

Examensarbete

**Epidemiologisk fall-kontroll studie av reumatoid
artrit.**

– betydelsen av genotyp och omgivningsfaktorer.

Jakob Svensson

LiU-IFM-Biol-Ex-1289

1. Sammanfattning / Abstract

The aim of this study was to evaluate the effects of some environmental and genetic predisposing factors of Rheumatoid Arthritis (RA). RA is an inflammatory disease where the immune system decomposes body tissue. A significant increased risk of RA was shown when exposed to grain and smoking. The genes that were studied were GSTM1, GSTT1 and Fc-gamma-RII. The genes themselves were no predisposing factors of RA, but smoking showed to be a significant greater riskfactor for RA for individuals having a deletion of the GSTM1 or the Fc-gamma-RII gene, or not having a deletion of the GSTT1 gene. Exposure to grain showed to be a significant greater riskfactor for RA for individuals not having a deletion of the GSTM1, GSTT1 or the Fc-gamma-RII gene. Also individuals not having a deletion of the Fc-gamma-RII gene showed an increased risk for RA when exposed to stonedust.

Syftet med studien var att studera effekterna av några miljöfaktorer och genetiskt predisponerande faktorer för reumatoid artrit (RA). RA är en inflammatorisk sjukdom där immunsystemet bryter ner kroppsegen vävnad. En signifikant ökad risk för RA påvisades vid exponering för spannmålsdamm och rökning. Generna som studerades var GSTM1, GSTT1 och Fc-gamma-RII. Generna i sig var ingen predisponerande faktor för RA, men rökning visade sig vara en signifikant högre riskfaktor för de som hade en deletion av GSTM1 eller Fc-gamma-RII genen samt för de som inte hade deletion av GSTT1 genen. Exponering för spannmålsdamm visade sig vara en signifikant större riskfaktor för RA för de som inte hade deletion av GSTM1, GSTT1 eller Fc-gamma-RII genen. Vidare visade individer som inte hade en deletion av Fc-gamma-RII genen en ökad risk för RA vid exponering för stendamm.

Nyckelord: Fc-gamma-RII, genotyp, GSTT1, GSTM1, ledgångsreumatism, miljöfaktorer, reumatoid artrit

2. Inledning

Reumatoid Artrit, RA (ledgångsreumatism) är en sjukdom som kännetecknas av en kronisk inflammation i kroppens leder. Den bakomliggande processen är att individens immunsystem stimuleras att angripa kroppsegna vävnader. Framför allt brosk och närliggande ben bryts ner. Dessutom resulterar inflammationen i bildning av toxiska syreprodukter, ROS (Reactive Oxygen Species) som oxiderar en rad biomolekyler. Orsakerna till uppkomsten av RA är inte helt klarlagda. Det har visat sig att både miljöfaktorer och individens genotyp har betydelse.

2.1 Miljöfaktorer

Människan har länge studerat sambandet mellan olika miljö- och andra exponeringsfaktorer och uppkomsten av sjukdom. Med utvecklingen av statistiska metoder har en mängd exponeringsfaktorer kunnat sättas i samband med olika sjukdomar. Det kanske mest studerade är sambandet mellan rökning och olika sjukdomar. Med ökade kunskaper om vår arvs massa har man sett att det kan vara vår genotyp som avgör i vilken utsträckning vi påverkas av olika exponeringar.

2.2 Gener

Vår arvs massa består av deoxiribonukleinsyra, DNA. DNA är uppbyggt av fyra olika baser, nämligen nukleinsyrorna adenin, guanin, cytosin och tymin. Dessa är bundna till varsin reducerad sockermolekyl (deoxiribos) och binder till varandra med sockerfosfatbindningar så att långa kedjor bildas. Baserna i två sådana kedjor binder till varandra (tymin till adenin och cytosin till guanin) och molekylen vrids som en dubbelspiral. DNA-molekylen är kompakt packad i anslutning till histonproteiner i cellkärnan och varje molekyl utgör en kromosom. En normal kroppscell har en dubbel uppsättning av varje kromosom. Människan har 46 kromosomer, 22 par autosomer och ett par könskromosomer, där kvinnor är bärare av två X-kromosomer och män har en X-kromosom och en Y-kromosom. I en enkel uppsättning av människans arvs massa, genomet, finns det ca 3 miljarder baspar. Det är endast ca 5% av detta genom som utgör gener och man räknar med att människan har ca 30 000 – 50 000 gener. En gen utgör mallen för ett protein genom att sekvensen av nukleinsyrorna bestämmer ordningen av aminosyror vid tillverkning av proteiner. I och med HUGO (Human Genome Organisation) projektet blev sekvensen av baserna klarlagt år 2000, men det återstår fortfarande att ta reda på betydelsen av flertalet av människans gener. En ökad kunskap om sambanden mellan en individs genetiska konstitution och sjukdomsrisker möjliggör att man kan förutsäga en individs risk att drabbas av en sjukdom innan den

manifesteras, s.k. presymptomatisk diagnostik. Detta öppnar möjligheter för individorienterade förebyggande åtgärder. Med stor sannolikhet kommer detta att leda till ett paradigmskifte inom hälso och sjukvården (Kristofferson 2003), bl.a. genom utvecklingen av farmakogenetiken, d.v.s. på vilket sätt generna påverkar hur vi reagerar på olika läkemedel. Det har visat sig att de individuella variationerna kan vara mycket stora. Med en ökad kunskap om de gener som styr omsättningen av olika läkemedel ökar möjligheten att hos den enskilda patienten förbättra effekten av läkemedlet och minska risken för biverkningar genom individanpassad behandling (Nystrand & Kaj 2000).

2.3 Genetiska avvikelser

En mutation kan definieras som en bestående förändring av arvsmassan. Förekomsten av mutationer gör att olika individer ibland har olika former av en viss gen. Dessa olika former av samma gen kallas alleler. Det kan också vara så att man helt saknar en viss gen, man har en s.k. nollallel av den aktuella genen. Om förändringen inte påverkar cellens funktion talar man om tysta mutationer. Men många mutationer gör att cellen inte fungerar normalt och kan därmed orsaka sjukdomar t.ex. genom att ett visst protein inte kan bildas eller blir felkonstruerat (Kristofferson 2003). En stor populationsstudie från 1988 visade på att två tredjedelar av alla sjukdomar som drabbar oss har en genetisk komponent (Baird et al. 1988). Den ökade kunskap vi kan få från kartläggningen av människans arvs massa kommer med stor sannolikhet kunna visa att den genetiska konstitutionen, på ett eller annat sätt bidrar till vilka sjukdomar vi kommer att drabbas av. Sambanden är dock inte alltid så enkla som man kan tro. Det har visat sig att sjukdomar som ter sig identiskt lika, kan orsakas av skilda genetiska mekanismer, och att sjukdomar som är helt skilda från varandra kan vara orsakade av olika mutationer i samma gen. Ärftliga sjukdomar kan delas in i medfödda kromosomförändringar, monogent orsakade sjukdomar, multifaktoriella sjukdomar och tumörsjukdomar (Kristofferson 2003).

2.3.1 Kromosomförändringar

Kromosomförändringar innebär att man får fel antal eller fördelning av kromosomer eller kromosomfragment. En av de mest kända kromosomrubningarna är trisomi 21 (Downs syndrom), som beror på att man fått en extra kopia av kromosom 21 (Kristofferson 2003).

2.3.2 Monogent orsakade sjukdomar

Monogena sjukdomar utgörs av de tillstånd där sjukdomen orsakas av mutation i en enda gen. Denna mutation finns redan i anlagen i könscellen när individen blir till och återfinns således i kroppens samtliga celler.

Beroende på hur denna mutation påverkar cellens funktion får den olika konsekvenser för individen. En del alleler behöver bara vara representerade i den ena kromosomen i ett kromosompar för att deras egenskaper ska framhävas, s.k. dominanta anlag. Andra alleler måste vara representerade i båda kromosomerna för att komma till uttryck, s.k. recessiva anlag (Kristofferson 2003). Ett exempel på en monogen recessiv sjukdom är cystisk fibros (CF) som drabbar ca 3 promille av svenska barn (Nystrand & Kaj 2000).

2.3.3 Multifaktoriella sjukdomar

Till gruppen multifaktoriella sjukdomar räknas tillstånd där individens genetiska konstitution på ett avgörande sätt, tillsammans med miljöfaktorer bidrar till sjukdomsuppkomst (Kristofferson 2003). Till denna grupp hör flera av de stora folksjukdomarna t.ex. hjärt-kärlsjukdom, vissa cancerformer, allergier, diabetes och reumatiska sjukdomar (Nystrand & Kaj 2003). Sjukdomarna beror ofta på avvikelser i flera gener och har varierande genomslagskraft. Ofta är dessa gener i sig inte förknippade med särskilt hög risk, men de kan vara förödande om individen utsätts för bestämda yttre faktorer (Dahl & Landegren 2003).

2.3.4 Tumörsjukdomar

Tumörsjukdomar orsakas av förändringar i kroppsceller, somatiska celler. Det innebär att de genetiska förändringar som uppstått går i arv till dottercellerna, men eftersom könscellerna inte är påverkade kommer sjukdomen inte att överföras till kommande generationer. I en del familjer finns dock även mutationer i könscellerna som gör celler till tumörceller. I sådana familjer uppträder ofta tumörsjukdomen som en monogent ärftlig sjukdom med hög genomslagskraft (Kristofferson 2003).

2.4 Genetisk diagnostik och behandling

I genetisk diagnostik ingår ofta en grundlig familjeutredning, och i många fall, speciellt för monogent orsakade sjukdomar, kan detta ligga till grund för en genetisk riskbedömning. Ofta ingår även genetisk testning, d.v.s. en undersökning av individens arvs massa genom laboratorieundersökning (Dahl & Landegren 2003). Avsikten kan vara att fastställa en individs genotyp för att ta reda på risken att insjukna i en viss sjukdom. Med genetisk screening menas genetiska undersökningar som inriktar sig på större befolkningsgrupper. Avsikten kan vara att upptäcka personer i riskzonen för en ärftlig sjukdom, innan de själva utvecklar symptom eller får barn med sjukdomen (Kristoffersson 2003).

2.4.1 Behandling av genetiska sjukdomar

Behandling av sjukdomar kan ha tre olika målsättningar; botande, förebyggande eller uppehållande. Förebyggande behandling är möjlig för många genetiska sjukdomar. Fenylylketonurea (PKU) är en autosomt recessiv sjukdom, som orsakas av att personen inte kan bryta ner fenylalanin. Genom att ta ett blodprov och testa alla nyfödda i Sverige kan de som är drabbade undvika fenylalanin i kosten och därmed få en normal utveckling. För sjukdomar som uppkommer genom att en gen saknas så att ett visst protein inte tillverkas, kan tillförsel utifrån av detta protein till cellerna vara en behandlingsmetod. Vid en del ärftliga sjukdomar kan organtransplantation vara det bästa sättet att behandla. Möjlighet finns också att med genterapi ersätta en skadad gen med en oskadad gen utifrån. Några tusental patienter runt om i världen har deltagit i kliniska försök med genterapi. Framgångarna har varit varierande och mycket forskning återstår på detta område. En av de största svårigheterna i samband med genterapi är att få in de önskade generna i tillräckligt många celler. Det vanligaste sättet är att använda modifierade virus där man använder virusets förmåga att tränga in i cellerna och överföra sin egen arvs massa till cellerna (Nystrand & Kaj 2000).

