională și pe baza acestei translocări funcțiile CLIC1 sunt extrem de versatile. Aceste funcții versatile ale canalelor de clor, cum ar fi CLIC1, includ reglarea metabolismului celular, acționând la nivel enzimatic. Rolul CLIC1 în inflamație, asociat cu diferite patologii, este bine cunoscut. În acest context, CLIC1 este puternic exprimat în macrofage, celulele cheie ale imunității adaptive și înnăscute. Expresia CLIC1 nu se limitează doar la macrofage, ci se observă și la fibroblaștii țesutului conjunctiv și miofibroblaști, care se găsesc din abundență în diferite leziuni inflamatorii. Efectele CLIC1 asupra celulelor stromale sunt mediate de prezența factorului de creștere beta transformator ($TGF\beta$) și factorului de necroză tumorală alfa ($TNF\alpha$). În bolile reumatice, CLIC1 este slab studiat, iar modelele experimentale includ în principal macrofage sau fibroblaști stromali izolați de la șoareci.

Datele prezentate mai sus care subliniază incertitudinile în ceea ce privește evoluția și răspunsul la terapie al poliartritei reumatoide și a artritei psoriazice au reprezentat motivația de a alege ca temă de cercetare evaluarea statusului de non responder în ceea ce privește partea clinică și, derivat din aceasta studiul canalelor de clor de tip 1, bine cunoscut și descris în afecțiunile inflamatorii dar paradoxal de puțin studiat în artrita reumatoidă și artrita psoriazică.

De asemenea, eliberarea de interferon-gamma, interferon-beta, interleukină-18 și interleukină-23 de către celulele dendritice plasmacitoide activate (DDCp) a fost asociată cu inflamația sistemică la pacienții cu poliartrită reumatoidă (PR). Expimarea factorului de activare a celulelor B anti-apoptotice (BAFF) prin pDC poate stimula, de asemenea, dezvoltarea autoanticorpilor]. În concordanță cu aceasta, numărul de pDC din sinovială la pacienții cu PAR seropozitivi pentru ACPA este mai mare decât cel al pacienților cu PR negativi pentru ACPA. Pacienții cu AR prezintă, de asemenea, niveluri crescute ale activității de transcripție în genele activate de interferon. Prin urmare, IFN pot juca un rol semnificativ atât în debutul PAR, cât și în faza sa ulterioară, cronică, stabilită.

Deci, faptul că vasculita cutanată este una dintre primele manifestări clinice extra-articulare în PR și că biopsia cutanată este mai ușor de efectuat și acceptat de către pacient, una dintre ipotezele noastre a fost de a sublinia importanța vasculitei cutanate subclinice în rezultatul sistemic al pacienților cu RA.

Dintre cei 115 pacienți incluși în studiu, 50 de pacienți au fost de acord să li se preleveze biopsii cutanate pentru examenul histopatologic dar și pentru demararea studiului nostru privind expresia CLIC1 în biopsiile cutanate. Acești pacienți au prezentat un răspuns nefavorabil la terapiile administrate fie că acestea au fost convenționale fie la terapiile biologice. Ca și criterii de selecție, am recoltat biopsii cutanate de la pacienți cu semne clinice de vasculită și greu responsivi la terapiile aplicate.

Există trei categorii de rapuns:

Exprimarea CLIC1 s-a dovedit a fi semnificativ asociată cu activarea inflammasomilor, care facilitează răspunsul inflamator în afecțiunile reumatice. Potrivit cercetărilor anterioare (139), s-a observat că CLIC1 este exprimat la niveluri ridicate nu numai în celulele stromale, ci și în celulele epiteliale, inclusiv celulele endoteliale și epidermice.

Folosind software-ul statistic Jamovi, care este compatibil cu sistemele de operare mac OS, am efectuat analiza statistică a datelor colectate, precum și construcția de grafice, tabele și diagrame de corelare.

NRP și NRS sunt dezvoltate pentru agenți terapeutici anti-TNF și inhibitori ai celulelor imune, dependenți în mod specific de vârstă, sex, IMC și durata tratamentului, dar nu și pentru inhibitorii JAK. Pe baza vârstei, sexului și claselor terapeutice, am identificat subgrupuri feminine cu un IMC crescut de la 40 la 59 de ani, grup care ar trebui reevaluat în relație cu utilizarea inhibitorilor proinflamatori ai citokinelor. Inhibitorii TNF α induc NRS la toate grupele de vârstă, dar în funcție de IMC și sex.

