

POSVETA

Ovaj rad posvećujem mojoj porodici Sofiji, Isidori i Zoranu, bez čije podrške i doprinosa ne bi bilo ni ovih rezultata. Istovremeno se zahvaljujem na strpljenju i pomoći pri izradi ovog istraživanja i mojoj majci Radi.

ZAHVALNICA

*Najveću zahvalnost dugujem **prof. dr Jeleni Vojinović** na idejnom, organizacionom i sveukupnom naporu i saradnji u ovom istraživanju.*

*Posebno se zahvaljujem svom učitelju **prof. dr Nemanji Damjanovu**, na podsticanju na istraživanje i profesionalno usavršavanje.*

*Veliku zahvalnost dugujem **doc. dr Mirjani Šefik-Bukilici, mr sci. dr Tatjani Živanović-Radnić, mr ph Katarini Gošić** i laboratorijskom tehničaru **Slavici Steković** na pomoći u izvođenju laboratorijskih istraživanja u ovom istraživanju.*

Prim. dr Katarina Simić - Pašalić

Mentor:	Prof. dr Jelena Vojinović, redovni profesor Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet
Naslov:	EFIKASNOST I BEZBEDNOST PRIMENE VISOKIH DOZA ALFAKALCIDOLA U LEČENJU AKTIVNOG REUMATOIDNOG ARTRITISA
Rezime:	U prospektivno, interventno istraživanje efikasnosti i bezbednosti alfakalcidola (1α D3) u lečenju reumatoidnog artritisa (RA), uključeno je 67 bolesnika sa aktivnim RA, najmanje tri meseca pred uključenje lečenih najvišom podnošljivom dozom metotreksata (MTX), a bez pridruženih bolesti ili terapija od značaja za zapaljenje i metabolizam kalcijuma. Nakon pisanog pristanka, uzorkovana je krv za bihemijske i imunoserološke analize, urin za dnevnu kalciuriju, ocenjena aktivnost RA, funkcijski status, kvalitet života, zamor, mišićna snaga i funkcija, izmereni koštana masa i kvalitet. Bolesnici su nasumično raspoređeni na tromesečno lečenje 1μ g, 2μ g, 3μ g 1α D3 dnevno ili 20mg prednizona dnevno prvog meseca, a 10mg tokom narednih dva meseca, uz MTX. Praćeni su na 2-4 nedelje radi uvida u efikasnost i bezbednost primenjenog lečenja, a ponovljeni klinički i laboratorijski rezultati nakon završetka ovog perioda su upoređeni sa početnim u svakoj terapijskoj grupi, kao i međusobno. Potom su svi ispitanici uzimali 1μ g 1α D3 dnevno, narednih 9 meseci. Tromesečno lečenje 1α D3 bilo 1μ g, 2μ g, 3μ g ili prednizonom dovelo je do značajnog smanjenje aktivnosti RA, a kod lečenih 1α D3 2μ g je poboljšana funkcijska sposobnost, fizički i mentalni kvalitet života, mišićna snaga i koordinacija, uz sniženje biohumoralnih parametara zapaljenja, interleukina 6, povišenje HDL holesterola, a umereni porast kalciurije. Nakon 12 meseci praćenja pokazano je sniženje koštane mase kod RA bolesnika lečenih prednizonom, a poboljšanje kvaliteta kosti kod lečenih alfakalcidolom.
Naučna oblast:	Medicina
Naučna disciplina:	UNO reumatologija
Ključne reči:	reumatoidni artritis, vitamin D, alfakalcidol, citokini, steroidi
UDK:	616.72-002.77:615.356.015.3(043.3)
CERIF klasifikacija:	B580 Skelet, mišići, reumatologija, lokomocija B 500 Imunologija, serologija, transplantacija
Tip licence kreativne zajednice	CC BY-NC-ND

Doctoral Supervisor: Jelena Vojinović, MD PhD, Full professor
University of Nis, Medical School

Title: EFFICACY AND SAFETY OF ACTIVE RHEUMATOID ARTHRITIS TREATMENT WITH HIGHDOSES OF ALPHACALCIDOL

Abstract: In a prospective, interventional study on efficacy and safety of alfacalcidol ($1\alpha D3$) treatment of rheumatoid arthritis (RA), 67 patients with active RA were included, treated for at least three months before inclusion with the highest tolerated dose of methotrexate (MTX), with no associated disease or therapy of influence to inflammation or calcium metabolism. After signing the written consent, samples were taken for biochemical and immunoserological testing, also urine for daily calciuria, activity of RA, functional status, life quality, fatigue, muscle strength and function were assessed, bone mass and quality were examined. Patients were randomly assigned to treatment with $1\ \mu\text{g}$, $2\ \mu\text{g}$, $3\ \mu\text{g}$ $1\alpha D3$ daily or 20mg of prednisone daily for the first month, and 10 mg during the next two months. They were monitored at 2-4 week for insight into the efficacy and safety of treatment used. After the completion of this research period, clinical and laboratory data obtained were compared with initial ones in each group, as well as to each other. All patients continued investigation taking $1\ \mu\text{g}$ $1\alpha D3$ daily, for 9 months. Three month treatment either $1\ \mu\text{g}$, $2\ \mu\text{g}$, $3\ \mu\text{g}$ $1\alpha D3$ or prednisone significantly decreased RA activity and in $1\alpha D3$ $2\ \mu\text{g}$ subgroup to improved functional ability, physical and mental quality of life, muscle power and coordination, reduction of biochemical parameters of inflammation, interleukin 6, increase of HDL cholesterol, with moderate increase of daily calciuria. At the end of follow up, the loss of bone mass was found in patients treated with prednisone, yet improvement of the quality of the bone in alfacalcidol treated ones.

Scientific field and discipline: Medicine
UNO reumatologija

KeyWords: rheumatoid arthritis, vitamin D, alphacalcidol, cytokines, steroides
UDC: 616.72-002.77:615.356.015.3(043.3)
CERIF B580 Skeleton, muscles, rheumatology, locomotion
Classification: B 500 Immunology, serology, transplantation
Creative Commons LicenseType: CC BY-NC-ND

LISTA SKRAĆENICA

RA.....	Reumatoidni artritis
APĆ.....	Antigen prezentujuće ćelije
MHCII.....	Klasa II glavnog histokompatibilnog kompleksa
If γ	Interferon gama
IL2.....	Interleukin 2
TNF α	Faktor nekroze tumora alfa
IL1.....	Interleukin 1
IL6.....	Interleukin 6
RF.....	Reumatoid artritis
ACPA.....	Antitelo na citrulisane proteine
Tly.....	T limfocit
IL4.....	Interleukin 4
IL8.....	Interleukin 8
GMCSF.....	Faktor stimulacije rasta granulocitnomakrofagnih ćelija
RANKL.....	Receptor aktivator nuklearnog faktora kapa B
CRP.....	C-reaktivni protein
ACR.....	American College of Rheumatology
EULAR.....	European League Against Rheumatism
SE.....	Sedimentacija eritrocita
DAS28.....	Disease activity score
LMTB.....	Lekovi koji menjaju tok bolesti
GK.....	Glikokortikoidi
JAK-3.....	Janus kinaza 3
VDR.....	Vitamin D receptor
CYP2R1.....	Holekalciferol 25-hidroksilaza
CYP27B1.....	25(OH)D3 1 α hidroksilaza
PTH.....	Parathormon
DNK.....	Dezoksiribonukleinska kiselina
IL10.....	Interleukin 10
COX2.....	Ciklooksigenaza 2
PG.....	Prostaglandini
Th1.....	T pomoćnički limfociti tip 1

Th17.....	T pomoćnički limfociti tip 17
Th2.....	T pomoćnički limfociti tip 2
Tregs.....	T regulatorni limfociti
25(OH)D3.....	Kalcidol
1,25(OH)2D3.....	Kalcitriol-hormon D
IBD.....	Zapaljenske bolesti creva
MS.....	Sclerosis multiplex
1 α (OH)D3.....	Alfakalcidol
ALIMS.....	Agencija za lekove i lekovita sredstva
PVAS.....	Bolesnikova procena aktivnosti artritisa
HAQ-DI.....	Upitnik za procenu zdravstvenog stanja
SF-36.....	Kratki višedimenzionalni upitnik o kvalitetu života
FACIT-F.....	Upitnik za procenu zamora u hroničnim bolestima
BBZ.....	Broj bolnih zglobova
BOZ.....	Broj otečenih zglobova
Er.....	Eritrociti
Le.....	Leukociti
Hct.....	Hematokrit
Tr.....	Trombociti
AST.....	Aspartat aminotransferaza
ALT.....	Alanin aminotransferaza
AF.....	Alkalna fosfataza
LDL.....	Lipoproteini niske gustine
HDL.....	Lipoproteini visoke gustine
CK.....	Kreatin kinaza
LDH.....	Laktat dehidrogenaza
TG.....	Trigliceridi
DXA.....	Dvoenergetska apsorpciometrija X zracima
TBS.....	Trabecular bone score
IL17.....	Interleukin 17
IL21.....	Interleukin 21
ND.....	Neželjeni događaji
ANOVA.....	Analiza varijanse
MTX.....	Methotrexate

SF-36 PCS.....	Fizičke komponente kvaliteta života
SF-36 MCS.....	Mentalne komponente kvaliteta života
BMI.....	Indeks telesne mase
FF.....	Fizičke funkcije
FU.....	Fizičke uloge
B.....	Bol
OZ.....	Opšte zdravlje
U.....	Umor
SU.....	Socijalne uloge
EU.....	Emocionalne uloge
MZ.....	Mentalno zdravlje
CRT.....	Test ustajanja sa stolice
TUG.....	Test ustani i kreni
6MWT.....	Šestominutni test hodanja
TW.....	Tandem hod
KMG.....	Koštana mineralna gustina
L1L4.....	Lumbalni segment za merenje KMG
FN.....	Vrat butne kosti za merenje KMG
OP.....	Osteoporoza
sLMTB.....	Sintetski lekovi koji menjaju tok bolesti
bLMTB.....	Biološki lekovi koji menjaju tok bolesti
EQ-5D.....	Upitnik za procenu kvaliteta života
PSA.....	Psorijazni artritis
CDAI.....	Klinički indeks aktivnosti artritisa
MIF.....	Inhibitor migracije makrofaga
VEGF.....	Vaskularni endotelni faktor rasta
PDSUS.....	Power Doppler ultrazvuk
JOQOL.....	Japanski upitnik kvaliteta života
CD20.....	B-limfocitni antigen CD20
KVB.....	Kardiovaskularne bolesti

SADRŽAJ

I UVOD.....	10
1.0. Reumatoidni artritis	10
1.1 Etiologija i patogeneza reumatoidnog artritisa	11
1.2. Klinička slika i dijagnoza reumatoidnog artritisa	12
1.4. Lečenje reumatoidnog artritisa.....	14
1.5. Komplikacije RA i sveukupni teret bolesti	18
2.0. Vitamin D danas	20
2.1. Vitamin D ili hormon D?	21
2.2. Vitamin D receptor (VDR): genetski i epigenetski efekti hormona D.....	22
2.3. VDR agonisti	22
2.4. VDR agonisti i zapaljenje	23
2.5. VDR agonist alfakalcidol – aktuelna i potencijalna terapija u reumatologiji	25
II CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....	29
III RADNA HIPOTEZA.....	30
IV MATERIJAL I METODE ISTRAŽIVANJA.....	31
4.1. Ispitanici i protokol istraživanja.....	31
4.2 Metode kliničke procene aktivnosti bolesti.....	34
4.2.1 Metoda procene aktivnosti reumatoidnog artritisa (kompozitni indeks DAS28).....	34
4.2.2 Metode procene funkcijskog stanja, kvaliteta života, umora (PRO).....	34
4.3. Metode kliničke procena mišićne snage	35
4.4. Metode kliničke procene koštane gustine	36
4.5. Metode laboratorijskih ispitivanja	36
4.6. Metode praćenja bezbednosti ispitanika tokom istraživanja.....	37
4.7. Metode statističke obrade podataka i testiranja hipoteze.....	38
V REZULTATI.....	39
5.1. Karakteristike ispitanika u istraživanju.....	40
5. 1.1. Demografske karakteristike RA ispitanika	40
5. 1.2. Pridružene bolesti ispitanika	41
5.1.3. Poređenje demografskih i karakteristika bolesti kod ispitanika u različitim terapijskim grupama.....	41
5. 2. Ispitivanje kliničkih pokazatelja bolesti u periodu aktivnog lečenja	43
5.2.1. Promena DAS28	43

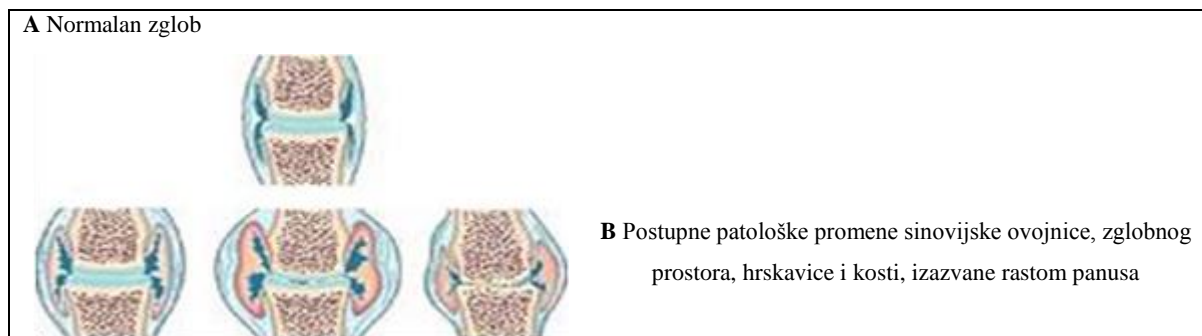
5.2.2. Ispitivanje funkcijskog statusa - HAQ-DI.....	48
5.2.3. Ispitivanje kvaliteta života SF-36	50
5.2.4. Ispitivanje broja bolnih i otečenih zglobova	57
5.2.5 Ispitivanje bolesnikove procena aktivnosti bolesti	59
5.2.6. Ispitivanje promene zamora	60
5.3. Klinički pokazatelji bolesti tokom perioda praćenja, nakon završetka aktivnog lečenja.....	61
5.3.1. Prilagođavanje terapije.....	61
5.3.2 DAS28 tokom perioda praćenja (24-52. nedelja)	62
5.3.3 Funkcijski status (HAQ-DI) tokom perioda praćenja (24-52.nedelja).....	63
5.3.4. Kvalitet života (SF-36) tokom perioda praćenja (24-52.nedelja)	64
5.3.5. Broj bolnih i otečenih zglobova tokom perioda praćenja (24-52.nedelja).....	65
5.3.6 Skala zamora (FACIT-F) tokom perioda praćenja (24-52.nedelja).....	66
5.4. Laboratorijska istraživanja tokom perioda aktivnog lečenja	67
5.4.1. Laboratorijske karakteristike svih RA bolesnika	67
5.4.3. Laboratorijski pokazatelji poboljšanja bolesti tokom perioda praćenja.....	73
(24-52.nedelja).....	73
5.5. Ispitivanje mišićne funkcije tokom perioda aktivnog lečenja.....	75
5.5.1. Testovi mišićne funkcije svih ispitanika.....	75
5.5.2. Ispitivanje testova mišićne funkcije u različitim terapijskim grupama.....	75
5.5.3. Testovi mišićne funkcije tokom perioda praćenja (24-52.nedelja).....	78
5.6. Rezultati testiranja nivoa citokina.....	79
5.6.1. Inflamatorni citokini kod svih ispitanika	79
5.6.2 Ispitivanje serumskih inflamatornih citokina u različitim terapijskim grupama.....	80
5.7. Ispitivanje koštane gustine i kvaliteta kosti	84
5.7.1. Ispitivanje koštane gustine u različitim terapijskim grupama.....	85
5.7.2 Ispitivanje kvaliteta kosti u različitim terapijskim grupama	87
5.8. Bezbednost u istraživanju tokom perioda aktivnog lečenja	88
5.8.1. Kalcijum u serumu i urinu kod svih ispitanika	88
5.8.3 Metabolizam kalcijuma tokom perioda praćenja	90
5.8.4. Klinički aspekti bezbednosti u istraživanju.....	91
5.9. Korelacije.....	91
VI DISKUSIJA	100
VII ZAKLJUČCI.....	113

VIII LITERATURA.....	114
BIOGRAFIJA AUTORA.....	131
IZJAVE AUTORA:	
IZJAVA O AUTORSTVU	
IZJAVA O ISTOVETNOSTI ŠTAMPANOG I ELEKTRONSKOG OBLIKA DOKTORSKE DISERTACIJE	
IZJAVA O KORIŠĆENJU	

I UVOD

1.0. Reumatoidni artritis

Reumatoidni artritis (RA) je hronična, multisistemska, autoimunska bolest nepoznate etiologije. Prema aktuelnoj klasifikaciji reumatskih bolesti, Reumatoidni artritis spada u zapaljenske reumatske bolesti – podgrupu hroničnih artritisa, čija je glavna klinička karakteristika zapaljenje jednog ili više zglobova. U RA mogu biti zahvaćeni i periferni i korenski zglobovi, prevashodno diartrotični zglobovi, koji se sastoje od dva koštana zglobna okrajka, prekrivena hrskavicom, te zglobnog prostora koji je zatvoren i obložen unutrašnom ovojnicom, sinovijskom membranom i spoljašnjom ovojnicom - kapsulom zgloba. Sinovijska membrana u fiziološkim uslovima luči sinovijsku tečnost i služi kao medijum preko koga se vrši razmena hranljivih materija i degradacionih produkata metabolizma hrskavice. Unutrašnji sloj - intima sinovijske membrane se sastoji od fibroblasta koji stvaraju hijaluronan i lubricin, kao i makrofaga, koji su odgovorni za otklanjanje nepoželjnih supstanci iz sinovijske tečnosti, dok se subintima koja se nalazi između intime i kapsule sastoji iz spleta malih krvnih sudova, što je neophodno za ishranu sinovije, a indirektno i hrskavice. Bez obzira na poreklo procesa, osnova hroničnog artritisa je stalni zapaljenski proces koji zahvata sinovijsku membranu –sinovitis. U tom procesu nastupa zadebljanje sinovijske membrane, pojačano stvaranje sinovijske tečnosti, otežana razmene materija u zglobnom prostoru, te gladovanje i smrt ćelija hrskavice, oslobađanja proteolitičkih enzima iz fibroblasta i osteoklasta, koji dodatno oštećuju zglobne strukture, zatim nakupljanja i aktivacije mnogih ćelija zapaljenja, sa posledičnom kaskadnom reakcijom podsticanja i održavanja zapaljenske reakcije. Zadebljana, funkcionalno izmenjena sinovijska ovojnica, bogato naseljena aktiviranim zapaljenskim ćelijama se naziva panus, što je patološka tvorevina odgovorna za dalji hronicitet i agresivnost hroničnih artritisa [1,2]. Sinovitis se klinički manifestuje bolom, otokom zgloba, povišenjem toplote iznad zgloba, ograničenjem pokreta, a vremenom dovodi i do oštećenja svih struktura zgloba, hrskavice, kosti ispod hrskavice, tetiva i njihovih sinovijskih ovojnica, a i do kontrakture, atrofije obližnjih mišića (Slika 1)



Slika 1. Izgled normalnog zgloba (A) i patološke promene u hroničnom artritisu (B)

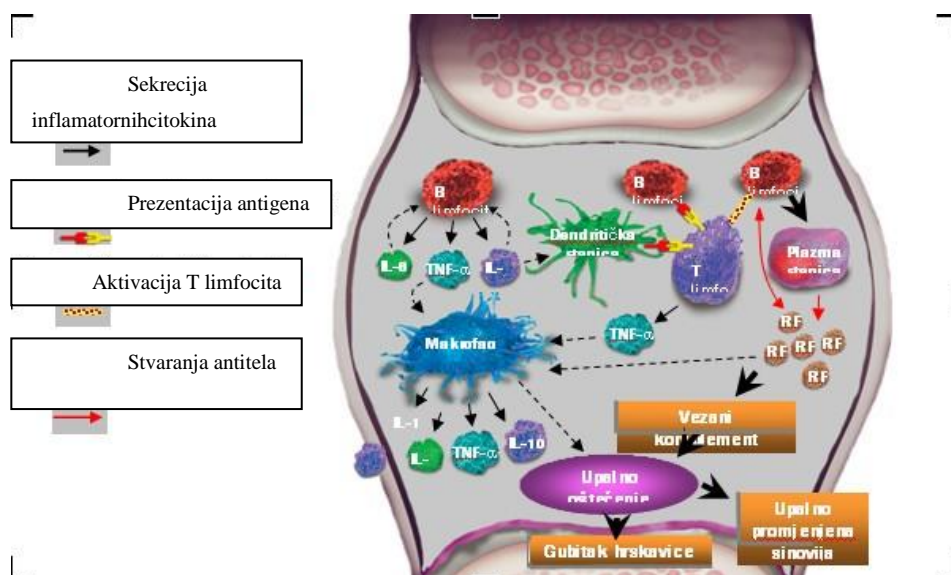
1.1 Etiologija i patogeneza reumatoidnog artritisa

S obzirom na posledice hroničnog sinovitisa, potraga za uzrocima nastanka ove bolesti traje decenijama unazad. Do sada nije identifikovan nijedan pojedinačni faktor koji je odgovoran za nastanak bolesti, ali mnogobrojne epidemiološke studije i genetska istraživanja su ukazala na procese koji su rezultat sadejstva faktora spoljašnje sredine i genetskih odlika pojedinaca, kao ključnih za početak hroničnog zapaljenja zglobova. Mnogi bolesnici početak bolesti povezuju sa neposrednom ili prethodno prisutnom infekcijom. Smatra se da infekcija može biti okidač bolesti, ali u prisustvu drugih faktora. U skorije vreme je otkrivena bakterija iz usne duplje (*Porphyromonas gingivalis*), koja poseduje enzime koji mogu uzrokovati citrulinaciju proteina, tako da je postavljena teorija da je prisustvo ove bakterije jedan od mogućih uzroka nastanka RA [3]. Pušenje cigareta je u istraživanjima mnogih istraživača dokazano kao značajan faktor [4], ali i niži obrazovni nivo, stres, ponavljajući pokreti, fizički napor kao deo profesije, prisustvo hroničnih bolesti srca, bubrega, alergije [5-7].

Tokom devedesetih godina XX veka otkrivene su neke od glavnih genetskih determinanti za nastanak RA, i to onih koje su odlučujući za prepoznavanje stranih antigena, fagocitovanih od strane antigen prezentujućih ćelija (APĆ) i razgrađenih u epitope, a to je klasa II glavnog histokompatibilnog kompleksa (MHCII), redosled aminokiselina u hipervarijabilnom regionu MHC klase II (HLA-DR4) predstavlja oko 30% genetskog rizika za nastanak bolesti [8]. Kompleks gena MHC klase II i antigen mogu pokrenuti aktivaciju T limfocita i kaskadu inflamatornih citokina, počev od interferona γ i interleukina 2 (IL 2), koji dalje aktiviraju ćelije monocitnomakrofagnog sistema, a ovi proizvode TNF α , IL1, IL6 i mnoštvo drugih citokina [9]. U krvi obolelih od RA su prisutna različita autoantitela, kao što je antitelo na Fc region IgG (reumatoidni faktor – RF), a od najvećeg značaja za dijagnozu i prognozu su antitela na proteine

koji sadrže atipičnu aminokiselinu citrulin (ACPA). Antitela stvaraju imunske komplekse koji aktiviraju komplement u sinoviji, pokreću i održavaju kaskadu zapaljenja[1].

Patogeneza RA uglavnom nije više nepoznanica i zasnovana je na imunskim ćelijama i njihovim interakcijama. Sinovijski T limfociti su glavne ćelije u započinjanju i održavanju zapaljenja, a makrofazi u efektorskim mehanizmima oštećenja tkiva [10]. Okupljenje T limfocita (podgrupa CD4+T Ly ili CD45R0+) u sinoviji je posredovano adhezionim molekulima na njihovoj površini i endotelijalnim receptorima na malim krvnim sudovima. Ova podgrupa TLy proliferiše u prisustvu autoantigena, a adhezivnost limfocita im zavisi od lokalno prisutnih hemotaksičnih faktora, vaskularne propustljivosti, brzine cirkulacije. Aktivirani TLy luči IL2, IFN γ , TNF α , IL4. B limfociti se aktiviraju u interakciji sa TLy, te postaju plazma ćelije koje proizvode autoantitela, aktivacijom makrofaga nastaju IL1, IL6, IL 8, GMCSF, prostaglandini, leukotrijeni [10]. Dejstvom IL1, IL6, TNF α aktiviraju se osteoklasti u okolozglobnoj kosti, te se na taj način, preko RANKL podstiče i razgradnja kosti [10-12] (Slika 2)



Slika 2. Imunske ćelije i medijatori zapaljenja u patogenezi RA

1.2. Klinička slika i dijagnoza reumatoidnog artritisa

Reumatoidni artritis je prisutan u celom svetu, kod ljudi svih rasa, 2-3 puta češće se javlja kod žena, nego kod muškaraca, ali se taj odnos smanjuje sa starošću. Incidencija bolesti je

najviša kod osoba uzrasta 35-50 godina, međutim, neretko se javlja i kod starijih. Početak bolesti je obično postepen i nespecifičan, uz nekad prisutne sistemske manifestacije kao što su umor, povišena temperatura, a redovno su prisutni klinički znaci artritisa: otok, bol, ograničena pokretljivost zgloba(ova), osećaj jutarnje ukočenosti u zglobovima dužeg trajanja (preko 1 h). U početku su obično simetrično zahvaćeni sitni zglobovi šaka i stopala, a širenje bolesti na druge zglobove se događa tokom više meseci ili godina. Mogu se javiti i vanzglobne manifestacije RA koje su izraz zapaljenja ili infiltracije panusnim tkivom nalik onom u sinoviji zgloba, u drugim tkivima, to su najčešće perikarditis, pleuritis, vaskulitisne promene kože, plućna fibroza i nodulusi, reumatoidni čvorići, episkleritis, mononeuritis multiplex. Tipični laboratorijski nalazi su ubrzana sedimentacija eritrocita, povišen C – reaktivni protein (CRP), leukocitoza, trombocitoza, snižen hemoglobin, serumsko gvožđe, a povišen feritin. Kod oko 70% bolesnika se nađe pozitivan RF, čija je specifičnost 85%, a ACPA ređe, ali je njihova specifičnost 95-97% [13]. Oštećenje zglobova nastaje već u prvoj godini od nastanka RA, tako da je danas rana dijagnoza i rano započinjanje lečenja imperativ za očuvanje funkcije zglobova. Inače, dosadašnje studije toka bolesti su pokazale da posle 5 godina nedovoljno dobro lečene bolesti 33% bolesnika nije sposobno za rad, a posle 10 godina 50% ima značajne funkcionalne deficite, te da je očekivani životni vek kod obolelih od RA za oko 5-10 godina kraći [12,14,15]. Ultrazvuk, magnetna rezonanca mogu rano u toku bolesti da detektuju oštećenje zglobova, tj. već u prvih tri do šest meseci od nastanka sinovitisa, a radiografija znatno kasnije [16].

Dugo godina su u upotrebi za klasifikaciju, a i dijagnozu RA bili kriterijumi American College of Rheumatology (ACR) iz 1987, modifikovani 1994, prema kojima je bilo potrebno da bolesnik ispuni 4/7 kriterijuma, te da kriterijumi 1-4 da traju duže od 6 nedelja- a to su bili jutarnja ukočenost duža od 1h, artritis najmanje 3 zgloba, artritis na šakama, simetričan, a tu su još bili i prisustvo reumatoidnih nodulusa, pozitivan RF, radiografski verifikovane promene na zglobnim okrajcima i okolozglobnoj kosti. Trenutno važeći dijagnostički kriterijumi su ACR/EULAR iz 2010. Definitivna dijagnoza RA se može postaviti kada je ukupni ACR/EULAR zbir ≥ 6 (Tabela 1).

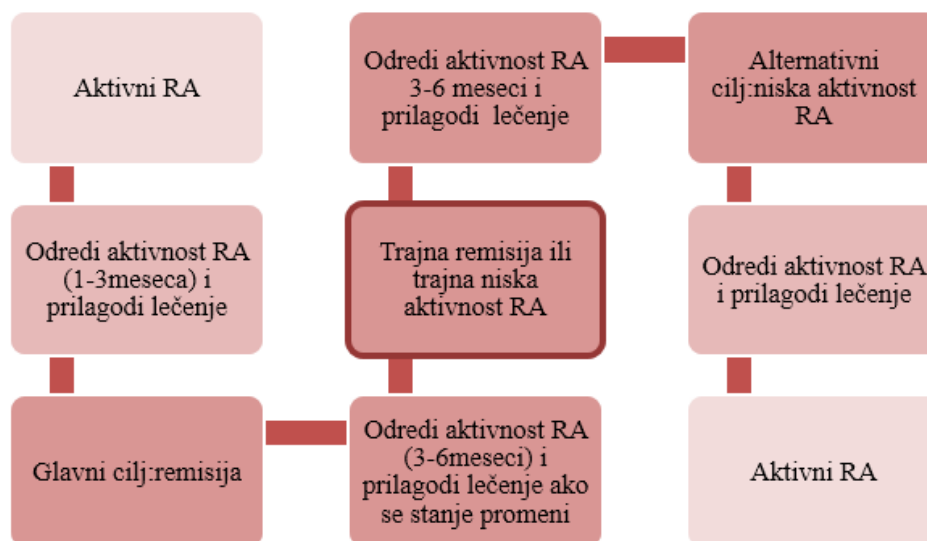
Tabela 1.2010 ACR/EULAR kriterijumi za klasifikaciju reumatoidnog artritisa [17]

1.Zahvaćenost zglobova	1 zglob srednje veličine	0
	2-10 zglobova srednje veličine	1
	1-3 mala zglobova	2
	4-10 malih zglobova	3
	>10 malih zglobova	5
2.Trajanje sinovitisa	<6 nedelja	0
	>6 nedelja	1
3.Reaktanti akutne faze	Normalne vrednosti SE i CRP	0
	Patološke vrednosti SE ili CRP	1
4.Serologija	RF ili ACPA negativna	0
	RF i/ili ACPA pozitivni u niskom titru (do 3x iznad gornje granice normalnih vrednosti)	2
	RF i/ili ACPA pozitivni u visokom titru (preko 3x iznad gornje granice normalnih vrednosti)	3

1.4. Lečenje reumatoidnog artritisa

Aktuelno se lečenju RA pristupa po principu „treat to target“ ili „lečenje prema cilju“, primenjujući sredstva (sintetske, biološkelekovski koji menjaju tok bolesti i glikokortikoide) i proces (redovne procene aktivnosti RA, složenim indeksima kao što je DAS28) koji za cilj imaju kliničku remisiju bolesti, a to je DAS28 ispod 2,6, alternativno niska aktivnost bolesti, tj. DAS28 ispod 3,2, kao i zaustavljanje radiografskih promena. Cilj se može postići samo adekvatnim lečenjem zapaljenja zglobova, a algoritam za uključivanje sintetskih ili bioloških lekova je zasnovan na medicini zasnovanoj na dokazima i sastoji se od trofaznog, stepenastog uključivanja mono ili kombinovane terapije sintetskim i biološkim LMTBsa ili bez glikokortikoida (GK). Terapijski režim treba podešavati najmanje tromesečno, prelazeći faze 1-3, dok se postigne cilj. Deo svakog terapijskog plana je primena metotreksata (10-25mg nedeljno uz folnu kiselinu), zbog visoke efikasnosti i relativno brzog dejstva, a u slučaju netolerancije ili neuspeha, uključuju

se i drugi LMTB. Kodoko 30% RA bolesnika ima potrebe da se u nekoj fazi bolestiuključiti i neki od bioloških LMTB (proteinski molekuli usmereni na neutralizaciju ili blokiranje dejstva pojedinih proinflamatornih citokina), kao i lek koji blokira aktivnost intracelularnih signalnih puteva odgovornih za održanje zapaljenja u RA (inhibitor janus kinaze 3 - JAK3).Preporuka je da se glikokortikoidiprimenjuju vremenski ograničeno, do oko 6 meseci, kako u lečenju ranog, tako i dugotrajnog RA, što u svakodnevnoj praksi često nije slučaj. Neželjeni efekti dugotrajnog lečenja čak i malim dozama glikokortikoida (<7,5mg/dnevno), kao što su oportunističke infekcije, povećanje telesne težine i arterijskog pritiska, steroidni dijabetes, preraspodela masnih naslaga, osteoporoza i prelomi,krvarenje u digestivnom sistemu, glaukom su razlog da se koriste kao terapija premošćevanja, privremeno, tj dok drugi lekovi ne postignu optimum dejstva. Glikokortikoidi se primenjuju i lokalno u zglob. Kada se cilj lečenja RA postigne, aktivnost bolesti treba pratiti na 3-6 meseci, terapijski režim ne menjati dok ne dođe do pogoršanja, tj povećanja aktivnosti bolesti. U slučaju dugotrajne stabilne remisije, doze sintetskih i bioloških lekova se mogu i smanjivati, a i isključivati.[18-20](Slika 3).