2.5 Deskriptiv epidemiologi för RA

RA är en kronisk inflammatorisk systemisk sjukdom (Klippel 1997). Sjukdomen angriper först ledhinnan, synovialis, som omger leden. Ökad mängd ledvätska bildas så att ledhinnan förtjockas och växer ut över brosk, ben och senor, vilket på sikt medför bestående skador på leden. På samma sätt kan senskidorna bli inflammerade och svullna upp. Dessutom resulterar inflammationen i bildning av toxiska syreprodukter, ROS, som oxiderar en rad biomolekyler och som därmed tillsammans med cytokiner och arakidonsyra-deriverade eikosanoider bryter ner brosk och ben. Detta gör att även benskörhet, osteoporos kan bli ett problem för många reumatiker. Även andra organ, tex ögon, hud, perifera nerver, hjärtsäck, lungsäck och njurar kan påverkas av den inflammatoriska processen. Vanligtvis börjar sjukdomen smygande med värk, morgonstelhet och svullnad i en eller flera småleder i händer eller fötter. Ofta drabbas lederna symmetriskt d.v.s. både vänster och höger kroppshalva drabbas på liknande sätt. Hos 75% av patienterna finns ett speciellt protein i blodet som kallas reumatoid faktor (RF). De som har RF kallas RF-positiva och de som inte har det RF-negativa. RF kan även finnas hos personer som inte har ledgångsreumatism (Nitelius 1999). För att diagnosen RA ska ställas måste minst 4 av följande 7 kriterier vara uppfyllda enligt "American Collage of Rheumatology - 1987- revised criteria for classification of RA" som är en revidering av

”American Rheumatism Association criteria” från 1958. (Arnett et al. 1988).

- Inflammation i minst tre leder samtidigt under minst tre veckors tid.
- Inflammation i händernas leder.
- Symmetrisk ledinflammation.
- Morgonstelhet i mer än en timme.
- Förekomst av reumatiska noduli.
- Förekomst av reumatoid faktor (RF) i blodet.
- Röntgenförändringar för ledgångsreumatism.

2.5.1 Förekomst

Den kliniska bilden av RA beskrevs troligen först av engelsmannen Thomas Sydenham 1676, men termen Reumatoid Arthrit började inte användas förrän 1876 (Reckner-Olsson 2003). Troligen har dock RA och liknande sjukdomar funnits långt före det. T.ex. är erosive polyarthritis, ett RA liknande sjukdomstillstånd, identifierad i 3000-5000 år gamla skelett av s.k. ”native americans” (Rothschild et al. 1988). Man har även funnit ledförändringar påminnande om kronisk ledgångsreumatism i ett ca 4000 år gammalt skelett i ett gravfält på Gotland (Nitelius 1999). RA finns i alla etniska grupper över hela världen. I Sverige uppskattar man att ca 0.5-1% av befolkningen har sjukdomen, vilket innebär ca 60 000 personer (Nitelius et al 1999). I Nordamerika varierar prevalensen mellan 0.3 - 1.5% (Klippel 1997). Skillnaden i prevalens mellan etniska grupper är ganska liten. Dock finns det grupper av ”native americans” där prevalensen är mellan 5-6% (Klippel 1997) och hos inhemsk afrikansk befolkning (Marklund et al 1994) och hos vissa asiatiska grupper (Silman & Pearson 2002) har man funnit färre fall än genomsnittet. RA är 2.5 –3 gånger vanligare hos kvinnor än hos män (Hochberg & Spector 1990, Klippel 1997). Studier har visat att samstämmigheten av insjuknande är ca 3 gånger högre för monozygota än för dizygota tvillingar vilket visar att genetiska faktorer har betydelse för uppkomsten av RA (Jarvinen & Aho 1994). Detta bekräftas av att man har sett att RA förekommer frekvent i vissa familjer. I en studie av enäggstvillingar med RA så fann man dock RA i enbart 15% av fallen hos bägge tvillingarna (Silman et al. 1993), så även olika miljöfaktorer har betydelse för sjukdomen (Winchester 1994).

2.5.2 Naturalhistoria

Sjukdomen kan förekomma i alla åldrar, men prevalensen ökar med åldern och de flesta som insjuknar är i 40 – 60 års åldern (Klippel 1997). Om man drabbas av RA får man ofta svårighet att klara av fysiskt tunga arbeten så om man har ett fysiskt tungt arbete måste man ofta skolas om, eller få förtidspension. Av dem som är kvar i arbetslivet efter de första fem

sjukdomsåren måste nästan 80% ha någon form av anpassningsåtgärder på arbetsplatsen. Efter 15-20 års sjukdom behöver 1/3 hjälp för att klara av de dagliga sysslorna som t.ex. personlig hygien, förflyttning och hushållssysslor. Under de första tio åren av sjukdomsförloppet finns det ingen rapporterad överdödlighet. Flera stora studier har visat att de som haft sin ledgångsreumatism under längre tid, dör i medeltal fem år tidigare än förväntat. Den ökade dödligheten tycks framförallt bero på ökad risk för hjärt och kärlsjukdomar (McLaren et al. 2002). RA-incidensen har halverats de senaste 30 åren. Detta kan bero på att något infektiöst agens har betydelse för utlösandet av sjukdomen, och att exponeringen för sådana infektioner minskat (Silman & Pearson 2002).

2.6 Immunförsvaret

Immunförsvaret fungerar genom att främmande organismer eller partiklar på sin yta har strukturer, s.k. antigener, som inte finns hos kroppens egna celler. Immunförsvaret kan delas upp i det allmänna och det specialanpassade försvaret. I det specialanpassade immunförsvaret ingår T-lymfocyter, B-lymfocyter och komplementzymer. I det allmänna försvaret, som främst verkar genom fagocytos av främmande ämnen, ingår makrofager, granulocyter och monocyter. Dessa har som funktion att presentera de främmande antigenerna för det specialanpassade immunförsvaret. Förutom att presentera det främmande antigenet har de också som uppgift att producera cytokiner som också medverkar vid aktiveringen av T-lymfocyterna. De främmande antigenerna stimulerar också B-lymfocyter att bilda antikroppar som är specifika för just det presenterade antigenet. Tillsammans med T-lymfocyterna och komplementenzymerna hjälper de till att destruera de främmande partiklarna. Immunförsvarets celler bildar också signalsubstanser t.ex. interleukin I och II och andra cytokiner. Vid autoimmuna sjukdomar har något i immunförsvaret slagit fel så att immunförsvaret vänder sig mot den egna kroppen (Wigzell 1986).

2.6.1 Inflammatoriskt förlopp vid RA

Vid RA ser man ofta en kraftig påverkan på immunsystemet. Förutom RF kan man i inflammerad synovialvätska finna immunkomplex, kraftigt aktiverade T-lymfocyter och cytokiner (Engström-Laurent et al. 1994). Bildningen av immunkomplexen och aktiveringen av T-lymfocyten sker vid kontakten mellan T-lymfocyten och den antigenpresenterande cellen, vanligen en makrofag. Vid denna kontakt presenteras de antigener som ännu inte är identifierade för T-lymfocyten. Aktiveringen av T-lymfocyten leder till att flera inflammatoriska effektorsystem initieras. Dessa består bl.a. av olika celltyper som börjar producera enzymer som orsakar

vävnadsförstörelse. De aktiverade T-cellerna medverkar också till att aktivera B-lymfocyterna att producera reumatoid faktor (RF). RF medverkar i sin tur till bildandet av immunkomplexen. För att kontakt ska uppstå mellan den antigenpresenterande cellen och T-lymfocyten måste T-lymfocytens receptor känna igen det s.k. klass II – transplantationsantigenet som sitter på den antigenpresenterande cellen. Den antigenpresenterande cellen producerar också cytokiner, t.ex. interleukin I som också medverkar vid aktiveringen av T-lymfocyten (Engström-Laurent et al 1994). Tidigt i den inflammatoriska processen ses också förändringar i synovialmembranets mikrocirkulation. De små kärlen pluggas igen av tromboser, och kärlendotelet skadas. Detta medför att inflammatoriska celler som t.ex. lymfocyter och granulocyter kan tränga ut i vävnaden genom det skadade endotelet (Engström-Laurent et al. 1994). I den inflammatoriska processen medverkar också insulin-like growth factor I (IGF I) som kan öka uttryckandet av adhesionsreceptorer på endotelceller (Balaram et al. 1997).

2.7 Orsaker till RA

2.7.1 Miljömässiga riskfaktorer

Rökare har större risk att drabbas av RA (Albano et al. 2001). Man har sett att rökning är förenat med ökad produktion av reumatoid faktor (RF), även hos personer som inte har RA (Symmons 2003). Man har också sett att vissa yrkeskategorier är mer drabbade än andra. En ökad risk att drabbas av RA har setts hos t.ex. lantbrukare, tapetsrare, slaktare, mejeriarbetare, mekaniker, lackerare, pappers- och tryckarbetare, butiksbiträden, kontorsarbetare, snickare, sjukgymnaster, (Lundberg et al. 1994) textilarbetare, asfaltsarbetare, konduktörer frakt och transportarbetare, frisörer samt arbeten med exponering för avgaser, lösningsmedel, asbest (Reckner-Olsson 2003), hydragolja (Klareskog et al. 2002), silikon, pesticider (Cooper et al. 2002) och kiseldamm (Klockars et al. 1987). För vissa yrken verkar det inte vara exponeringen för ett visst agens som spelar in utan istället exponeringen för långvariga vibrationer (Reckner-Olsson 2003).

2.7.2 Genetiska riskfaktorer

2.7.2.1 HLA

Det är inte helt känt varför T-cellerna aktiveras vid RA. Human leukocyte antigen (HLA) är ett protein på ytan av celler som är specifikt för varje individ. Vilken HLA-typ individen har är av betydelse för uppkomsten av RA. Genen HLA-DRB1 som kodar den polymorfa β -kedjan i HLA-DR

antigenet har i flera studier visats vara en av de gener som mest påverkar risken att drabbas av RA. En typ av HLA-DRB1 allelen, nämligen HLA DRB1*04 är den allel som är mest överrepresenterad hos personer med RA men även andra varianter visar på en ökad risk att drabbas av RA (Kinikli et al. 2003 , Kochi et al. 2004). HLA-associerade genavvikelser verkar utgöra ca 30-40% av den totala genetiska inverkan (Harney & Wordsworth 2002).

2.7.2.2 GST

GST är en familj av enzymer som utgör ett kritiskt skyddssystem vid inaktivering av ROS och andra reaktiva intermediärer (Mattey et al. 1999). De producerar också en grupp enzymer som katalyserar avgiftningen av xenobiotica genom glutathionkonjugering. Olika alleler har olika avgiftningsförmåga. De humana GST-generna delas upp i fyra huvudklasser; GSTA, GSTM GSTP och GSTT (Mattey et al. 2002).

GSTA

Av GSTA finns generna GSTA1 och GSTA2 på kromosom 6. (Strange et al. 2000)

GSTM

Av GSTM finns det på kromosom 1 fem gener som kallas GSTM4, GSTM2, GSTM1, GSTM5, och GSTM3. GSTM1 genen har två funktionella alleler (GSTM1*A and GSTM1*B) och en icke funktionell noll allel som orsakas av deletion av GSTM1 sekvensen. (Strange R Jones P, Fryer A 2000) Ca 45-55 % av alla kaukasier är homozygota för GSTM1-noll allelen (Mattey et al. 2002). Motsvarande siffra i den svenska befolkningen är ca 53% (Ahmadi 1996). Polymorfism i GSTM1 verkar påverka förmågan till avgiftning av kemikalier i cigaretttrök tex de cancerogena benzo(α)pyren och andra polycykliska vätekarbonater (Mattey et al. 2002). Även polymorfier i GSTM3 har setts kunna påverka cellens avgiftningsförmåga. (Ali-Osman et al. 1997).

GSTT

GSTT generna GSTT1 and GSTT2 finns på kromosom 22. Ca 20% of alla kaukasier är homozygota för nollallelen av GSTT1 (GSTT1*0) (Strange et al. 2000)

GSTP

GSTP1 genen finns på kromosom 11 och har observerats i fyra varianter. GSTP1*A, GSTP1*B, GSTP1*C och GSTP1*D (Strange et al. 2000). Polymorfier i GSTP1, har setts kunna påverka cellens avgiftningsförmåga (Ali-Osman et al. 1997).

2.7.2.3 Fc-gamma-R

Fc-gamma-R generna finns på kromosom 3. Fc-gamma-RI, Fc-gamma-RII och Fc-gamma-RIII är receptorer på cellytan som uttrycks på immunoglobulin G (IgG) bindande leukocyter. Dessa cellytereceptorer har en viktig roll i antikropps-inducerad inflammation och vid destruktion av antigen-antikropps-komplexen och har visat sig ha betydelse för patologin vid RA. Man har sett att en löslig variant av proteinet, Fc-gamma-RIIa, hämmar interaktionen mellan RF och immunkomplexen (Wines et al. 2003).