Împreună cu RITUXI, alți inhibitori ai citokinelor pro-inflamatorii au arătat o interdependență diferită în funcție de vârstă, IMC și sex cu PRN sau status PRN în studiul actual: (i) TOCI pentru PRN indus la paciențele cu IMC>24,9 și (ii) Orencia pentru PRN indus în același grup de vârstă, sex și IMC ca și (i) dar și pentru grupul de femei cu vârsta cuprinsă între 60 și 81 cu IMC<24,9 atât pentru PRN cât și pentru PRN. Aceste rezultate sugerează că ORENCIA trebuie evitat la pacienții de sex feminin cu vârsta cuprinsă între 60-81 cu un IMC normal.

În scopul de a face alegeri de terapie pentru artrita reumatoidă (AR), variabilele de prognostic s-au dovedit a fi un instrument clinic eficient. Factorii de prognostic sunt importanți în trei domenii legate de tratamentul poliartritei reumatoide incipiente (PR): determinarea momentului de începere a tratamentului cu medicamente antireumatice modificatoare ale bolii (MARMB), luarea deciziei privind intensitatea tratamentului, inclusiv schimbarea terapiei, și evaluarea răspunsului la tratamentul individual [51].

Inhibitorii TNF au indus NRS atât la bărbați, cât și la femei din toate cele trei grupe de vârstă și din ambele subgrupe de IMC. În cazul în care, pentru inhibitorii de citokine proinflamatorii, există puține date și dispersate referitoare la impactul IMC asupra eficienței acestora, pentru inhibitorii de TNF α există deja dovezi solide și relevante că un IMC mare a redus eficiența tratamentului și poate induce un status de non-răspuns [165,166]. Într-un studiu realizat de Bergstra et al [166], autorii au evaluat inhibitorii de TNF α prin stratificarea pacienților în mai multe subcategorii de IMC având mai mult de 94 % femei. Când au evaluat independent INFLIXI, ADA și ETA, au descoperit că pacienții clasificați ca fiind subponderali pe baza IMC au prezentat un răspuns inconsistent la INFLIXI și BA în timpul perioadei de urmărire din primul an. Nu s-au referit la gen. Date similare au fost găsite pentru ADA și INFLIXI pentru IMC< 24,9 în grupul cu vârsta cuprinsă între 22 și 39 de ani, în care a fost prezentă asocierea între statusul NRS, ADA și INFLIXI. De asemenea, medicii au declarat că INFLIXI și ETA au

un impact terapeutic mic pentru pacienții obezi, dar nu au oferit detalii despre sex sau grupa de vârstă. Am găsit date similare referitoare la INFLIXI și ETA legate de dezvoltarea NRS pentru aceste două medicamente, dar, comparativ cu studiul menționat anterior, am evidențiat aceste constatări ca fiind specifice pentru grupul de bărbați cu $IMC > 24,9$, cu vârste cuprinse între 40 și 59 de ani. GOL1 a fost asociat cu NRS pentru $IMC > 24,9$ femei cu vârsta cuprinsă între 60 și 81 ani, dar nu am putut găsi în literatura de specialitate date referitoare la IMC, vârsta sau impactul sexului asupra răspunsului la terapia GOL1.

Într-un studiu realizat de Magro et al (127), pe un lot de 43 de pacienți, autorii au descris modelul histologic predominant, recunoscând prezența modelelor suplimentare de reacții minore în majoritatea cazurilor. Manifestarea histopatologică predominantă observată la 21 de subiecți a fost caracterizată prin palisadare și/sau inflamație granulomatoasă interstițială difuză. Leziunile au arătat o preferință pentru piele față de articulații și au cuprins noduli, plăci și papule. În plus față de prezența infiltratelor histiocitare interstițiale și a necrobiozei de collagen variabil, aceste cazuri au prezentat neutrofilie interstițială, vasculită și tromboză vasculară pauci-inflamatorie. Morfologia primară observată la alți 11 pacienți a fost de natură vasculopatică. Acestea au inclus tromboză vasculară pauci-inflamatorie, neovascularizație glomeruloidă, vasculită neutrofilică de tip PAN pustular, foliculocentric, leucocitoclastic sau cutanat benign, vasculită granulomatoasă și vasculită limfocitară. În plus, au fost identificate focare histiocitare intravasculare ocluzive, pentru care denumirea propusă este „histiocitopatie intravasculară asociată cu RA”. Prevalența factorului reumatoid (RF) pozitiv și a artritei active a fost mare în rândul subiecților investigați. În plus, prezența anticorpilor anti-Ro și anticardiolipină a acționat ca factori concurenți, exacerbând astfel leziunile vasculare în anumite cazuri. Rezultatele testării imunofluorescente efectuate pe trei pacienți au indicat o depunere predominantă a IgA în sistemul vascular. Manifestările clinice ale plăcilor urticariene, piodermitei gangrenoase și paniculitei la nouă pacienți au fost caracterizate în principal prin infiltrate neutrofile dermice și/sau subcutanate.