Adaptirano prema Smolen J, et al. Ann Rheum Dis 2010; 69: 631-637.

Slika 3. Šema aktuelne strategije lečenja RA – lečenje prema cilju adaptirano prema Smolen J, et al. Ann rheum Dis 2010;69:631-637.[20]

Preporuke za lečenje RA su zasnovane na rezultatima sistematskog pregleda literature, ekspertskih mišljenja, podataka dobijenih iz nacionalnih registara obolelih od reumatoidnog artritisa [21]. U nastojanju da se objedine i upotrebljavaju najkompletnije i najnovije informacije

što se tiče efikasnosti i bezbednosti sintetičkih i bioloških LMTB, zdravstveno-ekonomskih razmatranja, preporuke se dopunjuju svakih godinu-dve. Lečenje RA je prošlo kroz dramatične promene tokom poslednje dve decenije, koje se može sumirati u 5 ključnih tačaka: a) razvoj i primenu pouzdanih mera aktivnosti RA u kliničkim istraživanjima i svakodnevnoj praksi; b) shvatanje značaja rane dijagnoze i ranog započinjanja lečenja sintetičkim LMTB sa ili bez KS; c) prepoznavanje neophodnosti zaustavljanja ili bar umanjivanja strukturnih promena u zglobovima, osim postizanja dobrog kliničkog stanja RA; d) potvrđivanje MTX kao ključnog leka, imajući u vidu najnovija saznanja u vezi optimalnog doziranja, ordiniranja, dodavanja folata; e) razvoj, registracija i primena novih terapija – ciljanih bioloških i ciljanih sintetičkih LMTB. Aktuelne preporuke se sastoje od dopunjenih, proširenih i reformulisanih sveobuhvatnih principa, kojih je četiri i deset preporuka za lečenje RA iz 2010. odn. 2013. [22] koji bi trebalo da obezbede optimalni ishod najčešće doživotnog lečenja ove bolesti. Treba istaći sveobuhvatne principe, jer kvalitativno doprinose pristupu lečenju RA. Prvi princip ističe značaj zajedničkog odlučivanja pacijenta i reumatologa, u vezi lečenja RA, proisteklo iz saznanja da se samo dobro informisan pacijent pridržava terapije, ni najmoćniji lekovi za lečenje RA neće dati optimalan ishod kod nekomplijantne primene [23], drugi princip koji navodi kao cilj lečenja i dugoročno povećanje kvaliteta života obolelog od RA, prevenciju strukturnih promena i povećanje učešća u socijalnim i radnim aktivnostima [24]. Treći princip ističe da je prekid zapaljenja najvažniji uslov bez koga se ne mogu postići ciljevi lečenja, te četvrti princip koji potvrđuje da lečenje prema cilju – remisiji ($DAS28 < 2,6$) ili niskoj aktivnosti RA ($DAS28 < 3,2$) i podešavanje lečenja prema tome u mesečnim, tromesečnim, šestomesečnim intervalima, dovodi do dugoročno najboljeg ishoda RA.

Najranije moguće započinjanje MTX kao „leka koji menja tok bolesti“ nakon postavljanja dijagnoze RA je apsolutni imperativ (izuzetak su samo kontraindikacije za MTX- alergija, teške bolesti jetre i bubrega, rano ispoljavanje toksičnosti-tokom prvih 6 nedelja primene). MTX je efikasan u smislu smanjenja zapaljenja, aktivnosti bolesti, poboljšanja funkcijskog stanja, usporavanja radiografske progresije zglobnih oštećenja, jeftin je i nisko toksičan [25,26]. MTX u početnoj dozi od 15mg oralno nedeljno, sa mesečnim povećanjem doze za 5mg, do 25-30mg ili do najviše podnošljive doze, uz prevođenje na parenteralnu primenu leka, u slučaju nedovoljne efikasnosti pri oralnoj primeni, predstavlja optimalni način upotrebe ovog leka, prema medicini zasnovanoj na dokazima [25]. MTX je efikasniji u lečenju RA od

leflunomida, sulfasalazina i antimalarika, a efikasniji je kao početna monoterapija, u odnosu na početnu kombinovanu terapiju sa tri sLMTB, kako u simptomatskom, tako i strukturnom smislu. Preporučuje se dodavanje drugog i trećeg sLMTB, u skladu sa T2T principom, radije nego početna kombinovana sLMTB terapija [27]. Kombinacija MTX sa visokim dozama GK sa brzim smanjenjem (COBRA trial) ili niskim dozama, kroz duži vremenski priod (do 10mg prednizona) se preporučuje na početku lečenja. Potonja kombinacija je u CAMERA II studiji pokazala bolju kontrolu simptoma, brže postizanje remisije i sporiju radiografsku progresiju bolesti, ređu potrebu za kombinovanom terapijom sa sLMTB ili bLMTB, nakon 2 godine praćenja [28]. Metabolički i mnogi drugi neželjeni događaji ograničavaju dugotrajnu GK terapiju, mada za doze ispod 7,5 mg prednizona dnevno, nisu istaknute neprihvatljive neželjene pojave, a EULAR je formirao preporuke za prevenciju GK indukovanih neželjenih događaja [29,30], kao i preporuke za praćenje i rano otkrivanje istih [31]. Bioraspoloživost parenteralnog MTX je veća za oko 25% u odnosu na oralni oblik, a observacione studije su pokazale da je gastrointestinalna podnošljivost ovog oblika bolja [32]. Toksičnost MTXa se prevenira davanjem folne kiseline, u dozi od 5mg nedeljno oralno, sutradan posle MTX [33]. Za pacijente kod kojih se ne postigne cilj nakon tri do šest meseci lečenja, kombinovana terapija sa sLMTB ili bLMTB je sledeći korak. U zavisnosti od prisustva/odsustva pokazatelja loše prognoze bolesti (vrlo visoka aktivnost bolesti, visoka RF ili ACPA pozitivnost, rani znaci oštećenja zglobova i funkcionalne nesposobnosti) odlučuje se koja će se kombinacija započeti, a bLMTB se dodaju u slučaju prisustva pokazatelja loše prognoze bolesti. I u ovoj fazi se mogu ograničeno (do 6 meseci, uz još raniju redukciju dnevne doze) primeniti GK. Razvoj ciljanih terapija kao što su bLMTB, koji ciljano neutrališu određene signalne molekule od značaja u održavanju zapljenja ili njihove receptore, značajno je unapredilo lečenje RA tokom poslednjih godina. Za deo bolesnika koji nepotpuno odgovore na sLMTB, dodavanje lekova iz grupe antagonista inflamatornih citokina, signalnih molekula- $TNF\alpha$, IL6, inhibitora signalakostimulacije T γ ili anti CD20 je put kojim se postiže i održava stanje kliničke remisije RA. Zamena bLMTB drugim lekom iz iste grupe ili lekom sa drugim mehanizmom delovanja je moguća u slučaju izostanka efekta prethodne kombinacije i dodatno povećava broj pacijenata koji postižu dobru kontrolu bolesti prema T2T strategiji [21]. Za sve klase bLMTB je pokazano da su efikasniji u kombinaciji sa MTX u odnosu na bLMTB monoterapiju. U slučaju tocilizumaba - monoklonskog antitela na receptor IL6 pokazano je da u smislu smanjenja DAS28 ima bolji efekat od MTXa, ali ne i na poboljšanje

funkcijskog stanja i radiografsku progresiju bolesti [26]. Za ciljani sintetički - tsLMTB tofacitinib koji je antagonist signalnog molekula Janus kinaze za sada imamo podatke iz kliničkih istraživanja faze 3, u kojima se tofacitinib oralno pokazao efikasnim u kliničkom i strukturnom smislu, kako u ranom RA, kod MTX naivnih, tako i u kasnom RA, tj. u neadekvatnom odgovoru na prethodno lečenje MTX, uz povoljan profil bezbednosti [34, 35]. Klinički odgovor se može očuvati i nakon smanjenja doze ili prekida bLMTB [36]. Što se bezbednosti tiče, primena bLMTB u poređenju sa sLMTB specijalno anti TNF α je povezana sa većom učestalošću tuberkuloze, ozbiljnih bakterijskih infekcija, a i herpes zoster [37]. Rizik od maligniteta, limfoma i nemalanomskih maligniteta kože nije povećan pri primeni bLMTB iz grupe inhibitora TNF α . Rizik od pojave melanoma kod bolesnika lečenih anti TNF α je pokazan u jednoj studiji [38]. Da li je zaista bezbedno primeniti rituximab (anti CD20) kod bolesnika koji u anamnezi imaju malignu bolest i da li je bezbedno dati bLMTB sa drugim mehanizmom dejstva kod bolesnika koji je tokom ili nakon primene bLMTB oboleo od maligniteta su pitanja koja ostaju za sada bez odgovora [37-40].

1.5. Komplikacije RA i sveukupni teret bolesti

Zapaljenje sinovije diartrotičnih zglobova je najupadljivija klinička manifestacija RA, a kod dela obolelih su prisutne i vanzglobne manifestacije bolesti (intersticijumska bolest pluća, oboljenje očnih ovojnica, vaskulitisne manifestacije na koži i visceralnim organima, reumatoidni čvorići). Modernim lečenjem RA je poboljšana ishod ove hronične zapaljenske bolesti [41,42], ali oboleli od RA imaju kraći životni vek od opšte populacije, a najčešći uzrok prevremene smrti su kardiovaskularne bolesti (KVB), nezavisne od prisustva klasičnih faktora rizika za KVB, a rizik za nastanak infarkta miokarda je jednak onom koji je prisutan u diabetes mellitusu i iznosi 1,6 u poređenju sa opštom populacijom [43]. Sistemsko zapaljenje uzrokuje metabolički milje koji je proaterogeni, sa smanjenjem nivoa frakcija HDL holesterola, između ostalih efekata koje vode ubrzanoj arteriosklerozi [44].

Snižavanje koštane mineralne gustine (KMG), tj. disbalans u koštanoj pregradnji sa dominacijom resorpcije, uzrokovano hroničnim zapaljenjem i imobilizacijom u RA, predstavlja faktor rizika nezavisan od apsolutne vrednosti KMG za nastanak osteoporoze i osteoporotičnog preloma [45]. Čak i u eri sLMTB i bLMTB, upotreba GK u lečenju RA bolesnika je česta - kod

38%, a udružen negativan uticaj GK, prisutan i pri dozi od 5mg prednizona dnevno, vodi ka dodatnom povećanju rizika za prelom kosti kod ovih bolesnika [46].

Mišićno tkivo trpi promene u hroničnom zapaljenju tj. prekompoziciju i to ne samo zbog smanjenja pokretljivosti, koja je delimično i posledica sarkopenije (smanjenja mišićne mase) izazvane hroničnim zapaljenjem. Analizom ukupnog telesnog sastava pomoću DXA, pokazano je da kod RA bolesnika u poređenju sa opštom populacijom postoji smanjenje mišićne mase i povećanja udela masnog tkiva kod oba pola, pri čemu je kod muškog pola razlika u odnosu na opštu populaciju izraženija, razlika je 8x veća, nego kod žena [47]. Za sada nemamo jasne kliničke kriterijume koji je to nivo sniženja mišićne mase koji je značajan, da bi eventualno prema tome usmerili i terapijske mere, ali u individualnom smislu svaka dekompozicija mišića ima uticaja na funkcijsko stanje obolelog, jer direktno dovodi do smanjenje njihove snage i funkcije, sveukupne nesposobnosti. Kompjuterizovana tomografija mišića kod RA bolesnika je pokazala i masnu infiltraciju ovih tkiva [48,49].

Osećaj zamora je visoko zastupljeno kod obolelih od RA (40-80%) i jedan je od važnijih uzroka sniženog kvaliteta života, koji utiče na radnu sposobnost, emocionalno, socijalno funkcionisanje. Kod dela bolesnika (1/3) je prisutan, iako se lečenjem postigne potpuna kontrola zapaljenja [50,51]. Etiologija ovog osećanja koje bolesnici razlikuju od umora nastalog nakon psihičkog i fizičkog rada je multifaktorijalna i verovatno povezana i sa zapaljenjem, kao i bolom, kognicijom, karakteristikama ličnosti obolelog. Bolesnici zamor u RA opisuju kao stalnu i sveobuhvatnu iscrpljenost, nedostatak energije, koncentracije, koja je prisutna i nakon odmora i spavanja [52]. Pomenuti osećaj je visoko subjektivan i varira od osobe do osobe. Svakako da je delimično posredovan inflamatornim citokinima, jer je pokazano da antiTNF α i anti IL6 terapija dovodi do klinički značajnog smanjenja osećanja zamora [53-55]. Smanjenje zamora nakon uspešnog lečenja RA nije povezano sa osnovnim nivoom zapaljenja, bola ili aktivnosti bolesti, kao ni sa sistemskim reakcijama na zapaljenje, kao što je anemija [56]. S obzirom na uticaj koji ima na obolelog, redukcija zamora mora biti potpuno ravnopravan cilj lečenja, kao i smanjenje zapaljenja [57]. Psihometrijska testiranja su pokazala da i kognitivne funkcije takođe mogu biti umanjene u RA, a kognitivni deficit se popravljaju pri uspešnom lečenju sLMTB i/ili bLMTB. Kompleksna povezanost kognicije sa aktivnošću bolesti i zamorom je istraživana i u PET i MR studijama centralnog nervnog sistema obolelih od RA [58]. Depresija i anksioznost su češće zastupljeni u RA, nego u opštoj populaciji. U novijoj meta-analizi pokazana je prevalenca od

16,8%, na osnovu psihijatrijskog intervjua, uz uticaj na odgovor na terapiju RA, lošiji ishod bolesti [59,60].

Zapaženo je da funkcijska sposobnost obolelih od RA opada sa trajanjem bolesti, uprkos aktivnom lečenju—procenjeno na 0,031/godišnje ili 1% od maksimalne nesposobnosti procenjene HAQ-DI upitnikom [61]. I rani i dugotrajni RA značajno poboljšavaju funkcijski status nakon započinjanja lečenja sLMTB i/ili bLMTB, kao i njihovom kombinacijom sa GK [62,63].

Radna sposobnost u RA je značajno smanjena, procenjuje se da čak 50% bolesnika nakon 10 godina trajanja nedovoljno uspešno lečene bolesti, nije radno sposobno, a u kraćem trajanju RA radna produktivnost je umanjena za 20% kod muškaraca, odnosno 25% kod žena u odnosu na osobe bez artritisa [12,14]. Puna zaposlenost i redovno zarađivanje značajno poboljšava kvalitet života obolelog od RA [23,61].

Multidimenzijalni uticaj RA na bolesnika sa RA zahteva i multidimenzijalni pristup pri lečenju, bazirano na moćnim lekovima kojima možemo uticati na zapaljenje, a posvećenost lečenju zamora, poboljšanju kvaliteta života je otvoren prostor u kome ima mesta i za ispoljavanje kapaciteta drugih terapijskih opcija, osim sLMTB, bLMTB, GK.

2.0. Vitamin D danas

Danas imamo jasne dokaze da je molekul koji je otkriven pre oko jednog veka i nazvan vitaminom D, ustvari steroidni hormon koji ostvaruje uticaj na gotovo sve ćelije organizma. Imajući u vidu definiciju vitamina (vitalnih amina) kao „ hemijskih supstanci poreklom iz hrane, koje su u vrlo malim količinama neophodne za metabolizam živog organizma, čiji nedovoljni unos dovodi do bolesti nedostatka vitamina“, a da je za sintezu biološki aktivnog vitamina D potreban unos specifičnog molekula - prekursora koji kroz složene i endokrino regulisane procese transformacije i sam stekne sposobnost endokrinog, parakrinog i autokrinog dejstva, potpuno je jasno da vitamin D ne ispunjava kriterijume definicije vitamina, već da ovaj visoko biološki aktivan molekul ima karakteristike hormona D (definisana kao hemijska supstanca sintetisana u jednom delu tela, koja ostvaruje svoje dejstvo modulacijom funkcijske aktivnosti u drugom delu istog) [64]. Osim regulacije homeostaze kalcijuma i koštane pregradnje, hormon D ima i antiproliferativna, pro diferentitativna, antibakterijska, imunomodulatorna i antizapaljenska svojstva koja ostvaruje preko specifičnog vitamin D nuklearnog receptora (VDR) u mnogim

ćelijama i tkivima [65-66]. Otkriće imunomodulatornog i antitumorskog dejstva hormona D je pokrenulo istraživanja moguće terapijske primene u raznim autoimunskim i malignim bolestima [67-68]. Tokom poslednjih decenija sintetisano je i ispitivano preko 3000 hormon D analoga, tj. VDR agonista sa istim ili čak jačim antizapaljenskim osobinama, a sa manjim kapacitetom za povećanje serumskog kalcijuma [69].

2.1. Vitamin D ili hormon D?

Prema najnovijim saznanjima o sintezi hormona D, ova supstanca je jedan od članova grupe steroidnih molekula tzv. sekosteroida, sa karakterističnom prstenastom strukturom, koja nastaje iz holekalciferola u slučaju hormona D, a iz holesterola u slučaju drugih steroidnih hormona [70]. Prehormon, tj holekalciferol mora biti unesen u organizam hranom ili nastati u koži pod dejstvom ultravioletnih B zraka iz 7- dehidroholesterola. Potom se u jetri, dejstvom 25 hidroksilaza, među kojima je najpotentnija CYP2R1, obavlja hidroksilacija ugljenika na poziciji 25, te nastane kalcidiol tj. 25 -hidroksivitamin D 3, koji je najstabilniji i najprisutniji metabolit u serumu, zato služi kao indikator unosa vitamina D, bilo hranom, bilo suplementima, a nema gotovo nikakvu biološku aktivnost u telu. Kalcidiol se zatim transportuje krvotokom u proksimalne tubule bubrega gde nastupa hidroksilacija ugljenika na 1 α poziciji, pod dejstvom enzima 25 - hidroksivitamin D 1 α hidroksilaze (CYP27B1), te nastaje hormon D, kalcitriol. Godinama se smatralo da ovaj molekul ima samo funkciju u regulaciji metabolizma kalcijuma, no danas znamo da se mnogim ćelijama i tkivima može da ispoljiti aktivnost 1 α hidroksilaze, te lokalno sintetisati hormon D [71]. Hormon D prisutan u serumu ili lokalno sintetisan ima endokrina, parakrina i autokrina dejstva i služi kao veza između vanćelijskih podsticaja i genomskih odgovora ćelija [72]. Merenje kalcitriola u serumu je neinformativno, jer ne pruža gotovo nikakav uvid u njegov tkivni status, uz to ima i veoma kratak poluživot i striktnu regulaciju nivoom serumskog kalcijuma i parathormona (PTH). Određivanje kalcidiola koje je standardizovano, može prikazati odnos između unosa prekursora i njihovog iskorišćavanja za sintezu hormona D u proksimalnim tubulima bubrega i lokalno u tkivima, kao što se na primer događa u imunskim ćelijama u stanjima hronične inflamacije. Ovo može biti objašnjenje za brojne kliničke i epidemiološke nalaze povezanosti između nedostatka vitamina D i povećane incidence autoimunih i malignih bolesti [73-74].

2.2. Vitamin D receptor (VDR): genetski i epigenetski efekti hormona D

Steroidni hormoni su među osnovnim signalnim molekulima u prirodi, odgovorni za regulaciju reprodukcije, razvoja, metabolizam i uopšte za odgovore organizma na spoljne uticaje [75]. Vitamin D receptor je kloniran i okarakterisan kao specifičan za kalcitriol- hormon D posle oko 20 godina istraživanja na tom polju. Pripada porodici nuklearnih receptora odgovornih za signalne puteve steroidnih hormona, kao što su receptori za estrogen, androgene, glikokortikoide itd. Ova porodica receptora ima osobinu da se nakon povezivanja sa svojim agonistom vezuje za hromatin u ćelijskom jedru, te uzrokuje njegovo remodelovanje, epigenetsku modifikaciju, recikliranje receptora, ekspresiju gena i na kraju sintezu proteina. [76]. Pokazano je da kalcitriol i VDR agonisti imaju izrazit i specifičan afinitet za VDR, a kompleks nastao povezivanjem VDR i VDR agonista deluje kao transkripcioni faktor u jedru, te direktno ili indirektno kontroliše više od 2000 gena [77-79]. Na ovaj način se ostvaruje dejstvo hormona D na metabolizam kalcijuma, a i ostalo uključujući i imunomodulatorno dejstvo [80]. Gen za VDR se nalazi na hromozomu 12, najveću ekspresiju ima u bubrežnom tkivu, u kosti, ali i u gotovo svim od 250 tkiva ljudskog organizma. VDR protein u citosolu je povezan sa visokoenergetskim molekulima plazma membrana i odgovoran je za neke od brzih aktivnosti kalcitriola, kao što je ulazak jona kalcijuma u ćeliju [81]. Ćelijsko jedro se sastoji od genetskog materijala - dezoksiribonukleinske kiseline (DNK) i nukleozoma, tj hromatina. Hromatin štiti DNK od kontakta sa proteinima koji bi se mogli vezati za DNK, tj. sa genetskim materijalom. Epigenetska modifikacija podrazumeva nasledno determinisane izmene DNK, na osnovu reverzibilne posttranslacione modifikacije proteina histona, koordinirano određenim koregulatornim proteinima i enzimima, što dovodi do lokalnog otvaranja hromatina i aktivacije delova genetskog materijala, transkripcije i sinteze proteina. Regulacija gena pod uticajem VDR i VDR agonist kompleksa se odvija acetilacijom histona i metilacijom DNK, što ukazuje da su prirodni - kalcitriol, a i sintetski VDR agonisti moćni genetski i epigenetski regulatori, te stoga i terapijski poželjni u mnogim zapaljenskim i malignim bolestima [82-85].

2.3. VDR agonisti

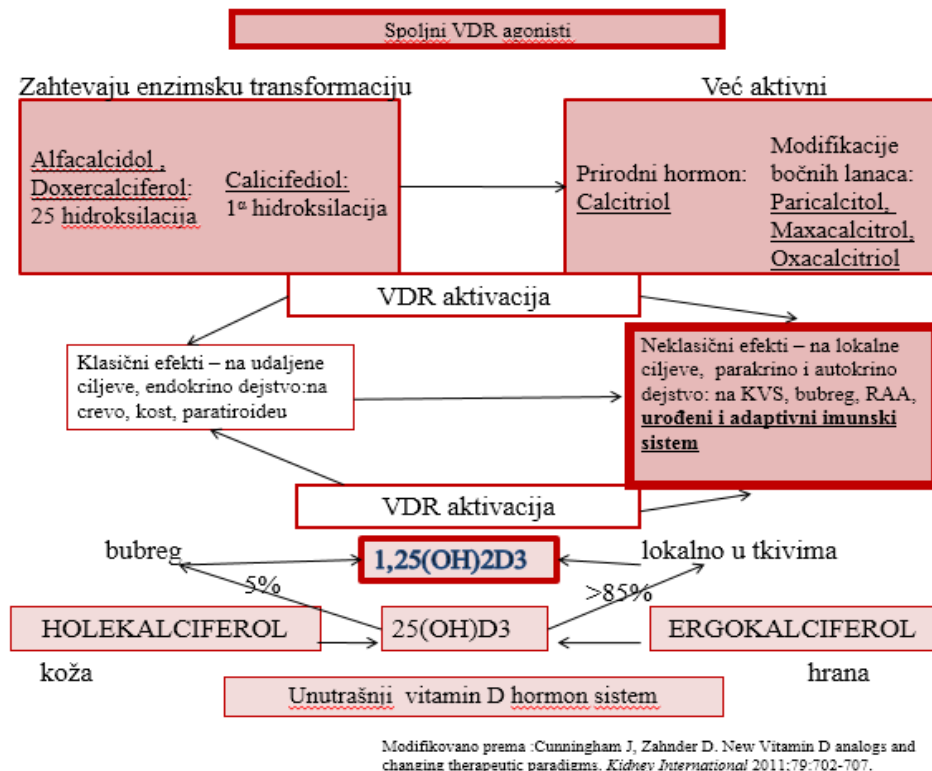
Ostvarivanje pomenutih genetskih i epigenetskih dejstava zahteva visoke koncentracije hormona D u ćelijama i tkivima. Upotreba prekursora holekalciferola ili kalcitriola da bi se ovo postiglo dovodi do hiperkalcemije kao neželjenog dejstva. Razvoj VDR agonista je u fokusu

mnogih farmaceutskih kompanija da bi se prevazišao problem, a baziran je na poznavanju specifičnosti biohemijskih mehanizama povezivanja VDR i liganda tj. kalcitriola ili VDR agonista. Prirodni ligand se vezuje povezivanjem svoje tri hidroksi grupe za par amino kiselina unutar tercijerne strukture određenog dela VDR, čime se postiže stabilizacija istog. To je razlog što oni VDR agonisti koji imaju OH grupu na 1 α ugljenikovom atomu imaju najveći afinitet za povezivanje sa VDR [86,79]. Većina VDR agonista ima manje izmene na bočnim lancima, a zadržanu sekosteroidnu strukturu kalcitriola. Konvencionalno se dele na steroidne, semisetroidne i nesteroidne VDR agoniste. Alfakalcidol je sintetski dobijen molekul, identičan kalcitriolu, osim odsustva hidroksi grupe na 25 C atomu i spada u grupu steroidnih VDR agonista. Mnoštvo eksperimentalnih studija je istraživalo preventivne i terapijske mogućnosti VDR agonista u životinjskim modelima sistemskog eritemskog lupusa, eksperimentalnog alergijskog encefalomijelitisa, artritisa indukovanog kolagenom, Lyme artritisa, autoimunog dijabetes mellitusa, inflamatornih bolesti creva [87-94]. Alfakalcidol je pokazao povoljan efekat na aktivnost bolesti i imunoregulaciju kod obolelih od aktivnog Reumatoidnog artritisa, a pokazano je da dejstvo na produkciju inflamatornih citokina ostvaruje i bez 25 hidroksilacije [69,95-97]. Kao lek, već godinama je registrovan i uspešno se koristi u lečenju primarne i glikokortikoidima izazvane osteoporoze.

2.4. VDR agonisti i zapaljenje

Otkriće vitamin D receptora (VDR) u ćelijama imunog sistema i činjenice da neke od tih ćelije proizvode vitamin D hormon, su ukazali da bi vitamin D mogao imati imunoregulatorna svojstva. Makrofazi i dendritične ćelije (antigen prezentujuće ćelije) nakon stimulacije proinflamatornim signalima kao što su RANKL ili interferon γ , aktivno sintetišu kalcitriol iz kalcidiola [98]. Ovo nam ukazuje da je hormon D prirodno predodređen da bude imunoregulator, ostvarujući to kroz citokinski tip delovanja, a pošto značajno utiče na fenotip i funkciju APĆ, sasvim je izvesno da ima fiziološku ulogu kontrolora imunskog odgovora i tolerancije na sopstvene antigene [99]. U monocitima i makrofazima hormon D i VDR agonisti pozitivno regulišu sopstvenu aktivnost povećavajući ekspresiju VDR i α hidroksilaze. Hormon D ima i antimikrobno dejstvo, stimulišući proliferaciju monocita i povećavajući sintezu IL 1 i katelicidina- podržavajući na taj način urođeni imunski odgovor. Smanjuje produkciju IL12, a podržava produkciju IL10, blokira proliferaciju B ćelija, kao i diferencijaciju u plazma ćelije,

produkciju imunoglobulina [100,101]. Najnovija istraživanja antizapaljenskih efekata VDR agonista su pokazala i da izazivaju supresiju COX2 enzima, te time snižavaju i sintezu prostaglandina (PG), a smanjiju i broj receptora za PG [58]. VDR agonisti prvenstveno inhibiraju diferencijaciju dendritičnih ćelija i patogene proinflamatorne T ćelije, kao što su Th1 i Th17 ćelije, a pod odgovarajućim uslovima, izgleda da oni potpomažu modulaciju ka Th2 ćelijskom odgovoru, uticajem na CD4+ naivne T ćelije. Pored toga, $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ tj. hormon D indukuje dve vrste ćelija, Foxp+ T regulatorne ćelije (Tregs) i prirodne T ćelije ubice; indukcija ovih regulatornih ćelija i direktna inhibicija Th1 ćelija su mehanizmi putem kojih hormon D potiskuje eksperimentalnu autoimunost. Th2 ćelije takođe mogu biti pod uticajem VDR agonista, ali to zavisi od statusa njihove aktivacije i diferencijacije [102,103]. Hormon D ima ne samo centralnu ulogu u metabolizmu kostiju i kalcijuma, već i značajan opšti uticaj na ćelijsku proliferaciju i diferencijaciju. Štaviše, hormon D se ponaša kao parakrini faktor u imunom sistemu i ima moćno dejstvo na sve ćelijske komponente imunskog sistema. Ovo je potvrđeno za mnoge sintetičke VDR agoniste u in vitro i in vivo eksperimentalnim studijama, u kojima su anti zapaljenske mogućnosti VDR agonista dale povoljan preventivni ili terapijski efekat na životinjskim modelima hroničnih zapaljenskih bolesti. S obzirom da se glikokortikoidi, kao sintetski analozi prirodnih steroida, uprkos neselektivnosti i brojnim neželjenim efektima, decenijama upotrebljavaju kao moćni imunosupresivni agensi, a da kalcitriol i VDR agonisti imaju dobro naučno dokumentovan selektivni antizapaljenski potencijal, nema razloga da se ne započene i opsežnije istraživanje njihove primene u hroničnim zapaljenskim bolestima, kao što je reumatoidni artritis. Šematski pregled nekih od vitamin D analoga koji su u upotrebi dat je na slici 4.