2.7.2.4 TNF

Även andra gener t.ex. tumour necrosis factor (TNF) verkar ha betydelse vid RA (Silman & Pearson 2002). T.ex. kan sjukdomen förbättras hos 60 - 80 % av patienterna med TNF-blockerare men substansen har liten effekt hos övriga patienter. (Padyukov et al. 2003) Denna skillnad i effekt av TNF-blockerare har setts kunna bero på polymorfism i generna som reglerar produktionen av cytokiner (Harney & Wordsworth 2002).

2.7.2.5 SOD

Även andra polymorfa enzymssystem t.ex. superoxid dismutas (SOD) och epoxid hydrolas är inblandade i cellens biotransformation av främmande ämnen och kan också utgöra predisponerande faktorer för RA (Karatas et al. 2003).

2.7.3 Hormonella faktorer

Man har antagit att könshormoner kan ha betydelse för uppkomsten av RA eftersom kvinnor drabbas oftare än män. I allmänhet har män med RA en lägre halt av manliga könshormoner, speciellt testosteron än normalbefolkningen. Även kvinnliga könshormoner verkar ha en påverkan på sjukdomen, då kvinnor i vissa studier visat sig insjukna i lägre utsträckning då de äter p-piller än de som inte använder p-piller (Silman & Hochberg 2001). Men resultaten från flera kontrollerade studier har dock varit motsägelsefulla. Man har även observerat ett samband mellan polymorfism hos gener som kodar för östrogenreceptorer och åldern för insjuknande i RA, vilket kan vara en av förklaringen till skillnader i resultatet mellan studier (Ushiyama et al. 1999, Maurizio et al. 2002). Förhöjningen av östrogen och minskningen av androgen som observerats i synovialvätska hos personer med RA har också visat sig spela en viktig roll i den inflammatoriska processen (Maurizio et al. 2002).

2.7.4 Infektiösa agens

Infektiösa agens som virus och bakterier har också diskuterats som betydelsefulla faktorer för uppkomsten av RA (Engström-Laurent et al. 1994). Jackson et al. (1999) fann att RA patienter i signifikant högre grad hade bakterien *staphylococcus aureus*, oralt, än vad friska personer hade (). Vissa studier har också sett en förhöjd halt av antikroppar mot bakterierna *E. coli* och *P. mirabilis* hos RA patienter. (Gautam et al. 2003) Fallkontroll studier har även visat att personer som mottagit blodtransfusion har en viss ökad risk att drabbas av RA, vilket kan bero på den ökade risken för överförande av infektiösa agens (Symmons et al. 1997).

2.7.5 Övriga riskfaktorer

Det finns inga bevis för att klimatet påverkar sjukdomsaktiviteten men kallt och mulet väder verkar i allmänhet ge en ökad stelhet och högre smärtupplevelse till följd av sjukdomen (Symmons 2003). Man fann i en studie att överviktiga hade högre risk att insjukna i RA. Orsaken till detta är oklart och det är möjligt att det är en confounder för någon annan exponering kopplad till både RA och övervikt (Symmons et al. 1997). En senare studie visade att förhållandet mellan RA och övervikt var icke-signifikant efter att man justerat för ålder, rökning och civilstånd (Uhlig et al. 1999). Risken att insjukna är större direkt efter en graviditet, speciellt under amning efter en kvinnas första graviditet. Däremot är sjukdomen är vanligen mindre aktiv under graviditet. En förklaring till det kan vara ökad immuntolerans under graviditeten (Symmons 2003).

2.8 Prevention av RA

Det finns idag ingen medicin som helt kan bota RA, men man kan bromsa sjukdomsförloppet. Behandlingsprogram genomförs ofta med ett helt behandlingsteam bestående av läkare, sjuksköterska, sjukgymnast, arbetsterapeut och kurator.

2.8.1 Medicinering

Nästan alla patienter med RA behöver läkemedel mot smärta och stelhet. Behandling med kortikosteroider har en snabb effekt, men följs ofta av allvarliga biverkningar vid långvarig behandling, men lokala injektioner i enstaka inflammerade leder har ofta en god effekt. Vanligt är också icke-steroida antiinflammatoriska mediciner, NSAID (Non-steroidal anti-inflammatory drugs) t.ex. acetylsalicylsyra. Utöver detta behöver många patienter behandlas med långtidsverkande antireumatiska medel, t.ex. klorokin, sulfasalazin, penicillamin och guldpreparat. Det har visat sig att det ibland kan vara effektivt med dubbelbehandling med olika mediciner. Torrence et al. (2004) jämförde effekten på health-related quality of life

(HRQoL) mätt genom en s.k. "health utility estimation" hos RA-patienter som behandlades med medicinerna adalimumab + methotrexate respektive placebo + methotrexate. De som fått de båda medicinerna hade ett statistiskt signifikant förbättrat HRQoL värde. Klareskog et al. (2004) visar att kombinationen av medicinerna etanercept och methotrexate var signifikant bättre mätt i minskad sjukdomsaktivitet och funktionsförbättring än respektive medicin var för sig. Påverkan på RA mättes med ett numeriskt index utformat efter kriterierna från American College of Rheumatology (ACR20) Ibland kan olika funktioner, t.ex. finmotoriken eller förmågan att gå, nedsättas till följd av sjukdomen och då kan det vara motiverat att behandla med cytostatikum, men detta medför ofta oönskade biverkningar. Som komplement till den medicinska behandlingen görs ofta kirurgiska ingrepp. Regelbunden rörelseträning är också en viktig del av behandlingen och kan förhindra att det uppstår felställningar i lederna (Marklund et al. 1994).

2.8.2 Fasta och vegetarisk kost

Att fasta har visat sig vara effektivt för att begränsa effekterna av RA, men symptomen återkommer när man börjar äta normal kost igen. I en randomiserad singel blind studie fastade 27 patienter 7-10 dagar, följt av glutenfri veganmat 3-5 månader och sedan en gradvis övergång till laktovegetarisk kost under återstoden av studieperioden. En kontrollgrupp med 26 patienter hade oförändrade kostvanor. Efter de fyra första veckorna hade de i dietgruppen signifikant förbättrat sin RA-diagnos och erhöll en märkbart minskad inflammatorisk process som uppmättes genom en minskning av vita blodkroppar, och inflammatoriska plasmaproteiner som tex fibrinogen och haptoglobin. De hade färre ömma och svullna leder mindre smärta, morgonstelhet, och en bättre självskattad hälsa. Förbättringen bibehölls under hela studieperioden. I kontrollgruppen var det bara graden av smärta som hade minskat signifikant. Vegankost kan således ses som ett effektivt komplement till traditionell behandling (Kjeldsen-Kragh et al. 1991). De positiva effekterna hos försöksgruppen kvarstod vid en uppföljningsstudie ett år senare. Även om skillnaden mot kontrollgruppen var signifikant, var det bara hos 12 av de 27 försökspersonerna som en märkbar förbättring av RA kunde ses, så denna behandling verkar ha effekt för en del men inte alla RA-patienter. (Kjeldsen-Kragh et al. 1994). Även patienter med RA som vid försök fått levande föda diet, som är en okokt vegankost bestående av t.ex. bär, frukter, grönsaker, nötter och groddar uppvisade en förbättring av symptomen som dock återkom när de gick tillbaka till en blandkost. Levande föda dieten ledde också till förhöjda nivåer av vitaminerna C och

E samt ett flertal karotenoider i kroppen så det är möjligt att det är dessa fyto kemikalier som har en positiv effekt på RA (Hanninen et al. 2000). En fall kontroll studie i Grekland visade att även ett högt intag av kokta grönsaker hade en positiv effekt på RA (Linos et al. 1999). Även andra studier har visat på vegankostens anti-inflammatoriska effekt mätt i antalet vita blodkroppar (Lithell et al. 1983). Orsaken till den gynnsamma effekten av vegetarisk mat som kan ses hos många patienter är inte helt klar men Kjeldsen-Kragh et al. (1994) fann att de patienter som fått vegetarisk kost också hade färre antikroppar mot bakterien *P. mirabilis*. I ett annat försök fick försöksgruppen en glutenfri vegankost och kontrollgruppen en välbalanserad blandkost under 1 år. RA prognosen enligt ACR20 improvement criteria uppfylldes hos 40% av försöksgruppen och bara 4% av kontrollgruppen. Förbättringen visade sig korrelera med minskade nivåer av immunoglobulin G (IgG) antikroppar mot gliadin och β -lactoglobulin (Hafström et al. 2001). Även andra studier pekar på att det är den antiinflammatoriska processen som är av betydelse t.ex. genom en minskad hepatisk produktion av Insulin-like growth factor I (IGF I) (McCarty 1999).

2.8.3 Fiskolja

Fiskolja har visat sig ha en viss positiv effekt på RA (Symmons 2003). Den n-6 fleromättade fettsyran Gamma-linoleum syra samt de n-3 fleromättade fettsyorna Eikosapentaensyra och Dokosahexaensyra, som finns i fiskolja har i ett flertal dubbel-blind placebo kontrollerade försök visat sig signifikant förbättra tillståndet hos RA-patienter. Dessa fleromättade fettsyror minskar produktionen av arakidonsyra-deriverade eikosanoider, cytokiner och reaktiva syremetaboliter samt minskar reaktiviteten hos lymfocyterna (Calder & Zurier 2001). Dessutom har ett ökat intag av n-3 fettsyror visat sig hämma produktionen av cytokinerna tumor necrosis factor- α (TNF- α) och interleukin 1 β (IL-1 β) hos RA patienter såväl som hos friska patienter (James et al. 2000). När fiskolja givits som tillskott har det ofta gjorts som komplement till den ordinarie farmakologiska behandlingen och flera studier har visat att man då kunnat minska dosen av icke steroida antiinflammatorisk mediciner (Lau et al. 1993 , Geusens et al. 1994).

2.8.4 Olivolja

Även olivolja verkar ha positiv effekt på RA. Den exakta orsaken till detta är inte känd men det verkar som det är den enkelomättade fettsyran oljesyra som har betydelse (Kremer et al. 1990, Linos et al. 1999).

2.8.5 Medelhavskost

Studier har visat att medelhavskost är gynnsam för patienter med RA. Bakomliggande orsaker verkar vara att medelhavskosten är rik på antioxidanter, vitamin C, vitamin E och selen, samt att den innehåller en hög andel fleromättade fettsyror (Hagfors 2003). En studie visade på att personer med högt intag av vitamin D hade lägre risk att drabbas av RA än de med ett lågt intag (Merlino et al. 2004).

2.9 Syfte

Syftet med studien är att studera en del av de miljömässiga respektive genetiska faktorernas betydelse för uppkomsten av RA genom att studera yrkesexponering, exponering för andra yttre agens, samt polymorfier för GST-T1, GST-M1 och Fc-gamma-RII. Syftet är också att diskutera betydelsen av kunskapen kring genetiska och miljömässiga faktorer för att kunna förebygga och behandla sjukdomar.

3. Material och metoder

Metoden som använts är en epidemiologisk fall-kontroll studie, där de som har diagnosen RA, utgör fall i studien och slumpmässigt valda individer ur studiepopulationen som inte har sjukdomen utgör kontroller. Ur detta material beräknas sedan odds-kvoten (OR, odds ratio), med tillhörande konfidensintervall (CI). I samtliga fall har ett 95% CI använts. OR är en skattning av den relativa risken (RR) att drabbas av sjukdomen. Ett OR större än 1 visar således på en ökad sjukdomsrisk (Norell 1987). Förutom uppdelning på olika exponeringar har även en uppdelning i olika grupper för genotyp, kön och ålder, en s.k. stratifiering gjorts. Då har även Mantel-Hanzel OR (M-H OR) redovisats för att kontrollera för confounding för dessa faktorer. Om M-H OR skiljer sig från OR föreligger confounding.