La nivel clinic, simptomele PAR diferă dramatic între stadiul incipient al bolii și fazele ulterioare ale bolii care nu au fost tratate în mod adecvat. Stadiul incipient de PR este definit de simptome de boală larg răspândite, cum ar fi oboseala, o senzație de tip gripal, articulațiile umflate și dureroase și rigiditatea matinală; este însoțită de niveluri crescute de proteină C reactivă (PCR) și de o rată crescută de sedimentare a hematiilor (VSH) [6]. Stadiul incipient al PAR este, de asemenea, marcat de o rată crescută de sedimentare a hematiilor (VSH). În contrast, poliartrita reumatoidă care nu a fost tratată în mod adecvat poate prezenta un tablou clinic complicat, incluzând dezvoltarea de manifestări sistemice grave, cum sunt revărsatele pleurale, nodulii pulmonari și boala pulmonară interstițială, limfoamele, vasculita din arterele mici sau mijlocii, keratoconjunctivita, ateroscleroza, anomaliile hematologice (cum sunt anemia, leucopenia, neutropenia) Dacă sunt considerate ca un întreg, aceste simptome sistemice, care sunt provocate de starea inflamatorie persistentă a pacienților cu PR, determină o rată crescută a

mortalității. Deși nu se știe ce cauzează RA, cercetările [8] au arătat că atât variabilele genetice, cât și cele de mediu pot juca un rol în evoluția bolii. Este probabil ca stabilirea inițială a PAR să necesite două evenimente distincte, așa cum se presupune pentru alte boli autoimune: (1) o predispoziție genetică a pacientului respectiv, care determină generarea de celule T și B autoreactive; și (2) un eveniment declanșator, cum ar fi infecțiile virale și bacteriene sau leziunile tisulare, care asigură celulele activate care prezintă antigen (APC) pentru a activa limfocitele autoreactive generate anterior, ducând la întreruperea toleranței. Prin urmare, este probabil ca PAR să se dezvolte la persoanele care sunt predispuse genetic din cauza unei combinații de variații genetice, modificări epigenetice și variabile de mediu, care au fost declanșate de un eveniment aleatoriu (cum ar fi un accident sau o infecție) [1]. Fumatul, obezitatea, expunerea la lumina UV, hormonii sexuali, consumul de droguri, modificările microbiotei intestinului, gurii și plămânilor, boala parodontală (parodontita) și infecțiile au fost identificate ca factori potențiali de risc pentru dezvoltarea PAR [1,2,5,7,9,10]. Legătura dintre tulburările parodontale și dezvoltarea PR este unul dintre acești factori de risc care este deosebit de fascinant.

Leica Bond-Max, produs de compania Leica Biosystems din Newcastle upon Tyne, Regatul Unit, a fost automatul folosit pentru tehnica imunohistochimică. Soluțiile Bond Epitope Retrieval 1 și 2 (Leica Biosystems, Newcastle Ltd., Newcastle UponTyne NE 12 8EW, UK) au fost folosite pentru demascare.

Lotul inițial a inclus un număr de 115 de pacienți incluși într-o bază de date de tip excell pe o perioadă de 5 ani cuprinsă între anii 2017-2022. Pentru cei 115 de pacienți au fost colectate date referitoare la vârsta, sex, indicele de masă corporală (BMI), tipurile de terapie utilizate, durata terapiei, răspunsul la terapie (statusul de responder, non responder primar și non responder secundar. Toate aceste date au fost colectate cu respectarea legilor GDPR, utilizate și diseminate doar după obținerea consimțământului scris al pacientului cu privire la aspectele etice ale cercetării în care au fost incluși. Mai mult, afectarea multiplă de organ, progresivă, din poliartrita reumatoidă și artrita psoriazică reprezintă un factor de prognostic nefavorabil pe termen lung.

Manifestarea simptomelor la pacienții cu poliartrită reumatoidă este influențată de diverși factori genetici, cum ar fi sensibilitatea genetică și modificările epigenetice, precum și de factori de mediu, cum ar fi fumatul, obezitatea și alterările microbiomului din regiunile cavității bucale și intestinale. Aceasta are ca rezultat o populație de pacienți foarte diversă. Acești factori contribuie la proliferarea imunitară celulară și la formarea de autoanticorpi, care perpetuează cascada inflamatorie a membranei sinoviale. Activarea căilor inflamatorii moleculare multiple la pacienții cu poliartrită reumatoidă poate duce la un răspuns unic la tratament pentru toată lumea [158].