Slika 4. Aktivacija vitamin D receptora: VDR agonistima kao što su analogi vitamina D ili unutrašnjim vitamin D hormonskim sistemom koji endokrino, u bubregu ili parakrino/autokrino, u lokalnim tkivima proizvodi hormon [104]

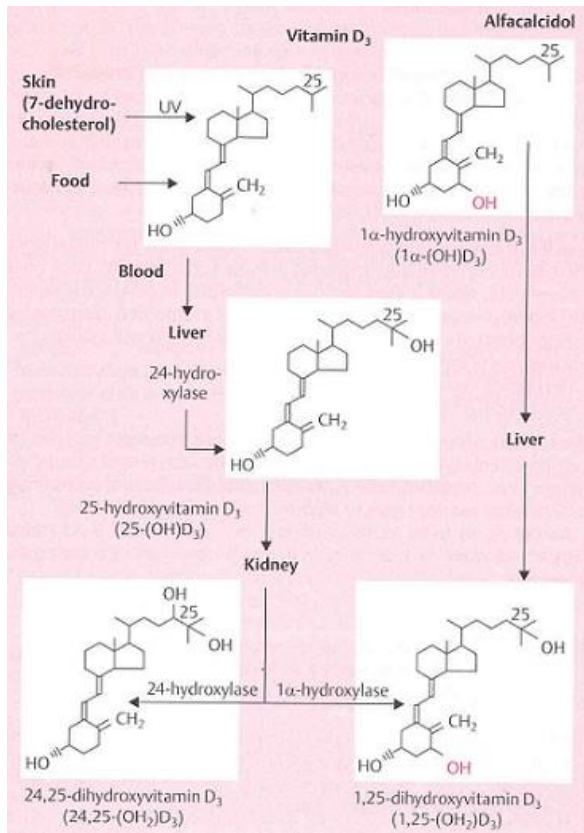
2.5. VDR agonist alfakalcidol – aktuelna i potencijalna terapija u reumatologiji

Alfakalcidol je više od 20 godina u upotrebi u kliničkoj praksi u primarnoj i naročito u glikokortikoidima izazvanoj osteoporozi. Meta-analiza studija korišćenja alfakalcidola u primarnoj osteoporozi je pokazala povoljan efekat na porast koštane mineralne gustine i smanjenje učestalosti preloma pršljenova (-47%) u poređenju sa placebo ili samo supstitucijom kalcijumom [105-106]. Trogodišnja studija poređenja efekta 1µg alfakalcidola ili 1000 IU holecalfiferola uz supstituciju kalcijumom, kod osoba na dugogodišnjoj terapiji glikokortikoidima i dijagnostikovanom osteoporozom, pokazala je značajno veće povećanje koštane mineralne gustine na lumbalnoj kičmi (+2,4% vs -0,8%), na kuku (+1,2% vs +0,8%) i značajno veće smanjenje učestalosti vertebralnih i nevertebralnih preloma (RR 0,52) kod ispitanika tretiranih alfakalcidolom [107]. Niski nivo D-hormona u prisustvu punog statusa

serumskog 25(OH)D₃- kalcidiola, takozvani “sindrom niskog nivoa D-hormona” predstavlja poseban entitet sa više uzroka, koji koče aktivnost α hidroksilaze (starost preko 65 godina, nizak klirens kreatinina, hronične inflamatorne bolesti, hronično lečenje glikokortikoidima, stanje posle transplantacije organa), može se prevazići upotrebom VDR agonista sa OH grupom na 1 α poziciji (Slika 5). Potvrđeno je da su nizak nivo D-hormona (1,25(OH)₂D₃) u serumu i/ili na nivou receptora i smanjen broj i aktivnost receptora vitamina D-hormona (VDR) faktori rizika za padove. Sindrom niskog nivoa D-hormona, nezavisno od etiologije i nedostatak VDR zahtevaju tretman VDR agonistima kao što je alfakalcidol, snabdeavaju ciljne organe sa višim nivoima D-hormona, jer su sposobni da aktiviraju VDR [64]. Oboleli od reumatoidnog artritisa, osteopenije i oni sa normalnim nivoom vitamina D (49-59nmol / L), koji su dobijali dnevnu dozu 1mcg alfakalcidola, pokazali su značajan porast mišićne snage (60%), u poređenju sa samo 16% povećanja kod onih pacijenata koji su dobijali dnevnu dozu od 1000 IU običnog vitamina D [108]. Eksperimentalno je dokazano da nedostatak vitamina D pogoršava i IBD i MS kod životinja. Dalje, pokazalo se da D-hormon suzbija eksperimentalni MS i IBD kod miševa. Zanimljivo, pokazalo se da davanje D-hormona efikasno sprečava autoimunost, čak i kada su životinje imale dovoljno vitamina D, što se takođe može objasniti sposobnošću VDR agonista da podstiču same sebe u optimalnijem imunomodulatornom delovanju, kada je to potrebno [109]. Reumatoidni artritis je autoimuni poremećaj multifaktorske etiologije u kojoj i genetski i negenetski faktori (tj. infektivni, hormonski, ekološki) doprinose podložnosti bolesti, a nedostatak vitamina D se povezuje sa višom prevalencom RA, što je izgleda uobičajenije u Severnoj u poređenju sa Južnom Evropom [110-111]. Dostora je veći unos vitamina D bio povezivan sa manjim rizikom od RA, kao što je otkriveno da se i niži nivo vitamina D povezuje sa većom aktivnošću bolesti [112]. Međutim, drugi autori navode rezultate koji otkrivaju obrnutu vezu između vitamina D i smanjenog rizika od reumatoidnog artritisa (RA), uz pomoć upitnika za merenje unosa vitamina D u ishrani. Ovi autori nisu pronašli nikakve razlike na serumskim nivoima 25(OH)D₃ između pacijenata kod kojih su kasnije razvio RA i zdravih kontrola. Da bi objasnili suprotne zaključke, ovi autori su sugerisali da je direktno merenje vitamina D u serumu preciznija procena nivoa vitamina D nego što je dijetetski upitnik, posebno ne uzimajući u obzir izlaganje Suncu. Pošto se niži nivo vitamina D u serumu takođe povezuje sa višom aktivnošću RA, u nedavnoj studiji su ocenjeni 25(OH)D₃ nivoi u serumu kod 64 žena sa RA iz severne Evrope (Estonija/EP) i 54 RA pacijenata iz južne Evrope (Italija/IP) u toku zime i leta i bili su

dovedeni u vezu sa rezultatom aktivnosti bolesti (DAS28) [112,113]. Zdravee žene kao kontrolna grupa su bile njih 35 (Italijanke), odnosno 30 (Estonke) izjednačene po starosti. Pronađeni su značajno veći nivoi 25(OH)D3 kod IP u odnosu na EP ($p = 0.0116$) i zimi i leti ($58,9 \pm 5,4$ prema $35,1 \pm 1,9$ odnosno $65,2 \pm 5,4$ prema $46,4 \pm 2,3$ nmoles/l). Otkriveno je da su varijacije (povećanje) nivoa 25(OH)D3 između letnjeg i zimskog vremena značajne i kod IP i kod EP ($p = 0,0005$). Razlike i između leta i zime su primećene i kod kontrolne grupe, čime je potvrđen ciklični godišnji ritam. Nema značajne razlike u pogledu 25(OH)D nivoa između italijanskih i estonskih RA pacijenata, odnosno njihovih kontrolnih grupa. Zanimljivo je da je značajna obrnuta povezanost između 25(OH)D3 i DAS28 pronađen u leto kod IP ($r = -0.57$, $Pb 0,0001$), a zimi kod EP ($r = -0.40$, $PB 0,05$). Pored toga, pronađeno je da su prosečni rezultati DAS28 generalno viši kod EP nasuprot IP, a razlika je bila očiglednija zimi ($4,19 \pm 1,24$ odnosno $3,73 \pm 1,69$) [114]. Povoljna farmakokinetika alfakalcidola je svakako preporuka da se ovaj VDR agonist upotrebi umesto kalcitriola, kada se želi postići snažan i bezbedan efekat VDR agonista, jer redukuje pojavu nepoželjnih skokova serumskog kalcijuma. Naime, vreme utrošeno pre maksimalne koncentracije hormona D u plazmi smanjeno je za 50% (T50% maksimalni nivo u plazmi) i skoro je dva puta duže posle oralne i i.v. primene $1\alpha(OH)D3$ nego nakon slične primene kalcitriola kod zdravih dobrovoljaca ($p < 0.02$). Kontinuirana konverzija $1\alpha(OH)D3$ u hormon D je verovatno faktor koji doprinosi dužem T50% maksimalom nivou u plazmi nakon primene $1\alpha(OH)D3$. Bioraspoloživost $1,25(OH)2D3$ nakon primene $1(OH)D3$ je bila samo 40% kod normalnih ispitanika. Maksimalni nivo postignut posle oralne i i.v. primene $1\alpha(OH)D3$ potvrđen je i u drugim studijama [115,116], tako da je samo oko 50% nivoa u plazmi postignuto posle sličnih doza kalcitriola. Tačan razlog za to nije poznat, ali može da bude zbog metabolizma $1(OH)D3$ u druge supstance osim $1,25(OH)2D3$ [117]. Studija izvedena u Srbiji i publikovana 1999. godine [69] pokazala je da je kliničko poboljšanje kod pacijenata sa RA tretiranih sa 2 mcg/dan alfakalcidola, u jakoj korelaciji sa in vitro imunomodulatornim potencijalom ovog leka analoga hormonu D. Nakon tri meseca terapije alfakalcidolom, 89% pacijenata je imalo pozitivan uticaj na aktivnost bolesti (45% ili 9 pacijenata sa kompletnom remisijom i 44% ili 8 pacijenata sa zadovoljavajućim efektom.). Samo dva pacijenta ili 11% nije imalo nikakvo poboljšanje, ali se nisu javili novi simptomi. Rezultati ovog istraživanja ukazuju da visoke oralne doze alfakalcidola deluju podjednako snažno kao i glikokortikoidi u smislu smanjenja zapaljenja,

te su autori prepostavili da terapija visokim oralnim dozama alfakalcidola može da se koristi kao terapija premoščavanja umesto steroida koji se sada koriste u kliničkoj praksi.



Slika 5. Razlike u metabolizmu vitamina D i alfakalcidola na putu transformacije u calcitriol (www.leo-sarath.com)

II CILJEVI ISTRAŽIVANJA

1. Ispitati terapijsku efikasnost tri različite visoke oralne doze alfakalcidola na aktivnost bolesti kod pacijenata sa aktivnim Reumatoidnim artritisom (RA), koji su na standardnoj terapiji procenom:

- a) Parametara kliničkog poboljšanja: DAS28 (zbir aktivnosti bolesti na 28 zglobova); pVAS (bolesnikova procena aktivnosti artritisa); HAQ-DI (opšta zdravstvena anketa, bolesnik samostalno odgovara na pisani upitnik za procenu funkcijskoj sposobnosti); SF-36 (bolesnik samostalno odgovara na pisani upitnik za procenu kvaliteta života); BBZ (broj bolnih zglobova); BOZ (broj otečenih zglobova); FACIT-F (bolesnik samostalno odgovara na pisani upitnik za procenu zamora u hroničnim bolestima);
- b) Uticaja na mišićnu snagu i rizik od padova (testom ustajanja sa stolice, vremenskim testom „ustani i kreni“, šestominutnim testom hodanja i testom „tandem hoda“);
- c) Koštane mineralne gustine (procenjene osteodenzitometrijskim pregledom);
- d) Uticaja na nivo inflamatornih citokina (određivanjem Th1 i Th2 citokina).

2. Uporediti terapijsku efikasnost tri različite visoke oralne doze alfakalcidola sa efektima primene glikokortikoida.

III RADNA HIPOTEZA

Primena visokih oralnih doza alfakalcidola kod bolesnika sa aktivnim Reumatoidnim artritismom, na standardnoj terapiji lekovima koji menjaju tok bolesti, je bezbedna i terapijski efikasna.

IV MATERIJAL I METODE ISTRAŽIVANJA

4.1. Ispitanici i protokol istraživanja

Istraživanje je organizovano kao otvoreno prospektivno randomizovano istraživanje.

Agencija za lekove i medicinska sredstva Srbije (ALIMS) dala je saglasnost za izvođenje ovog istraživanja (odluka br.515-04-0544-12-2), kao i Etički komitet Instituta za reumatologiju u Beogradu (odluka br.29/1-7).

Istraživanje je sprovedeno na Institutu za reumatologiju u Beogradu.

U istraživanje je uključeno 67 bolesnika sa reumatoidnim artritismom (RA) koji ispunjavaju sledeće kriterijume:

- da im je dijagnoza postavljena prema kriterijumima ACR ili ACR/EULAR bar šest meseci pre početka istraživanja [17,118];
- da su na standardnoj nepromenjenoj terapiji LMTB - metotreksatom (MTX) u dozi od 10-25 mg nedeljno tokom tri meseca pre uključanja u istraživanje;
- da ispunjavaju kriterijume aktivne bolesti, definisane kao DAS28 \geq 3,2 tokom poslednjih mesec dana pre uključanja u istraživanje
- da nisu koristili GK ili neki drug lek koji modifikuje bolest, osim metotreksata, tokom dva meseca pre uključanja u istraživanje
- da su su potpisali pisani pristanak o učešću u istraživanju

Svim ispitanicima koji su ispunili kriterijume uključanja u istraživanje, a nakon pružanja detaljnih informacija o prirodi i rizicima istraživanja, je ponuđeno da potpišu informisani pristanak kojim prihvataju učešće u istraživanju odobreno od strane Etičkog odbora Instituta za reumatologiju u Beogradu.

Ispitanici koji su ispunjavali kriterijume uključanja i dali svoj pisani pristanak za učešće u istraživanju, ne menjajući prethodni terapijski režim na kome su bili, nasumično su randomizovani u jednu od 4 terapijske grupe.

Grupa C - 15 bolesnika sa RA kojima je ordinirana terapija glikokortikoidima-prednizon od 20 mg na dan tokom prvog meseca, a zatim 10 mg na dan tokom naredna dva meseca.

Grupa A1 - 17 bolesnika sa RA kojima je ordinirana terapija 1 mikrogram alfakalcidola na dan tokom 3 meseca (jutarnja doza).

Grupa A2 - 19 bolesnika sa RA kojima je ordinirana terapija 2 mikrograma alfakalcidola na dan tokom 3 meseca (1 mikrogram dvaputa dnevno).

Grupa A3 – 16 bolesnika sa RA kojima je ordinirana terapija 3 mikrograma alfakalcidola na dan tokom 3 meseca (2 mikrograma ujutru i 1 mikrogram uveče).

Alfakalcidol je davan u vidu tvrde želatinske kapsule za oralnu primenu u pojedinačnoj dozi od 1 mikrograma. Svaki ispitanik je dobijao dozu oralno primenjenog GK ili alfakalcidola u skladu sa nasumično određenom terapijom. Terapijski režim nije menjan četiri nedelje, a zatim je produžen na ukupno 12 nedelja, ukoliko je to preporučeno na osnovu uočene koristi od terapije i nepostojanja toksičnosti koja bi ograničavala primenu terapije.

Svi ispitanici su po završetku primene tromesečne terapije nastavili s terapijom alfakalcidolom od 1 mikrograma u narednih 9 meseci, do kumulativnog trajanja terapije tokom 12 meseci. Terapija je davana ambulantno. Pacijenti su prilikom svake vizite dobijali bočice sa dovoljnim brojem kapsula do naredne posete, uključujući i odgovarajuću rezervu za dodatna dva dana terapije.

Bolesnici su dolazili na šest poseta tokom prvih 12 nedelja istraživanja, a zatim još dva puta, na šest i dvanaest meseci od početka istraživanja. Tokom poseta obavljan je razgovor sa pacijentom, klinički pregled, reumatološki pregled, ispitivanje mišićne snage i funkcije, kvaliteta života, a i uzeti uzorci krvi za hematološke, biohemijske i imunološke analize, prema unapred planiranom rasporedu. Na prvoj i poslednjoj poseti je merena koštana gustina.

Raspored obavljanja planiranih postupaka i procedura u toku istraživanja prikazan je u tabeli rasporeda događaja u istraživanju (Tabela 2).

Tabela 2. Raspored događaja u istraživanju

	Probno testiranje	N0	N2	N4	N8	N12	Praćenje	
							6m	12m
Pisani pristanak	X							
Medicinska istorija	X							
Pridruženi lekovi	X		X	X	X	X	X	X
Davanje leka		X	X	X	X			
Brojanje vraćenih lekova			X	X	X	X		
Fizikalni pregled	X			X	X	X	X	X
Visina	X							
Težina	X			X	X	X	X	X
BMD, T-score, TBS	X							X
EKG, TA, puls	X			X	X	X	X	X
Procena aktivnosti bolesti (DAS28)	X			X	X	X	X	X
Ispitivanje mišićne snage i funkcije, upitnici (PRO)	X			X	X	X	X	X
6 min test hodanja	X			X	X	X	X	X
Hematologija (a)	X			X	X	X	X	X
Biohemija (b)	X			X	X	X	X	
SE i CRP	X			X	X	X	X	X
Ca, jonizovani Ca, fosfor, PTH (serum)	X		X	X	X	X	X	
Neželjeni efekti, praćenje	X		X	X	X	X	X	X
Test na trudnoću (c)	X							
Urin 24h (kalcijum, fosfor)	X		X	X	X	X	X	
Imunološke analize (d)	X	X(d)				X		
25(OH)D3 (serum)	X					X		

a. Er, Le, Le formula, HCT, MCH, MCV, MCHC, Tr

b. AST, ALT, AP, albumin, kreatinin, glukoza, uk proteini, LDH, urea, Na, K, Cl, mokraćna kiselina, holesterol, LDL, HDL

c. Serum ili urin - test trudnoće (kod žena u premenopauzi)

d. Uzorak krvi na osnovnoj viziti N0 i N12 za analizu nivoa produkcije citokina

4.2 Metode kliničke procene aktivnosti bolesti

4.2.1 Metoda procene aktivnosti reumatoidnog artritisa (kompozitni indeks DAS28)

Klinička procena aktivnosti bolesti je vršena korišćenjem DAS -28, a funkcijska sposobnost i kvalitet života odgovarajućim validiranim upitnicima:

1. DAS – 28 - Procena skora aktivnosti bolesti na 28 zglobova [119,120] zasnovan je na lab. rezultatu SE, pri čemu se za procenu aktivnosti bolesti ovim metodom, pregledaju i sledeći zglobovi: ramena, laktovi, ručni zglobovi, metakarpofalangealni, proksimalni interfalangealni zglobovi i interfalangealni zglobovi palca šaka, a uzima se u obzir i PVAS. $DAS\ 28-SE = 0,56 \times \sqrt{(BBZ28) + 0,28 \times \sqrt{(BOZ28) + 0,70 \times \log(SE) + 0,014 \times (PVAS)}$, gde su TJC, SJC i PVAS, objašnjeni u daljem tekstu, minimalna klinički značajna promena DAS28 iznosi 1,2, a tumačenje EULAR odgovora je prikazano u tabeli 3.

2. Broj bolnih zglobova (BBZ) – lekarov nalaz ukupnog broja bolnih, između 28 ispitanih zglobova.

3. Broj otečenih zglobova (BOZ) - lekarov nalaz ukupnog broja otečenih, između 28 ispitanih zglobova.

Tabela 3. Procena uspešnosti lečenja RA EULAR odgovorom [121]

Osnovni DAS28	Poboljšanje >1,2	Poboljšanje ≤1,2 i >0,6	Poboljšanje ≤ 0,6
DAS ≤ 3,2	Dobar odgovor	Umeren odgovor	Bez odgovora
DAS >3,2 i ≤ 5,1	Umeren odgovor	Umeren odgovor	Bez odgovora
DAS > 5,1	Umeren odgovor	Bez odgovora	Bez odgovora

4.2.2 Metode procene funkcijskog stanja, kvaliteta života, umora (PRO)

1. Bolesnikova sveukupna procena artritisa (PVAS) – bolesnikova procena uticaja artritisa / bolesti na njegovo sveukupno stanje, odgovarajući na pitanje: ” Obzirom na sveobuhvatni uticaj Vašeg artritisa na Vas, kako se osećate danas?” ocenjena na skali od 100mm, pri čemu odgovor može da varira od 0mm – veoma dobro, do 100mm – veoma loše.

2. FACIT-F – bolesnik samostalno odgovara na pisani upitnik od 13 pitanja za procenu zamorljivosti u hroničnim bolestima, preveden na srpski jezik, ocenama od 4 (nemam uopšte) do 0 (imam energije) na Likertovoj skali. Za validnu procenu, potrebno je da se odgovori na minimum 7/13 pitanja, zbir svih pojedinačnih ocena, podeljen sa 13, daje FACIT – F zbir, pri čemu veći zbir, označava manji stepen zamora [122,123].

3. HAQ - DI - bolesnik samostalno odgovara na pisani upitnik za procenu funkcijske sposobnosti, u obavljanju aktivnosti svakodnevnog života, preveden na srpski jezik, koji se sastoji iz 20 pitanja, u 8 odeljaka, uz deo o eventualnom korišćenju ortopedskih pomagala i pomoći drugih osoba. Odeljci se odnose na pitanja u vezi oblačenja, ustajanja, hranjenja, hodanja, higijene, dohvatanja, stezanja, kao i obavljanja svakodnevnih aktivnosti. Za svaku od ovih kategorija, bolesniku je ponuđeno da odgovori sa koliko teškoća ih obavlja, od 0-3 (0=bez teškoća, 3=sa mnogo teškoća). Za validnu procenu funkcijske sposobnosti potrebno je da se odgovori minimalno na 6/8 odeljaka, zbir pojedinačnih ocena, podeljen sa 20, uz podešavanje prema eventualnoj upotrebi ortopedskog pomagala, daje HAQ- DI zbir. Manji zbir označava bolju funkcijsku sposobnost [124-125].

4. SF - 36 – bolesnik samostalno odgovara na pitanja iz ovog pisanog upitnika za ispitivanje funkcijskog statusa i stanja kvaliteta života, prevedenog na srpski jezik, koji se sastoji od 10 odeljaka procene ukupnog mentalnog i fizičkog stanja, fizičkih sposobnosti, telesnog bola, opšteg zdravlja, vitalnosti, socijalnog života, emocionalnog i mentalnog stanja tokom prethodne 4 nedelje. Za kvalitetnu procenu rezultata SF 36 potrebno je da se odgovori na 50% pitanja, iz svakog odeljka. Ponuđene ocene variraju 1-5. Brojevi koji predstavljaju ocene odgovaraju različitim ponuđenim varijablama, u zavisnosti od postavljenog pitanja. Odgovori na neka pitanja su reverzni. Veći zbir označava bolji kvalitet života [126-127].

4.3. Metode kliničke procena mišićne snage

Mišićna snaga, koordinacija i balans hoda je ispitana sledećim testovima:

1) Vremenski test “ustani i kreni” – bolesnika zamolimo da ustane sa standardne stolice, visine oko 45cm, hoda do 3 metra ispred stolice, okrene se, vrati i ponovo sedne, pri čemu rezultat vremena potrebnog da se obavi pomenuto kraći od 10 sekundi pokazuje normalnu mobilnost, mišićnu snagu i koordinaciju, a kraći od 20 sekundi dobru mobilnost, odsustvo potrebe za korišćenjem pomagala, samostalnost, dok svaki lošiji nalaz označava srazmerno

ograničenje mobilnosti, nesamostalnost i sklonost padanju[128,129].

2) Test ustajanja sa stolice - bolesnika zamolimo da 5 puta ustane i sedne na standardnu stolicu, bez pomoći rukama, u cilju ispitivanja mišićne snage donjih ekstremiteta, balansa, senzomotornih sposobnosti, sklonosti padanju. Ako je bolesniku potrebno više od 12 sekundi da obavi ovaj test, njegova mišićna sposobnosti je umanjena, srazmerno produženju vremena izvođenja testa [130].

3) Tandem hod – bolesnika zamolimo da hoda po tipu prsti-peta ili stopa ispred stope, u pravoj liniji 3 do 10m. Svi “propušteni koraci”, stajanje izvan prave linije, gubitak balansa, spoljna pomoć, računaju se kao nepoželjni. Hodanje bez navedenih propusta, bez obzira na trajanje testa, smatra se normalnim, minimalnim rizikom za pad, dok bilo šta od pomenutih propusta u pravolinijskom hodanju, srazmerno njihovom broju, može se smatrati povećanjem rizika za padanje [130].

4) Šestominutni testa hodanja – ovaj pre svega test aerobnog kapaciteta i kardiopulmonalne sposobnosti, ima svoju primenu i u proceni mišićne snage, koordinacije, izdržljivosti, balansa, kognicije, jačine bola, neurološkog zdravlja, potrebe za pomagalicama, sklonosti padanju. Izvodi se tako što zamolimo bolesnika da tokom 6 minuta hoda duž predviđene zamišljene linije dužine 20 m, ka napred i ka nazad, povremeno ga ohrabrujući, uz praćenje njegovog opšteg stanja. Preporučuje se da se test uradi dva puta u razumnom razmaku, a da se za rezultat uzme srednja vrednost iz oba pokušaja, izražena u metrima i centimetrima. Postoji nekoliko kliničkih situacija u kojima nije preporučljivo izvoditi ovaj test, o čemu će se voditi računa, u interesu bolesnika. Metoda se može koristiti za procenu uspešnosti kako rehabilitacionog, tako i medikamentnog tretmana [131,132].

4.4. Metode kliničke procene koštane gustine

Koštana mineralna gustina je određena DXA tehnikom (dvoenergetskom apsorpcijom X zracima) na lumbalnoj kičmi i butnoj kosti, na aparatu Hologic Discovery u Institutu za reumatologiju uz TBS analizu – TBS iNsight-MedImaps [133].

4.5. Metode laboratorijskih ispitivanja

Sledeća laboratorijska ispitivanja su izvršena svakoj istraživačkoj poseti, u lokalnoj laboratoriji Instituta za reumatologiju, prema predviđenom planu istraživanja, a sledeći sopstvene procedure:

- Hematologija: broj eritrocita, hematokrit, hemoglobin, MCV, MCH, MCHC, broj leukocita (ukupni i leukocitna formula), broj trombocita (hematološki brojač na principu konduktometrije - Coulter HmX hematology analyzer);
- Biohemijska analiza krvi: AST, ALT, albumin, ukupni bilirubin, kreatinin, glukoza, mokraćna kiselina, CK, LDH, urea, ukupni proteini, holesterol, trigliceridi, alkalna fosfataza , fosfor i kalcijum u serum, kalcijum i fosfor u uzorku urina (spektrofotometrija - Ilab 300+);
- Natrijum, kalijum, jonizovani kalcijum (AVL - metoda jon selektivnih elektroda - 9180 Electrolyte analyzer);
- PTH (FPIA - fluorescentno polarizaciono imunoodređivanje – AxSym Abbot)
- Ukupni proteini, fosfor, kalcijum, kreatinin i fosfor u uzorku urina(spektrofotometrija- Ilab 300+);
- SE (Westergreen metod) i C-reaktivni protein (turbidimetrija – Gilford);
- Analiza sedimenta urina - mikroskopska analiza;
- Uzorak krvi za nivo 25(OH)D3 (ECL elektrohemiluminiscencija - Elecsys 2010);
- Uzorci krvi za imunološke testove su sakupljeni da bi se utvrdili nivoi citokina IL-17, IL-21, IL6, TNF- α , kao i IL10, IL-4 i IFN- γ (ELISA - BIOLEGEND - Bender Med Systems) pre i tri meseca posle terapije različitim dozama alfakalcidola ili prednisonom.

4.6. Metode praćenja bezbednosti ispitanika tokom istraživanja

Bezbednost i podnošljivost su procenjivani praćenjem laboratorijskih i kliničkih parametara kod ispitanika. Pojava bilo kog neželjenog događaja je evidentirana i procenjivana u skladu sa međunarodnom nomenklaturom neželjenih događaja.

Klinička procena bezbednosti je sadržala detaljan klinički pregled, merenje krvnog pritiska i pulsa, snimanje električne aktivnosti srca 12-odvodnim EKG-om. Istraživač je pitao pacijenta o pojavi neželjenih događaja (ND) pri svakoj istraživačkoj poseti tokom perioda lečenja i praćenja ispitanika u istraživanju. Sve neželjeni događaji, bilo da su primećeni od strane istraživača, ili su ih prijavili ispitanici spontano, ili kao odgovor na direktno pitanje, su ocenjeni od strane istraživača i zabeleženi.

Doza leka je se korigovana u slučaju toksičnosti, odnosno poremećaja nivoa kalcijuma u krvi ili mokraći (više od 2,75 mmol/l u krvi ili više od 0,3g/l/24h u mokraći mereno u dva

uzastopna uzorka). Doza leka je smanjivana za pola tokom jedne nedelje, sve dok se ne povuku znaci toksičnosti i dok se ne normalizuje nivo kalcijuma i fosfora. Ukoliko bi se povukli znaci toksičnosti, ponovo je uvedena terapija prethodno određenom terapijskom dozom, a ukoliko se ne bi povukli, terapija je prekidana, a pacijent je prekidao učešće u istraživanju.

4.7. Metode statističke obrade podataka i testiranja hipoteze

Svi prikupljeni podaci u ovom istraživanju su analizirani metodama deskriptivne statistike, dok je od metoda analitičke statistike testiranja značajnosti razlike varijabli među različitim grupama ispitanika, primenjen studentov t - test za zavisne i nezavisne uzorke, χ^2 test, kao i ANOVA (Friedman, Fisher, Kruskal-Wallis u zavisnosti od uslova), a za unutargrupna testiranja t-test i Wilcoxonov test, testiranjem alternativne hipoteze, za ispitivanje korelacija je upotrebljen Spearmanov, sa značajnošću razlike $p < 0,05$. Kao osnovne varijable koje su korišćene za poređenje su uzete vrednosti pre prvog doziranja leka, a za poređenja, vrednosti istih u različitim tačkama praćenja, prema protokolu. Sve kontinualne varijable su izražene kao aritmetička sredina, standardna devijacija, medijan, minimum i maksimum. Sve nekontinualne varijable kao geometrijska sredina, koeficijent varijacije, medijan, minimum i maksimum. Uzimajući u obzir primarni cilj istraživanja, merenje aktivnosti bolesti, izraženu kroz promenu DAS28, na 12. nedelji od početka tretmana, uzimajući za pretpostavljenu standardnu devijaciju 1,3, nivo značajnosti od 5%, mogućnost da deo podataka nedostaje od 15%, odnos od 2:1, među ispitanicima na aktivnom i komparativnom tretmanu, upotrebu studentovog t - testa, najmanji uzorak od 40 ispitanika na ispitivanom tretmanu i 15 na komparatoru, daje 85% snage za otkrivanje klinički i statistički značajne razlike DAS28 od 1,2 između ispitivanih grupa.

V REZULTATI

U prvom delu rezultata su prikazane demografske karakteristike celokupne ispitivane grupe RA bolesnika, karakteristike bolesti, aktivnost bolesti, funkcijski status bolesnika, fizičke i mentalne komponente kvaliteta života, te komorbiditetna stanja, kao i iste karakteristike posebno u sve četiri terapijske grupe.

U drugom delu rezultata su prikazani rezultati kliničkih karakteristika i poređenja četiri grupe RA bolesnika na različitim terapijskim režimima tokom tromesečnog perioda aktivnog lečenja, u smislu promene aktivnosti bolesti, funkcijskog statusa, kvaliteta života, broja bolnih i otečenih zglobova. Potom su prikazani rezultati praćenja aktivnosti bolesti, funkcijskog stanja, kvaliteta života tokom perioda praćenja od devet meseci, tokom koga su svi bolesnici primali 1 μ g alfakalcidola, kao i izmene tj. prilagođavanje do tada primenjivane bazične terapije RA, u skladu sa T2T strategijom i aktivnosti osnovne bolesti.

U trećem delu rezultata su prikazani rezultati laboratorijskih karakteristika celokupne ispitivane grupe od značaja za praćenje procesa zapaljenja, serumskih nivoa 25(OH)D3 i PTH, lipidnog statusa, kao i rezultati upoređivanja laboratorijskih rezultata četiri grupe RA bolesnika na različitim terapijskim režimima tokom perioda aktivnog lečenja od dvanaest nedelja, najzad i rezultati laboratorijskih ispitivanja tokom perioda praćenja.

U četvrtom delu rezultata su prikazani rezultati ispitivanja mišićne snage i funkcije, u sve četiri terapijske grupe, tokom perioda aktivnog lečenja i tokom perioda praćenja.

U petom delu su prikazani rezultati ispitivanja serumskih nivoa inflamatornih citokina u četiri grupe RA bolesnika na različitim terapijskim režimima tokom perioda aktivnog lečenja od dvanaest nedelja.

U šestom delu su prikazani rezultati ispitivanje kopštane gustine i kvaliteta koštanog tkiva u istraživanju.

U sedmom delu rezultata su prikazani rezultati nadgledanja bezbednosti u istraživanju, praćenjem kalcijumskog metabolizma i pojave eventualnih kliničkih i drugih laboratorijskih neželjenih događaja, kao tokom perioda aktivnog lečenja, tako i tokom perioda praćenja.

U osmom delu rezultata su prikazani rezultati nekih od korelacija laboratorijskih i kliničkih nalaza na početku i na kraju perioda aktivnog lečenja.

5.1. Karakteristike ispitanika u istraživanju

5.1.1. Demografske karakteristike RA ispitanika

U istraživanje je uključeno 67 bolesnika sa aktivnim RA (aktivnost bolesti DAS 28 >3,2), među kojima bilo je 46 (68,65%) žena i 21(31,34%) muškarac. Prosečno trajanje bolesti u ovoj grupi ispitanika je bilo 7,71god±6,68 (1-33), a prosečna stabilna doza MTXa 12 nedelja pred uključenje je iznosila 15,41mg/nedeljno ± 3,28 (10-25). Karakteristike ispitanika i bolesti su prikazane u tabeli 4.

Tabela 4. Demografske i karakteristike RA u celokupnoj grupi bolesnika(N=67), na početku istraživanja

Karakteristika	Učestalost (%) ili vrednost± SD (min-max)
Starost (godine)	56,24±12,423 (23-83)
Dužina trajanja RA (godine)	7,71±6,68(1-33)
Doza metotrekasta MTX (mg/nedeljno)	15,41±3,28(10-25)
Dužina lečenja MTX (godine)	5,67±5,899(0,5-15)
Aktivnost RA (DAS28)	5,58±0,905(3,22-7,55)
Opšta zdravstvena anketa (HAQ)	0,57±0,516(0-1,85)
Upitnik za procenu umora (FACIT)	17,44± (5-26)
Fizičke komponente kvaliteta života (SF36 PCS)	36,545±8,0333(12,1-53,1)
Mentalne komponente kvaliteta života (SF36 MCS)	47,042±9,8536(20,5-63,8)
Broj bolnih zglobova (BBZ)	8,08±3,900(2-17)
Broj otečenih zglobova (BOZ)	9,89±3,379(3-17)
Bolesnikova procena aktivnosti (pVAS) (mm)	5,69±15,698(18-98)
Reumatoid faktor(RF) pozitivni	49/67 (73,19%)
Antitela na citrulisane proteine (ACPA)pozitivni	18/67 (26,82%)
RF i ACPA pozitivni	9/67 (13,43%)
BMI (kg/m ²)	22,47±2,487
Prethodno lečenje drugim ili kombinacijom sintetskih DMARD/MTX	30 (44,77%)
Prethodno lečenje biološkim DMARD	4 (5,9%)

5. 1.2. Pridružene bolesti ispitanika

Osim prisustva RA, ispitanici su imali i pridružene bolesti. Detaljna anamneza i pregled medicinske dokumentacije od strane istraživača je sprovedeno radi uključenja u istraživanje bolesnika sa RA koji su adekvatno lečeni od bolesti prihvatljivih prema kriterijumima uključenja. Ukupno 19 bolesnika je imalo komorbiditet. Najčešće je kod njih bila prisutna arterijska hipertenzija, zatim osteoporoza, Diabetes mellitus typ II (DMII), koronarna bolest srca, hipotireoza, hronična opstruktivna bolest pluća, stanje posle infarkta miokarda, ishemijska kardiomiopatija, a čija je učestalost prikazana u tabeli 5.