3.1 Urval

Fallen i studien är hämtade från det s.k. TIRA-projektet (tidiga insatser vid RA) som påbörjades 1996 och är en studie för att utvärdera effekten av tidigt påbörjade sjukvårdsinsatser för, samt medicinsk och hälsoekonomisk uppföljning av, patienter med nydebuterad RA i sydöstra sjukvårdsregionen. De patienter som både svarat på ett frågeformulär i samband med påbörjandet av TIRA-studien, och som jag erhållit genanalys för GSTM1, GSTT1 och Fc-gamma-RII ifrån utgjorde fallen i studien. Antal fall i studien blev därmed 63 st (42 kvinnor, 21 män). Som kontrollgrupp användes personer inom samma åldersintervall och från samma sjukvårdsområde, som ingår i en DNA-bank och vars blodprov också analyserats för GSTT1, GSTM1 och Fc-gamma-RII generna. Även de har vid upprättandet av DNA-banken svarat på en enkät kring yrkes och

miljöfaktorer. Antalet kontroller var 464 st (231 kvinnor, 233 män). Till studien har jag fått tillgång till resultat från genanalyser där GST-generna har studerats med metoden multiplex-PCR (Polymeras Chain Reaction) teknik, med β -globin som en positiv intern kontroll som amplifieras tillsammans GSTT1 och GSTM1 generna (Chen et al 1996). Även Fc-gamma-RII har analyserats med PCR-teknik. Gendiagnostik utifrån ett blodprov går till så att DNA från blodprovet isoleras och att man med PCR-tekniken tillverkar en mängd kopior av det DNA-fragment som ska studeras. För att sedan se om en person har en viss genetisk uppsättning används s.k. genetiska markörer. Detta är märkta, unika DNA-fragment som alltid binder till ett visst ställe på genomet (Kristoffersson 2003). Enkätsvaren från RA-patienterna har tidigare ingått som en del av ett avhandlingsarbete för en studie av yrkes- och miljömässiga orsaker till RA. Både denna och enkäten för kontrollgruppen innehöll frågor kring historisk yrkestillhörighet, yrkesexponeringar, levnadsvanor och sjukdomshistoria. Frågorna var dock inte helt överensstämmande så de frågor som var formulerade på samma sätt i båda enkäterna valdes ut och användes till den aktuella studien. Materialet har analyserats statistiskt med programmet Intercooled Stata 8.0 for Windows (Stata Cooperation).

3.1.1 Klassificering

Av kontrollgruppen var det en del som i frågeformuläret angivit att de hade ”reumatiska besvär”, utan att ha diagnosen ledgångsreumatism, men ingen skillnad kunde ses i resultaten, vare sig dessa personer exkluderades från studien eller inte, varför ingen exkludering gjordes. Troligen handlar det inte om någon reell reumatisk sjukdom, utan mer diffusa symptom som t.ex. morgonstelhet eller värk.

3.2 Miljömässig exponering

Exponering för olika miljöfaktorer grundar sig på individernas egna rapporteringar om miljömässig exponering i arbetsliv eller på fritiden. En del exponeringar som hade varit intressanta att studera fick uteslutas då frågeställningen i vissa fall skilde sig mellan de båda formulären så att enkätsvaren inte gick att jämföra för den aktuella frågeställningen.

3.3 Yrkesklassificering

Yrkesklassificeringen baserar sig på individernas egna rapporteringar om yrkestillhörighet under sin livstid. Inklusion som exponerad vid analysen är att någon gång ha haft yrket. Yrkesklassificeringen är gjord enligt nordisk yrkesklassificering (NYK 1983) (AMS 1984) och gruppindelningen är gjord efter yrkenas miljömässiga exponering (Reckner-Olsson 2003).

3.4 Genetisk predisposition

I studien har två varianter av GST generna, GSTM1 och GSTT1 samt Fc-gamma-RII genen studerats för att se om dessa har en predisponerande effekt för uppkomst av RA.

3.5 Forskningsetiska frågor

Beträffande gentyningen av individerna som finns i DNA banken så är allt material avidentifierat och det finns ingen möjlighet att spåra enskilda individer. Etiskt tillstånd finns för att använda DNA-banken för studier.

4. Resultat

4.1 Yrkesexponering

Tabell 1 visar OR för respektive yrkesklassificering enligt NYK 1983. Resultaten visar på en ökad risk att drabbas av RA för ett antal yrken men urvalet är för flertalet för litet för att ge tillförlitlighet. Enda gruppen där urvalet är tillräckligt stort för att ge ett signifikant resultat är städare och fastighetskötare (NYK=931 – 939). För denna grupp är OR=2,5 (CI = 1,1-5,4). Andra yrken som i denna studie gav OR>2,0 var bensinstationsarbetare, fartygsarbetare, elektroarbetare, asfaltsarbetare, brandmän, poliser, tullbevakningspersonal, väktare, skorstensfejare, hotell och restaurangarbetare, samt frisörer även om urvalet var för litet för att ge tillförlitliga samband (Tabell 1).

| Yrke | NYK | Fall/kontroller | OR | CI 95% |
|---|---------------------------------------|-----------------|-----|-------------|
| Ingenjörer, tekniker | 001-009 | 2 / 46 | 0,3 | 0,03 – 1,2 |
| Kemister, fysiker, lab-ass | 010-019 | 1 / 4 | 1,9 | 0,03 – 19,1 |
| Lärare, föreläsare | 030-039 | 10 / 42 | 1,9 | 0,8 – 4,1 |
| Administratörer, föreståndare | 201-219 | 2 / 19 | 0,8 | 0,08 - 3,3 |
| Sekreterare, maskinskrivare, räknekontorister | 241-249 | 9 / 50 | 1,4 | 0,6 - 3,0 |
| ADB-arbetare | 251-259 | 2 / 8 | 1,9 | 0,2 - 9,7 |
| Revisorer, redovisningsmän, avlöningskontorister, banktjänstemän | 231-239, 291-299 | 3 / 45 | 0,5 | 0,09 - 1,5 |
| Bensinstationsarbetare | 339 | 2 / 4 | 3,8 | 0,3 - 26,8 |
| Reklamman, mäklare, försäljare, inköpare | 311-319, 321, 399 | 15 / 109 | 1,0 | 0,5 - 1,9 |
| lantbrukare, jordbruksarbetare, husdjursskötare | 400, 402, 411, 412 | 10 / 44 | 1,8 | 0,8 - 3,9 |
| Trädgårdsarbetare | 401, 403, 413, | 1 / 4 | 1,9 | 0,04 - 19,1 |
| Arbetare exponerade för mineraldamm | 501-521, 737, 739, 791, 793, 851, 854 | 2 / 14 | 1,1 | 0,11 - 4,76 |
| Fartygsbefäl, lotsar och andra fartygsarbetare | 601 - 619 | 1 / 3 | 2,5 | 0,05 - 31,3 |
| Konduktörer, trafik och fraktassistentarbetare | 651-659 | 1 / 5 | 1,5 | 0,03 - 13,5 |
| Post och teleexpeditionsarbetare | 671-689 | 6 / 30 | 1,5 | 0,5 - 3,9 |
| Textilarbetare | 700-707, 711, 713-719 | 2 / 23 | 0,6 | 0,07 - 2,7 |
| Stål-, metallverks, smides och gjuteriarbetare | 731-739 | 0 / 11 | 0,0 | 0 - 2,5 |
| Verkstads- och byggnadsmetallarbetare | 751-759 | 8 / 90 | 0,6 | 0,2 - 1,3 |
| Elektroarbetare | 761-769 | 5 / 17 | 2,3 | 0,6 - 6,7 |
| Målare, lackerare, golvläggare | 781-789 | 1 / 12 | 0,6 | 0,01 - 4,2 |
| Asfaltsarbetare | 793 | 2 / 4 | 3,8 | 0,3 - 26,8 |
| Grafiker, bokbindare, fotolaboratoriearbetare | 801 - 809 | 3 / 12 | 1,8 | 0,33 - 7,2 |
| Slaktare | 826 | 0 / 2 | 0,0 | 0 -14,3 |
| Kemiska processoperatörer, gummi- och plastvaruarbetare | 831 - 839 | 1 / 9 | 0,8 | 0,02 - 6,1 |
| Pappers- och pappersmassearbetare | 841 - 849 | 1 / 9 | 0,8 | 0,02 - 6,1 |
| Kran- maskin- och truckförare | 871-879 | 2 / 11 | 1,4 | 0,1-6,4 |
| Paketerings och lagerarbetare | 881-889 | 6 / 27 | 1,7 | 0,6-4,4 |
| Brandmän, poliser, tullbevakningspersonal, väktare, skorstensfejare | 901-906, 909 | 2 / 5 | 3,0 | 0,3-18,8 |
| Hotell och restaurangarbetare | 910 - 919 | 9 / 34 | 2,1 | 0,8-4,8 |
| Städare och fastighetsskötare | 931 - 939 | 11 / 36 | 2,5 | 1,1-5,4 |
| Frisörer | 941 | 2 / 7 | 2,1 | 0,2 - 11,6 |

Tabell 1. Antal fall och kontroller samt OR för RA för olika yrkesgrupper, och respektive klassificering enligt Nordisk yrkesklassificering (NYK)

4.2 Exponering för olika agens

Tabell 2 visar OR för exponering för olika agens enligt besvarade frågeformulär, samt kön och genotypen för GSTT1, GSTM1 och Fc-gamma-RII från analysen av blodprov. Resultaten visar på en ökad risk att drabbas av RA för de som exponerats för spannmålsdamm (OR = 2,5 , CI = 1,1 – 5,0) samt för rökare (OR = 2,4 , CI = 1,3 – 4,4). Även exponering för stendamm, asbest, övriga mineralfiberer (MMMMF, man made mineral fibers) och petroleumprodukter (mineralolja, lösningsmedel och övriga petroleumprodukter) visar på ett OR större än 1 men utan statistisk signifikans. Vid uppdelning på exponeringstid kan en tendens till ökad risk med längre exponering för dessa agens ses, även om materialet är litet (Tabell 2). Analysen av exponeringen av trädamm visar på att trädamm skulle kunna vara en skyddande faktor för RA (OR = 0,2 , CI = 0,02 – 0,8) men resultaten baserar sig bara på två fall.

4.3 Biologisk bakgrund

Som väntat drabbas kvinnor (OR = 2,0 , CI = 1,1 – 3,7) oftare än män av RA. Inget samband mellan enbart genotypen GSTT1 (OR = 0,9 , CI = 0,4 – 1,8), GSTM1 (OR = 0,8 , CI = 0,5 – 1,4) eller Fc-gamma-RII (OR = 0,7 , CI = 0,4 – 1,4) och risken att drabbas av RA kan ses.

| Exponering | fall/kontroller | OR | CI 95% |
|---------------------------|------------------------|-----------|---------------|
| Spannmålsdamm | 13 / 42 | 2,5 | 1,1 - 5,0 |
| Textdamm | 0 / 21 | 0,0 | 0 - 1,3 |
| Trädamm | 2 / 61 | 0,2 | 0,02 - 0,8 |
| Stendamm | 6 / 21 | 2,1 | 0,7 - 5,8 |
| Kvartsdamm | 3 / 16 | 1,3 | 0,2 - 4,9 |
| Damm totalt | 18 / 113 | 1,2 | 0,6 - 2,3 |
| Damm tid < 15 | 11 / 58 | 1,5 | 0,6 - 3,1 |
| Damm tid 15 - 30 år | 2 / 28 | 0,6 | 0,06 - 2,3 |
| Damm tid > 30 år | 5 / 27 | 1,4 | 0,4 - 4,1 |
| Asbest | 5 / 24 | 1,5 | 0,4 - 4,3 |
| Asbest tid < 15 år | 1 / 12 | 0,6 | 0,01 - 4,3 |
| Asbest tid 15 - 30 år | 1 / 5 | 1,5 | 0,03 - 13,5 |
| Asbest tid > 30 år | 3 / 7 | 3,2 | 0,5 - 14,2 |
| Mineralfibrer (MMMF) | 8 / 34 | 1,8 | 0,7 - 4,2 |
| MMMF tid < 15 år | 2 / 21 | 0,7 | 0,08 - 3,12 |
| MMMF tid 15 - 30 år | 2 / 10 | 1,5 | 0,2 - 7,5 |
| MMMF tid > 30 år | 4 / 9 | 3,4 | 0,7 - 12,7 |
| Mineralolja | 8 / 47 | 1,6 | 0,6 - 3,7 |
| Lösningsmedel | 7 / 45 | 1,2 | 0,4 - 2,8 |
| Övriga petroleumprodukter | 3 / 42 | 0,5 | 0,09 - 1,6 |
| Petroleum totalt | 15 / 82 | 1,5 | 0,7 - 2,8 |
| Petroleum tid < 15 år | 7 / 52 | 1,1 | 0,4 - 2,5 |
| Petroleum tid 15 - 30 år | 4 / 16 | 2,0 | 0,5 - 6,5 |
| Petroleum tid > 30 år | 4 / 14 | 2,2 | 0,5 - 7,5 |
| Rökare | 41 / 201 | 2,4 | 1,3 - 4,4 |
| Ciggtot < 100 000 | 17 / 105 | 1,9 | 0,9 - 3,9 |
| Ciggtot >= 100 000 | 24 / 96 | 3,2 | 1,7 - 6,2 |
| Snusare | 9 / 72 | 0,9 | 0,4 - 2,0 |
| | | | |
| Kön (exponering = kvinna) | 42 / 231 | 2,0 | 1,1 - 3,7 |
| | | | |
| GSTT1 | 11 / 91 | 0,9 | 0,4 - 1,8 |
| GSTM1 | 33 / 267 | 0,8 | 0,5 - 1,4 |
| Fc-gamma-RII | 44 / 147 | 0,7 | 0,4 - 1,4 |

Tabell 2. Antal fall och kontroller samt OR för RA vid olika exponeringar.