- Non-responder primar: lipsă de răspuns în primele 6 luni de la inițierea terapiei biologice

- Non-responder secundar primitiv: răspuns primar urmat de eșec în menținerea efectelor pozitive, pentru minim 12 luni de la inițierea tratamentului sau să atingă două scoruri pozitive într-un interval minim.
- Non-responder secundar tardiv: pierderea răspunsului pozitiv la terapia biologică, după ce a avut mai mult de 12 luni doar efecte pozitive să atingă două scoruri pozitive într-un interval minim.

A fost realizat un studiu bazat pe o meta-analiză. Meta-analiza a fost aleasă deoarece este un instrument statistic care este capabil să culeagă o cantitate mare de date, indiferent de tipul și eterogenitatea studiului, chiar dacă am preferat studiile clinice randomizate, controlate, cu design similar. Pentru a estima factorul de risc ca vasculită, meta-analiza este capabilă să integreze toate datele studiilor individuale și să ne ofere un efect de grupare.

Nouăzeci și doi de subiecți din studiile incluse în meta-analiză actuală au fost diagnosticați cu vasculită și 706 pacienți nu au îndeplinit criteriile pentru vasculită. În ceea ce privește vasculita subclinică, s-au prezentat cu aceasta 92 de pacienți din lotul unu și 14 din 706 pacienți non-vasculiți. Au dezvoltat un rezultat mai rău. Efectul general a fost că vasculita subclinică este un predictor negativ pentru vasculită (z: 1,86, p: 0,06)

Nu au existat date despre implicarea CLIC1 în leziunile inflamatorii din poliartrita reumatoida pe tesuturile umane din diferite regiuni afectate de aceasta patologie.

Nu exista în acest moment un biomarker specific nici pentru artrita reumatoida nici pentru cea psoriazică ci doar un panel de biomarkeri, majoritatea dintre ei nespecfici care pot orienta asupra statusului activ al bolii precum și asupra răspunsului la terapie.

O sută cincisprezece pacienți care au fost înregistrați la Secția de Reumatologie a Spitalului Clinic Județean de Urgență Târgu Mureș au fost luați în considerare pentru includerea în studiu. Vârsta pacienților a variat între 22 și 81 de ani. În cursul acestei cercetări, fiecărui pacient i s-au oferit informații cu privire la utilizarea datelor sale, păstrându-și în același timp identitatea.

Obiectivul principal al studiului a fost acela de a sublinia importanța prezenței vasculitei (subclinice) în evoluția poliartritei reumatoide, o boală autoimună, inflamatorie. Pentru a ne atinge obiectivul, a fost efectuată o meta-analiză. Vasculita subclinică atrage atenția cercetătorilor după un studiu imagistic care a aratat pe o tomografie cu emisie de pozitroni (PET) inflamația aortică și o astfel de legătură cu manifestările cardiovasculare ale poliartritei reumatoide (AR). Acesta este punctul de rupere pentru legarea evoluției pacienților cu PR cu vasculita subclinică.

Pacienții au fost împărțiți în trei categorii distincte de vârstă: grupul I include pacienții cu vârsta cuprinsă între 22 și 39 ani, grupul II include pacienții cu vârsta cuprinsă între 40 și 59 ani, iar grupul III include pacienții cu vârsta cuprinsă între 60 și 88 ani. Acest lucru a fost făcut pentru a investiga reacția la tratament și legătura dintre răspuns și indicele de masă corporală, precum și durata tratamentului.

Într-o parte ulterioară a cercetării, pacienții au fost evaluați pe baza tipului de tratament pe care l-au primit și a răspunsului la acesta. Se știe că persoanele care sunt fie supraponderale, fie obeze, indiferent de gradul de obezitate, au o stare inflamatorie ridicată. Ca rezultat, a patra clasificare a oamenilor din populația de cercetare s-a bazat pe indicele de masă corporală, mai întâi pentru persoanele care au fost obeze și cele care nu au fost grase, iar apoi pentru diferitele forme de obezitate bazate pe IMC.