Tabela 5. Pridružene bolesti u grupi svih 67 RA bolesnika na početku istraživanja

Pridružena bolest	Učestalost (%)
Arterijska hipertenzija	13 (19,4%)
Osteoporoza	7 (10,44%)
DM tip II	6 (8,9%)
Koronarna bolest srca	5 (7,46%)
Stanje posle infarkta miokarda	2 (2,98%)
Ishemijska kardiomiopatija	1 (1,49%)
Hronična opstruktivna bolest pluća	1 (1,49%)

5.1.3. Poređenje demografskih i karakteristika bolesti kod ispitanika u različitim terapijskim grupama

Bolesnici sa RA koji su ispunili kriterijume uključenja, nasumičnim odabrom su od strane istraživača raspoređeni na neki od terapijskih režima prema protokolu (navedeno u odeljku 3): grupa A1 da prima 1 μ g alfakalcidola tri meseca, grupa A2 da prima 2 μ g alfakalcidola tri meseca, grupa A3 da prima 3 μ g alfakalcidola tri meseca i C da prima prednizon 20mg tokom prvog meseca, zatim 10mg dva meseca. Poređenje karakteristika bolesnika i njihove bolesti, a od značaja za ravnopravnu uslove pri započinjanju različitih terapijskih intervencija, prikazane su u tabeli 6, 7 i 8.

Terapijske grupe su bile međusobno komparabilne pri uključivanju u istraživanje u pogledu ukupnog broja ispitanika po grupama ($p=0,881\chi^2$), polne distribucije ($p=0,926\chi^2$), starosti ($p=0,257$ ANOVA), dužine trajanja RA ($p=0,374$, ANOVA), doze MTX 12 nedelja pred

istraživanje ($p=0,061$, ANOVA), aktivnosti bolesti ($p=0,058$ ANOVA), funkcijskog statusa ($p=0,389$ ANOVA), PCS kvaliteta života ($p=0,06$, ANOVA), MCS kvaliteta života ($p=0,290$, ANOVA), skale zamorljivosti FACIT ($p=0,633$ ANOVA), dužine lečenja MTX om ($p=0,543$), RF pozitivnosti ($p=0,567$, χ^2), ACPA pozitivnosti ($0,588$, χ^2), indeksa telesne mase ($p=0,542$, ANOVA) i serumskog nivoa vitamina D ($p=0,237$ ANOVA), komorbiditeta ($p=0,690$, χ^2), prethodnog lečenja sDMARD ($p=0,978$, χ^2) i bDMARD ($p=0,998$, χ^2).

Tabela 6. Poređenje demografskih karakteristika bolesnika i karakteristika bolesti, na početku istraživanja, u sve četiri terapijske grupe

Grupa	N (%M)	Starost (god)	M/Ž	MTX (mg/ned)	DAS28	HAQ	Bolest (god)
A1	17 29,4%	57,94±12,279	5/12	14,09±1,988	5,28±0,874	0,42±0,405	9,82±8,149
A2	19 31,5%	53,79±12,012	7/12	14,45±3,533	5,81±0,891	0,65±0,599	7,63±7,12
A3	16 31,2%	53,06±10,909	5/11	16,87±3,476	5,73±0,869	0,60±0,47	5,63±4,334
C	15 33,3%	60,67±13,751	4/11	16,66±2,937	5,86±0,789	0,69±0,571	7,53±6,791
p	0,881	0,257	0,926	0,061	0,058	0,389	0,374

N-broj ispitanika, M-muškarci, Ž-žene, god- godine, , MTX-Methotrexate doza, DAS28- aktivnost bolesti, HAQ-funkcijski status

Tabela 7. Poređenje karakteristika bolesnika i karakteristika bolesti, na početku istraživanja, u sve četiri terapijske grupe

Grupa	PCS	MCS	MTX(god)	BMI (kg/m ²)	RF+	ACPA+	25(OH)D3 (ng/ml)
A1	40,66±6,889	47,69±7,309	7,82±2,112	22,2±1,87	15/17	3/17	31,88±13,573
A2	34,44±7,881	47,03±11,287	6,71±1,567	21,9±2,34	13/19	7/19	28,97±9,914
A3	37±8,498	49,75±8,257	5,31±2,223	23,1±2,76	14/16	4/16	28,02±14,118
C	34,47±7,526	43,04±11,363	6,89±4,114	22,7±2,98	12/15	4/15	34,02±15,741
p	0,06	0,290	0,232	0,542	0,567	0,588	0,237

PCS-fizičke komponente kvalitete života, MCS- mentalne komponente kvaliteta života, MTX dužina primene MTX, BMI – indeks telesne mase

Tabela 8. Poređenje karakteristika bolesnika i karakteristika bolesti, na početku istraživanja, u sve četiri terapijske grupe

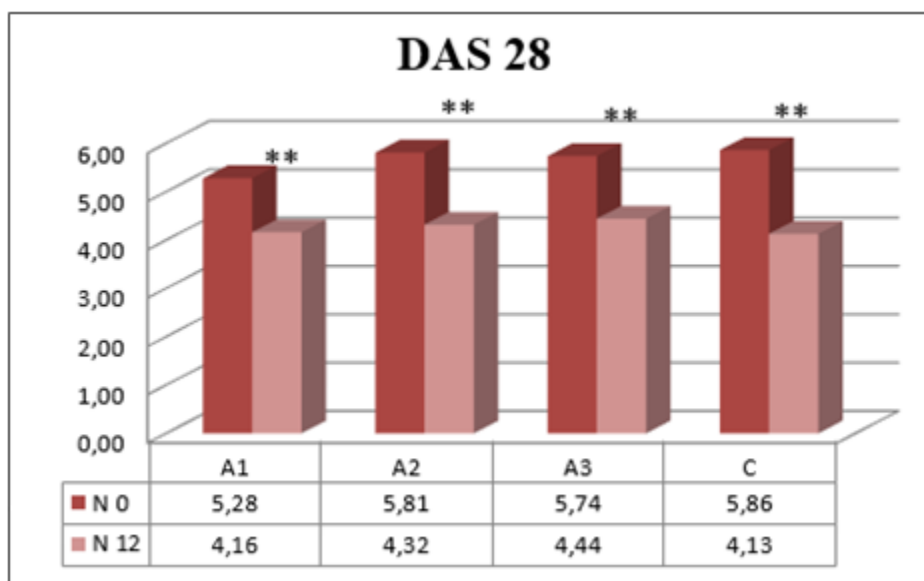
Grupa	FACIT	BBZ	BOZ	pVAS	PsDMARD	PbDMARD	komorbiditet
A1	17,24 ±1,492	6,55 ±2,999	8,29 ±2,733	52,51 ±16,070	8/17	1/17	6/17
A2	15,65 ±3,603	9,21 ±3,735	10,47 ±4,074	51,89 ±17,129	12/19	1/19	9/19
A3	18,9 ±3,198	8,02 ±4,328	10 ±2,449	51,73 ±14,992	11/16	1/16	6/16
C	18 ±2,579	9 ±4,309	10,87 ±3,482	50,40 ±15,624	9/15	1/15	7/15
p	0,633	0,130	0,124	0,922	0,978	0,998	0,690

FACIT- skala zamornosti, BBZ-broj bolnih zglobova, BOZ- broj otečenih zglobova, pVAS-bolesnikova procena aktivnosti RA, PsDMARD-pretodno lečenje sDMARD, PbDMARD-pretodno biološko lečenje

5. 2. Ispitivanje kliničkih pokazatelja bolesti u periodu aktivnog lečenja

5.2.1. Promena DAS28

Promene DAS 28 zbira, na početku i nakon dvanaest nedelja lečenja, u svim terapijskim grupama, lečenim prema protokolu istraživanja (Odeljak 3), prikazane su na grafikonu 1.



Grafikon 1. Vrednosti DAS28, kod RA bolesnika, na početku (N0) i nakon kraju lečenja (N12) (** $p < 0,01$)

U svim terapijskim grupama je došlo do smanjenja aktivnosti bolesti procenjeno DAS 28 zbirom. Visoko statistički značajno smanjenje je postignuto u grupi A1 ($5,28 \pm 0,874$ vs $4,16 \pm 1,029$, $p < 0,01$), A2 ($5,81 \pm 0,891$ vs $4,32 \pm 1,032$, $p < 0,01$), A3 ($5,74 \pm 0,869$ vs $4,44 \pm 0,861$, $p < 0,01$), kao i u grupi C ($5,86 \pm 0,789$ vs $4,13 \pm 0,913$, $p < 0,01$, t - test za zavisne uzorke).

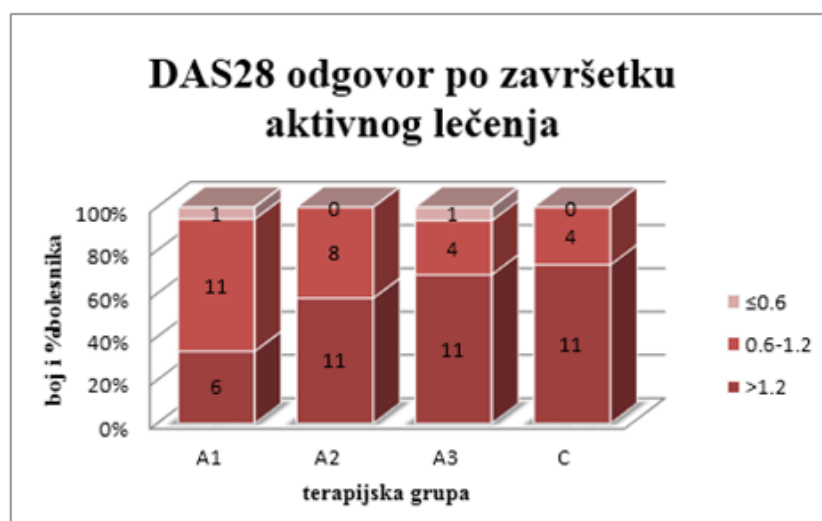
5.2.1.1. Učestalost DAS28 EULAR odgovora u različitim terapijskim grupama

Ispitali smo i učestalost promena DAS 28, prema smernicama DAS28 EULAR odgovora (Δ DAS28), čije su vrednosti i tumačenje prikazane u tabeli 3, u svim grupama, lečenim različitim terapijskim režimima, a rezultati su prikazani na grafikonu 2.

U grupi A1 bolesnici su primali $1\mu\text{g}$ alfakalcidola, a umereni DAS28 odgovor (Δ DAS28 $> 1,2$) je postignut kod 33% bolesnika, dok su preostali, koji čine 67% grupe A1, imali nezadovoljavajuće rezultate lečenja, tj. bili su bez EULAR odgovora (Δ DAS28 $0,6-1,2$ i $\leq 0,6$).

U grupi A2, koja je primala $2\mu\text{g}$ alfakalcidola, kod 58% bolesnika, u grupi A3, koja je primala $3\mu\text{g}$ alfakalcidola, kod 69% bolesnika i u grupi C, koja je primala prednizon, kod 71% bolesnika, nakon 12 nedelja aktivnog lečenja, postignuto je smanjenje DAS28 $> 1,2$, što se imajući u vidu vrednosti osnovnog DAS 28 zbira ($\geq 5,1$), smatra umerenim odgovorom na lečenje, tj zadovoljavajuće smanjenje aktivnosti RA.

U grupi A2 i C nije bilo bolesnika bez bilo kakvog odgovora na primenjenu terapiju (DAS 28 promena $\leq 0,6$), dok ih je u grupi A1 i A3 bilo po 1 (6%).



Grafikon 2. Učestalost različitih DAS28 EULAR odgovora nakon 12 nedelja aktivnog lečenja različitim terapijskim režimima

5. 2.1.2. Poređenje DAS28 EULAR odgovora u različitim terapijskim grupama

Učestalost DAS28 odgovora pokazuje da je najveći broj bolesnika nakon tromesečnog lečenja postigao umeren, odnosno zadovoljavajuće efikasan, terapijski odgovor (DAS smanjenje $> 1,2$) u grupama A2, A3 i C, dok u grupi A1 to nije bio slučaj, koju smo zbog očigledne neefikasanosti, odbacili iz daljeg testiranja.

Da bi ispitali međusobnu razliku terapijskog učinka u grupi A2, A3 i C, podelili smo ispitanike u ovim terapijskim grupama na “poboljšane-P” i “nepromenjene -N” prema DAS28 promeni do koje je došlo nakon aktivnog lečenja. Koristeći χ^2 test ispitali smo značajnost razlike učestalosti ishoda P i N u ove tri terapijske grupe. Rezultati su prikazani u tabeli 9.

Tabela 9. Poređenje učestalosti P i N ishoda lečenja u terapijskim grupama A2, A3 i C

Grupa	P	NP	X ²	p
A2	11	8	1,261	0,532
A3	11	5		
C	11	4		

P- poboljšani prema DAS28 EULAR odgovoru, NP- nepromenjeni prema DAS28 EULAR odgovoru

Nema statistički značajne razlike učestalosti bolesnika sa poboljšanjem DAS28 $>1,2$ i bolesnika bez poboljšanja aktivnosti RA, odnosno sa smanjenjem DAS28 $>1,2$, tokom tromesečnog aktivnog lečenja u terapijskim grupama A2, A3 i C ($p=0,532$, χ^2 test).

Ispitali smo značajnost razlike učestalosti ishoda P i N između grupa A2 i A3, primenom χ^2 testa. Rezultati su prikazani u tabeli 10.

Tabela 10. Poređenje učestalosti P i N ishoda lečenja u terapijskim grupama A2 i A3

Grupa	P	N	X ²	p
A2	11	8	0,875	0,476
A3	11	5		

P- poboljšani prema Δ DAS28 EULAR odgovoru, NP- nepromenjeni prema DAS28 EULAR odgovoru

Nema statistički značajne razlike u učestalosti bolesnika sa poboljšanjem DAS28 $>1,2$ i bolesnika bez poboljšanja (smanjenje DAS28 $>1,2$) tokom tromesečnog aktivnog lečenja u terapijskim grupama A2 i A3 ($p=0,476$, χ^2 test).

5.2.1.3. Poređenje promene Δ DAS28 u različitim terapijskim grupama

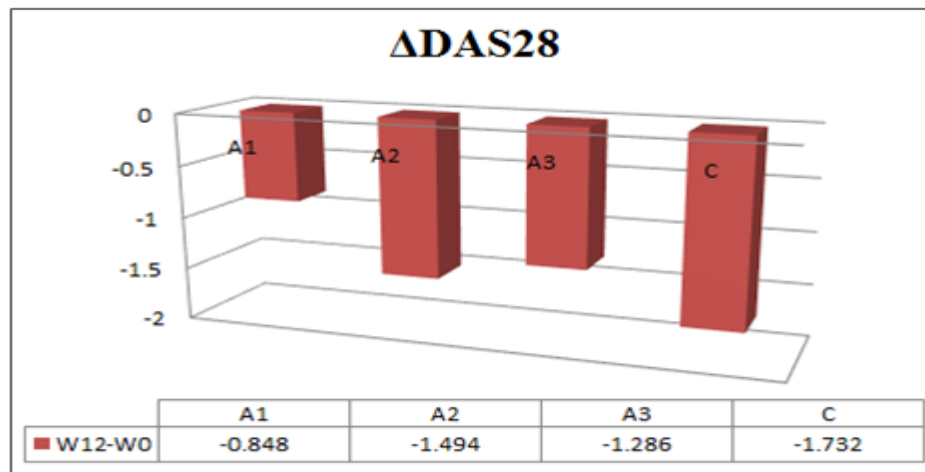
Da bismo dodatno ispitali uticaj različitih ispitivanih terapijskih režima na aktivnost RA, tokom tromesečnog lečenja, izračunali smo promenu DAS 28 (Δ DAS28) po grupama, a rezultati su prikazani u tabeli 11.

Tabela 11. Promena aktivnosti RA - Δ DAS28 na kraju aktivnog lečenja u različitim terapijskim grupama

Grupa	Δ DAS 28 \pm SD
A1	-0,848 \pm 0,2300
A2	-1,494 \pm 0,2293
A3	-1,286 \pm 0,1712
C	-1,732 \pm 0,2114

Δ DAS28- prosečna promena aktivnosti reumatoidnog artritisa, SD- standardna devijacija

Kao što je prikazano i na grafikonu 2 i 3, tako i u tabeli 11, u grupi A1, koja je primala 1 μ g alfakalcidola tokom perioda aktivnog lečenja, nađena je najmanja promena DAS 28, a u grupi C, koja je primala prednizon tokom perioda aktivnog lečenja, najveća promena DAS 28, tokom perioda aktivnog lečenja.



Grafikon 3. Δ DAS28 nakon tri meseca aktivnog lečenja u različitim terapijskim grupama

Zatim smo ispitali smo značajnost razlike Δ DAS28, u grupama A2 i A3, koristeći ANOVA-one way test, a rezultati su prikazani u tabeli 12.

Tabela 12. Ispitivanje razlike promene aktivnosti RA - Δ DAS28 između grupa A2 i A3

Grupa	Δ DAS28	F	p
A2	-1,494±0.2293	2,979	0,038
A3	-1,286±0,1712		

Δ DAS28- promena aktivnosti Reumatoidnog artritisa

Postoji statistički značajna razlika lečenja sa 2 μ g alfakalcidola, što primenjeno u grupi A2, u poređenju sa uticajem primene 3 μ g alfakalcidola, čime je lečena grupa A3, na promenu aktivnosti RA- Δ DAS28 ($p < 0,05$, ANOVA - one way).

5. 2.1.4. Post-hoc ispitivanje promene Δ DAS28 u različitim terapijskim grupama

Post hoc testiranje je pokazalo sledeće odnose između terapijskih grupa u pogledu promene DAS28 tokom tromesečnog lečenja, što je prikazano u tabeli 13.

Tabela 13. Međugrupno ispitivanje značajnosti razlike Δ DAS28 nakon tromesečnog lečenja različitim terapijskim režimima (A1, A2, A3 i C)

Multiple Comparisons LSD post hoc						
Dependent Variable: DAS_razlika						
LSD						
(I) grupa	(J) grupa	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
A1	A2	-.64598*	.29353	.031	-1.2327	-.0592
	A3	-.43776	.31146	.165	-1.0604	.1848
	C	-.88376*	.31146	.006	-1.5064	-.2612
A2	A1	.64598*	.29353	.031	.0592	1.2327
	A3	.20821	.30368	.496	-.3988	.8153
	C	-.23779	.30368	.437	-.8448	.3693
A3	A1	.43776	.31146	.165	-.1848	1.0604
	A2	-.20821	.30368	.496	-.8153	.3988
	C	-.44600	.32105	.170	-1.0878	.1958
pronizon	A1	.88376*	.31146	.006	.2612	1.5064
	A2	.23779	.30368	.437	-.3693	.8448
	A3	.44600	.32105	.170	-.1958	1.0878

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Multipla komparacija je pokazala da se grupa koja je lečena sa 1 μ g alfakalcidola u pogledu promene DAS28 ne razlikuje u odnosu na grupu A3, koja je primala 3 μ g alfakalcidola (-

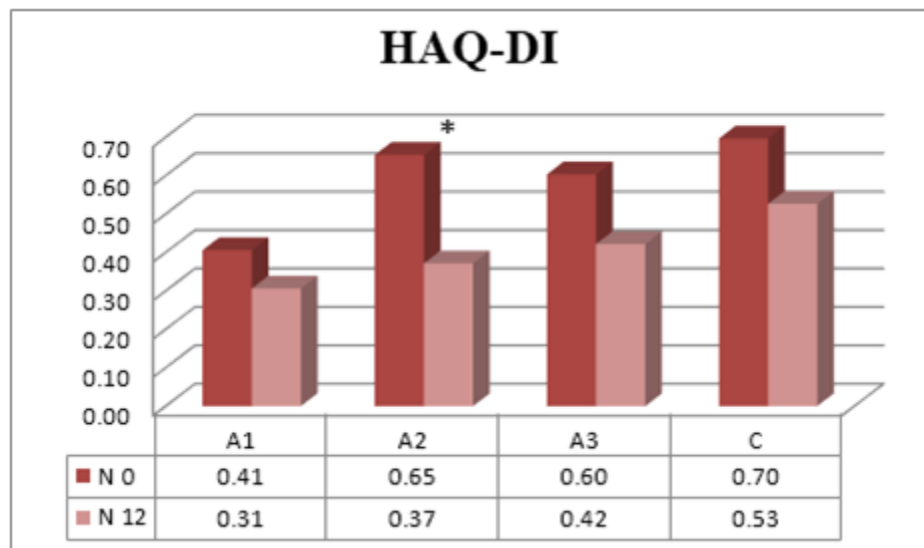
0,848±0,2300 vs -1,286±0,1712, $p=0,165$) i obratno, dok se statistički značajno razlikuje od A2 (-0,848±0,2300 vs -1,494±0,2293, $p<0,05$), kao i visoko statistički značajno od grupe C (-0,848±0,2300 vs -1,732±0,211, $p<0,01$). Grupa C, u kojoj su bolesnici primali prednizon tokom 12 nedelja i u kojoj je postignuto najveće sniženje DAS28, ne razlikuje se statistički značajno od grupe A2 koja je primala 2 μ g alfakalcidola (-1,494±0,2293 vs -1,732±0,2114, $p=0,437$) i grupe koja je primala 3 μ g alfakalcidola (-1,286±0,1712 vs -1,732±0,2114, $p=0,170$), a prethodno ANOVA testiranje je pokazalo da između ove dve grupe postoji statistički značajna razlika u postignutom efektu na aktivnost RA, u korist grupe koja je primala 2 μ g alfakalcidola. Dakle, može se reći da nema razlike između lečenja prednizonom i alfakalcidolom 2 μ g, u pogledu efikasnosti u smislu smanjenja aktivnosti RA, procenjeno DAS28 zbirom.

5.2.2. Ispitivanje funkcijskog statusa - HAQ-DI

5. 2.2.1. Promena HAQ-DI

Funkcijski status procenjen rezultatom opšte zdravstvene ankete (HAQ-DI) je ispitan u okviru evaluacije efikasnosti primenjenog lečenja. Promene rezultata HAQ-DI u svim terapijskim grupama, na početku i nakon 12 nedelja lečenja su prikazane na grafikonu 4.

U svim terapijskim grupama je došlo do smanjenja HAQ zbira, pri čemu je statistički značajna razlika prisutna u grupi A2 koja je primala 2 μ g alfakalcidola (0,65±0,589 vs 0,37±1,032, $p<0,05$, t- test), dok je u A1, A3 i C smanjenje HAQ, odnosno poboljšanje funkcijskog statusa, prisutno, ali statistički neznačajno. Klinički značajno smanjenje HAQ od >0,25 nije zabeleženo ni u jednoj terapijskoj grupi, sem u grupi A2.



Grafikon 4: HAQ-DI zbir, kod RA bolesnika, na početku (N0) i na kraju (N12) aktivnog lečenja
(* $p < 0,05$)

5.2.2.2. Poređenje promene Δ HAQ-DI u različitim terapijskim grupama

Da bismo uporedili ispitali uticaj različitih terapijskih režima na promenu funkcijskog statusa (HAQ-DI), upotrebom ANOVA –one way testa.

Tabela 14. Ispitivanje razlike promene Δ HAQ-DI nakon aktivnog lečenja različitim terapijskim režimima

Grupa	Δ HAQ \pm SD	F	p
A1	-0,100 \pm 1,6771	0,481	0,697
A2	-0,282 \pm 0,6982		
A3	-0,181 \pm 0,3600		
C	-0,170 \pm 0,3778		

Δ HAQ-DI- prosečna promena funkcijskog statusa, SD- standardna devijacija

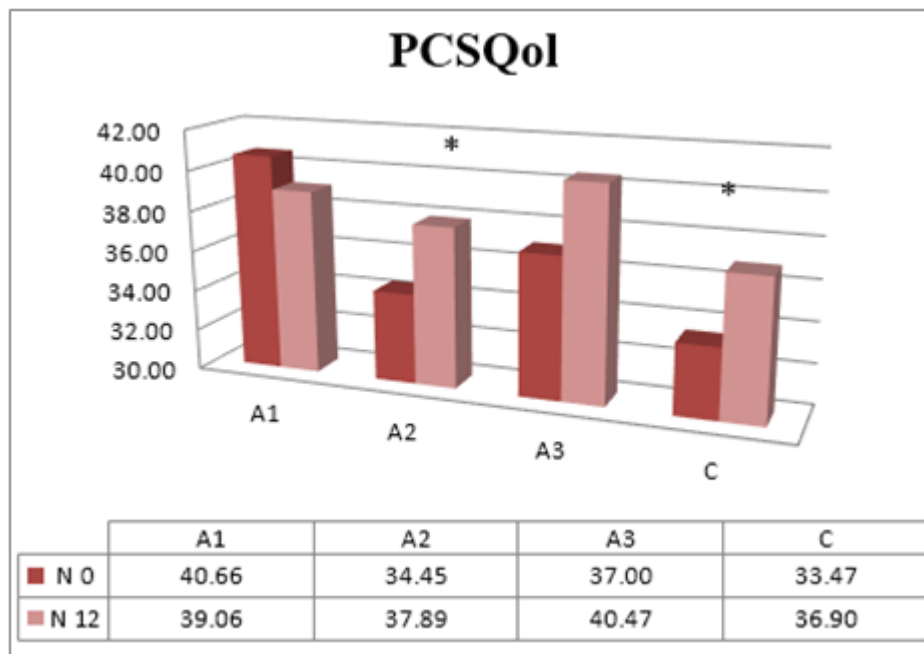
Kao što je prikazano i na grafikonu 4, tako i u tabeli 14, u grupi A1, koja je primala 1 μ g alfakalcidola, nađena je najmanja promena HAQ-DI, a u grupi A2, koja je primala alfakalcidol 2 μ g, najveća promena HAQ-DI, tokom perioda aktivnog lečenja. Nema statistički značajne razlike primene različitih doza alfakalalcidola i prednizona, na funkcijski status RA bolesnika, procenjeno Δ HAQ-DI upitnikom ($p=0,697$, ANOVA - one way).

5.2.3. Ispitivanje kvaliteta života SF-36

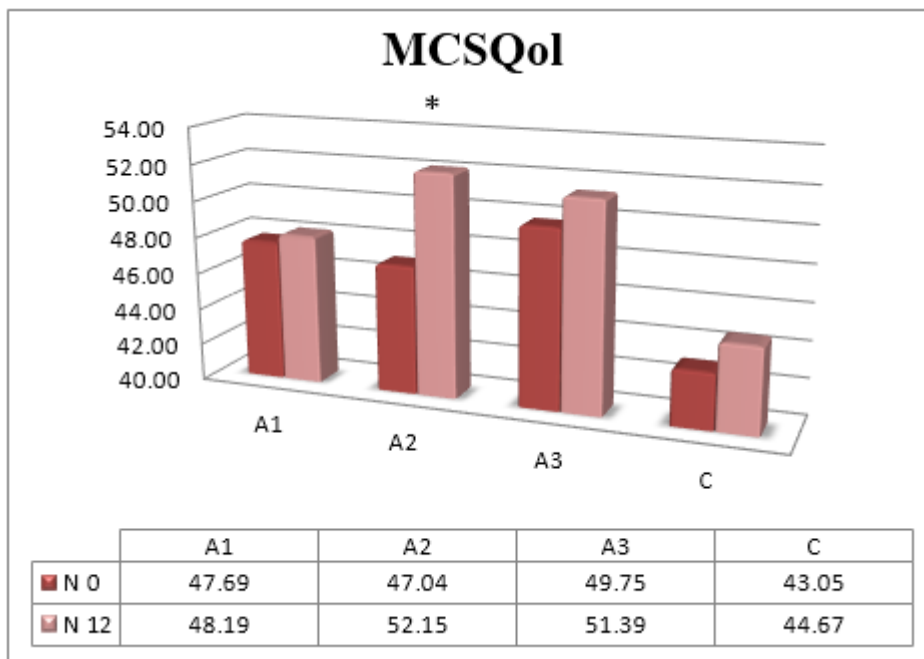
5.2.3.1. Promena fizičkih i mentalnih komponenta kvaliteta života

Kvalitet života RA bolesnika u istraživanju je ispitivan primenom SF36 upitnika (odjeljak 3.1.1), a promene fizičkih (PCS) i mentalnih komponenta kvaliteta života (MCS) u svim terapijskim grupama, na početku i nakon 12 nedelja lečenja prikazane su na grafikonu 5 i 6.

Osim u grupi A1 koja je primala 1 μ g alfakalcidola, gde je došlo do neznačajnog sniženja fizičkih komponenti kvaliteta života (PCS), u ostalim terapijskim grupama je došlo do povećanja PCS zbira, koje je u A3 grupi, koja je primala 3 μ g alfakalcidola, neznačajno, dok je u A2 grupi, koja je primala 2 μ g alfakalcidola ($34,45 \pm 7,881$ vs $37,89 \pm 7,957$, $p < 0,05$, t-test) i C grupi koja je primala prednizon, poboljšanje na nivou statističke značajnosti ($33,47 \pm 7,526$ vs $36,9 \pm 8,903$, $p < 0,05$, t-test).



Grafikon 5. Fizičke komponente kvaliteta života RA bolesnika, na početku (N0) i na kraju aktivnog lečenja (N12) (* $p < 0,05$)



Grafikon 6. Mentalne komponente kvaliteta života RA bolesnika, na početku (N0) i na kraju aktivnog lečenja (N12) (* $p < 0,05$)

U svim terapijskim grupama je nađeno povećanje MCS zbira, odnosno poboljšanje mentalnih komponenti kvaliteta života, a samo je u A2 grupi, koja je primala $2\mu\text{g}$ alfakalcidola, poboljšanje MCS na nivou statističke značajnosti ($47,04 \pm 11,287$ vs $52,15 \pm 10,672$, $p < 0,05$, t-test).

5.2.3.2 Poređenje promene ΔPCS i ΔMCS u različitim terapijskim grupama

Da bismo uporedili, ispitali, uticaj različitih terapijskih režima na promenu fizičkih i mentalnih komponenta kvaliteta života (SF-36PCS i SF-36MCS), upotreбили smo ANOVA –one way test.

Tabela 15. Ispitivanje razlike promene $\Delta\text{SF-36 PCS}$ nakon aktivnog lečenja različitim terapijskim režimima

Grupa	$\Delta\text{SF-36 PCS} \pm \text{SD}$	F	p
A1	$1,6 \pm 5,911$	3,208	0,029
A2	$-3,442 \pm 5,8283$		
A3	$-3,468 \pm 6,6980$		
C	$-3,426 \pm 5,5060$		

$\Delta\text{SF-36 PCS}$ -prosečna promena fizičkih komponenta kvaliteta života, SD- standardna devijacija

Kao što je prikazano i na grafikonu 5, tako i u tabeli 15, u grupi A1, koja je primala 1 μ g alfakalcidola, nađena je najmanja promena, a u grupi A3, koja je primala alfakalcidol 3 μ g, najveća promena SF-36 PCS, tokom perioda aktivnog lečenja. Postoji statistički značajna razlika primene različitih doza alfakalcidola i prednizona, na Δ SF-36 PCS ($p=0,029$, ANOVA - one way).

Tabela 16. Ispitivanje razlike promene Δ SF-36 MCS nakon aktivnog lečenja različitim terapijskim režimima

Grupa	Δ SF-36 MCS \pm SD	F	p
A1	-0,4941 \pm 5,1360	1,576	0,204
A2	-5,115 \pm 7,9120		
A3	-1,6375 \pm 7,4579		
C	-1,620 \pm 6,8577		

Δ SF-36 MCS- promena mentalnih komponenata kvaliteta života, SD- standardna devijacija

Kao što je prikazano i na grafikonu 6, tako i u tabeli 16, u grupi A1, koja je primala 1 μ g alfakalcidola, nađena je najmanja promena Δ SF-36 MCS, a u grupi A2, koja je primala alfakalcidol 2 μ g, najveća promena Δ SF-36 MCS, tokom perioda aktivnog lečenja. Nema statistički značajne razlike primene različitih doza alfakalcidola i prednizona, na promenu fizičkih komponenata kvaliteta života ($p=0,204$, ANOVA - one way).

5.2.3.3 Post-hoc ispitivanje promene Δ PCS i Δ MCS u različitim terapijskim grupama

Post hoc testiranje je pokazalo sledeće odnose između terapijskih grupa u pogledu promene SF-36 PCS nakon tromesečnog lečenja, što je prikazano u tabeli 17.

Tabela 17. Međugrupno ispitivanje značajnosti razlike Δ SF-36 PCS nakon tromesečnog lečenja različitim terapijskim režimima (A1, A2, A3 i C).