4.4 Exponering uppdelat på genotyp

Tabell 3, 4 och 5 visar exponering för spannmålsdamm, rökning, stendamm, asbest, övriga mineralfibrer (MMMMF) och petroleumprodukter, med materialet uppdelat på genotyp för GSTT1, GSTM1 och Fc-gamma-RII. Man kan se att genotypen verkar ha en viss betydelse för olika exponeringars risk att drabbas av RA. Vad det gäller tobaksvanor så är rökning en större riskfaktor för de som har en deletion av GSTM1 genen (GSTM1-) (OR = 4,5 , CI = 1,8- 12,7) än för de som har en fungerande allel av GSTM1 genen (GSTM1+) (OR = 1,4 , CI = 0,6 – 3,3). Däremot är rökning en större riskfaktor för de som är GSTT1+ (OR = 2,6 , CI = 1,3 – 5,0) än för de som är GSTT1- (OR = 1,9 , CI = 0,4 – 8,4). Även genotypen av Fc-gamma-RII verkar spela in, där rökning är en större riskfaktor för de som är Fc-gamma-RII- (OR = 4,7 , CI = 1,2 – 22,0) än de som är Fc-gamma-RII+ (OR = 1,6 , CI = 0,8 – 3,4).

Vid exponering för spannmålsdamm verkar det däremot vara en större risk att drabbas av RA om man har GSTM1 genen (OR = 5,0 , CI = 1,7 – 14,0) än om man har en deletion av denna gen (OR = 1,2 , CI = 0,3 – 3,8). För GSTT1 genen uppvisade både den fungerande genen och noll-allelen ett förhöjt OR men utan signifikans för nollallelen då det bara var två exponerade fall (Tabell 4). Vidare var risken högre att drabbas av RA vid exponering för spannmålsdamm för de som var Fc-gamma-RII+ (OR = 3,1 CI = 1,1 – 8,2) än för de som var Fc-gammaRII- (OR = 1,5 , CI = 0,1 – 14,6). Likaså var stendamm en större riskfaktor för RA för de som var Fc-gamma-RII+ (OR = 5,2 , CI = 1,1 – 8,2). För övriga exponeringar kunde inga tillförlitliga samband mellan genotypen och exponeringarnas risk ses.

| | GSTM1+ | | | GSTM1- | | | GSTM1 M-H Combined | |
|----------------|-----------------|-----|------------|-----------------|-----|------------|--------------------|-----------|
| | fall/kontroller | OR | CI 95% | fall/kontroller | OR | CI 95% | M-H OR | CI 95% |
| Rökning | 15 / 81 | 1,4 | 0,6 - 3,3 | 26 / 119 | 4,5 | 1,8 - 12,7 | 2,5 | 1,4 - 4,3 |
| Spannmålsdamm | 9 / 15 | 5 | 1,7 - 14,0 | 4 / 26 | 1,2 | 0,3 - 3,8 | 2,5 | 1,3 - 5,0 |
| Stendamm | 2 / 9 | 1,5 | 0,2 - 7,9 | 4 / 12 | 2,7 | 0,6 - 9,6 | 2,1 | 0,8 - 5,5 |
| Asbest | 3 / 5 | 4,3 | 0,6 - 23,6 | 2 / 19 | 0,8 | 0,1 - 3,5 | 1,6 | 0,6 - 4,3 |
| Mineralfibrer | 3 / 7 | 3 | 0,5 - 14,4 | 5 / 27 | 1,5 | 0,4 - 4,4 | 1,8 | 0,8 - 4,3 |
| Petroleumprod. | 6 / 33 | 1,2 | 0,4 - 3,4 | 9 / 49 | 1,7 | 0,6 - 4,0 | 1,5 | 0,8 - 2,7 |

Tabell 3. Antal fall och kontroller och OR för RA vid exponering för rökning, spannmålsdamm, stendamm, asbest, andra mineralfibrer och petroleumprodukter stratifierat på genotypen för GSTM1 samt Mantel-Haenzel OR (M-H OR) för GSTM1.

| | GSTT1+ | | | GSTT1- | | | GSTT1 M-H Combined | |
|----------------|-----------------|-----|-----------|-----------------|-----|------------|--------------------|-----------|
| | fall/kontroller | OR | CI 95% | fall/kontroller | OR | CI 95% | M-H OR | CI 95% |
| Rökning | 35 / 165 | 2,6 | 1,3 - 5,0 | 6 / 35 | 1,9 | 0,4 - 8,4 | 2,4 | 1,4 - 4,2 |
| Spannmålsdamm | 11 / 36 | 2,4 | 1,0 - 5,2 | 2 / 5 | 3,6 | 0,3 - 25,9 | 2,5 | 1,3 - 5,0 |
| Stendamm | 6 / 15 | 2,9 | 0,9 - 8,5 | 0 / 6 | 0 | 0,0 - 5,7 | 2,1 | 0,8 - 5,6 |
| Asbest | 4 / 17 | 1,7 | 0,4 - 5,4 | 1 / 7 | 1,3 | 0,0 - 12,0 | 1,6 | 0,6 - 4,3 |
| Mineralfibrer | 8 / 30 | 2 | 0,7 - 4,8 | 0 / 4 | 0 | 0 | 1,8 | 0,8 - 4,0 |
| Petroleumprod. | 12 / 64 | 1,4 | 0,6 - 3,0 | 3 / 18 | 1,5 | 0,2 - 7,2 | 1,5 | 0,8 - 2,7 |

Tabell 4. Antal fall och kontroller och OR för RA vid exponering för rökning, spannmålsdamm, stendamm, asbest, andra mineralfibrer och petroleumprodukter stratifierat på genotypen för GSTT1 samt Mantel-Haenzel OR (M-H OR) för GSTT1.

| | Fc-gamma-RII+ | | | Fc-gamma-RII- | | | Fc-gammaRII M-H Combined | |
|----------------|-----------------|-----|------------|-----------------|-----|------------|--------------------------|-----------|
| | fall/kontroller | OR | CI 95% | fall/kontroller | OR | CI 95% | M-H OR | CI 95% |
| Rökning | 24 / 68 | 1,6 | 0,8 - 3,4 | 14 / 18 | 4,7 | 1,2 - 22,0 | 2,1 | 1,2 - 3,8 |
| Spannmålsdamm | 11 / 13 | 3,1 | 1,1 - 8,2 | 2 / 3 | 1,5 | 0,1 - 14,6 | 2,7 | 2,0 - 6,0 |
| Stendamm | 6 / 4 | 5,2 | 1,1 - 26,1 | 0 / 3 | 0 | 0 | 2,5 | 0,8 - 7,4 |
| Asbest | 3 / 5 | 2 | 0,3 - 11,0 | 2 / 1 | 4,7 | 0,2 - 283 | 2,6 | 0,7 - 8,9 |
| Mineralfibrer | 6 / 12 | 1,7 | 0,5 - 5,4 | 2 / 3 | 1,6 | 0,1 - 15,4 | 1,7 | 0,7 - 4,2 |
| Petroleumprod. | 10 / 28 | 1,3 | 0,5 - 3,0 | 5 / 6 | 2,3 | 0,5 - 10,8 | 1,5 | 0,7 - 2,9 |

Tabell 5. Antal fall och kontroller och OR för RA vid exponering för rökning, spannmålsdamm, stendamm, asbest, andra mineralfibrer och petroleumprodukter stratifierat på genotypen för Fc-gamma-RII samt Mantel-Haenzel OR (M-H OR) för Fc-gamma-RII.

4.5 Exponering uppdelat på kön och ålder

Tabell 7 visar att rökning är en större riskfaktor om man är man (OR = 5,3 , CI = 1,7 – 22,3) än om man är kvinna. (OR = 1,8 , CI = 0,9 – 3,7). Tittar man vidare på rökning som exponering, med materialet uppdelat i två lika stora grupper, med avseende på ålder (Tabell 6), ser man att i den yngre åldersgruppen (född 1943 eller senare), är rökning en större riskfaktor för att drabbas av RA (OR = 6,5 , CI = 2,1 – 26,8) än i den äldre åldersgruppen (OR = 1,5 , CI = 0,7 – 3,1). Även med materialet uppdelat på de som rökt mycket respektive lite, är rökning en större riskfaktor att drabbas av RA i yngre åldrar (Tabell 7). Exponeringen spannmålsdamm verkar vara en större riskfaktor för RA för gruppen födda tidigare än 1943 (OR = 3,3 , CI = 1,3 – 7,8) än de som är födda 1943 eller senare (OR = 1,1 , CI = 0,1 – 5,0).

4.6 Confounding

För de olika exponeringarna i tabell 3 till 7 finns också ”Mantel-Henzel kombinerade OR” (M-H Combined) redovisat, för att se om de olika faktorerna GSTT1, GSTM1, Fc-gamma-RII, ålder eller kön fungerar som en confoundingfaktor för de olika exponeringarna. Ingen confounding effekt kan ses förutom för kön och exponering för spannmålsdamm, stendamm, asbest, övriga mineralfiber (MMMMF) samt petroleumprodukter, vilket betyder att exponering för dessa agens skiljer sig mellan män och kvinnor, och könet i sig påverkar risken att insjukna.

| | Född tidigare än 1943 | | | Född 1943 eller senare | | | Född M-H Combined | |
|--------------------|-----------------------|-----|------------|------------------------|-----|------------|-------------------|-----------|
| | fall/kontroller | OR | CI 95% | fall/kontroller | OR | CI 95% | M-H OR | CI 95% |
| Rökning | 20 / 105 | 1,5 | 0,7 - 3,1 | 21 / 96 | 6,5 | 2,1 - 26,8 | 2,5 | 1,4 - 4,3 |
| Cigg tot < 100000 | 4 / 50 | 0,6 | 0,1 - 2,0 | 13 / 55 | 7,0 | 2,0 - 30,6 | 2 | 1,0 - 4,0 |
| Cigg tot >= 100000 | 16 / 55 | 2,4 | 1,1 - 5,2 | 8 / 41 | 6,9 | 1,9 - 31,4 | 3,2 | 1,7 - 5,9 |
| Spannmålsdamm | 11 / 27 | 3,3 | 1,3 - 7,8 | 2 / 15 | 1,1 | 0,1 - 5,0 | 2,4 | 1,2 - 4,9 |
| Stendamm | 3 / 8 | 2,5 | 0,4 - 11,2 | 3 / 13 | 2 | 0,3 - 8,0 | 2,2 | 0,9 - 5,7 |
| Asbest | 4 / 16 | 1,7 | 0,4 - 5,8 | 1 / 8 | 1 | 0,02 - 8,0 | 1,5 | 0,5 - 4,1 |
| MMMF | 5 / 18 | 2 | 0,5 - 6,0 | 3 / 16 | 1,6 | 0,3 - 6,3 | 1,8 | 0,8 - 4,1 |
| Petroleumprod. | 10 / 44 | 1,7 | 0,7 - 3,8 | 5 / 38 | 1,2 | 0,3 - 3,5 | 1,5 | 0,8 - 2,7 |