Pacienții cu Poliartrită reumatoidă care au avut eșec terapeutic cu un preparat biologic anti-TNF alfa, fie datorită ineficienței sau toxicității sunt frecvent schimbați pe altă terapie biologică pe un al 2-lea agent anti-TNF. Pacienții cu poliartrită reumatoidă pot fi clasificați ca non-responsivi primari sau secundari, în funcție de răspunsul la tratamentul inițial. Cei care nu au răspuns de la început la tratament sunt cei care nu au răspuns atât clinic, cât și biologic, după cum s-a demonstrat prin lipsa ameliorării nivelurilor VSH și CRP. Acest lucru indică faptul că medicamentul este inefficient. Non-respondenții secundari, pe de altă parte, sunt pacienții care au răspuns inițial la tratament, dar care ulterior și-au pierdut eficacitatea. Mecanismul pentru non-responsivii primari și secundari poate fi diferit. Identificarea precisă a pacienților care nu au răspuns la tratamentul primar și secundar este esențială pentru îmbunătățirea îngrijirii pacienților. Lipsa de răspuns primar este atribuit eșecului terapeutic, în timp ce lipsa de răspuns secundar este asociat cu eșecul tratamentului determinat de imunogenitate. Lipsa de răspuns și dezvoltarea de anticorpi sunt factori predictivi semnificativi pentru răspunsul la terapia biologică ulterioară, așa cum este indicat de anumite studii. Furnizarea de definiții precise ale pacienților care nu au răspuns la tratamentul primar și secundar este crucială pentru anticiparea tratamentului cel mai eficient pentru pacienți și pentru îmbunătățirea îndrumării clinice și practice. Se cunoaște mai puțin probabilitatea ca pacienții cu NRP să fie, de asemenea, SNR. De asemenea, există date dispersate cu privire la asocierea dintre PNR și statusul SPN în funcție de grupele de vârstă, sex sau IMC.

Pacienții cu poliartrită reumatoidă prezintă niveluri crescute ale celulelor ajutoare foliculare T CXCR5+ICOS+CD4+ în sângele periferic, iar această creștere se corelează atât cu titrurile ACPA, cât și cu severitatea bolii. Cu toate acestea, nu se cunoaște în acest moment cât de importante sunt acestea pentru patogeniza PAR.

PAR este una dintre cele mai frecvente boli inflamatorii cronice, cu o prevalență care variază de la 0,4% la 1,3% din populație în funcție de factori precum sexul (femeile sunt afectate de două până la trei ori mai des decât bărbații), vârsta (frecvența noilor diagnostice de PAR atinge vârfuri în al șaselea deceniu de viață) și studiile colective efectuate de pacienți (frecvența RA crește de la sud la nord și este mai mare în zonele urbane decât în cele rurale).

Patogenia poliartritei reumatoide poate fi specifică citokinelor și dependentă de pacient. Semnificația unui tip de celule poate varia de la un pacient la altul. Tipul de limfocite (B sau T, Th1 sau

Th17) poate afecta eficacitatea terapiei. Aceste instrumente sunt aplicabile în contextul clinic actual pentru prognozarea eficacității terapiei biologice. Numeroase studii au evaluat corelația dintre terapiile biologice și factori precum vârsta, sexul, medicația concomitentă și indicele de masă corporală. Kleinert a evaluat eficacitatea adalimumabului în funcție de sex. Bărbații prezintă o probabilitate mai mare de a răspunde favorabil la terapia biologică și de a obține remisia în comparație cu femeile, după cum indică rezultatele studiului.

Pentru tehnica imunohistochimică, cazurile au fost colorate prin reacții simple folosind următorii anticorpi primari: mouse monoclonal anti human CLIC1.

Pielea este unul dintre cele mai frecvent afectate organe extra-articulare în poliartrita reumatoidă. Poliartrita reumatoidă este frecvent asociată cu numărul de manifestări cutanate care pot reprezenta un avertisment cu privire la severitatea bolii. Nodulii reumatoizi sunt cele mai frecvente. Vasculita reumatoidă, dermatozele neutrofile de asemenea. Pielea reprezintă unul dintre organele care reacționează cel mai precoce la atacul autoimun din patologiiile menționate.

Poliartita reumatoidă este o afecțiune sistemică, autoimună, inflamatorie caracterizată prin inflamația sinovialei de la nivel articular cu consecințe clinice reprezentate de artralgiile la nivelul articulațiilor mici ale mâinilor și picioarelor, tumefiere și însoțită în lipsa unui management terapeutic adecvat de distrugere osoasă coroborată cu impotența funcțională. Sinovita reprezintă hallmarkul poliartritei reumatoide. Sinoviala proliferată sau panusul este compusă din celule care potențează inflamația secretând citokine, chemokine care mediază angiogeneza. În inflamația acută, celulele endoteliale sunt activate de mediatorii inflamației ($\text{TNF}\alpha$ – factorul de necroză tumorală, VEGF – factorul de creștere endotelială vasculară, interleukina 6 – IL-6, interleukina 1β) ducând la o creștere a fluxului sanguin și astfel la vasodilatație, edem datorită creșterii permeabilității vasculare. În inflamația cronică, vasele sanguine sunt dilatate, hiperpermeabile și activate datorită prezenței moleculelor de adeziune, ducând la extravazarea continuă a celulelor inflamatorii. Panusul este o structură vascularizată fiind posibilă astfel intrarea celulelor efectoare responsabile de distrugerea articulară via mecanisme autocrine, respectiv paracrine. Tumefierea articulară și durerea se datorează neovascularizatiei, infiltrării celulare inflamatorii cu hiperplazie sinovială concomitentă cu creștere în volum a sinovialei și a lichidului sinovial. Inhibarea neovascularizației este unul dintre dezideratele terapiei în PR.