GRUPA I	GRUPA J	I-J (razlika)	p
A1	A2	5,04211	0,014
	A3	5,55333	0,011
	C	5,02667	0,021

A1-grupa lečena sa 1 μ g alfakalcidola, A2- grupa lečena sa 2 μ g alfakalcidola, A3- grupa lečena sa 3 μ galfakalcidola,

C-grupa lečena prednizonom

Multipla komparacija je pokazala da se lečenje sa 1µg alfakalcidola značajno razlikuje u odnosu na lečenje sa 2µg(1,6±5,911vs-3,442±5,8283, $p<0,05$), 3µg (1,6±5,911vs-3,468±6,6980, $p<0,05$) ili prednizonom (1,6±5,911vs-3,426±5,5060, $p<0,05$) u pogledu uticaja na promenu SF-36PCS i obratno. Ostale grupe se međusobno ne razlikuju.

5.2.3.4. Promene pojedinačnih komponenata kvaliteta života u različitim terapijskim grupama

Zbirni mentalni i fizički parametri kvaliteta života su prikazani u tabeli 4. u okviru prikazivanja opštih karakteristika ispitanika, a pojedinačne komponente zbirnih parametara kvaliteta života kod 67 ispitanika pri uključenju u studiju su prikazani u tabeli 18.

Nije bilo značajne razlike među ispitivanim grupama u pogledu vrednosti pojedinačnih komponenata kvaliteta života, osim umora ($p<0,05$, ANOVA). Pojedinačne komponente kvaliteta života su ispitane na početku i nakon 12 nedelja lečenja u svim terapijskim grupama, rezultati promena tokom ovog perioda su prikazani na grafikonima 7-10.

Tabela 18. Vrednosti pojedinačnih komponenata kvaliteta života kod svih RA bolesnika pri uključenju u istraživanje

Parametar kvaliteta života	Vrednost±SD
Fizičke funkcije (FF)	54,03±22,636
Fizičke uloge(FU)	57,11±31,864
Bol (B)	42,94±20,823
Opšte zdravlje (OZ)	48,80±15,519
Umor(U)	51,29±19,788
Socijalne uloge(SU)	64,33 24,431
Emocionalne uloge(EU)	70,23±28,945
Mentalno zdravlje (MZ)	61,21±21,831

Tabela 19. Poređenje pojedinačnih parametara kvaliteta života, na početku istraživanja,
u sve četiri terapijske grupe

Grupa	FF	FU	B	OZ	U	SU	EU	MZ
A1	60,9 ±21,73	70,3 ±29,92	45,8 ±17,61	51,8 ±13,78	57,9 ±16,11	72,8 ±19,4	78,4 5±20,2	59 ±17,2
A2	52,3 ±20,22	59,3 ±31,39	39,4 ±13,75	44,4 ±16,08	4 ±17,84	62,6 ±25,22	70,9 ±36,86	61,6 ±21,1
A3	55,4 ±26,46	48,6 ±30,77	49,6 ±24,68	54,1 ±15,27	58,6 ±20,96	68,7 ±20,47	67,4 ±26,43	67 ±20,28
C	44 ±22,21	46,3 ±32,53	35,7 ±25,72	45,5 ±15,44	42,6 ±20,22	52 ±28,27	60,6 ±28,88	55,4 ±28,75
p	0,219	0,118	0,237	0,190	0,038	0,082	0,379	0,513

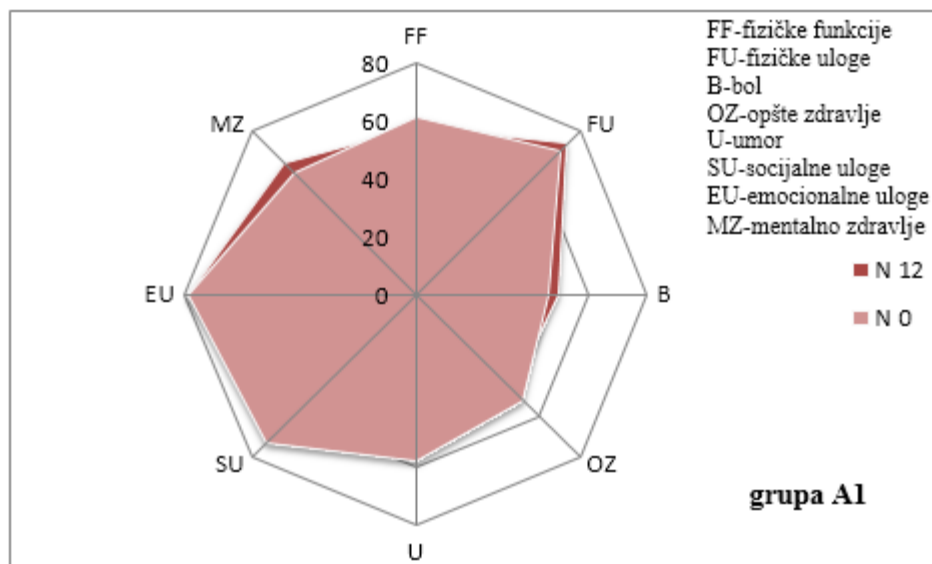
FF-fizičke funkcije, FU- fizičke uloge, B- telesni bol, OZ-opšte zdravlje, U-umor, SU-socijalne uloge,

EU- emocionalne uloge, MZ -mentalno zdravlje

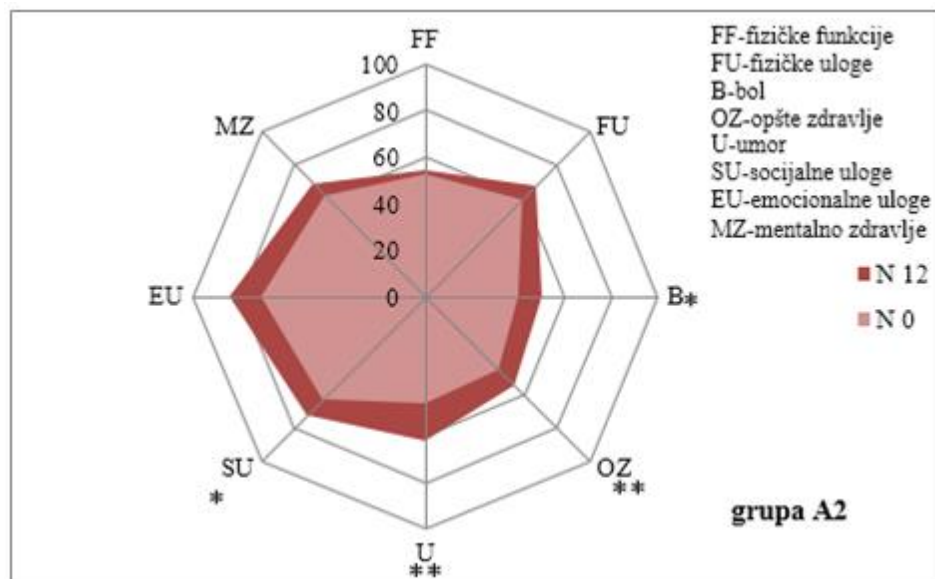
U grupi koja je primala 1 μ g alfakalcidola nijedna promena vrednosti ispitivanih parametara nije na nivou statističke značajnosti.

U grupi koja je primala 2 μ g alfakalcidola nađeno je visoko statistički značajno poboljšanje komponente opšteg zdravlja (OZ; 44,38±13,25 vs 54,32±16,075, $p < 0,01$, t-test) i umora (U; 46±17,838 vs 61,85±18,044 $p < 0,01$, t-test). U komponenti telesnog bola (B; 39,4±13,755 vs 50,0±16,5, $p < 0,05$, t-test), socijalnih uloga (SU; 62,61±25,224 vs 72,35±22,661, $p < 0,05$, t-test) zabeleženo je statistički značajno povećanje, odnosno poboljšanje, dok je promena mentalnog zdravlja na granici statističke značajnosti (MZ; $p = 0,051$, t-test).

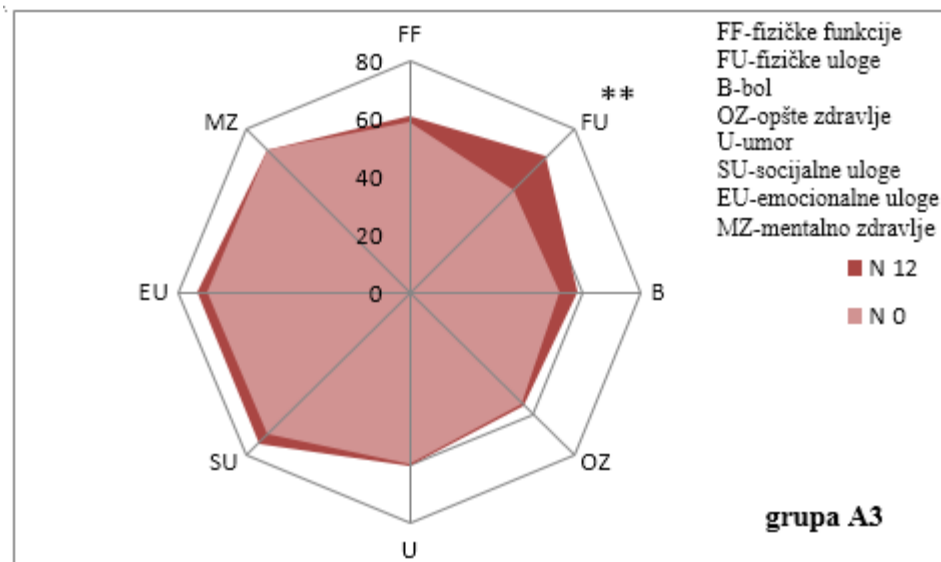
U grupi A3, u kojoj su bolesnici lečeni sa 3 μ g alfakalcidola, nađeno je statistički značajna promena komponente fizičke uloge (FU; 48,63±30,772 vs 64,6±22,302, $p < 0,05$, t-test).



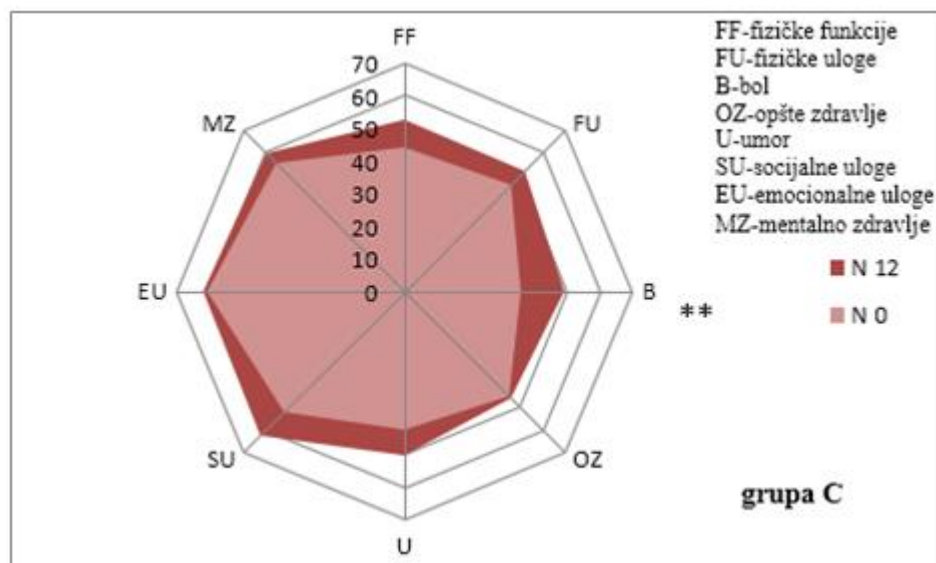
Grafikon 7. Vrednosti pojedinačnih komponenta kvaliteta života na početku (N0) i na kraju aktivnog lečenja u grupi A1(N12)



Grafikon 8. Vrednosti pojedinačnih komponenti kvaliteta života na početku (N0) i na kraju aktivnog lečenja (N12) u grupi A2 (* $p < 0,05$), (** $p < 0,01$)



Grafikon 9. Vrednosti pojedinačnih komponenti kvaliteta života na početku (N0) i na kraju aktivnog lečenja (N12) u grupi A3 (* $p < 0,05$)

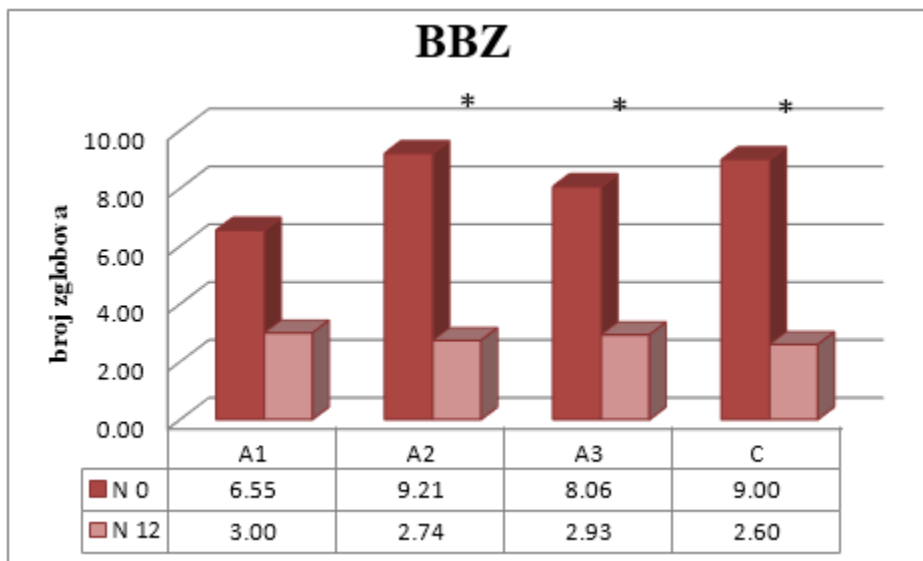


Grafikon 10. Vrednosti pojedinačnih komponenti kvaliteta života na početku (N0) i na kraju (N12) aktivnog lečenja u grupi C (** $p < 0,01$)

U grupi C, u kojoj su RA bolesnici lečeni prednizonom tokom perioda aktivnog lečenja, nađeno je visoko statistički značajno poboljšanje komponente telesnog bola (B; $35,75 \pm 25,729$ vs $49 \pm 27,828$, $p < 0,01$, t-test).

5.2.4. Ispitivanje broja bolnih i otečenih zglobova

Broj bolnih (BBZ) i otečenih zglobova (BOZ) je ispitivan na početku i nakon 12 nedelja aktivnog lečenja, s obzirom da je integralni deo ocene aktivnosti bolesti DAS28 zbirom, uz bolesnikovu procenu aktivnosti RA (pVAS) i brzinu sedimentacije eritrocita (SE). Promene broja bolnih i otečenih zglobova su prikazane na grafikonu 11 i 12.

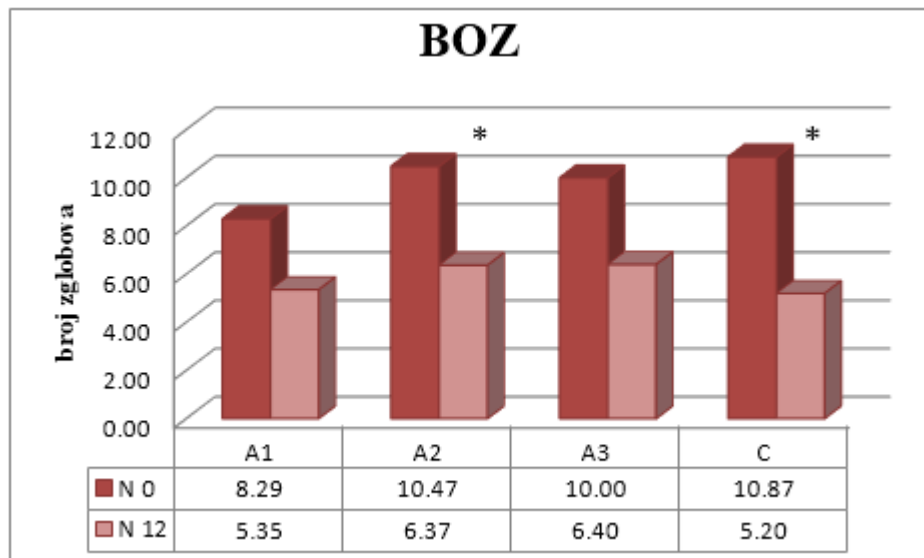


Grafikon 11. Broj bolnih zglobova na početku (N0) i na kraju perioda aktivnog lečenja (N12) (* $p < 0,05$)

U grupi A1, koja je primala 1 μ g alfakalcidola, smanjenje broja bolnih zglobova nije statistički značajno, dok je u grupi A2, koja je primala 2 μ g alfakalcidola (9,21 \pm 3,735 vs 2,74 \pm 2,077, $p < 0,05$, t-test), A3 koja je primala 3 μ g alfakalcidola (8,06 \pm 4,32 vs 2,93 \pm 1,903, $p < 0,05$, t-test) i C koja je primala prednizon (9 \pm 4,309 vs 2,6 \pm 2,72, $p < 0,05$, t-test) broj bolnih zglobova statistički značajno smanjen nakon 12 nedelja aktivnog lečenja.

U grupi A2, koja je primala 2 μ g alfakalcidola nađeno je statistički značajno smanjenje broja otečenih zglobova tokom perioda aktivnog lečenja (10,47 \pm 4,07 vs 6,37 \pm 3,131, $p < 0,05$, t-test), kao i u grupi C, koja je primala prednizon (10,87 \pm 3,482 vs 5,20 \pm 2,305, $p < 0,05$, t-test).

Da bismo dodatno ispitali uticaj različitih ispitivanih terapijskih režima na kliničku aktivnost RA, tokom tromesečnog lečenja, izračunali smo promenu broja bolnih i otečenih zglobova (Δ BBZ i Δ BOZ) po grupama, a rezultati su prikazani u tabeli 20 i 21.



Grafikon 12. Broj otečenih zglobova na početku (N0) i na kraju perioda aktivnog lečenja (N12) (* $p < 0,05$)

Tabela 20. Prosečna promena Δ BBZ i Δ BOZ nakon aktivnog lečenja u grupama na različitim terapijskim režimima

Grupa	Δ BBZ \pm SD	Δ BOZ \pm SD
A1	3,35 \pm 3,690	2,94 \pm 3,864
A2	6,47 \pm 3,626	4,10 \pm 4,175
A3	4,73 \pm 3,807	3,60 \pm 2,384
C	6,44 \pm 4,339	5,66 \pm 4,482

Δ BBZ-promena broja bolnih zglobova, Δ BOZ-promena broja otečenih zglobova, SD- standardna devijacija

Tabela 21. Ispitivanje razlike prosečne promene Δ BBZ nakon aktivnog lečenja različitim terapijskim režimima

Grupa	Δ BBZ \pm SD	F	p
A1	3,35 \pm 3,690	2,546	0,064
A2	6,47 \pm 3,626		
A3	4,73 \pm 3,807		
C	6,44 \pm 4,339		

Δ BBZ-promena broja bolnih zglobova, SD- standardna devijacija

Kao što je prikazano i na grafikonu 11, tako i u tabeli 20, u grupi A1, koja je primala 1 μ g alfakalcidola, nađena je najmanja promena Δ BBZ, a u grupi A2, koja je primala alfakalcidol 2 μ g, najveća promena Δ BBZ tokom perioda aktivnog lečenja. Nema statistički značajne razlike primene različitih doza alfakalcidola i prednizona, na Δ BBZ ($p=0,064$, ANOVA - one way).

Tabela 22. Ispitivanje razlike promene Δ BOZ nakon aktivnog lečenja različitim terapijskim režimima

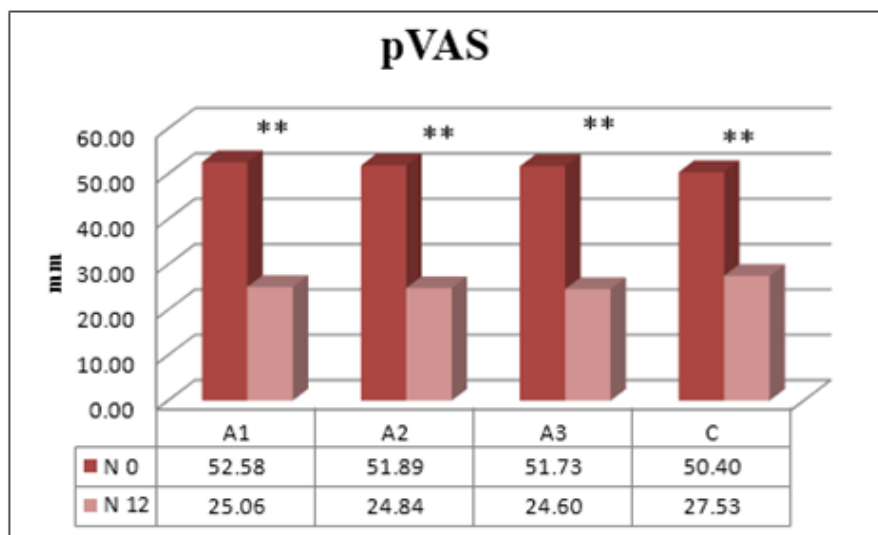
Grupa	Δ BOZ \pm SD	F	p
A1	2,94 \pm 3,864	1,430	0,243
A2	4,10 \pm 4,175		
A3	3,60 \pm 2,384		
C	5,66 \pm 4,482		

Δ BOZ-promena broja bolnih zglobova, SD- standardna devijacija

Kao što je prikazano i na grafikonu 12, tako i u tabeli 22, u grupi A1, koja je primala 1 μ g alfakalcidola, nađena je najmanja promena Δ BOZ, a u grupi C, koja je primala prednizon, najveća promena Δ BOZ perioda aktivnog lečenja. Nema statistički značajne razlike primene različitih doza alfakalcidola i prednizona, na promenu broja otečenih zglobova ($p=0,243$, ANOVA - one way).

5.2.5 Ispitivanje bolesnikove procena aktivnosti bolesti

Bolesnikova procena aktivnosti RA sastavni je deo ispitivanja aktivnosti RA upotrebom DAS28 zbira. Ispitali smo značajnost razlike promena pVAS na početku i nakon perioda aktivnog lečenja, u sve četiri terapijske grupe, što je prikazano na grafikonu 13.



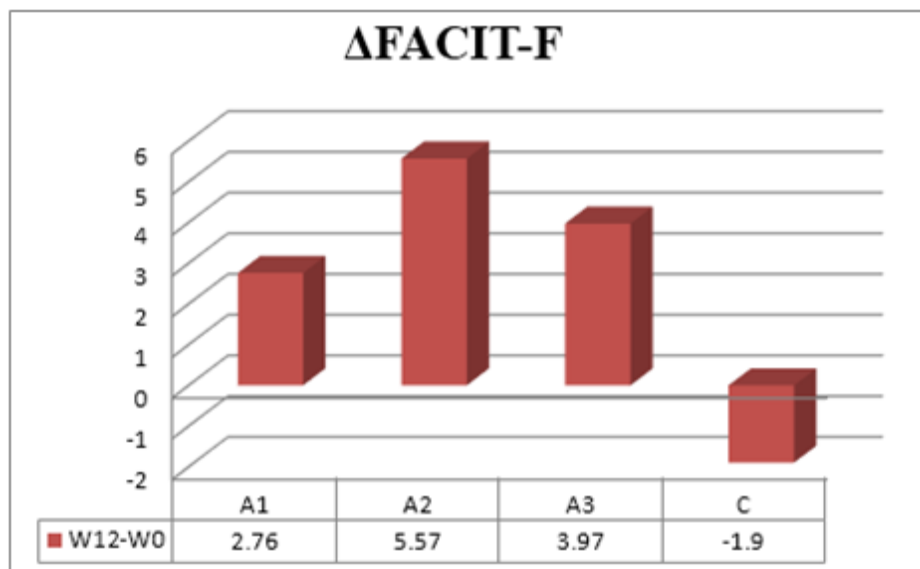
Grafikon

13. Bolesnikova procena aktivnosti artritisa (pVAS) na početku (N0) i na kraju aktivnog lečenja (N12) (** $p<0,01$)

U svim terapijskim grupama je došlo do visoko statistički značajne promene bolesnikove procene aktivnosti artritisa ($p < 0,01$, paired t test).

5.2.6. Ispitivanje promene zamora

Kod svih ispitanika je na svakoj poseti bolesnik j odgovarao na pitanja za procenu zamorljivosti FACIT-F. Rezultati FACIT –F upitnika na početku i na kraju faze aktivnog lečenja u sve četiri terapijske grupe su prikazani na sledećem grafikonu.



Grafikon 14. Promene FACIT-F skale zamorljivosti na početku (N0) i na kraju (N12) perioda aktivnog lečenja

Vrednosti FACIT upitnika je snižena, odnosno pogoršana u grupi C, koja je primala prednizon, dok su povišene, odnosno poboljšane u grupama A1, A2 i A3, koje su primale 1 μ g, 2 μ g i 3 μ g alfakalcidola. Promena vrednosti FACIT-F ni u jednoj grupi nije nivou statističke značajnosti, a najizrazitije poboljšanje nakon perioda aktivnog lečenja je nastupilo u grupi A2.

5.2.6.1. Poređenje promena Δ FACIT-F, u različitim terapijskim režimima, nakon aktivnog različitim terapijskim režimima

Da bismo uporedili ispitali uticaj različitih terapijskih režima na promenu skale zamorljivosti (Δ FACIT-F), uporebili smo ANOVA –one way test.

Kao što je prikazano i na grafikonu 14, tako i u tabeli 23, u grupi C, koja je primala prednizon, nađena je najmanja negativna promena, a u grupi A2, koja je primala alfakalcidol 2 μ g, najveća pozitivna promena skale umora, tokom perioda aktivnog lečenja. Ne postoji

statistički značajna razlika uticaja lečenja različitim dozama alfakalcidola i prednisonom, na Δ FACIT-F ($p=0,215$, ANOVA - one way).

Tabela 23. Ispitivanje razlike prosečne promene Δ FACIT-F nakon aktivnog lečenja različitim terapijskim režimima

Grupa	Δ FACIT-F \pm SD	F	p
A1	-0,76 \pm 0,1126	1,534	0,215
A2	5,57 \pm 0,1538		
A3	3,97 \pm 0,1136		
C	-1,9 \pm 0,1539		

Δ FACIT- promena skale zamorljivosti, SD- standardna devijacija

5.3. Klinički pokazatelji bolesti tokom perioda praćenja, nakon završetka aktivnog lečenja

5.3.1. Prilagodavanje terapije

Posle tromesečnog aktivnog lečenja primenom tri različite visoke doze alfakalcidola, ili prednisonom, svi bolesnici sem dvoje (samoinicijativno odustali) su nastavili učešće prelaskom u fazu praćenja, tokom narednih 9 meseci, u kome su uz standardnu LMTB terapiju nastavili sa korišćenjem doze održavanja 1 μ g alfakalcidola. Tokom tog perioda došli su na dve kontrole, nakon 24 i 52 nedelje od početka istraživanja, radi praćenja aktivnosti bolesti, funkcijskog statusa, kvaliteta života, mišićne funkcije, bezbednosti lečenja, procenjeno praćenjem kalcijumskog metabolizma i kliničkim pregledom.

Prema pravilima T2T strategije, kod bolesnika kod kojih je uočeno povećanje aktivnosti bolesti, izmenjena je terapija, što je podrazumevalo povećanje doze sLMTB, lečenje kombinacijama sLMTB, kombinacijama sLMTB i bLMTB, sa ili bez GK, primenu intraartikularnih injekcija glikokortikoida. S obzirom na DAS 28 na 24 nedelji, prilagodavanje je sprovedeno od 24.-52. nedelje.

Na tabeli 24. su kumulativno prikazane izmene terapije RA u odnosu na prethodni terapijski režim, koji je prema protokolu bio nepromenjen tokom prvog dela istraživanja.

Kod 22/65 (33,8%) RA bolesnika koji su praćeni 52 nedelje, terapija je na neki način prilagođavana tokom perioda praćenja, tj. nakon završene 12. nedelje istraživanja. Najčešće su primenjeni glikokortikoidi lokalno 7/65(10,7%), povećanje doze MTXa 6/65 (9,2%), potom kombinacije MTX sa drugim sLMTB 3/65 (4,6%), kod troje bolesnika koji su bili predloženi za lečenje biološkom terapijom pre uključenja u ovo istraživanje, kombinacije sa bLMTB 3/65 (4,6%) i sistemska primena glikokortikoida 3/65 (4,6%). Imajući ovo u vidu, prikazaćemo kretanje praćenih parametara kroz istraživanje u celini, i tokom aktivnog lečenja i perioda praćenja. Detaljniji rezultati koji su od značaja za cilj istraživanja, a odnose se na period aktivnog lečenja, prikazani su u prvom delu ovog segmenta (deo 2).

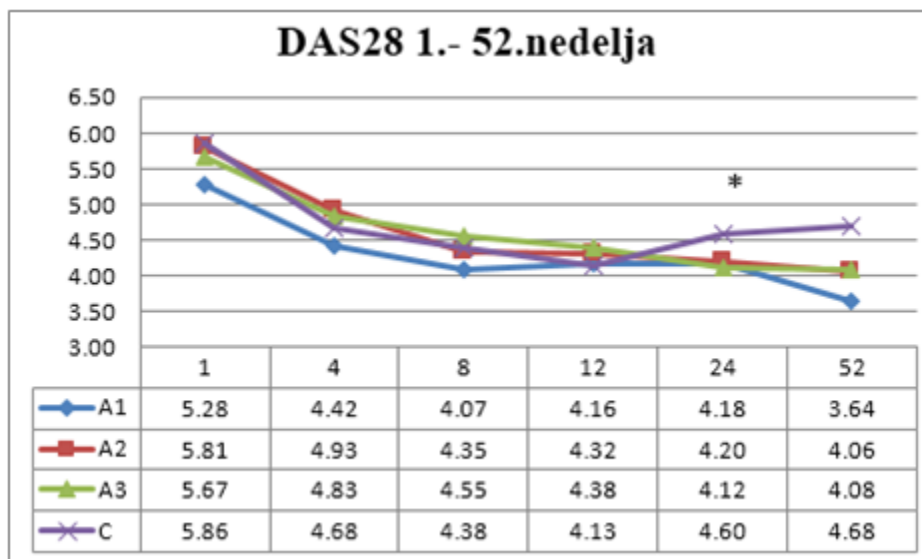
Tabela 24. Izmene terapije kod RA bolesnika, tokom perioda praćenja (24-52. nedelja)

Grupa	Povećanje doze sLMTB/MTX (N)	Kombinacija sLMTB (N)	Kombinacija sLMTB/bLMTB (N)	Kombinacija sLMTB/GK (N)	GK lokalno (N)	Σ (N)
A1	2	0	1	1	0	4/17
A2	1	1	2	0	3	7/18
A3	2	1	0	0	3	6/15
C	1	1	0	2	1	5/15
Σ grupe	6	3	3	3	7	22/65

sLMTB-sintetski bazični lekovi, bLMTB-biološki bazični lekovi, MTX-methotrexate GK-glikokortikoidi

5.3.2DAS28 tokom perioda praćenja (24-52. nedelja)

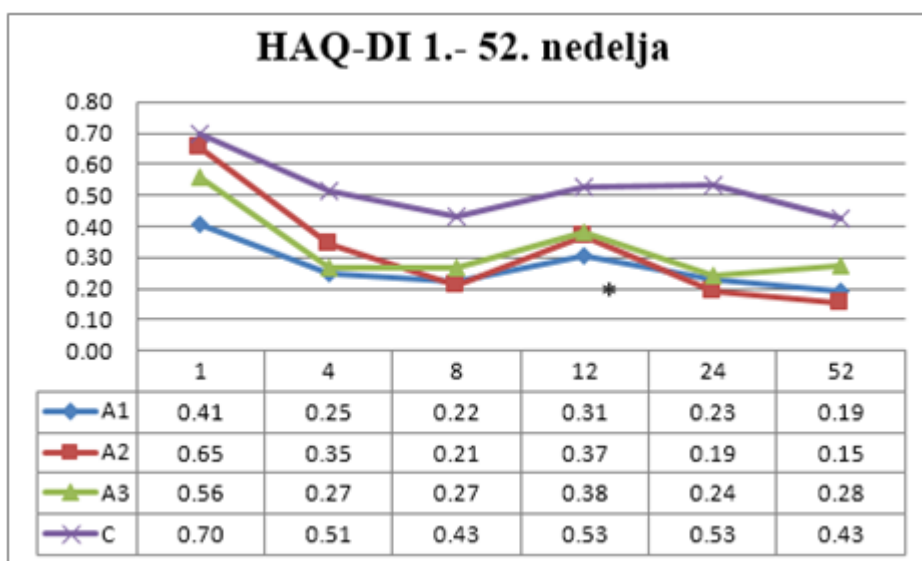
Praćenje kretanja aktivnosti bolesti, tokom aktivnog lečenja i praćenja, prikazano je na grafikonu 15. Praćenje aktivnosti bolesti (DAS28) između 12 i 24 nedelje praćenja, pokazalo je da nema statistički značajne promene aktivnosti bolesti, sem povećanja DAS28 zbira u grupi C, ($p=0,017$, t-test). Poređenjem istog parametra na 12 i 52 nedelji, nije nađena značajna razlike niti u jednoj od grupa.