Tabell 6. Antal fall och kontroller samt OR för RA vid exponering för rökning, spannmålsdamm, stendamm, asbest, och andra mineralfiber, stratifierat på ålder samt Mantel-Haenzel OR (M-H OR) för ålder.

| | Man | | | Kvinna | | | Kön M-H Combined | |
|----------------|-----------------|-----|------------|-----------------|-----|-----------|------------------|-----------|
| | fall/kontroller | OR | CI 95% | fall/kontroller | OR | CI 95% | M-H OR | CI 95% |
| Rökning | 17 / 103 | 5,3 | 1,7 - 22,3 | 3 / 98 | 1,8 | 0,9 - 3,7 | 2,5 | 1,4 - 4,3 |
| Spannmålsdamm | 8 / 27 | 4,3 | 1,4 - 12,2 | 5 / 15 | 1,9 | 0,5 - 5,9 | 2,9 | 1,4 - 5,8 |
| Stendamm | 6 / 19 | 4,4 | 1,2 - 13,9 | 0 / 2 | 0 | 0 | 3,4 | 1,2 - 9,5 |
| Asbest | 5 / 23 | 2,8 | 0,7 - 9,0 | 0 / 1 | 0 | 0 | 2,5 | 0,8 - 7,4 |
| MMMF | 8 / 32 | 3,9 | 1,3 - 8,3 | 0 / 2 | 0 | 0 | 3,2 | 1,3 - 8,3 |
| Petroleumprod. | 12 / 72 | 3 | 1,1 - 8,4 | 3 / 10 | 1,7 | 0,3 - 7,0 | 2,5 | 1,2 - 5,3 |

Tabell 7. Antal fall och kontroller samt OR för RA vid exponering för rökning, spannmålsdamm, stendamm, asbest, och andra mineralfiber, stratifierat på kön samt Mantel-Haenzel OR (M-H OR) för kön.

5. Diskussion

5.1 Resultatdiskussion

5.1.1 Yrkesexponering

Resultaten från yrkesexponeringen skulle kunna bli mer tillförlitliga om man i materialet tog hänsyn till hur länge man arbetat med ett visst yrke. I beräkningarna är heller ingen hänsyn tagen till latenstid, dvs tiden mellan exponering och insjuknande. Resultatet att städare och fastighetsskötare har en ökad risk att drabbas av RA kan dels ha att göra med exponering för t.ex. lösningsmedel. Tidigare studier har sett en viss, nästan signifikant risk ökad risk (OR = 1,2 , CI = 1,0-1,6) att drabbas av RA vid exponering för lösningsmedel (Lundberg et al. 1994), men även den fysiska belastning på lederna kan spela in. Resultatet för andra yrken (bensinstationsarbetare, fartygsarbetare, elektroarbetare, asfaltsarbetare, brandmän, poliser, tullbevakningspersonal, väktare, skorstensfejare, hotell och restaurangarbetare och frisörer) som i denna studie gav $OR > 2,0$ stämmer väl överens med tidigare studier på området, (Lundberg et al. 1994, Reckner-Olsson 2003) även om urvalet i denna studie var för litet för att ge tillförlitliga resultat.

5.1.2 Exponering för olika agens

Sambandet mellan RA och exponering för spannmålsdamm har påvisats tidigare (Reckner-Olsson 2003) (OR = 2,0 , CI = 0,9 – 4,5). Analysen av exponeringen av trädamm visar på att trädamm skulle kunna vara en skyddande faktor för RA men då resultatet endast baseras på två fall är det svårt att dra några slutsatser av detta. Tidigare studier har sett en viss ökad risk för RA vid exponering för trädamm men utan statistisk signifikans (Reckner-Olsson 2003) (OR = 4,2 , CI = 0,7 – 44,5). Rökning som riskfaktor för RA har påvisats i ett flertal tidigare studier (Symmons et al 1997) (OR = 1,66 , CI = 0,95 – 3,06), (Hutchinsson et al. 2001) (OR = 1,81, CI = 1,22 – 2,19) m.fl. En översikt över ett tiotal artiklar som studerat risken för RA i samband med rökning finns i en nyligen publicerad doktorsavhandling (Reckner-Olsson 2003). Exponering för stendamm, asbest, övriga mineralfibrer (MMMMF) och petroleumprodukter visade i denna studie på ett OR större än 1, men utan tillförlitlig signifikans. Dessa agens har även vid tidigare studier visat sig ge en viss ökad risk för RA (Lundberg et al. 1994). Tendensen att risken att drabbas av RA ökade med längre exponeringstid av stendamm, asbest, övriga mineralfibrer, petroleumprodukter samt rökning kan ha att göra med att en ökad dos av

exponeringen ger en ökad risk för sjukdom, men även att det krävs en viss induktionstid, d.v.s. tidsrelationen mellan exponering och insjuknande.

5.1.3 Biologisk bakgrund

Ett förhöjd risk för kvinnor att drabbas av var väntat då RA är 2.5 –3 gånger vanligare hos kvinnor än hos män i hela populationen (Klippel 1997). Tidigare studier har i likhet med denna visat att deletion av GSTM1 genen i sig inte påverkar utfallet av RA utan endast om man dessutom exponeras för något toxiskt agens som enzymerna producerade av GSTM1-genen hjälper till att avgifta. I en studie från Korea fann man att hos patienter med RA var förekomsten av RF signifikant större ($p < 0,05$) hos de som hade deletion av genen (GSTT1-) jämfört med de som inte hade deletion av genen (GSTT1+) (Park et al. 2003) men förekomst av RF beror antagligen inte på genen i sig utan på omgivningsfaktorer. I djurmodeller av artrit har man sett att brist på Fc-gamma-RII hos möss ökade sjukdomsmottagligheten för artrit med inflammation och nedbrytning av lederna som följd. (Wines et al. 2003), men även en sådan modell förutsätter exponering för något agens som triggar igång sjukdomen. Resultatet för genernas betydelse vid exponering för olika agens diskuteras vidare nedan.

5.1.4 Exponering uppdelat på genotyp

GSTM1

Att rökning är en större riskfaktor för de som har deletion av GSTM1-allelen (GSTM1-) (OR = 4,5 , CI = 1,8- 12,7) har setts tidigare. I en brittisk studie (Mattey et al. 2002) såg man att rökning var associerat med en allvarligare RA hos patienter som saknade GSTM1 genen (GSTM1-) Detta samband verkar bl.a. bero på att GSTM1 polymorfism påverkar produktionen av reumatoid faktor (RF) hos rökare då det var en signifikant association mellan rökning och nivån av RF hos GSTM1- individer ($p = 0,002$) men inte hos GSTM1+ individer ($p = 0,4$). Det omvända förhållandet vid exponering för spannmålsdamm, att risken att drabbas av RA för de som har en fungerande allel av GSTM1 än för de som har en deletion av genen har inte setts tidigare och ytterligare studier krävs för att förklara den biologiska mekanismen bakom. en förklaring kan vara att betydelsen av RF inte är lika stor vid sjukdomsbilden för spannmålsdamm som vid rökning eftersom RF har setts ha stor betydelse vid rökning och RA och rökning har setts vara en större riskfaktor för de RA patienter som har RF (RF-positiva) än för de som är RF-negativa (Klareskog et al 2002).

GSTT1

Denna studie visade att rökning och exponering för spannmålsdamm ökade risken för RA hos GSTT1+ individer, jämfört med de som har en deletion av genen (GSTT1-) även om resultaten baserar sig på få RA-patienter med denna deletion. I en annan studie från Korea fann man däremot att hos patienter med RA var förekomsten av RF signifikant större ($p < 0,05$) hos de som hade deletion av genen (GSTT1-) jämfört med de som inte hade deletion av genen. (GSTT1-1), men här rörde det sig om icke-rökare (Park et al. 2003). Betydelsen av GSTT1-genen vid exponering för spannmålsdamm har inte studerats tidigare och den biologiska förklaringen till att GSTT1+ individer har ökad risk att drabbas av RA är oklar. Det har också antytts att kombinationen av olika alleler har betydelse snarare än genotypen av en viss allel (Park et al. 2003), och eftersom avgiftnings-enzymerna fungerar som ett enhetligt system i cellen är det troligt att effekten av att ha en noll-allel för en viss gen beror på individens funktion hos andra gener.

Fc-gamma-RII

I djurmodeller av artrit har man sett att brist på Fc-gamma-RII hos möss ökade sjukdomsmottagligheten för artrit med inflammation och nedbrytning av lederna som följd (Wines et al. 2003). Att rökning är en större riskfaktor för de som är Fc-gamma-RII – än för de som är Fc-gamma-RII+ kan således förklaras av att Fc-gamma-R receptorerna är involverade i den antikropps-inducerade inflammationen. Saknas denna receptor så störs antigen – antikropps interaktionen och detta i kombination med exponering för ett toxiskt agens gör att risken för RA ökar något. Risken för RA baserat på Fc-gamma-RII och exponering för damm har inte studerats tidigare. Man har sett att en löslig variant av Fc-gamma-RII (Fc-gamma-RIIa) hämmar interaktionen mellan RF och immunkomplexen (Wines et al. 2003) så en förklaring kan vara att betydelsen av RF inte är lika stor vid sjukdomsbilden för dessa agens som vid rökning. Just RF har setts ha stor betydelse vid rökning och RA och rökning har setts vara en större riskfaktor för de RA patienter som har RF (RF-positiva) än för de som är RF-negativa (Klareskog et al. 2002). Vidare studier behövs för att förklara dessa samband. I denna studie har bara studerats om man har genen uttryckt eller om den aktuella genen saknas. Det är också möjligt att olika fungerande varianter av de olika generna har olika effekt.

5.1.5 Exponering uppdelat på kön och ålder

Även tidigare studier har visat på att rökning ökar risken för RA mer för män än för kvinnor (Symmons et al. 1997, Uhlig et al. 1999, Krishnan et al. 2003, Reckner-Olsson 2003). Förklaringen kan vara att det finns flera

andra faktorer, t.ex. hormonella, som spelar in hos kvinnor och att kvinnorna redan från början har en större risk att drabbas av RA. Förklaringen till att rökning är en så mycket större riskfaktor för de som är födda efter 1943 än för de som är födda tidigare kan bero på olika rökvanor under olika tidsperioder. I äldre tider var det framförallt överklassen som rökte, medan det under 1940 och 1950 talet även blev mer utbrett i arbetarklassen och i yngre åldersgrupper. Den effektmodifiering som kan ses vid exponering för spannmålsdamm där det är en större risk att drabbas av RA för de födda tidigare än 1943 än för de födda 1943 eller senare beror antagligen på att miljöförhållanden på sådana arbetsplatser ändrat så att exponeringen idag är annorlunda än den var för några decennier sedan, även om en viss exponering av skadligt spannmålsdamm kvarstår.

5.1.6 Confounding

Confounding betyder att exponerade och oexponerade skiljer sig avseende samtidig förekomst av en faktor som även påverkar risken att insjukna. I studien har hänsyn till confounding tagits genom stratifiering på genotyp, ålder och kön, och utifrån denna stratifiering jämföra Mantel-Hanzel OR (Tabell 3 till 7) med råratkvoten (crude OR) för respektive exponering (Tabell 2). Att justering för kön leder till att Mantel-Hanzel (M-H) OR skiljer sig från den råa oddskvoten (crude) för RA och exponering för spannmålsdamm, stendamm, asbest, övriga mineralfibrer (MMMMF) och petroleumprodukter, betyder att exponeringsfrekvensen för dessa agens skiljer sig mellan män och kvinnor, och könet i sig, påverkar risken att insjukna.