Poliartita reumatoidă este o boală cronică, ce determină deformare articulară și anchiloze, astfel poliartita reumatoidă nu este numai o problemă medicală ci și o problemă socială datorită ei peste 50 % din pacienți își încetează activitatea în primii 5 ani de boală, iar 10 % prezintă o invaliditate gravă în primii doi ani de evoluție. Se estimează că la nivel mondial, incidența bolii este de aproximativ 1,7% pentru femei și 0,7% pentru bărbați .

Prognosticul PR este considerat a fi influențat de trei factori. Conform sursei [52], există trei factori care indică o activitate crescută a bolii în poliartrita reumatoidă: pozitivitatea pentru factorul reumatoid (RF) și/sau anticorpii proteolipidici anti-citrulinați (ACPA), prezența precoce a leziunilor structurale și o activitate crescută a bolii.

Proteina 1 asociată canalelor intracelulare de clor (CLIC1) este un constituent al familiei CLIC și este considerată una dintre proteinele cele mai bine conservate. Clonarea inițială a sa a fost atribuită expresiei sale crescute în macrofage activate. Gena CLIC1, denumită și NCC27, prezintă o expresie inconsecventă și prematură în țesuturile fetale umane.

Proteina 1 de canal intracelular de clor (CLIC1) face parte din familia CLIC și este una dintre proteinele cele mai conservate. A fost clonat pentru prima dată datorită exprimării sale crescute în macrofagele activate. CLIC1, cunoscut și sub denumirea de NCC27, are o expresie timpurie și variabilă în țesuturile fetale umane și se găsește în concentrații scăzute în creierul fetal uman, dar în concentrații mari în plămânii, rinichii și ficatul fetal uman. În timpul vieții umane adulte, persistă variabilitatea expresiei în majoritatea țesuturilor umane.

Proteinele asociate canalelor de clor au fost intens studiate în leziunile inflamatorii și maligne dar, nu și în patologia autoimună. Rolul proteinei 1 a canalelor de clor (CLIC1) a fost sugerată într-un singur articol indirect în model experimental, descriind existența și activitatea veziculelor exozomale CLIC1 în inflamația din artrita reumatoidă.

S-a constatat că citokinele IL-12 și IL-23, care amplifică răspunsurile antigen-specific Th17, au fost generate de DC maturi, după extragerea în articulație, ceea ce a condus la un model de răspuns dezechilibrat între Th1, Th2 și Th17 [31,32,33]. DC inflamatorii (diferențierea locală de monocitele care invadează articulația inflamată) din lichidul sinovial au fost implicate în patogeniza PR datorită capacității lor de a activa eficient celulele Th17 din articulațiile PR prin producerea de TGF- β , IL-1, IL-6 și IL-23 [14].

S-a demonstrat că citokinele IL-6, IL-1, IL-21, TGF- β și IL-23 găsite în articulațiile sinoviale generează celulele Th17 [31,32], care apoi recrutează neutrofile, activează celulele B și cresc osteoclastogeneza [33,34]. Cu toate acestea, semnificația IL-17A în PAR este controversată, deoarece țințirea terapeutică a IL-17A sau IL-17R a demonstrat o eficacitate mai mică decât, să spunem, tratarea psoriazisului [35,36]. Celulele Th17 pot avea capacități imunosupresoare în PAR, deoarece s-a constatat că acestea produc IL-10 ca răspuns la tratamentul anti-TNF [37]. Celulele T1 care s-au dezvoltat în celule T citotoxice CD4+ pot provoca atât leziuni tisulare directe, cât și producerea de citokine proinflamatorii [20], în timp ce celulele T17 pot fi cruciale în stadiile incipiente ale bolii.

S-a observat că canalele de clor intracelulare legate de membrană joacă un rol în diferite procese patologice, cum ar fi inflamația asociată cu bolile neurodegenerative (132), ateroscleroza

(133), spondilita anchilozantă (134), progresia tumorii și metastazarea cancerului de vezică urinară (135), carcinoamele cu celule renale (136) și carcinoamele hepatocelulare (137). Posibilitatea de translocare a CLIC1 între compartimentele citoplasmică și nucleară depinde de starea sa funcțională.