Grafikon 15. Aktivnost RA (DAS28) tokom aktivnog lečenja i perioda praćenja (1,4,8,12,24,52-posete tokom istraživanja)

5.3.3 Funkcijski status (HAQ-DI) tokom perioda praćenja (24-52.nedelja)

Bolesnici su na svakoj poseti odgovarali na opštu zdravstvenu anketu HAQDI radi uvida u njihov funkcijski status. Funkcijski status tokom perioda aktivnog lečenja u istraživanju imajući u vidu prilagođavanje lečenja, tokom perioda praćenja, prikazan je na grafikonu 16.



Grafikon 16. Funkcijski status RA bolesnika (HAQ-DI) tokom aktivnog lečenja i perioda praćenja (1,4,8,12,24,52-posete tokom istraživanja)

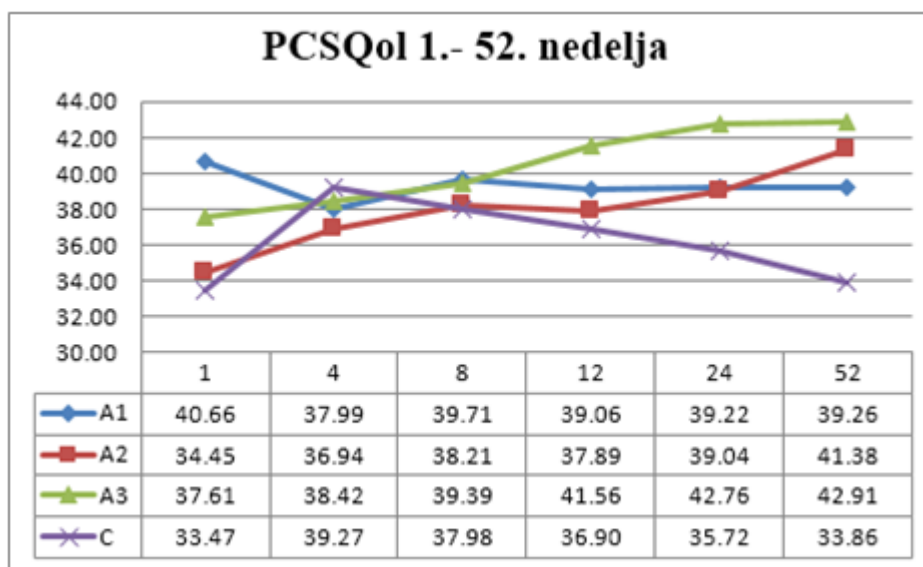
U grupi A3 je nađen statistički značajno niži funkcijski status (HAQ-DI) na 24 nedelji ($p=0,011$, t-test) u odnosu na kraj aktivnog lečenja, u svim ostalim grupama u pogledu funkcijskog statusa, nema razlike, kao ni na 52 nedelji.

5.3.4. Kvalitet života (SF-36) tokom perioda praćenja (24-52.nedelja)

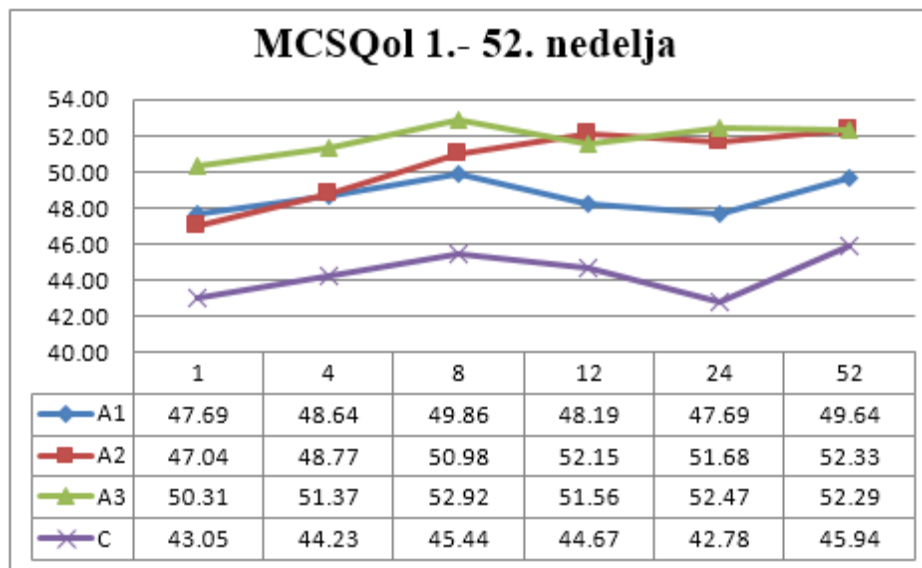
Upitnik SF-36 je korišćen pri svakoj poseti za procenu kvaliteta života RA bolesnika, kretanje vrednosti fizičkih i mentalnih komponenata kvaliteta života, tokom aktivnog lečenja u istraživanju i imajući u vidu prilagođavanje terapije u periodu praćenja, prikazane su na grafikonima 17 i 18.

Tokom perioda praćenja fizičke komponente kvaliteta života se nisu statistički značajno promenile.

Tokom perioda praćenja nije nađena značajna promena mentalnih komponenata kvaliteta života.



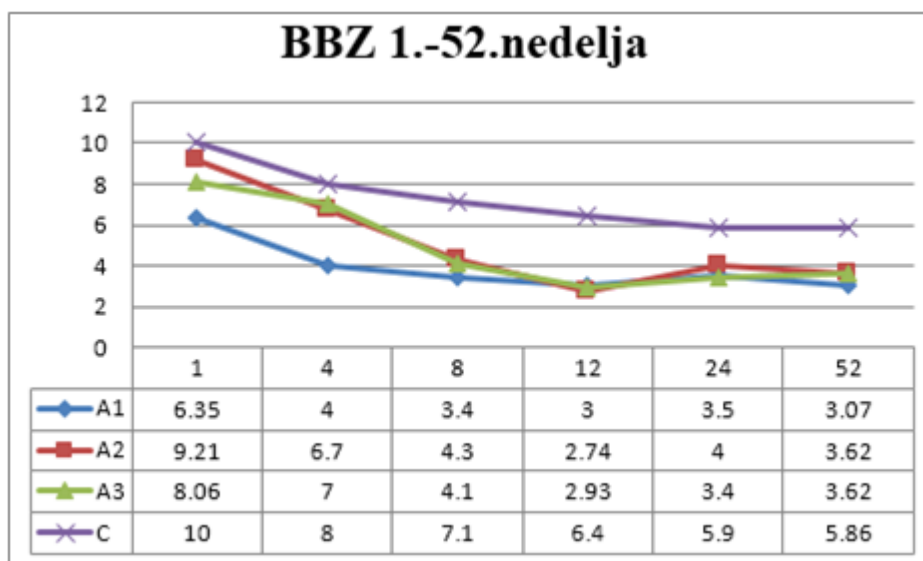
Grafikon 17. Fizičke komponente kvaliteta života RA bolesnika (PCS SF-36) tokom aktivnog lečenja i perioda praćenja (1,4,8,12,24,52-posete tokom istraživanja)



Grafikon 18. Mentalne komponente kvaliteta života RA bolesnika (MCS SF-36) tokom aktivnog lečenja i perioda praćenja (1,4,8,12,24,52-posete tokom istraživanja)

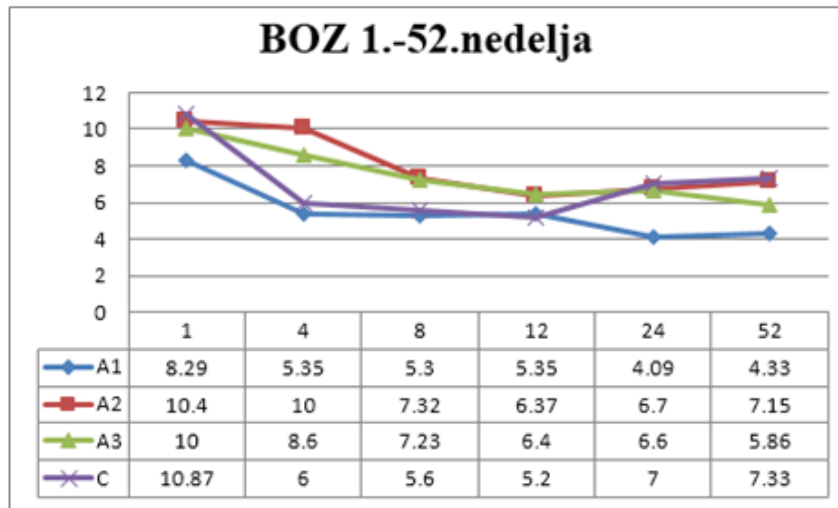
5.3.5. Broj bolnih i otečenih zglobova tokom perioda praćenja (24-52.nedelja)

Na svakoj poseti je pregledom bolnih i otečenih zglobova praćena efikasnost primenjenih terapijskih režima. Kretanje broja bolnih i otečenih zglobova tokom istraživanja, u periodu aktivnog lečenja u istraživanju i imajući u vidu i prilagođavanje terapije, u perioda praćenja, prikazano je na grafikonima 19 i 20.



Grafikon 19. Broj bolnih zglobova kod RA bolesnika tokom aktivnog lečenja i perioda praćenja (1,4,8,12,24,52-posete tokom istraživanja)

Tokom perioda praćenja nije došlo do značajnog pogoršanja broja bolnih i otečenih zglobova, imajući u vidu i prilagođavanje terapije.

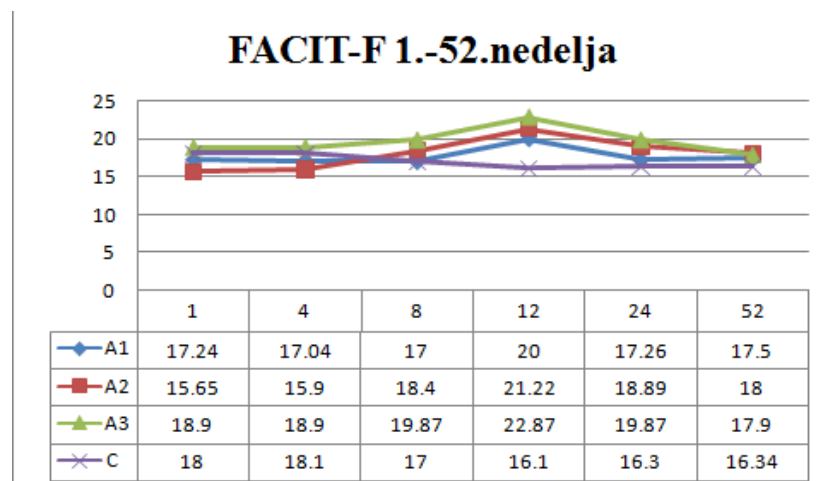


Grafikon 20. Broj otečenih zglobova kod RA bolesnika tokom perioda aktivnog lečenja i perioda praćenja (1,4,8,12,24,52-posete tokom istraživanja)

Broj otečenih zglobova se nije značajno menjao tokom perioda praćenja.

5.3.6 Skala zamora(FACIT-F) tokom perioda praćenja (24-52.nedelja)

Upitnik za praćenje zamornosti RA bolesnici su popunjavali na svakoj poseti, rezultati kretanja zamornosti tokom perioda aktivnog lečenja u istraživanju i imajući u vidu prilagođavanje terapije, tokom perioda praćenja je prikazano na grafikonu 21.



Grafikon 21. Skala zamornosti (FACIT - F) kod RA bolesnika tokom aktivnog lečenja i perioda praćenja(1,4,8,12,24,52-posete tokom istraživanja)

Nije bilo značajne promene vrednosti skale zamorljivosti tokom perioda praćenja.

5.4.Laboratorijska istraživanja tokom perioda aktivnog lečenja

5.4.1.Laboratorijske karakteristike svih RA bolesnika

Biohemijska i hematološka ispitivanja sprovedena na početku istraživanja su opisana u odeljku 3.4, a u cilju ispitivanja podobnosti za uključenje i poređenje, na svim sledećim posetama u cilju evaluacije efikasnosti i bezbednosti primenjenih terapijskih režima. Neki od najvažnijih laboratorijskih nalaza za istraživanje kod svih 67 ispitanika, prikazani su u tabeli 25.

Radi uvida u uporedljivost bolesnika, ispitali smo vrednosti nekih od laboratorijskih parametara od značaja za istraživanje, pred početak perioda aktivnog lečenja u sve četiri terapijske grupe a rezultati su prikazani u tabeli 26.

Ispitanici su bili komparabilni što se tiče laboratorijskih karakteristika.

Tabela 25. Laboratorijske karakteristike svih RA bolesnika na početku istraživanja

Laboratorijska karakteristika	Vrednost ± SD
SE(mm/h)	38,52±23,294
CRP(mg/dL)	20,72±25,061
Ca u serumu(mmol/l)	2,37±0,149
Ca u 24h urinu(g/DU)	0,17±0,092
PTH(pg/ml)	38,62±15,067
Laboratorijska karakteristika	Vrednost ± SD
25OHD3(ng/ml)	31,53±13,369
Holesterol(mmol/l)	5,37±0,987
HDL(mmol/l)	1,55±0,459
LDL(mmol/l)	3,24±0,928

SE-sedimentacija eritrocita, CRP- C-reaktivni protein, Ca s-kalcijum u serumu, Ca u-kalcijum u 24h urinu, HDL-high-density lipoprotein, LDL-low-density lipoprotein, 25(OH)D3-holekalciferol, PTH- parathormon

Tabela 26. Poređenje laboratorijskih karakteristika bolesnika, na početku istraživanja, u sve četiri terapijske grupe

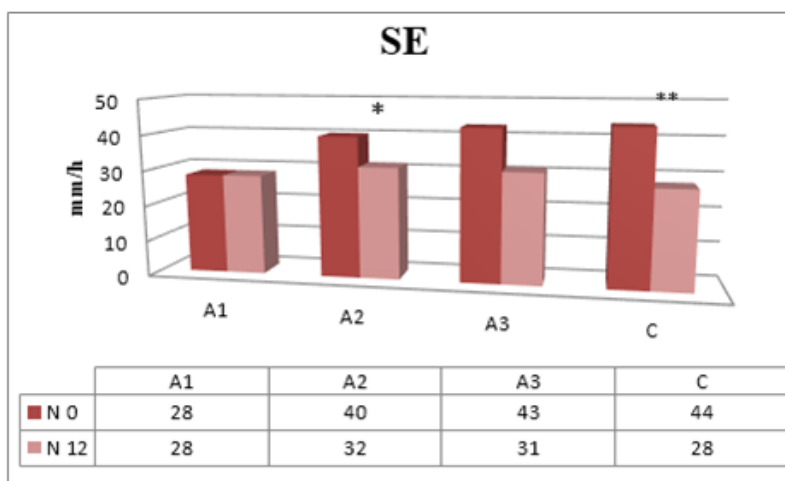
Grupa	SE (mm/h)	CRP (mg/dL)	25(OH)D3 (ng/ml)	PTH (pg/ml)	HDL (mmol/l)	LDL (mmol/l)	Holesterol (mmol/l)
A1	28,18 ±20	8,25 ±14,87	31,88 ±13,573	41,49 ±19,635	1,46 ±0,358	3,37 ±0,933	5,45 ±1,044
A2	39,84 ±23,735	28,41 ±28,162	28,97 ±9,914	31,2 ±9,382	1,51 ±0,464	3,06 ±0,88	5,11 ±0,967
A3	42,88 ±28,98	22,42 ±26,322	28,02 ±14,118	42,74 ±11,657	1,54 ±0,824	3,15 ±0,417	5,28 ±1,025
C	43,73 ±15,895	23,55 ±24,92	34,02 ±15,741	40,49 ±15,49	1,68 ±0,585	3,36 ±1,110	5,65 ±0,927
<i>p</i>	0,188	0,093	0,237	0,075	0,551	0,722	0,429

SE-sedimentacija eritrocita, *CRP*-C-reaktivni protein, *HDL*- high-density lipoprotein, *LDL*-low-density lipoprotein, *25(OH)D3*-holekalciferol, *PTH*- parathormon

5.4.2. Ispitivanje laboratorijskih parametara poboljšanja u različitim terapijskim grupama

5.4.2.1. Biohumoralni pokazatelji zapaljenja u različitim terapijskim grupama

U cilju ispitivanja efikasnosti primenjenih terapijskih režima rađene su analize prema protokolu (Tabela 2). Ispitivanje kretanja sedimentacije eritrocita na početku i nakon 12 nedelja aktivnog lečenja su prikazane na grafikonima 22 i 23.

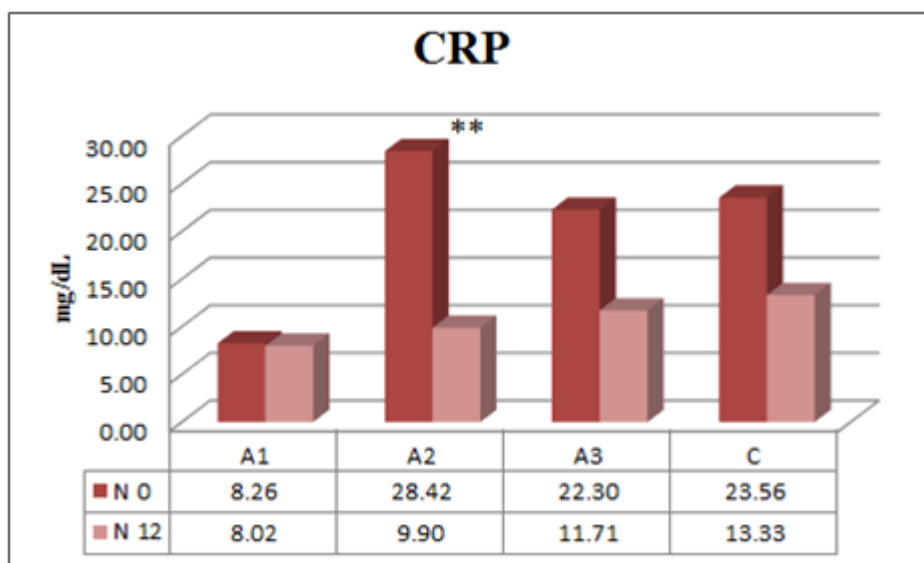


Grafikon 22. Brzina sedimentacije eritrocita na početku (N0) i na kraju (N12) perioda aktivnog lečenja (* $p < 0,05$), (** $p < 0,01$)

Nakon 12 nedelja lečenja u svim terapijskim grupama, sem u grupi A1, koja je lečena sa 1 μ g alfakalcidola, došlo je do smanjenja brzine SE. U grupi A2, koja je primala 2 μ g alfakalcidola (39,84 \pm 23,375 vs 31,83 \pm 21,920, p <0,05, t-test), zabeleženo je statistički značajno sniženje SE, a u C, koja je primala prednizolon, visoko statistički značajno sniženje (43,83 \pm 15,895 vs 27,8 \pm 18,044, p <0,01, t-test).

Serumske vrednosti CRP na početku i nakon 12 nedelja lečenja različitim terapijskim režimima prikazane su na grafikonu 23.

U grupi A2, koja je lečena sa 2 μ g alfakalcidola, došlo je do visoko statistički značajnog sniženja CRP (28,42 \pm 28,162 vs 10,03 \pm 11,682, p <0,01, t-test), a u grupi A3 koja je lečena sa 3 μ g alfakalcidola i C, koja je lečena prednizonom do statistički neznačajnog sniženja, dok je u grupi A1 koja je primala 1 μ g alfakalcidola, došlo do statistički neznačajnog povišenja serumskog CRP.



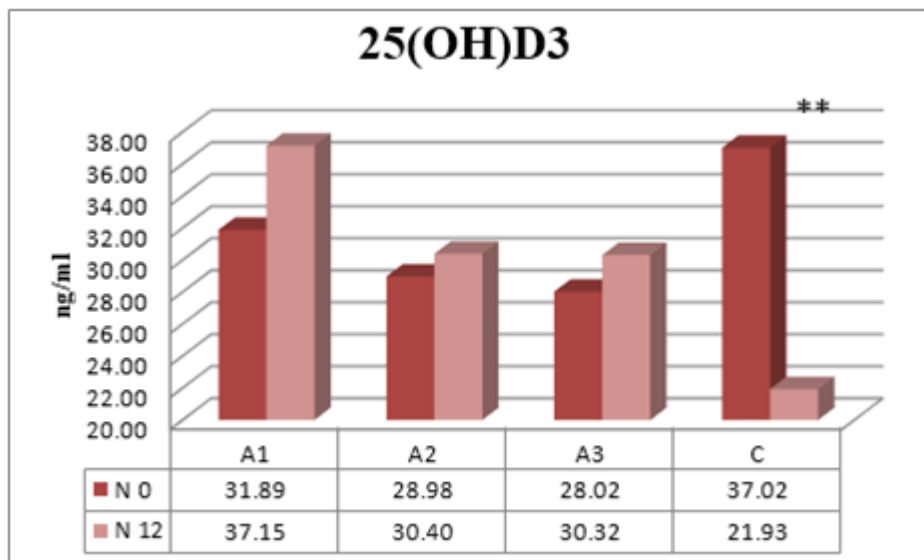
Grafikon 23. Serumski CRP na početku (N0) i na kraju perioda aktivnog lečenja (N12) (** p <0,01)

5.4.2.2. Serumski vitamin D i parathormon u različitim terapijskim grupama

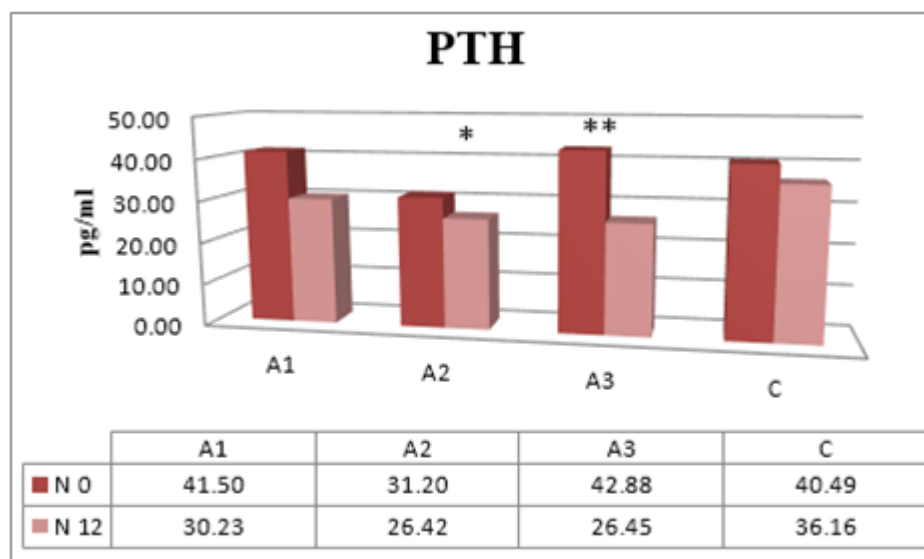
Prema protokolu istraživanja, na početku i nakon 12 nedelja aktivnog lečenja je ispitan serumski nivo 25(OH)D3, kao i parathormona, a nalazi u svim grupama su prikazani na grafikonima 24 i 25.

Nađen je statistički neznačajan porast serumskog nivoa 25(OH)D3 u svim grupama bolesnika koji su lečeni alfakalcidolom, a u grupi C, koja je primala prednizon, došlo je do

visoko statistički značajnog sniženja serumskog nivoa 25(OH)D3 ($37,02 \pm 15,741$ vs $21,93 \pm 10,896$, $p < 0,01$, t-test).



Grafikon 24. Serumski nivo 25(OH)D3 na početku (N0) i na kraju (N12) perioda aktivnog lečenja (** $p < 0,01$)



Grafikon 25. Serumski PTH na početku (N0) i na kraju (N12) perioda aktivnog lečenja (* $p < 0,05$), (** $p < 0,01$)

Nađeno je statistički značajano sniženje serumskog nivoa PTH u grupi A2, koja je lečena sa $2\mu\text{g}$ alfakalcidola ($31,2 \pm 9,387$ vs $26,42 \pm 10,294$, $p < 0,05$, t-test), a u A3 grupi koja je lečena sa $3\mu\text{g}$, visoko statistički značajno ($42,88 \pm 11,657$ vs $26,45 \pm 13,401$, $p < 0,01$, t-test). U grupama A1 i C je sniženje statistički neznačajno.

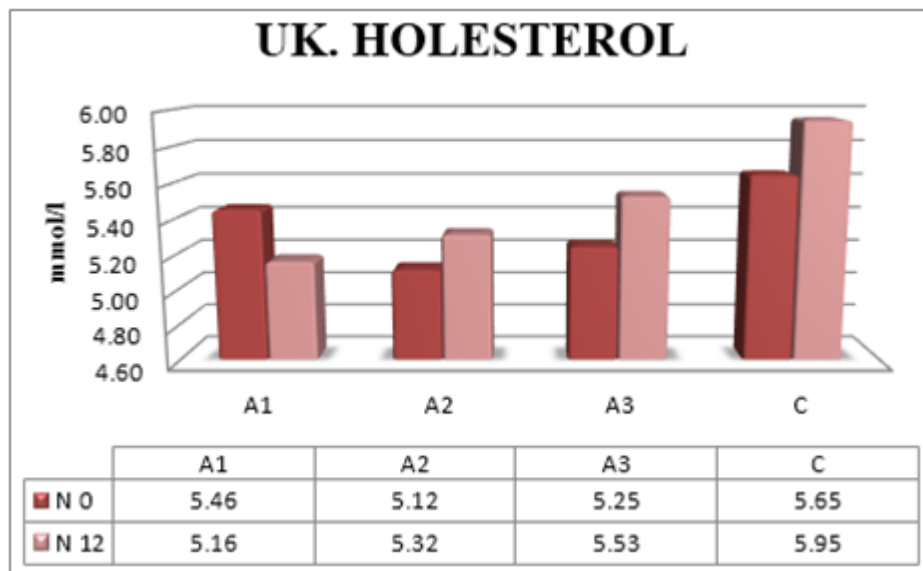
5.4.2.3 Lipidni status u različitim terapijskim grupama

Ispitivani su i serumski nivoi ukupnog holesterola i frakcija holesterola LDL i HDL, trigliceridi na početku i nakon 12 nedelja aktivnog lečenja u okviru istraživanja. Dobijeni rezultati su prikazani na grafikonima 26-28.

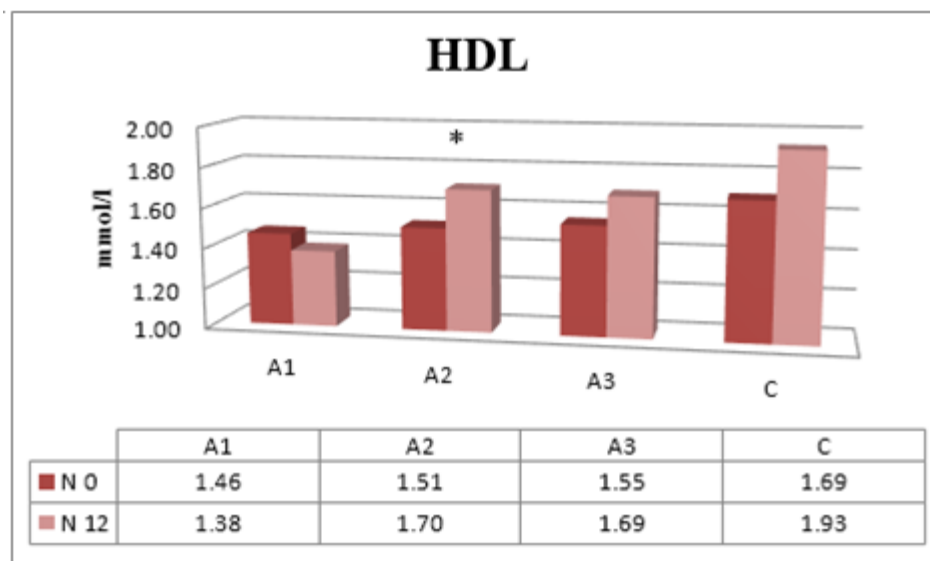
Ni u jednoj od grupa u kojima je došlo do porasta nivoa ukupnog holesterola, a to su grupe koje su lečene sa 2 μ g i 3 μ g alfakalcidola i prednizonom, promena nije dostigla statističku značajnost. U grupi A1, koja je lečena sa 1 μ g alfakalcidola, došlo je do statistički neznačajnog sniženja ukupnog holesterola tokom perioda aktivnog lečenja.

U A2, grupi, koja je lečena sa 2 μ g, u A3 grupi, koja je lečena sa 3 μ g alfakalcidola i C grupi, koja je lečena prednizonom, došlo je do porasta HDL, od čega je u grupi A2 (1,51 \pm 0,464 vs 1,7 \pm 0,611, $p < 0,05$, t-test) promena statistički značajna. U A1 grupi, koja je primala 1 μ g alfakalcidola, došlo je do statistički neznačajnog smanjenja HDL.

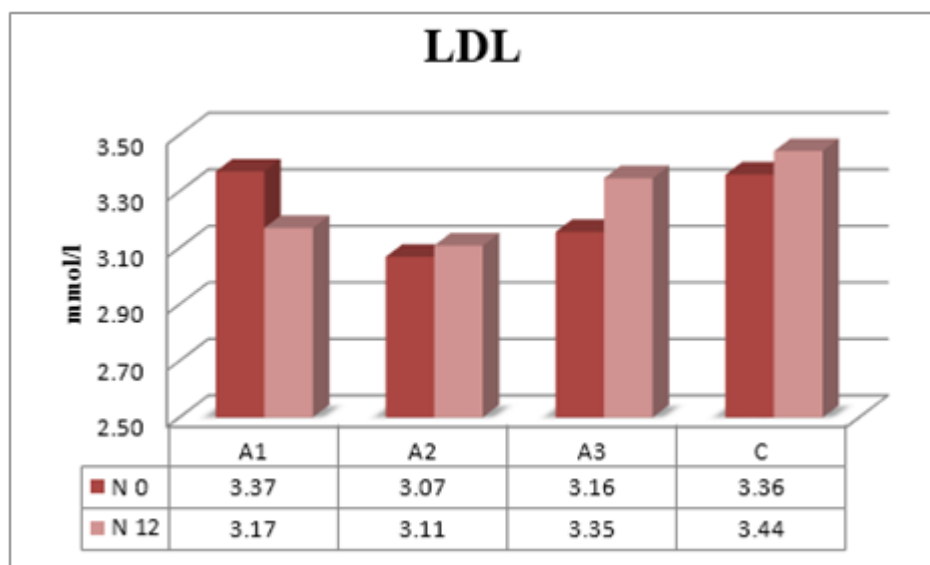
U pogledu promena serumskih nivoa LDL frakcije holesterola, u A1 grupi je došlo do neznačajnog smanjenja, a u grupama A2, A3 i C do porasta, koji ni u jednoj grupi nije dostigao nivo statističke značajnosti.



Grafikon 26. Holesterol u serumu, na početku (N0) i na kraju (N12) perioda aktivnog lečenja



Grafikon 27. HDL holesterol u serumu, na početku (N0) i na kraju (N12) perioda aktivnog lečenja (* $p < 0,05$)



Grafikon 28. LDL holesterol u serumu, na početku (N0) i na kraju (N12) perioda aktivnog lečenja

Osim apsolutnih vrednosti holesterola u serumu ispitani su i odnosi između ukupnog holesterola i frakcija holesterola, kao i triglicerida i HDL frakcije holesterola i prikazani su u tabeli 27 i 28.

Tabela 27. Odnos HDL/LDL i tHOL/HDL na početku i na kraju perioda aktivnog lečenja u istraživanju

Grupa	HDL/LDL N0; tHOL/HDL N0		HDL/LDL N12; tHOL/HDL N12	
A1	0,43	3,7	0,43	3,73
A2	0,49	3,39	0,54	3,12
A3	0,49	3,38	0,50	3,27
C	0,5	3,34	0,56	3,08

N0-početak lečenja, N12-kraj lečenja, LDL-low-density lipoprotein, HDL-high density lipoprotein, tHOL-ukupni holesterol

U grupama koje su primale alfakalcidol 2 μ g i prednizon je došlo do povećanja odnosa HDL/LDL holesterola (poželjno da bude > 0,4), a u grupama A2 i A3 i C odnos tHOL/HDL je u opadanju (poželjno da bude < 4).

U grupama koje su primale alfakalcidol 2 μ g, 3 μ g i prednizon, došlo je do smanjenja odnosa triglicerida i HDL holesterola (idealno je da bude ispod 0,87), što je najizraženije u grupi koja je primala 2 μ g alfakalcidola tokom 12 nedelja (-0,15). Prosečne vrednosti triglicerida u serumu se nisu značajno promenile niti u jednoj terapijskoj grupi u posmatranom periodu.