5.1.7 Krav för orsakssamband

Innan man drar några slutsatser om orsakssamband mellan riskfaktor och sjukdomsutfall är det viktigt att inte bara förlita sig till resultaten från en enstaka studie utan att man kan se att resultatet återupprepas och att det för miljömässiga exponeringar finns ett dos-respons samband, samt att det finns en biologisk förklaring till utfallet.

5.2 Metoddiskussion

5.2.1 Val av studieupplägg

Med det material och den studietid som fanns tillgänglig var en fall-kontrollstudie den metod som gav bäst effektivitet. Det är viktigt att kontrollerna väljs från samma studiepopulation och åldersintervall som de individer som ingår som fall i studien, vilket också skedde genom att det slumpmässiga urvalet av individerna från DNA-banken kom från samma studiebas som fallen till TIRA-projektet. En annan möjlighet är matchning

d.v.s. att för varje fall välja kontroller som liknar fallet med avseende på en eller flera eventuella confounders, tex ålder (Norell 1987), men det hade blivit alltför tidsödande att göra en sådan matchning. Alternativet till en fall-kontroll studie hade varit att göra en kohortstudie, men kohortstudier är mindre effektiva än fall-kontrollstudier vid sjukdomar med låg eller måttlig incidens (Norell 1987). Det har tidigare gjorts en stor kohortstudie av RA i Sverige (Lundberg et al. 1994) där studiepopulationen utgjordes av invånare i 13 svenska län födda mellan 1905–1945 och som arbetat i samma yrke mellan 1960-70. Insjuknande i RA för denna kohort kontrollerades då med hjälp av sjukhusregister. Kohortstudier kan ge bra information om sjukdomsorsaker men kräver långa uppföljningstider, speciellt då sjukdomen är ovanlig och kan uppstå lång tid efter exponeringen (Lundberg et al. 1994). Om man gjort detta som en separat studie skulle naturligtvis frågeformuläret som skickades till RA-patienterna vara exakt likadant som det som besvarats av individerna från DNA-banken då båda formulären innehåller relevanta frågor, men något olika formulerade, vilket hade sparat mycket arbete vid sammanställningen.

5.3 Felkällor

5.3.1 Systematiska fel

Systematiska fel är sådana fel som skulle ge en genomsnittlig avvikelse från det sanna värdet om undersökningen upprepades ett oändligt antal gånger med samma metodik.

5.3.1.1 Recall bias

En möjlig felkälla är underrapportering av exponering från kontrollerna jämfört med fallen, då de som drabbats av sjukdom möjligen i större utsträckning tänker tillbaka på vad de egentligen har exponerats för och som kan ligga till grund för sjukdomen, s.k. recall bias. Det kan också vara så att de som drabbats av sjukdomen underrapporterar faktorer som de själva känner skuld inför t.ex. rökning. Detta gäller speciellt de faktorer som är allmänt kända som riskfaktorer för sjukdomen.

5.3.1.2 Validitet

Med validiteten avses i vilken utsträckning studien lyckas att mäta det som avses att mäta. Om t.ex. kontrollerna inte utgör ett slumpmässigt urval ur studiepopulationen försämras validiteten. Då kontrollerna i denna studie är slumpmässigt utvalda och kommer från samma upptagningsområde som fallen ger det en god validitet i studien.

5.3.1.3 Felklassificering

Vid alla studier är det viktigt att sträva efter att med avseende på exponering ha en hög sensitivitet (sannolikhet att en exponerad individ klassificeras som exponerad) och hög specificitet (sannolikhet att en oexponerad individ klassificeras som oexponerad). Det är svårt att kontrollera data som fås ur frågeformulär, speciellt för exponeringar som sträcker sig långt tillbaka i tiden, då risken finns att personer inte kan återge vilka exponeringar de varit utsatta för. Likaså, med avseende på sjukdom kan sensitivitet (sannolikhet att en sjuk individ klassas som sjuk) och specificitet (sannolikhet att en frisk individ ska klassificeras som frisk) kontrolleras genom urvalet. Av kontrollgruppen var det en del som i frågeformuläret angivit att de hade "reumatiska besvär", utan att ha diagnosen ledgångsreumatism, men då reumatiska besvär är ett vitt begrepp anses risken för felklassificering som liten. Risken för felklassificering finns ändå då symptomen för RA är ganska diffusa och att flera kriterier måste vara uppfyllda för att man ska få diagnosen. Ett liknande problem uppstår om diagnosen är vid, och en exponering endast påverkar risken för vissa typer av sjukdomen. T.ex. finns det studier som tyder på att rökning är en större riskfaktor för de som är RF-positiva än för de som är RF-negativa (Heliövaara et al. 1993 , Klareskog et al. 2002).

5.3.2 Slumpmässiga fel

Slumpmässiga fel är sådana fel som kan ge en avvikelse från det sanna värdet i den enskilda undersökningen, men inte skulle ge någon genomsnittlig avvikelse från det sanna värdet om undersökningen upprepades ett oändligt antal gånger med samma metodik.

5.3.2.1 Precision

Studiens precision är frånvaron av slumpmässiga fel. Precisionen för studien skulle kunna ökas genom ett större urval, men av de patienter som fanns tillgängliga gick det inte att få fram ett större urval som både hade besvarat frågeformuläret och lämnat blodprov som analyserats för de genetiska markörerna. Precisionen har i viss mån förbättrats genom att antalet kontroller är stort.

5.4 Etisk diskussion

Med ökande kunskap om genernas betydelse för sjukdomsuppkomst kommer antagligen genetisk testning och även screening i befolkningen att bli vanligare i framtiden. Oavsett vilken metod som används är det viktigt att följa de lagar och etiska riktlinjer som finns. I Sverige finns ett generellt etiskt kodex för forskare den s.k. uppsalakodexen (Rydén 1990). WHO har tagit fram riktlinjer för sjukdomsscreening (Wilson & Jungner 1968), och

även tagit fram ett förslag till riktlinjer för etiska värderingar i klinisk genetik (WHO 1997). När man talar om gendiagnostik ställs ofta frågan om man skulle ha anlag för en obotlig sjukdom, och skulle kunna få veta det med ett gentest. Skulle man vilja det i så fall? Med kunskap om att en viss genotyp inte direkt orsakar en sjukdom utan enbart ökar risken för en viss sjukdom kan de etiska konsekvenserna bli stora. Det kan vara svårt att hantera ett sådant besked och ovissheten är ofta stor. I många fall kan ett sådant besked vara svårare att hantera än om man med säkerhet får veta att man kommer att drabbas av en viss sjukdom, speciellt om möjligheterna att skydda sig från skadliga exponeringar är begränsade. Men i de flesta fall skulle möjligheterna till sjukdomsprevension förbättras. Ett gentest skulle kunna avslöja om en viss exponering är en riskfaktor för en viss individs sjukdom. Framtidsscenariet kan bli hissnande där ett gentest skulle kunna avgöra vilken arbetsmiljö, eller vilka livsstilsfaktorer som skulle minimera riskerna för sjukdomar. I praktiken kan man dock fråga sig vilken nytta en sådan tillämpning skulle ha. Den grundläggande kunskapen om vilka exponeringar som är skadliga för den biologiska cellen finns redan och det borde vara naturligt att undvika dessa exponeringar i största möjliga mån oavsett om vi har fungerande proteiner för att destruera dessa toxiska ämnen eller inte. I praktiken är den mest realistiska och användbara tillämpning av de ökade kunskapen kring genomet att man kan ställa bättre och tidigare diagnoser vid sjukdomsutbrott och också anpassa mediciner till den enskilda individen. Kunskapen om en individs genetiska predisposition för sjukdom kan också användas på ett felaktigt sätt. De etiska konsekvenserna då arbetsgivare och försäkringsbolag får tillgång till sådan kunskap har diskuterats mycket. Den ökande kommersialiseringen kring biotekniken har också setts som ett problem. Från den 1 maj 2004 har även Sverige antagit den lag som finns i EU, som tillåter att mänskliga gener utanför människokroppen kan patenteras, om gensekvensen har en klar industriell användning. (Svenskt författningsregister 2004) Många anser att detta skulle missgynna den statliga forskningen och ytterligare gynna kommersiella intressen.

5.5 Vidare forskning

Denna studie har endast studerat effekten av ett par gener som tillverkar proteiner som ingår i kroppens immunsystem. Det vore intressant att i vidare forskning även studera andra gener samt betydelsen av individens kombination av gener.

5.6 Slutsats

Individens genetiska uppsättning av GST och Fc-gamma-generna verkar inte i sig ha någon effekt på RA. Däremot har en rad omgivningsfaktorer setts påverka insjuknandet i RA. Vidare påverkar olika alleler av nämnda gener i kombination med olika omgivningsfaktorer risken att insjukna i RA. Dock är det troligt att inte en enskild gen är avgörande utan individens kombination av olika gener. Ytterligare forskning krävs för att klarlägga dessa samband.

6 Tack

Jag vill framförallt tacka min handledare Gun Wingren som givit goda råd vid analyserna och uppsatsskrivandet. Vidare vill jag tacka Åsa Reckner Olsson för resultaten från enkäten från RA-patienterna och hjälp med bl.a yrkesklassificeringen samt Ahmad Ahmadi, Peter Söderkvist och Thomas Skogh som tillhandahållit resultat från genanalyserna och för kommentarer kring resultaten.

Ordlista

| | |
|--------------|--|
| Adalimumab | En human anti-tumour necrosis factor (anti-TNF) monoklonal antikropp som används som medicin mot RA. |
| Allel | Alternativ form av samma gen |
| Antigen | Molekyl som utlöser en immunförsvarsreaktion |
| B-cell | Typ av lymfocyt som producerar antikroppar. Kallas även plasmacell |
| Cytokiner | Extracellulärt signalprotein som fungerar som lokal budbärare i kommunikation en mellan celler |
| Dizygot | Tvåäggs |
| Heterozygoti | Två olika alleler av en gen vid en viss position i genomet |
| Lymfocyt | Vit blodkropp i immunförsvaret som aktiveras av antigen |
| Makrofag | Vit blodkropp som tar upp främmande ämnen genom fagocytos |
| Monozygot | Enäggs |
| Monoklonal | producerad av celler som ursprungligen kommer från en och samma cell |
| Polymorfism | En variation i DNA-sekvensen hos en gen. |
| T-cell | Typ av lymfocyt inblandad i det cellmedierade immunförsvaret |

7. Referenser

Ahmadi A. (1996) Glutathione-S-Transferase M1 null genotype as a risk modifier for solvent-induced chronic toxic encephalopathy. Linköpings universitet. Linköping.

Albano SA, Santana-Sahagun E, Weisman MH (2001) Cigarette smoking and Rheumatoid Arthritis. *Seminars in arthritis and rheumatism* 31, 146-159.

Ali-Osman F, Akande O, Antoun G, Mao JX, Buolamwini J. (1997) Molecular cloning, characterization, and expression in *Escherichia coli* of full-length cDNAs of three human glutathione S-transferase Pi gene variants. Evidence for differential catalytic activity of the encoded proteins. *The journal of biological chemistry*. 11, 10004-10012.

Arbetsmarknadsstyrelsen (1984) Nordisk yrkesklassificering 1983. Liber förlag Stockholm.

Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, Healey LA, Kaplan SR, Liang MH, Luthra HS (1988) The american rheumatism association 1987 revised criteria for the classification of Rheumatoid Arthritis. *Arthritis and Rheumatism* 31, 315-324.

Baird P, Andersson T, Newcombe H, Lowre R (1988) Genetic disorders in children and young adults: A population study. *American journal of human genetics* 42, 677-693.

Balaram S, Agrawal D, Allen R, Kuszynski C, Edwards (1997) Cell adhesion molecules and insulin-like growth factor-1, in vascular disease. *Journal of Vascular Surgery* 25, 866-876.

Calder P & Zurier R (2001) Polyunsaturated fatty acids and rheumatoid arthritis. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* 4, 115-121.

Chen CL, Liu Q, Relling MV (1996) Simultaneous characterization of glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphisms by polymerase chain reaction in American whites and blacks. *Pharmacogenetics* 2, 187-191.

Cooper GS, Miller FW, Germolec DR (2002) Occupational exposures and autoimmune diseases. *International immunopharmacology* 2, 303-313.

Dahl N, Landegren U (red.) (2003) *Gendiagnostik i sjukvården*. Vetenskapsrådet. Stockholm.