S-au identificat mai mulți markeri specifici ai endoteliului limfatic: vascular endothelial growth factor receptor 3 (VEGFR-3), podoplanin, mucin-type transmembrane glycoprotein, propero-related homeobox 1, lymphatic hyaluronan receptor 1 (LYVE-1). S-a demonstrat faptul că familia VEGF-ului (VEGF C, VEGF D) afectează limfangiogeneza – “down reguland-o”, citokinele proinflamatorii TNF α și IL 1 stimulând producția de VEGF-C. Se cunoaște rolul activ pro-inflamator al TNF-ului α și al IL-1 în patogeneza PR-ului.

Scopul tratării poliartritei reumatoide a evoluat de-a lungul anilor de la prevenirea simptomelor, invalidității și modificărilor radiologice (distrugerea articulațiilor) până la obținerea remisiunii timpurii și persistente. Avantajele actuale pot transforma Artrita Reumatoidă dintr-o boală cronică debilitantă într-o patologie curabilă prin oprirea procesului autoimun și inducerea toleranței imune. Tulburările imunitare apar cu câțiva ani înainte de debutul artritei. Autoimunitatea este declanșată la persoanele cu o predispoziție care prezintă manifestări clinice de poliartrită reumatoidă. Administrarea unui tratament adecvat în stadiile incipiente ale bolii poate duce la remisie susținută în poliartrita reumatoidă (PR). Această ipoteză sugerează faptul că administrarea tratamentului la debutul bolii poate avea un potențial mai mare de restabilire a procesului autoimun și de modificare a evoluției și fenotipului de PR. Remisiunea susținută este legată de îmbunătățirea pe termen lung a bolii, măsurată prin funcționalitate, analize de laborator, îmbunătățire și supraviețuire. Remisiunea susținută poate fi obținută atât la pacienții cu boală în stadiu incipient, cât și la cei cu stadii mai avansate de poliartrită reumatoidă [156].

Sistemul limfatic joacă un rol important în inflamație. Circulația limfatică – sistemul vascular secundar, este cunoscută pentru rolul său în îndepărtarea macromoleculelor, celulelor și fluidelor din spațiul interstițial și funcția sa ca și sistem compensator al circulației sanguine. Reglează răspunsul inflamator prin transportarea lichidului sinovial, leucocitelor extravazate și a celulelor prezentatoare de anticorpi la nodulii limfatici și la alte organe limfatice secundare, contribuind astfel la scăderea inflamației induse de edem și inițierea unui răspuns imun specific.

Spre deosebire de datele din literatură în care statusul de non-responder era evaluat pe un grup de vârstă larg, studiul de față și-a propus să studieze statusurile de non reponder primar și secundar pe grupe de vârstă prin stratificarea pacienților în 3 grupuri de vârstă. Până la prezentul studiu, nu s-au observat diferențe semnificative între statusul de non reponder primar și secundar corelate cu IMC. Stratificarea pacienților pe grupe de vârstă a demonstrat că IMC are un impact semnificativ asupra răspunsului la terapie dependent de vârstă. De asemenea, tot pe grupe de vârstă am identificat un

răspuns variabil la inhibitorii de citokine proinflamatorii și la inhibitorii de TNF dar nu și la inhibitorii de JAK.

Studiul microscopic și imunohistochimic a implicat evaluarea a 50 de cazuri. Probele bioptice au fost obținute prin proceduri chirurgicale minim invazive. Studiul a obținut acordul în cunoștință de cauză al pacienților și aprobarea Comisiei de Etica a Cercetării.

Studiul nostru efectuat pe o cohortă de 115 pacienți a relevat diferențe mari între răspunsurile la diferite medicamente, strict legate de vârstă, sex, IMC sau durata tratamentului. Analiza noastră statistică a inclus trei clase de medicamente utilizate în tratamentul PR: agenți anti TNF (ADALIMUMAB, ETANERCEPT, GOLIMUMAB, INFLIXIMAB), inhibitori JAK (TOFACITINIB și BARITICINIB) și medicamente care acționează asupra celulelor inflamatorii (RITUXIMAB, TOCILIZUMAB și ORENCIA). Am descoperit că NRP sau NRS erau asociate cu anti TNF și medicamente care acționează doar asupra celulelor inflamatorii. Dar această asociere a fost extrem de dependentă nu numai de grupele de vârstă, ci și de statutul IMC, sex și durata terapiei.