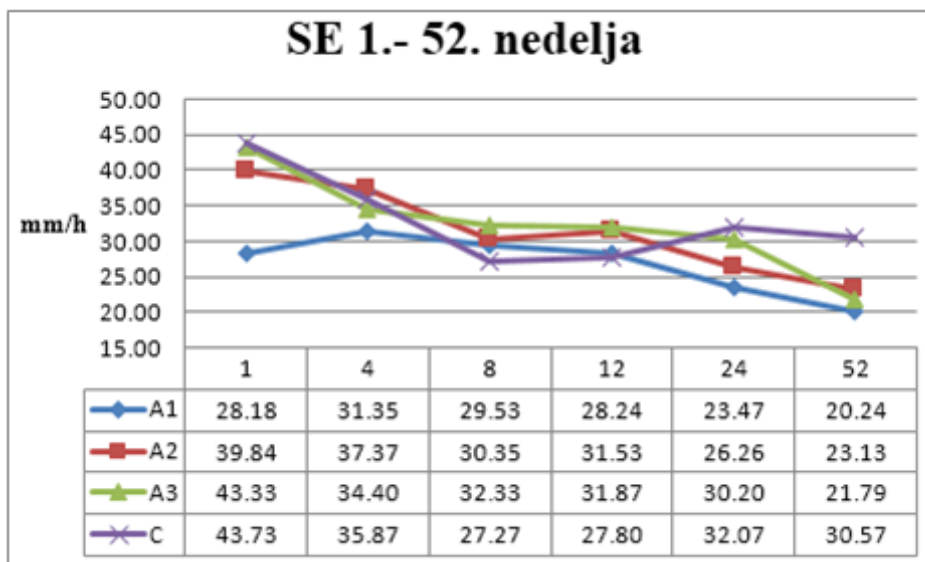
Tabela 28. Odnos tg β /HDL na početku i na kraju perioda aktivnog lečenja u istraživanju

Grupa	Tgd (mmol/l) N0 Tgd/HDL N0	Tgd (mmol/l) N12 Tgd/HDL N12
A1	1,39 \pm 0,4350,95	1,42 \pm 0,3991,03
A2	1,3 \pm 0,4660,9	1,28 \pm 0,5680,75
A3	1,15 \pm 0,5210,79	1,14 \pm 0,4660,67
C	1,32 \pm 0,5560,79	1,47 \pm 0,4340,77

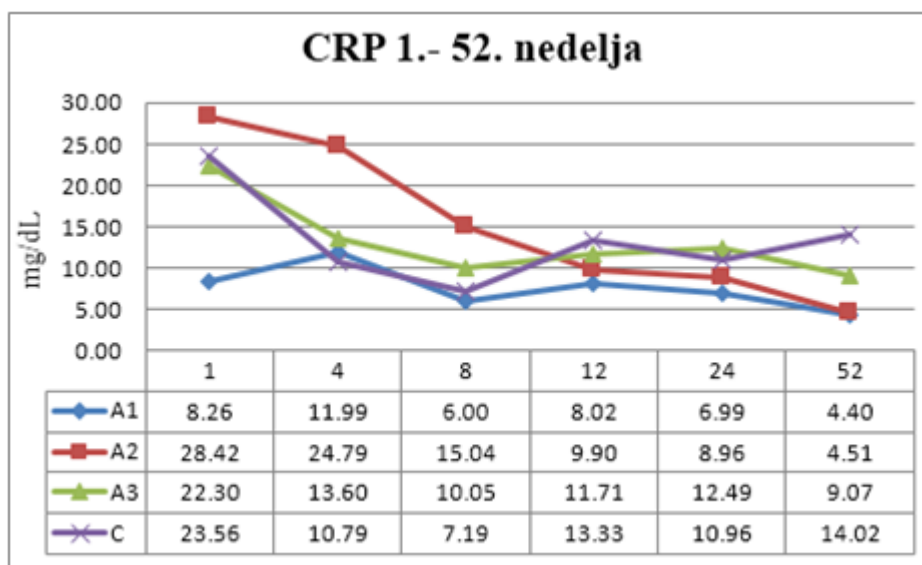
N0-početak lečenja, N12-kraj lečenja, tg β - trigliceridi, HDL-high density lipoprotein

5.4.3. Laboratorijski pokazatelji poboljšanja bolesti tokom perioda praćenja (24-52. nedelja)

Tokom perioda praćenja, na svakoj poseti su ispitivane vrednosti sedimentacije eritrocita, CRP, u okviru hematoloških i biohemijskih analiza, rutinski neophodnih za praćenje RA bolesnika koji su na DMARD, alfakalcidolu. Kretanje parametara zapaljenja tokom aktivnog lečenja u istraživanju i imajući u vidu prilagođavanje terapije, tokom perioda praćenja, prikazano je na grafikonima 29 i 30.



Grafikoni 29. Vrednosti parametara zapaljenja SE tokom aktivnog lečenja i perioda praćenja(1,4,8,12,24,52-posete tokom istraživanja)



Grafikon 30. Vrednosti parametara zapaljenja CRP tokom aktivnog lečenja i perioda praćenja(1,4,8,12,24,52-posete tokom istraživanja)

Kretanje vrednosti SE i CRP ima trend sniženja kod bolesnika koji su primali alfakalcidol, a blagog porasta kod bolesnika koji su tokom perioda aktivnog lečenja primali prednizolon, a u svim grupama je terapija prilagođavana, kako je prikazano u tabeli na slici.

5.5. Ispitivanje mišićne funkcije tokom perioda aktivnog lečenja

5.5.1. Testovi mišićne funkcije svih ispitanika

Mišićna snaga, funkcija i koordinacija ispitane su prema protokolu navednom u odeljku Metode. Parametri sprovedenih testova u celokupnoj grupi RA bolesnika na početku istraživanja su prikazani u tabeli 29.

Tabela 29: Rezultati testova mišićne snage, funkcije i koordinacije kod RA bolesnika pri uključivanju u istraživanje

Test (jedinica mere)	Vrednost \pm SD
Ustajanja sa stolice-CRT(s)	11,92 \pm 3,928
Ustani i kreni-TUG(s)	7,60 \pm 2,549
Šestominutni test hodanja-6MWT(m)	410 \pm 100,071
Tandem hod-TW(s)	7,81 \pm 4,312

Radi uvida u uporedljivost bolesnika, ispitali smo vrednosti mišićnih testova, pre početka perioda aktivnog lečenja u sve četiri terapijske grupe, što je prikazano u tabeli 30.

Tabela 30: Poređenje rezultata testova mišićne funkcije, u četiri terapijske grupe, na početku istraživanja

Grupa	CRT(s)	TUG(s)	6MWT(m)	TW(s)
A1	11,02 \pm 2,909	6,92 \pm 1,17	437,3 \pm 63,93	7,93 \pm 3,653
A2	12,02 \pm 5,199	7,68 \pm 2,912	411,58 \pm 127,347	8,24 \pm 4,047
A3	12,28 \pm 3,464	7,22 \pm 3,311	423 \pm 97,184	9,7 \pm 2,247
C	12,72 \pm 3,75	8,8 \pm 3,138	347,8 \pm 15,741	8,12 \pm 5,343
<i>p</i>	0,659	0,173	0,074	0,062

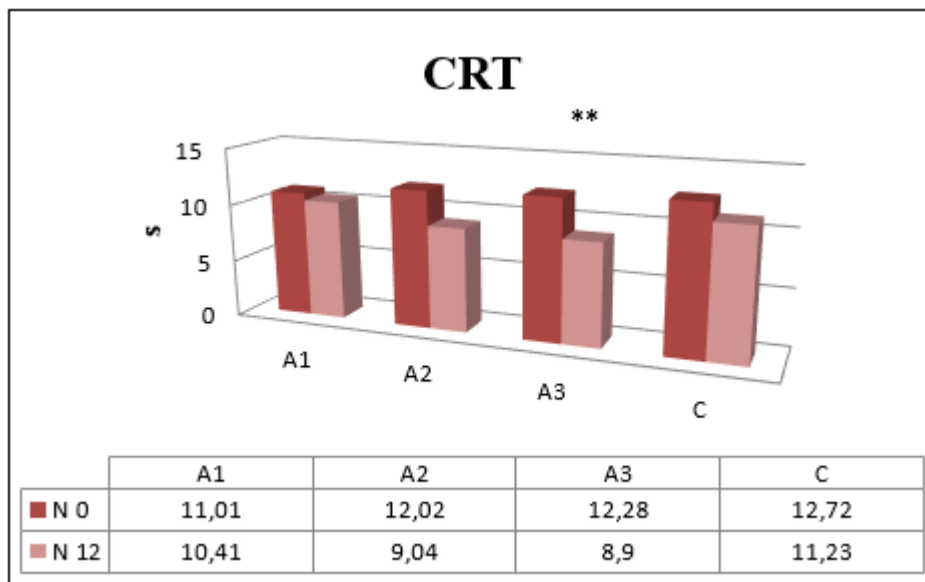
CRT-, ustajanje sa stolice“, *TUG-*, ustani i kreni“, *6MWT-*, šestominutni test hodanja“, *TW-*, tandem hod“,
s-sekunda, m-metar

Bolesnici su bili komparabilni u pogledu rezultata mišićnih testova na početku istraživanja.

5.5.2. Ispitivanje testovamišićne funkcije u različitim terapijskim grupama

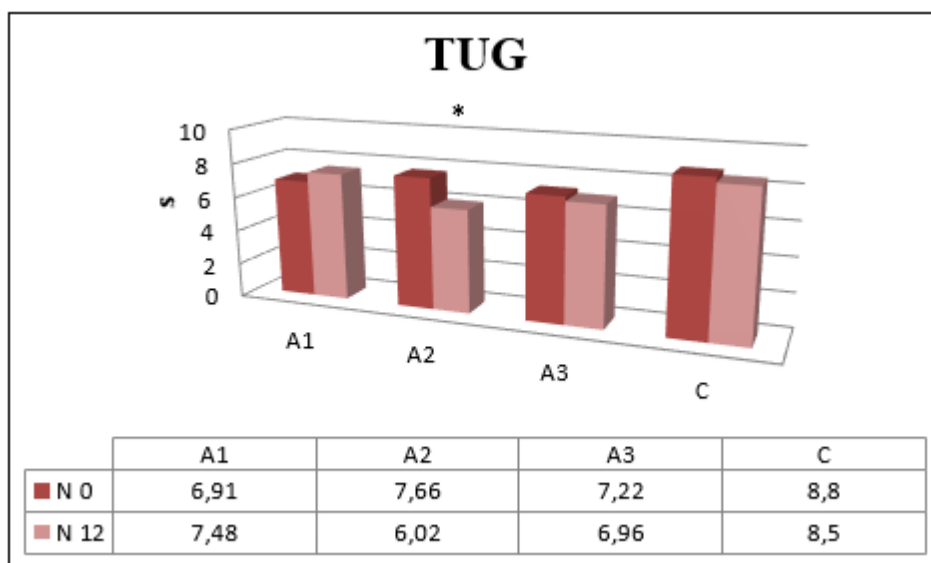
Mišićna funkcija, snaga i koordinacija je ispitana primenom četiri testa na početku i nakon 12 nedelja aktivnog lečenja prema protokolu (Odeljak 4.3).

Dobijeni rezultati testova mišićnih testova na početku i nakon dvanaest nedelja lečenja u različitim terapijskim grupama su prikazani na grafikonima 31-34.



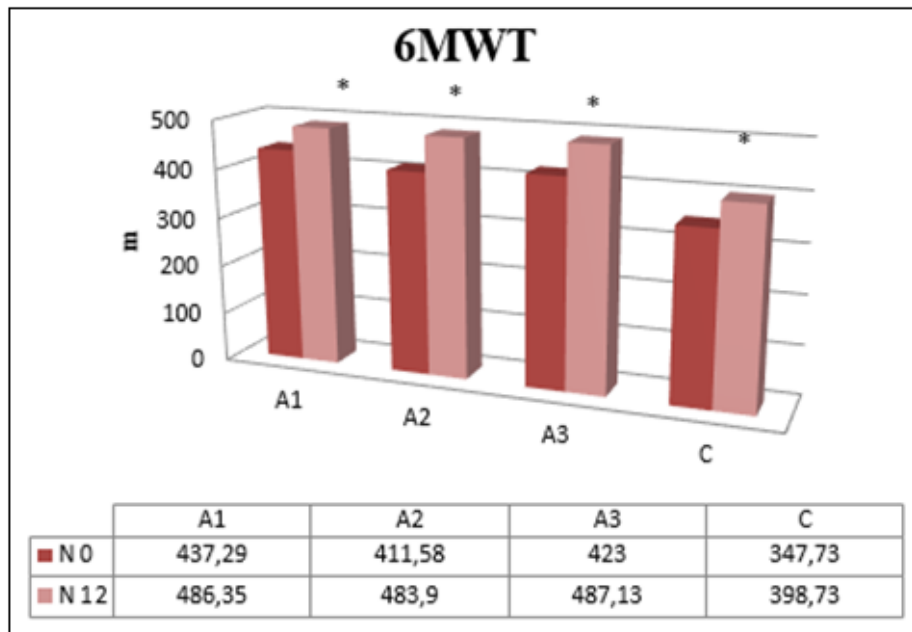
Grafikon 31. Rezultati testa „ustajanja sa stolice“ na početku(N0) i na kraju (N12) aktivnog lečenja (** $p < 0,01$)

U pogledu promena vrednosti testa „ustajanja sa stolice“, u svim terapijskim grupama je došlo do smanjenja vremena potrebnog za izvođenje testa, na kraju perioda aktivnog lečenja. U grupi A3, lečenoj sa 3 μ galfakalcidola, promena je statistički značajna (12,28 \pm 3,464 vs 8,9 \pm 2,3305, $p < 0,01$, t-test).



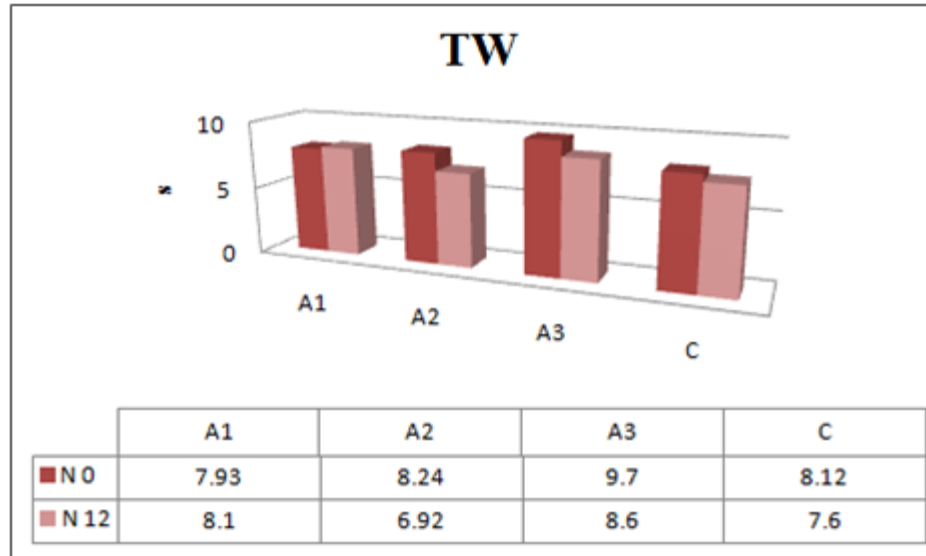
Grafikon 32. Rezultati testa „ustani i kreni“ na početku (N0) i na kraju (N12) aktivnog lečenja (* $p < 0,05$)

Što se tiče testa „ustani i kreni“, u svim grupama, sem u grupi A1, lečenoj sa 1 μ g alfakalcidola, došlo je do skraćenja vremena potrebnog za izvođenje testa. U grupi A2, lečenoj sa 2 μ g alfakalcidola, promena vrednosti testa je statistički značajna (7,668 \pm 2,9126vs6,021 \pm 1,1502, $p<0,05$,t-test), na kraju perioda aktivnog lečenja.



Grafikon 33. Rezultati „šestominutnog testa hodanja“ na početku (N0) i na kraju (N12) aktivnog lečenja (* $p<0,05$)

Rezultati „šestominutnog testa hodanja“ pokazali su povećanje pređene razdaljine na kraju aktivnog lečenja, u svim terapijskim grupama. U A1 grupi, koja je lečena sa 1 μ g alfakalcidola (437,29 \pm 63,933vs486,35 \pm 118,958, $p<0,05$,t-test), A2, koja je lečena sa 2 μ g alfakalcidola (411,58 \pm 12,347vs483,95 \pm 58,228, $p<0,05$,t-test), A3, koja je lečena sa 3 μ g alfakalcidola (439,3 \pm 74,4711vs483,13 \pm 51,637, $p<0,05$,t-test), kao i u grupi C, koja je lečena prednisonom (347,73 \pm 97,174vs398,73 \pm 61,002, $p<0,05$,t-test), postignuto povećanje je na nivou statističke značajnosti.



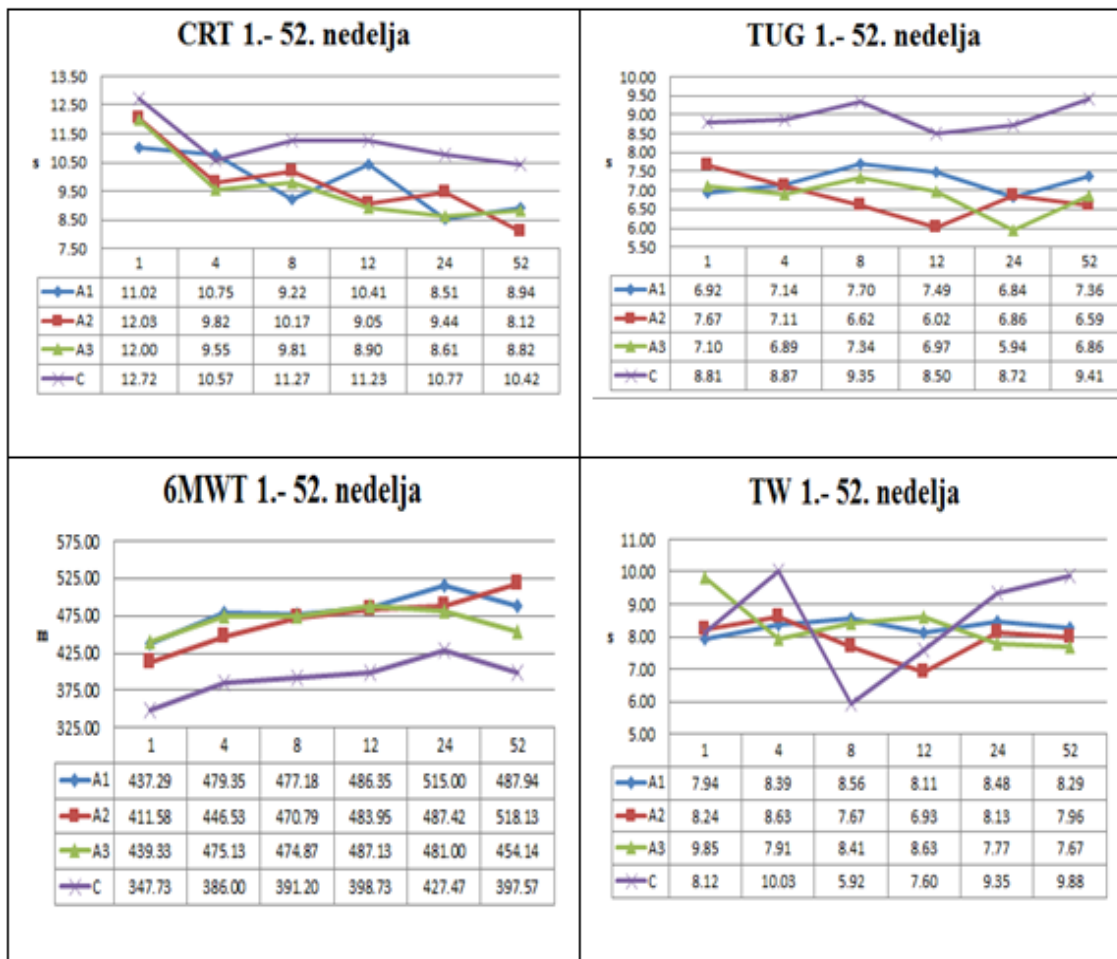
Grafikon 34. Rezultati testa „tandem hod“ na početku (N0) i na kraju (N12) aktivnog lečenja

Za izvođenje testa tandem hoda je u grupi A1, koja je lečena sa 1 μ g alfakalcidola, bilo je potrebno duže vreme, na kraju perioda aktivnog lečenja, dok je u grupama A2, koje je lečena sa 2 μ g alfakalcidola, A3, koja je lečena sa 3 μ g alfakalcidola i C, koja je lečena prednizonom, vreme izvođenja skraćeno, a promena ni u jednoj terapijskoj grupi nije dostigla nivo statističke značajnosti.

5.5.3. Testovi mišićne funkcije tokom perioda praćenja (24-52.nedelja)

Mišićna funkcija je ispitivana prema protokolu i tokom perioda praćenja. Rezultati mišićnih testova tokom perioda aktivnog lečenja i imajući u vidu prilagođavanje terapije, u periodu praćenja prikazani su na grafikonima 35-38.

U svim grupama lečenih alfakalcidolom primetno je kraće vreme za izvođenje testova mišićne snage i funkcije, tokom perioda praćenja u odnosu na grupu koja je tokom perioda aktivnog lečenje primala prednizonom, U grupi bolesnika lečenih pronizonom primetno je duže vreme za izvođenje testa tandem hoda na 52. nedelji u odnosu na rezultat sa kraja perioda aktivnog lečenja.



Grafikoni 35-38. Vrednosti testova ispitivanja mišićne snage i funkcije tokom aktivnog lečenja i perioda praćenja (1,4,8,12,24,52-posete tokom istraživanja)

5.6. Rezultati testiranja nivoa citokina

5.6.1. Inflamatorni citokini kod svih ispitanika

Serumski nivoi inflamatornih citokina su ispitani prema protokolu navedenom u odeljku 3.4, na početku ispitivanja i nakon 12 nedelja aktivnog lečenja. Rezultati serumskih citokina na početku ispitivanja kod svih RA bolesnika uključenih u istraživanje su prikazane u tabeli 31.

Tabela 31. Nivoi serumskih citokina kod RA bolesnika pri uključenju u istraživanje

Citokin	Vrednosti \pm SD
IL17(pg/ml)	8,043 \pm 6,3503
IL6(pg/ml)	89,151 \pm 198,8578
IF γ (pg/ml)	20,620 \pm 14,2459
TNF α (pg/ml)	3,265 \pm 11,8058
IL21(pg/ml)	108,043 \pm 171,5219
IL4(pg/ml)	7,015 \pm 10,7447
IL10(pg/ml)	11,734 \pm 32,7294

*IL 17-interleukin 17, IL 6-interleukin 6, IF γ -interferon gama, TNF α -faktor tumorske nekroze α ,
IL 21-interleukin 21, IL4-interleukin 4, IL10-interleukin 10*

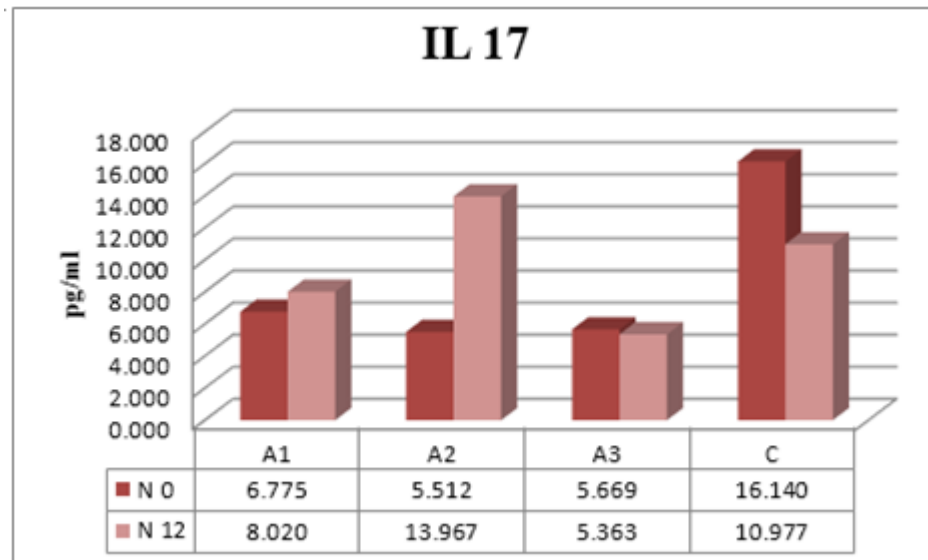
5.6.2 Ispitivanje serumskih nivoa inflamatornih citokina u različitim terapijskim grupama

U okviru istraživanja su u svim terapijskim grupama ispitani nivoi 7 citokina na početku i na kraju tromesečnog perioda aktivnog lečenja visokim dozama alfakalcidola ili prednisonom, a rezultati su prikazani na grafikonima 39-45.

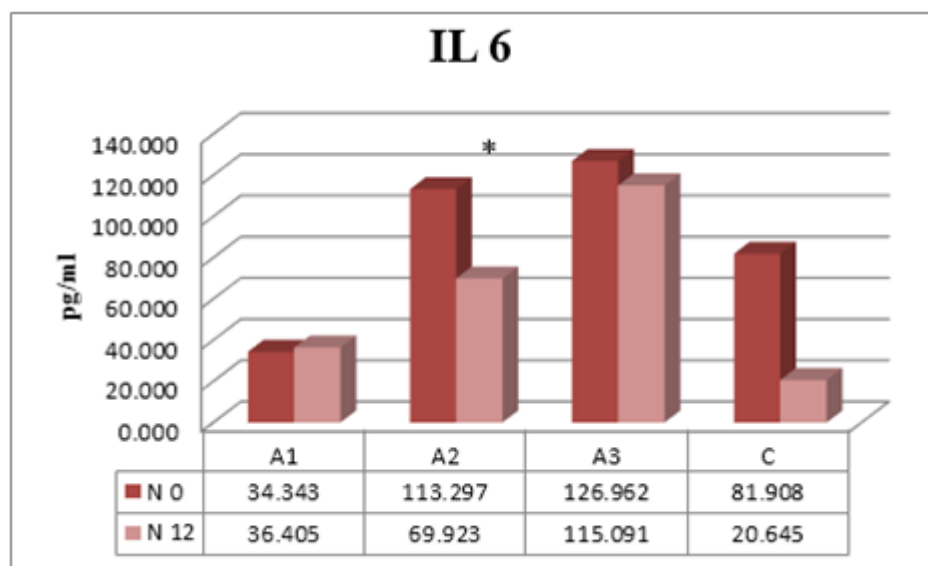
U A1, A3 i C grupi došlo je do neznačajnog sniženja IL17, dok je u grupi A2 došlo do porasta serumskog IL17 bliskog granici značajnosti ($p=0,052$, $t=2,142$).

U svim terapijskim grupama sem u grupi A1, koja je lečena sa 1 μ g alfakalcidola, nađeno je sniženje serumskog nivoa IL6, a u grupi A2, koja je primala 2 μ g alfakalcidola, sniženje je na nivou statističke značajnosti (113,2974 \pm 220,24976 vs 69,9228 \pm 161,58975, $p<0,05$, t test).

U svim terapijskim grupama je nađeno statistički neznačajno sniženje serumskog nivoa interleukina 4, a u grupi A2 neznatno povišenje.

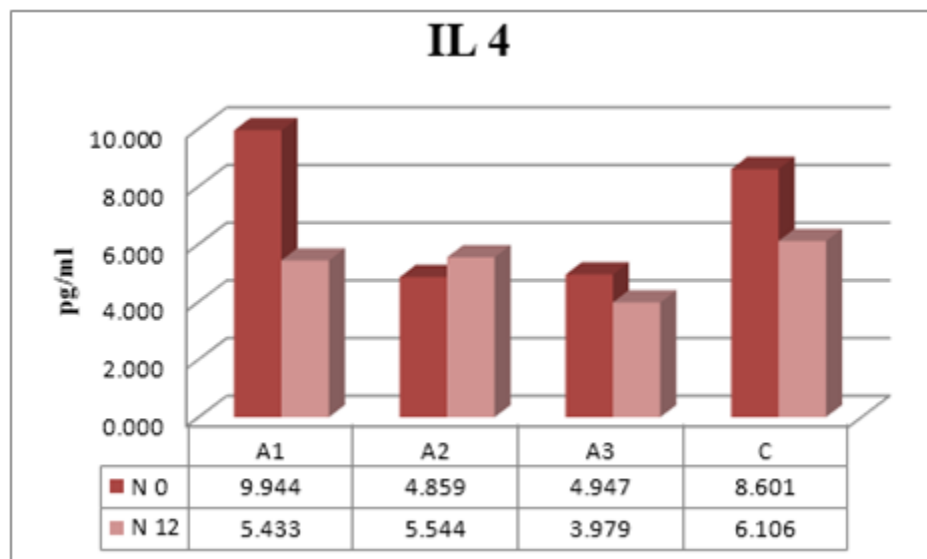


Grafikon 39. Serumski nivo interleukina 17 na početku (N0) nedeljaaktivnog lečenja (N12)

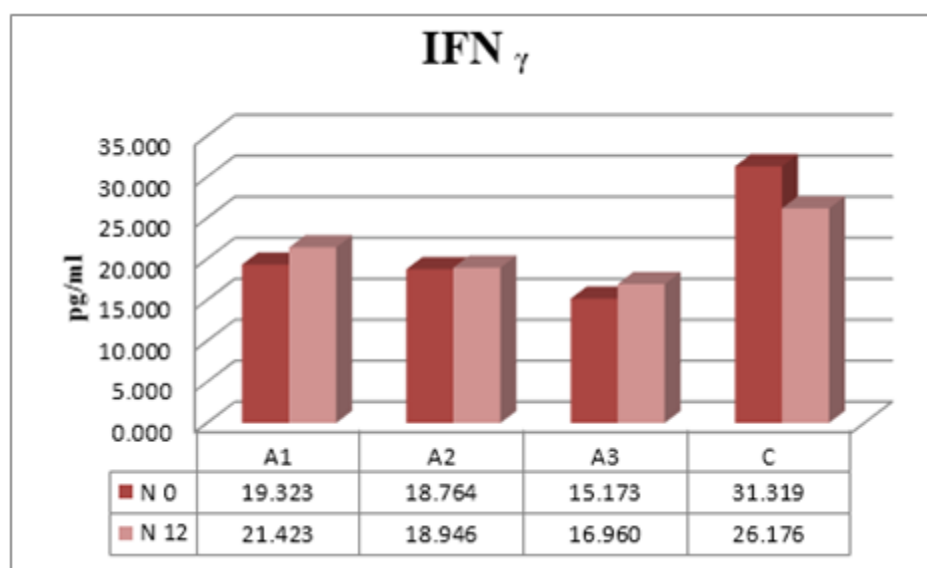


Grafikon 40. Serumski nivo interleukina 6 na početku (N0) ina kraju aktivnog lečenja (N12)

(* $p < 0,05$)

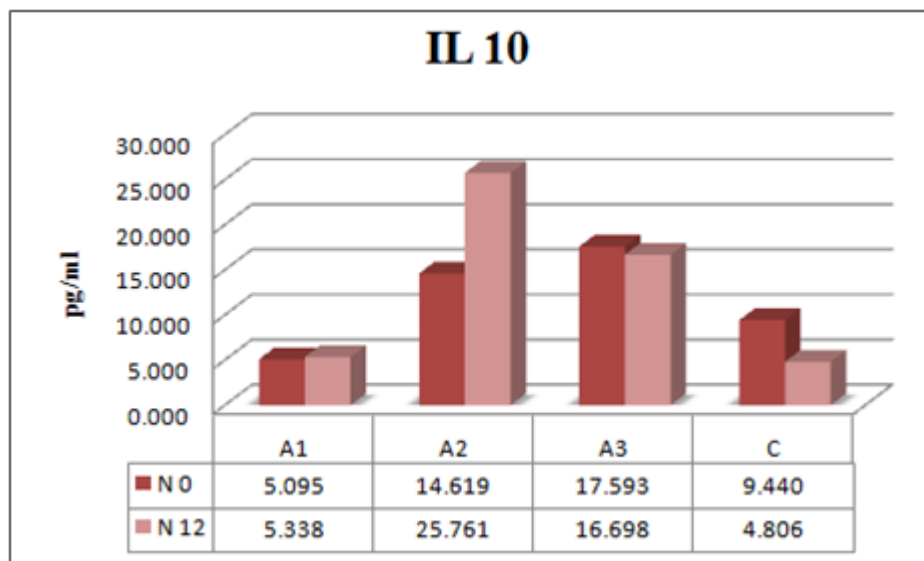


Grafikon 41. Serumski nivo interleukina 4 na početku (N0) i na kraju aktivnog lečenja (N12)



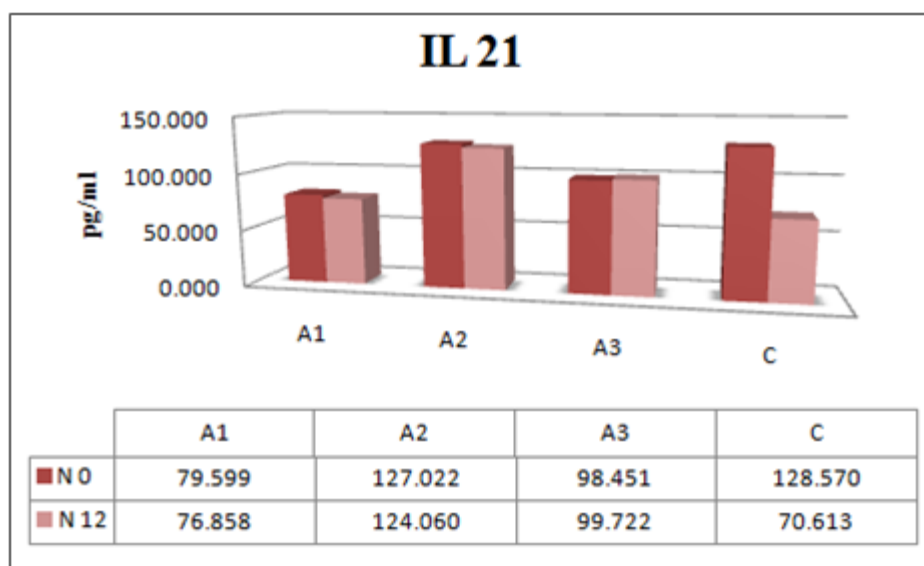
Grafikon 42: Serumski nivo interferona γ na početku (N0) na kraju aktivnog lečenja (N12)

U terapijskim grupama koje su lečene sa 1 μ g, 2 μ g i 3 μ g alfakalcidola, došlo je do statistički neznačajnog porasta nivoa IFN γ , a u grupi C, koja je lečena prednizonom, do neznačajnog sniženja.