Engström-Laurent A, Leden I, Nived O, Sturfelt G (1994) *Reumatology Liber Utbildning*. Stockholm.

Gautam V, Sehgal R, Arora DR (2003) Detection of anti-Proteus antibodies in sera of patients with rheumatoid arthritis. *Indian Journal of pathology & microbiology* 46, 137-141.

Geusens P, Wouters C, Nijs J, Jiang Y, Dequeker J (1994) Long term effect of omega-3 fatty acid supplementation in active Rheumatoid Arthritis. A 12-month, double-blind, controlled study. *Arthritis and Rheumatism* 37, 824-829.

Hafström I, Ringertz B, Spångberg A, von Zweigbergk L, Brannemark S, Nylander I, Ronnelid J, Laasonen L, Klareskog L (2001) A vegan diet free of gluten improves the signs and symptoms of rheumatoid arthritis: the effects on arthritis correlate with a reduction in antibodies to food antigens. *Rheumatology* 40, 1175-1179.

Hagfors L (2003) *A Mediterranean dietary intervention study of patients with rheumatoid arthritis*. Umeå universitet. Umeå.

Hanninen, Kaartinen K, Rauma AL, Nenonen M, Torronen R, Hakkinen AS, Adlercreutz H, Laakso J (2000) Antioxidants in vegan diet and rheumatic disorders. *Toxicology*. 30, 45-53.

Harney S & Wordsworth B (2002) Genetic epidemiology of rheumatoid arthritis. *Tissue antigens* 60, 465-473.

Heliövaara M, Aho K, Aromaa A (1993) Smoking and risk of rheumatoid arthritis. *Journal of rheumatology* 20, 1830-1835.

Hochberg MC & Spector TD (1990) Epidemiology of rheumatoid arthritis: update. *Epidemiologic Reviews* 12, 247-252.

- Hutchinson D, Shepstone L, Moots R, Lear J, Lynch M. (2001) Heavy cigarette smoking is strongly associated with rheumatoid arthritis (RA), particularly in patients without a family history of RA. *Annals of the rheumatic diseases*. 60, 223-227.
- Jackson M, Bagg J, Gupta M, Sturrock D (1999) Oral carriage of staphylococci in patients with rheumatoid arthritis *Rheumatology* 38, 572-575.
- James M, Gibson R, Cleland L (2000) Dietary polyunsaturated fatty acids and inflammatory mediator production. *American Journal of Clinical Nutrition* 71, 343-348.
- Jarvinen P & Aho K (1994) Twin studies in rheumatic diseases. *Seminars in arthritis and rheumatism* 24, 19-28.
- Karatas F, Ozates I, Canatan H, Halifeoglu I, Karatepe M, Colakt R (2003) Antioxidant status & lipid peroxidation in patients with rheumatoid arthritis. *Indian Journal of Medical Research* 118, 178-181.
- Kinikli G, Ates A, Turgay M, Akay G, Kinikli S, Tokgoz G (2003) HLA-DRB1 genes and disease severity in rheumatoid arthritis in turkey. *Scandinavian journal of rheumatology* 32, 277-280.
- Kjeldsen-Kragh J, Borchgrevink C, Laerum E, Haugen M, Eek M, Frre O, Mowinkel P, Hovi K (1991) Controlled trial of fasting and one-year vegetarian diet in rheumatoid arthritis *Lancet* 338, 899-902.
- Kjeldsen-Kragh J, Haugen M, Borchgrevink C, Førre O (1994) Vegetarian diet for patients with rheumatoid arthritis - status: two years after introduction of the diet. *Clinical Rheumatology* 13, 475-482.
- Klareskog L, Lorentzen J, Padyukov L, Alfredsson L (2002) Genes and environment in arthritis: can RA be prevented? *Arthritis research* 4, 31-36.
- Klareskog L, van der Heijde D, Jager J, Gough A, Kalden J, Malaise M, Mola E, Pavelka K, Sany J, Settas L, Wajdula J, Pedersen R, Fatenejad S, Sanda M (2004) Therapeutic effect of the combination of etanercept and methotrexate compared with each treatment alone in patients with

rheumatoid arthritis: double-blind randomised controlled trial *The Lancet* 363, 675-681.

Klippel JH (editor) (1997) *Primer on the rheumatic diseases*. Atlanta Georgi Arthritis Foundation. Atlanta.

Klockars M, Koskela R-S, Järvinen E (1987) Silica exposure and rheumatoid arthritis: a follow up study of granite workers 1940-81 *British medical journal* 294, 997-1000.

Kochi Y, Yamada R, Kobayashi K, Takahashi A, Suzuki A, Sekine A, Mabuchi A, Akiyama F, Tsunoda T, Nakamura Y, Yamamoto K (2004) Analysis of Single-Nucleotide Polymorphism in Japanese Rheumatoid Arthritis Patients shows additional susceptibility markers besides the classical shared epitope susceptibility sequences. *Arthritis and Rheumatism* 50, 63-71.

Kremer J, Lawrence D, Jubiz W, DiGiacomo R, Rynes R, Bartholomew L, Sherman M (1990) Dietary fish oil and olive oil supplementation in patients with rheumatoid arthritis. Clinical and immunologic effects. *Arthritis and Rheumatism* 33, 810-820.

Krishnan E, Sokka T, Hannonen P (2003) Smoking-gender interaction and risk for rheumatoid arthritis. *Arthritis Research and Therapy* 5, 158-162.

Kristofferson U (2003) *Medicinsk genetik – en introduktion*. Studentlitteratur. Lund.

Lau C, Morley K, Belch J (1993) Effects of fish oil supplementation on non-steroidal anti-inflammatory drug requirement in patients with mild rheumatoid arthritis – a double blind placebo controlled study. *British Journal of Rheumatology* 32, 982-989.

Linos A, Kaklamani V, Kaklamani E, Koumantaki Y, Giziaki E, Papazoglou S, Mantzoros C (1999) Dietary factors in relation to rheumatoid arthritis: a role for olive oil and cooked vegetables? *American Journal of Clinical Nutrition* 70, 1077-1082.

Lithell H, Bruce Å, Gustavsson I, Höglund N, Karlström B, Ljunghall K, Sjolín K, Venge P, Werner I, Vessby B (1983) A fasting and vegetarian diet treatment trial on chronic inflammatory disorders. *Acta Dermato-Venereologica* 63, 397-403.

Lundberg I, Alfredsson L, Plato N (1994) Occupation and occupational exposure to chemicals and rheumatological disease. *Scandinavian journal of Rheumatology* 23, 305-310.

Marklund P, Stenmark B, Svensson B (1994) *Reumatismens många ansikten*. Falu bokproduktion. Falun.

Maurizio C, Barbara V, Chiara C, Carmen P, Bruno S, Alberto S (2002) Sex hormones and rheumatoid arthritis. *Autoimmunity reviews* 1, 284-289.

Mattey D, Hassel A, Plant M, Dawes P, Ollier W, Jones P, Fryer A, Alldersea J, Strange R (1999) Association of polymorphism in glutathione S-transferase loci with susceptibility and outcome in rheumatoid arthritis: comparison with the shared epitope. *Annals of rheumatic diseases* 58, 164-168.

Mattey D, Hutchinson D, Dawes P, Nixon N, Clarke S, Fisher J, Brownfield A, Alldersea J, Fryer A, Strange R (2002) Smoking and disease severity in rheumatoid arthritis: Association with polymorphism at the glutathione S-transferase M1 locus. *Arthritis & Rheumatism* 46, 640-646.

McLaren M, Alkaabi J, Connacher M, Belch JJ, Valenete E (2002) Activated factor XII in Rheumatoid Arthritis. *Rheumatology International* 22, 182-184.

McCarty M (1999) Vegan proteins may reduce risk of cancer, obesity and cardiovascular disease by promoting increased glucagon activity. *Medical Hypotheses* 53, 459-485.

Merlino L, Curtis J, Mikuls T, Cerhan J, Criswell L, Saag K (2004) Vitamin D intake is inversely associated with rheumatoid arthritis *Arthritis and Rheumatism* 50, 72-77.

Nitelius E (1999) *Kronisk Ledgångsreumatism*. Förlaget Hagman. Stockholm.

- Norell S (1987) Epidemiologisk metodik. Studentlitteratur Lund.
- Nystrand K & Kaj G. (2000) Genvägar till hälsa? Om genteknikens möjligheter och begränsningar. Medicinska forskningsrådet. Stockholm.
- Padyukov L, Lampa J, Heimburger M, Ernestam S, Cederholm T, Lundkvist I, Andersson P, Hermansson Y, Harju A, Klareskog L, Bratt J (2003) Genetic markers for the efficacy of tumour necrosis factor blocking therapy in rheumatoid arthritis. *Annals of the rheumatic diseases* 62, 526-529.
- Park J, El-Sohemy A, Cornelis M, Kim H, Kim S, Bae S (2003) Glutathione S-transferase M1, T1, and P1 gene polymorphisms and carotid atherosclerosis in Korean patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology International* 24, 157-163.
- Reckner-Olsson Å (2003) Occupational and environmental aspects on the aetiology of reumathoid arthritis. Linköpings universitet. Linköping.
- Rothschild BM, Turner KR, DeLuca MA (1988) Symmetrical erosive peripheral polyarthritis in the late archaic period of Alabama science 241 1498-1502.
- Rydén L. (red.) (1990) Etik för forskare. UHÄ Skriftserie 1990:1 Universitets och högskoleämbetet. Stockholm.
- Silman A & Hochberg M (red.) (2001) *Epidemiology of the Rheumatic Diseases*. Oxford University Press. Oxford.
- Silman A & Pearson J (2002) Epidemiology and genetics of rheumatoid arthritis. *Arthritis research. Supplement Review* 4, 265-272.
- Silman A, MacGregor A, Thomson W (1993) Twin concordance rates for rheumatoid arthritis: results from a nationwide study. *British journal of rheumatology* 32, 903-907.
- Strange R, Jones P, Fryer A (2000) Glutathione S-transferase: genetics and role in toxicology. *Toxicology letters* 112-113, 357-363.

Svenskt författningsregister (2004) Patentlagen SFS nr: 1967:837
<http://www.riksdagen.se/debatt/sfsr/index.asp> (20/5 2004).

Symmons D (2003) Environmental factors and the outcome of rheumatoid arthritis. Best practice & research. *Clinical rheumatology* 17, 717-727.

Symmons D, Bankhead CR, Harrison BJ, Brennan P, Barrett EM, Scott DG, Silman AJ (1997) Blood transfusion, smoking, and obesity as risk factors for the development of rheumatoid arthritis: results from a primary care-based incident case-control study in Norfolk, England. *Arthritis and Rheumatism* 40, 1955-1961.

Torrance G, Tugwell P, Amorosi S, Chartash E, Sengupta N (2004) Improvement in health utility among patients with rheumatoid arthritis treated with adalimumab (a human anti-TNF monoclonal antibody) plus methotrexate. *Rheumatology* 23/3. <http://rheumatology.oupjournals.org/>

Uhlig T, Hagen K, Kvien T (1999) Current tobacco smoking, formal education, and the risk of rheumatoid arthritis. *Journal of rheumatology* 26, 47-59.

Ushiyama T, Mori K, Inoue K, Huang J, Nishioka J, Hukuda S (1999) Association of oestrogen receptor gene polymorphism with age at onset of rheumatoid arthritis *Annals of rheumatic diseases* 58, 7-10.

WHO (1997) Human genetics programme. Proposed international guideline on ethical issues in medical genetics and genetic service. WHO <http://www.who.int/genomics/> (15/5 2004).

Wigzell H (1986) *Vårt fantastiska immunförsvar*. Liber förlag. Stockholm.

Wilson J, Jungner G (1968) *Principles and practices of screening for disease*. WHO. Geneve.

Winchester R (1994) The molecular basis of susceptibility to RA *Advanced Immunology* 56, 389-466.

Wines B, Gavin A, Powell M, Steinitz M, Buchanan R, Hogarth M (2003) Soluble Fc γ RIIa inhibits rheumatoid factor binding to immune complexes *Immunology* 109, 246-254.