Țesutul adipos este o sursă suplimentară bine cunoscută de TNF, adiponectin și citokine inflamatorii. Induce și promovează o stare inflamatorie care se traduce printr-un scor DAS28 mai scăzut la evaluarea inițială a pacienților cu PR. În ciuda acestui fapt, nu există date clare cu privire la implicarea sa în non-răspunsurile primare sau secundare. Datele noastre susțin includerea țesutului adipos ca factor al răspunsului mai slab la terapiile care vizează inhibarea citokinelor sau TNF. Discrepanțele dintre rezultatele noastre și alte date din literatura de specialitate se pot datora lipsei stratificării pacienților pe baza vârstei și, de asemenea, pe baza unei evaluări diferențiate a pacienților în funcție de valorile IMC (IMC normal față de mare). Comparativ cu alte studii, studiul nostru a evaluat starea de răspuns la tratament atât pentru pacienții supraponderali, cât și pentru cei obezi, nu numai pentru cei obezi, așa cum a fost efectuată în majoritatea studiilor publicate anterior.

Toate componentele structurale ale pielii sunt afectate de reacția autoimună indusă de variabilitatea statusului autoimun și incapacitatea terapiei de a modula această reacție autoimună. Modificările cutanate specifice celor două patologii sunt practic ireversibile la un anumit moment al evoluției bolii.

Ultimele studii au arătat că inflamația subclinică (de exemplu, prezența semnalului Doppler în interiorul articulațiilor, văzută cu ultrasunete) poate fi un marker pentru rezultatul pacienților cu RA. Dar, un alt studiu mini-invaziv a furnizat date despre faptul că diferite tipuri de sinovită pot fi legate de rezultatul RA. Din păcate, există doar câteva studii cu design eterogene publicate în literatură și pentru a efectua o biopsie intra-articulară chiar dacă sunteți calificat în ecografie (US) poate fi consumator de timp și resurse și poate fi dependent de medic și pacient [1].

Un număr din ce în ce mai mare de dovezi sugerează că modificările în distribuția și funcția DC-urilor contribuie la inflamația autoimună în PAR și în alte tulburări autoimune [revizuit la [11]]. Este probabil ca migrarea crescută a DC la articulația inflamată [11] să fie responsabilă pentru frecvența scăzută a DC convenționale și a DC plasmacitoide în plasma pacienților cu PR [12]. S-a considerat că exprimarea crescută a CCR6, receptorul pentru chemokina CCL20, care este puternic exprimată în țesutul sinovial [13], a fost responsabil pentru recrutarea DC.

Unsprezece pacienți, reprezentând 63,64 % femei și 36,36 % bărbați, aveau vârste cuprinse între 22 și 39 de ani. Dintre cei șapte pacienți de sex feminin, trei au fost identificați ca non-respondenți primari (NRP), reprezentând 42,85 % din populația de pacienți de sex feminin. Invers, toți cei patru pacienți de sex masculin au fost identificați ca NRP, reprezentând o rată de 100 % a NRP în rândul populației de pacienți de sex masculin. În ceea ce privește statusul non-respondenților secundari (NRS), datele au indicat că 14,28 % dintre pacienți au fost de sex feminin și 75 % de sex masculin.

Variabilitatea de răspuns la terapia convențională și cea biologică sugerează existența unor factor specifici fiecărui pacient și din acest motiv, inițierea terapiilor personalizate pentru fiecare pacient în parte este din ce în ce mai necesară de a fi luată în considerare.

Vasculita subclinică atrage atenția cercetătorilor după un studiu imagistic care a arătat pe o tomografie cu emisie de pozitroni (PET) inflamația aortică și o astfel de legătură cu manifestările cardiovasculare ale poliartritei reumatoide (AR). Acesta este punctul de rupere pentru legarea evoluției pacienților cu PR cu vasculita subclinică.

Prezentul studiu este primul raport asupra expresiei CLIC1 în noduli reumatoizi și compartimentele stromale și vasculare în biopsiile de piele de la pacienți cu PR și AP. Ambele boli se caracterizează prin inflamație care implică mai multe organe, inclusiv pielea și se pare că CLIC1 este profund implicat. Am demonstrat exprimarea CLIC1 la nivel dermic în artrita reumatoidă și psoriazică în leziunile inflamatorii cutanate ale pacienților cu RA și AP. Raportăm aici că agenții terapeutici pentru RA și PsA pot influența diferențial expresia dermică a CLIC1 și dinamica acesteia. Modificările sunt independente de markerii inflamatorii serici. Prin urmare, putem concluziona că evaluarea CLIC1 în biopsiile de piele la pacienții cu RA și APs pot fi utilizați ca instrument potențial pentru prezicerea stării inflamatorii generale și a răspunsului la terapie. În prezent, nu există date privind evaluarea serică a CLIC1 disponibil pentru RA și PsA în ciuda funcției sale ca unul dintre factori puternici în promovarea inflamației. Datele noastre sprijină puternic evaluarea extinsă a CLIC1 în RA ca potențial marker nou de țesut și ser în evaluarea inflamației și instrument predictiv pentru răspunsul la terapie.