Grafikon 43. Serumski nivo interleukina 10 na početku (N0) i na kraju aktivnog lečenja (N12)

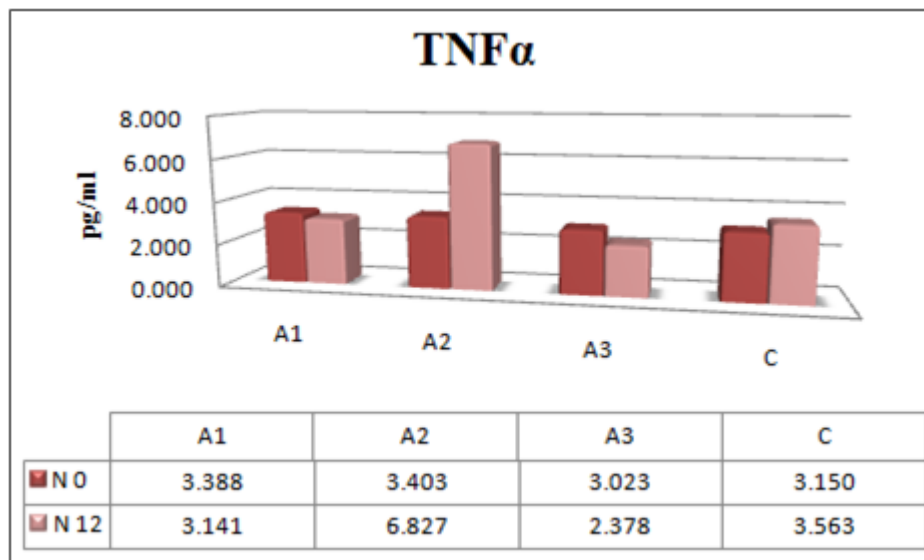
U grupama A1 i A2, koje su lečena sa 1 μ g i 2 μ g alfakalcidola, došlo je do statistički neznačajnog povećanja nivoa IL10, a u grupama A3, koja je lečena sa 3 μ g alfakalcidola i C, koja je lečena sa prednizonom, do statistički neznačajnog sniženja.



Grafikon 44. Serumski nivo interleukina 21 na početku (N0) i na kraju aktivnog lečenja (N12)

U grupama A1, koja je lečena sa 1 μ g alfakalcidola, A2, koja je lečena sa 2 μ g alfakalcidola i C, koja je lečena prednizonom, nađeno je statistički neznačajno sniženje nivoa

IL21, a u A3 grupi, lečenoj sa 3 μ g alfakalcidola, statistički neznačajno povišenje serumskog nivoa IL21.



Grafikon 45: Serumski nivo faktora tumorske nekroze α na početku (N0) i na kraju aktivnog lečenja (N12)

U grupama A1 i A3, koje su lečene sa 1 μ g, odnosno 3 μ g alfakalcidola, došlo je do statistički neznačajnog sniženja serumskog nivoa TNF α , na kraju perioda lečenja, dok je u grupi A2, lečenoj sa 2 μ g alfakalcidola i C, lečenoj prednizonom, došlo do statistički neznačajnog porasta serumskog TNF α .

5.7. Ispitivanje koštane gustine i kvaliteta kosti

Koštana gustina na lumbalnoj kičmi i vratu butne kosti je ispitana prema protokolu navedenom u odeljku 4, kod svih ispitanika, a mikroarhitektura kosti kod bolesnika ženskog pola (N=46/67). Za poređenje mikroarhitekturnih promena su kasnije korišćeni podaci o 40/46 ispitanica (isključene su one koje su bile i na aktivnom lečenju antiresorptivnim lekovima za OP tokom ovog istraživanja). Vrednosti parametara ispitivanja kosti, na uključenju u istraživanje su prikazani u tabeli 32.

Radi uvida u uporedljivost bolesnika, ispitali smo koštanu gustinu i mikroarhitekturu kosti, pre početka perioda aktivnog lečenja u sve četiri terapijske grupe, što je prikazano u tabeli 33.

Ispitanici su bili komparabilni što se tiče parametara koštane gustine i mikroarhitekture kosti.

Tabela 32. Koštanu mineralna gustina kod RA bolesnika na početku istraživanja i parametar procene kvaliteta kosti kod selektovane grupe ispitanica* na početku ispitivanja

Parametar	Vrednost \pm SD
KMG L1L4(gr/cm ²)	1,037 \pm 0,1669
T score L1L4 (SD)	-0,837 \pm 1,3475
KMG FN(gr/cm ²)	0,811 \pm 0,1498
T score FN(SD)	-1,18 \pm 1,097
Trabecular bone score (TBS)*	1,251 \pm 0,02452

*KMG-koštanu mineralna gustina, L1L4-lumbalna kičma, FN-vrat butne kosti, *TBS software izračunava TBS score za L1L4 segment kod osoba ženskog pola*

Tabela 33: Poređenje parametara koštane gustine i mikroarhitekture, u četiri terapijske grupe, na početku istraživanja

Grupa	KMG L1L4 (gr/cm ²)	T-score L1L4 (SD)	KMG FN (gr/cm ²)	T-score FN(SD)	TBS*
A1	1,036 \pm 0,1420	-0,92 \pm 1,203	0,83 \pm 0,128	-0,59 \pm 1,318	1,265 \pm 0,0705
A2	0,973 \pm 0,1905	-0,85 \pm 1,577	0,81 \pm 0,203	-1,25 \pm 1,383	1,263 \pm 0,1271
A3	1,047 \pm 0,1984	-0,84 \pm 1,309	0,79 \pm 0,149	-0,74 \pm 1,175	1,238 \pm 0,0610
C	1,002 \pm 0,0512	-0,73 \pm 1,262	0,79 \pm 0,036	-1,77 \pm 0,384	1,247 \pm 0,1091
<i>p</i>	0,546	0,964	0,488	0,156	0,882

*KMG-koštanu mineralna gustina, L1L4-lumbalna kičma, FN-vrat butne kosti, *TBS software izračunava TBS score za L1L4 segment kod osoba ženskog pola*

5.7.1. Ispitivanje koštane gustine u različitim terapijskim grupama

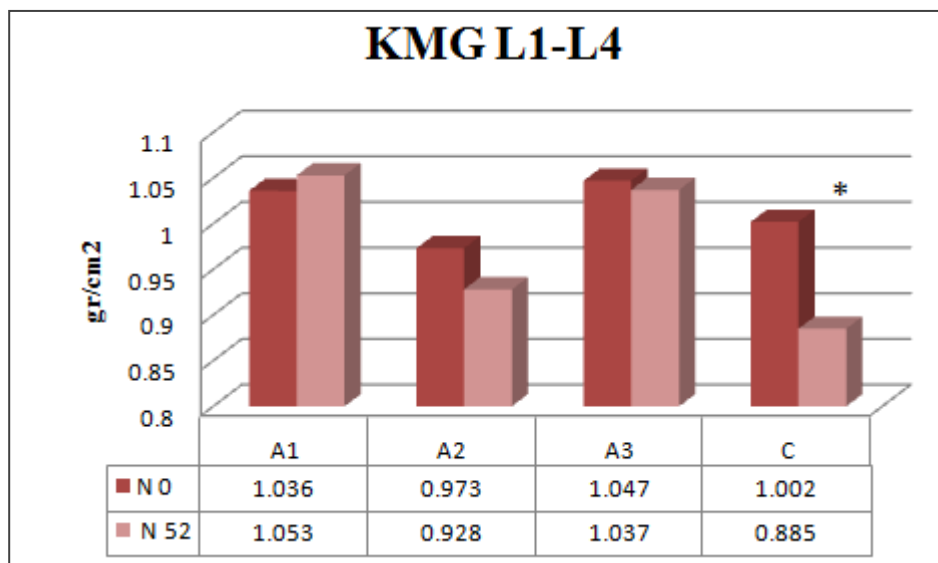
Na početku i na kraju istraživanja, kod svih ispitanika je ispitivane koštanu gustinu, a kod dela ispitanica (N=46) i mikroarhitektura kosti, za šta je poređenje obavljeno kod 40/46, jer su isključene bolesnice koje su imale neki aktivan farmakološki tretman tokom istraživanja, koji bi mogao da utiče na kvalitet koštanog tkiva. Rezultati ispitivanja KMG L1L4 i FN u različitim

terapijskim grupama su prikazani na tabeli 34. Ispitivanje razlike koštane gustine u dve tačke posmatranja tokom istraživanja, prikazano je na grafikonima 46 i 47.

Tabela 34: Parametri koštane mineralne gustine na početku i na kraju istraživanja (N 0 vs N 52)

Grupa	KMG L1L4 (gr/cm ²) N 0 vs N 52	T - score L1L4 (SD) N 0 vs N 52	KMG FN(gr/cm ²) N 0 vs N 52	T - score FN (SD) N 0 vs N 52
A1	1,036±0,1420 vs 1,053±0,437	-0,92±1,20 vs-0,95±0,95	0,83±0,128 vs0,86±0,123	-0,59±1,31 vs-1,12±0,89
A2	0,973±0,1905 vs0,928±0,1338	-0,842±1,57 vs-853±1,37	0,802±0,2036 vs0,804±0,173	-1,25±1,38 vs-1,27±1,13
A3	1,047±0,198 vs1,03±0,173	-0,84±1,3 vs-1,23±0,955	0,793±0,149 vs0,805±0,127	-0,4±1,17v s-1,1±1,13
C	1,002±0,051 vs0,885±0,063	-0,73±1,26 vs-1,6±0,81	0,796±0,03 vs0,77±0,064	-1,77±0,38 vs-1,87±0,33

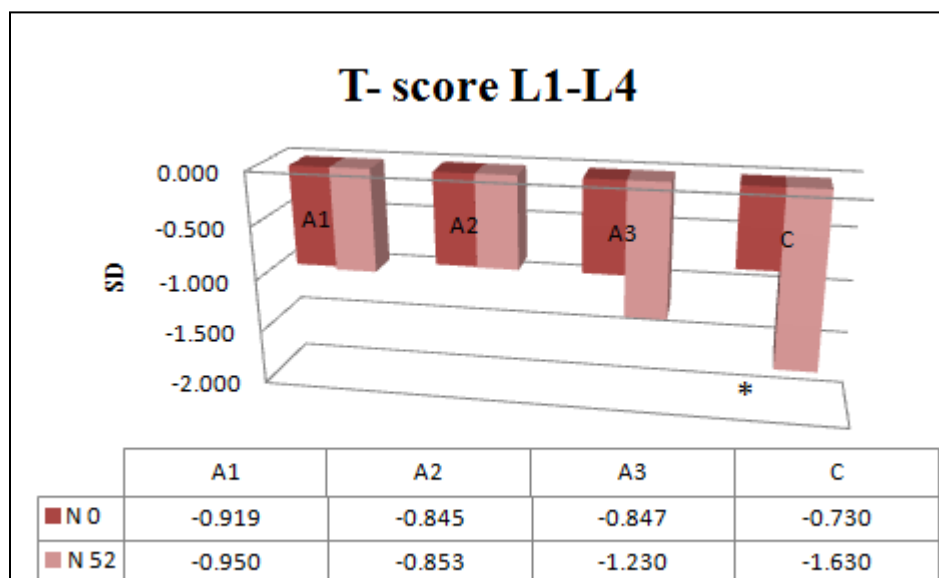
KMG-koštana mineralna gustina, L1L4-lumbalna kičma, FN-vrat butne kosti, N0-početak istraživanja, N52-kraj istraživanja



Grafikon 46. Koštana gustina (KMG) i T- score na L1L4 segmentu na početku (N0) i na kraju (N52) istraživanja u svim terapijskim grupama (* $p < 0,05$)

U grupi A1 grupi koja je lečena sa 1 μ g alfakalcidola, došlo je do neznačajnog povećanja koštane gustine, u grupama A2 i A3, lečenih sa 2 odnosno 3 μ g alfakalcidola, do neznačajnog sniženja, dok je u grupi C, lečenoj prednizonom tokom perioda aktivnog lečenja, nađeno statistički značajno sniženje koštane gustine na L1L4 segmentu (1,002±0,0512 vs 0,885±0,06361,

$p < 0,05$, t-test). Na FN segmentu nije nađena statistički značajna razlika koštane gustine na početku i na kraju perioda praćenja.

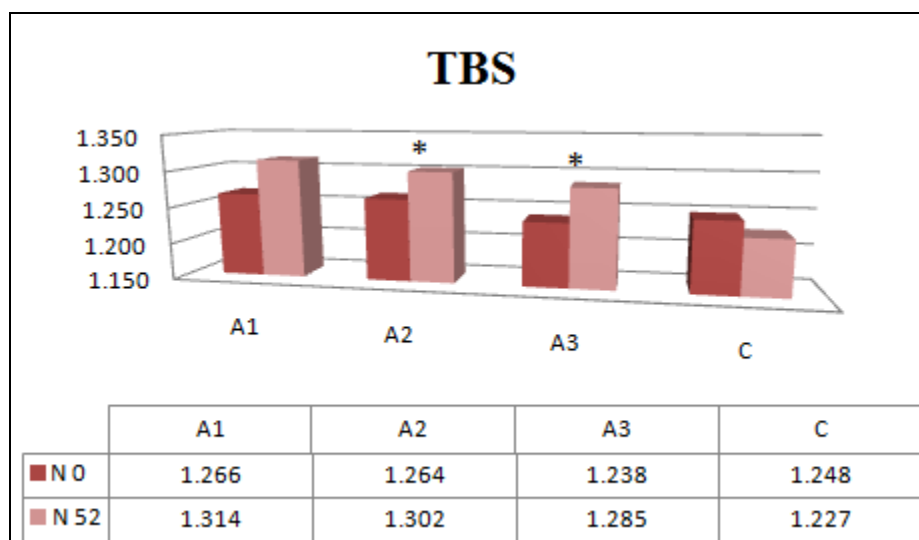


Grafikon 47. T- score na L1-L4 segmentu na početku (N0) i na kraju (N52) istraživanja u svim terapijskim grupama (* $p < 0,05$)

5.7.2 Ispitivanje kvaliteta kosti u različitim terapijskim grupama

Rezultati ispitivanja mikroarhitekture koštanog tkiva (TBS) na početku i na kraju istraživanja su prikazani na grafikonu 48.

Među ispitanicama u grupi A2, lečenoj sa $2\mu\text{g}$ alfakalcidola ($1,2636 \pm 0,12714$ vs $1,3018 \pm 0,11422$, $p < 0,05$, t-test) i A3, lečenoj sa $3\mu\text{g}$ alfakalcidola ($1,2383 \pm 0,01841$ vs $1,2853 \pm 0,01214$, $p < 0,05$, t-test), došlo je do statistički značajnog povišenja TBS, a sveukupno kod ispitanica lečenih alfakalcidolom (A1+A2+A3, N=29) visoko statistički značajnog ($1,2559 \pm 0,09413$ vs $1,2997 \pm 0,0824$, $p < 0,01$, t-test), dok je u grupi C, lečenoj prednizonom (N=11) došlo do sniženja TBS, bez statističke značajnosti ($p = 0,182$, t-test).



Grafikon 48. Rezultati TBS analize koštanog tkiva na početku (N0) i na kraju istraživanja (N52) (* $p < 0,05$)

5.8. Bezbednost u istraživanju tokom perioda aktivnog lečenja

5.8.1. Kalcijum u serumu i urinu kod svih ispitanika

U cilju ispitivanja podobnosti za uključenje, ispitivali smo vrednosti serumskog kalcijuma, kalciurije 24h, pred početak aktivnog lečenja u istraživanju, nalazi su prikazani u tabeli 35.

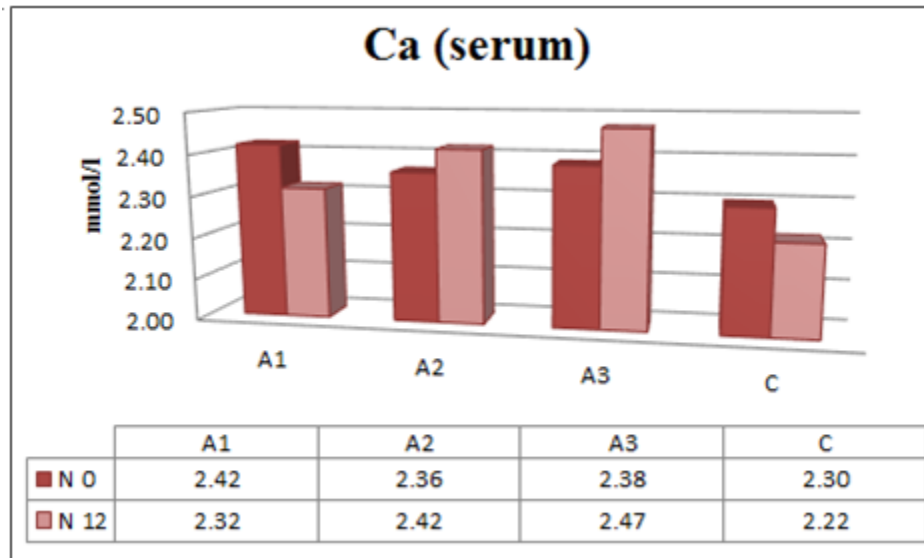
Tabela 35. Poređenje serumskog kalcijuma, kalciurije, na početku istraživanja, u sve četiri terapijske grupe

Grupa	Ca s (mmol/l)	Ca u (g/DU)
A1	2,42±0,148	0,17±0,079
A2	2,35±0,122	0,17±0,068
A3	2,38±0,156	0,13±0,046
C	2,29±0,172	0,22±0,138
<i>p</i>	0,142	0,031

Ca s-kalcijum u serumu, Ca u-kalcijum u 24h urinu

Nađena je značajnost razlike kalciurije ($p < 0,05$, ANOVA one way). Najvišu kalciuriju smo zabeležili u grupi C na početku istraživanja. Kalciurija u ovoj grupi nije prelazila gornju granicu referentnih vrednosti od 0,3g/DU.

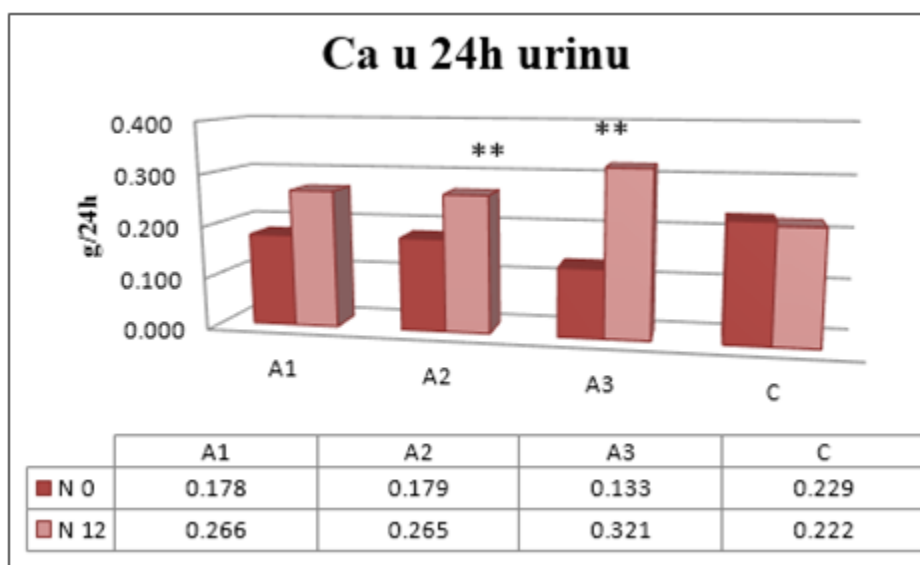
5.8.2. Metabolizam kalcijuma u različitim terapijskim grupama



Grafikon 49. Vrednosti serumskog kalcijuma na početku (N0) i na kraju aktivnog lečenja (N12)

Ispitivanje serumskog nivoa kalcijuma, kao i kalcijuma u 24/h urinu je analizirano pri svakoj poseti ispitanika, prema protokolu istraživanja. Vrednosti tih parametara na početku i nakon 12 nedelja aktivnog lečenja su prikazani na grafikonima 49 i 50.

U terapijskim grupama A2 i A3 je došlo do povećanja vrednosti serumskog kalcijuma, a ni u jednoj grupi porast nije statistički značajan. U grupi A1 i C je nađeno neznačajno sniženje serumskog kalcijuma.



Grafikon 50. Vrednosti 24h calciurije na početku (N0) i na kraju aktivnog lečenja (N12) (** $p < 0,01$)

Što se tiče praćenja 24h kalciurije, tokom perioda aktivnog lečenja, u grupama A1, A2 i A3 došlo je do povećanja izlučivanja kalcijuma, a nađeno povećanje je u A2 ($0,179\pm 0,0687$ vs $0,265\pm 0,090$, $p<0,01$, t-test) i $3\mu\text{g}$ ($0,133\pm 0,0466$ vs $0,321\pm 0,1093$, $p<0,01$, t-test) visoko statistički značajno.

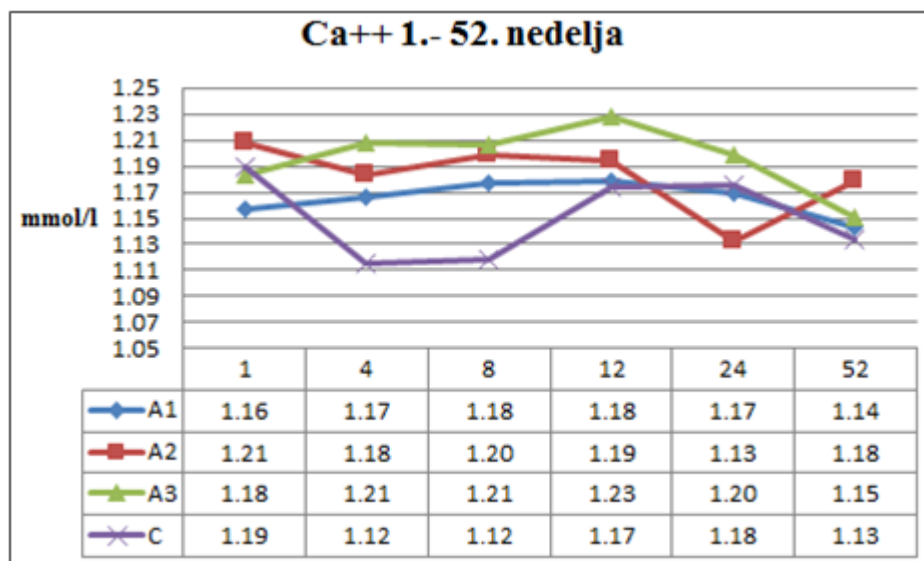
5.8.3 Metabolizam kalcijuma tokom perioda praćenja

U cilju praćenja bezbednosti primenjenog lečenja, ispitivali smo vrednosti serumskog kalcijuma, kalciurije 24h, uz jonizovanog Ca u serumu na svakoj poseti bolesnikai tokom perioda praćenja. Kalcijum u serumu i 24h urinu tokom istraživanja u svim terapijskim grupama, tokom perioda praćenja je prikazan na tabeli 36.

Tabela 36. Serumski kalcijum i kalciurija 24 h tokom perioda praćenja u istraživanju

grupa	Ca s (mmol/l) N 24	Ca u (g/DU) N 24	Ca s (mmol/l) N 52	Ca u (g/DU) N 52
A1	$2,31\pm 0,080$	$0,23\pm 0,115$	$2,24\pm 0,00$	$0,198\pm 0,057$
A2	$2,31\pm 0,112$	$0,30\pm 0,622$	$2,12\pm 0,261$	$0,19\pm 0,074$
A3	$2,4\pm 0,128$	$0,23\pm 0,092$	$2,13\pm 0,565$	$0,19\pm 0,044$
C	$2,33\pm 0,097$	$0,21\pm 0,094$	$2,18\pm 0,071$	$0,23\pm 0,469$

N24-24-ta nedelja praćenja, N52-52-ga nedelja praćenja, Ca s-kalcijum u serumu, Ca u-kalcijum u 24h urinu



Grafikon 51. Rezultati praćenja jonizovanog Ca u svim terapijskim grupama tokom aktivnog lečenja tokom perioda praćenja

Tokom perioda praćenja u istraživanju, nije bilo značajnih promena u kalcijumskom metabolizmu, prikazanom na grafikonu 51, kroz kretanje jonizovanog Ca u serumu, u intervalu od 1,07-1,23mmol/l, koji ni u jednoj grupi i ni u jednoj tački posmatranja nije prešao niti granice referentnih vrednosti (1,05-1,25 mmol/l). Nije bilo ni statistički značajnih promena u vrednostima serumskog kalcijuma niti kalciurije tokom perioda praćenja.

U grupi bolesnika lečenih kortkosteroidima, na kraju perioda aktivnog lečenja nađeno je prosečno povećanje glikemije za 1,7mmol/l, što je za oko 40% viša vrednost u donosu na bazalne, a povećanje nije statistički značajno, niti je prelazilo gornju granice referentnih vrednosti (6,1mmol/l).

5.8.4. Klinički aspekti bezbednosti u istraživanju

Sveobuhvatno praćenje bolesnika u ovom istraživanju je obuhvatilo i praćenje telesne težine, arterijskog pritiska, EKG, laboratorijskih nalaza od značaja za funkciju jetre, bubrega, glikemiju, standardni urin i uopšte pojave bilokakvih zdravstvenih tegoba, pojave novih bolesti i stanja.

Nije bilo značajnih odstupanja u pomenutom, niti razloga za prekid bilo kog od terapijskih režima. Zabeležena je jedna fraktura (radijus na tipičnom mestu) i jedna hospitalizacija (srčana insuficijencija).

Od daljeg učešća je odustalo 2/67 (2,98%) ispitanika, samoinicijativno, bez obrazloženja. Nije uočeno da je kod istih došlo do bilo kakvog pogoršanja bolesti ili pojave neželjenih događaja.

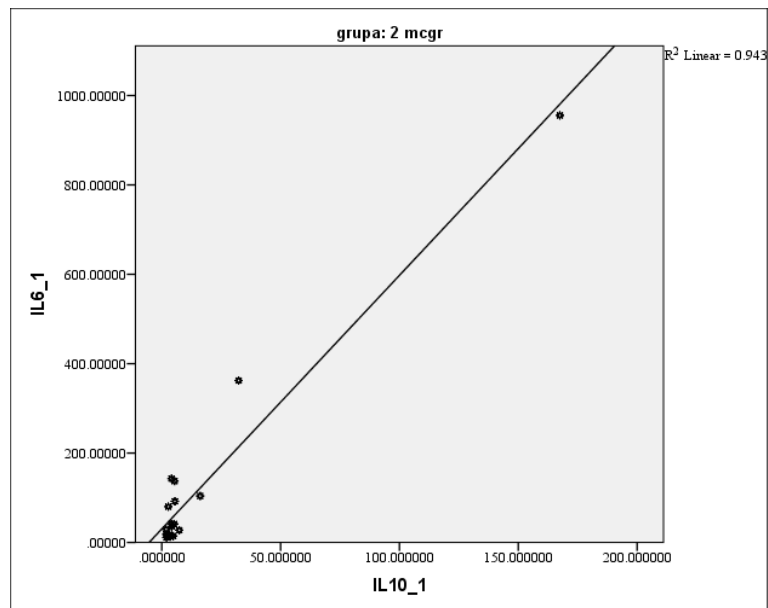
Redukcija doze alfakalcidola je privremeno (2x nedelju dana) primenjena kod 4/16 bolesnika u grupi A3, kod 1/19 u grupi A2, zbog povećanja kalciurije iznad gornje granice referentnih vrednosti, nakon pauze su vraćeni na isti terapijski režim, a nije bilo ponavljanja hiperkalciurije.

5.9. Korelacije

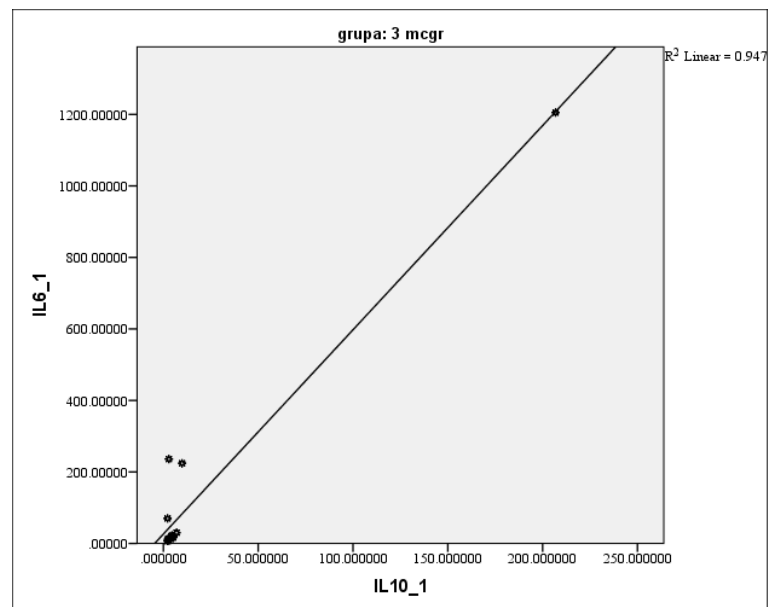
5.9.1. Korelacije laboratorijskih nalaza

Ispitano je postojanje povezanosti parametara aktivnosti bolesti, funkcijskog statusa, kvaliteta života, parametara zapaljenja, serumskih nivoa 25(OH)D3, te serumskih nivoa citokina

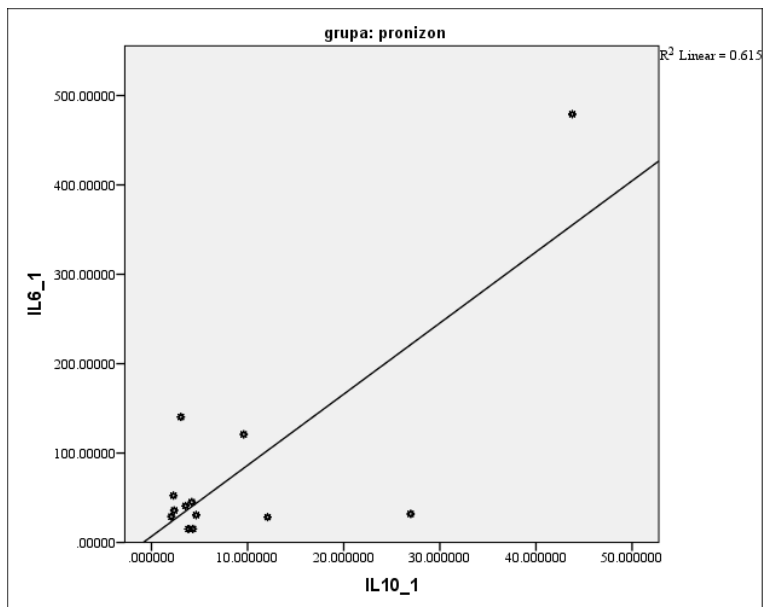
na početku i nakon 12 nedelja aktivnog farmakološkog tretmana. Korelacije među ispitivanim parametrima, koje su pokazale visoku statističku značajnost, prikazane su na grafikonima 52-56.



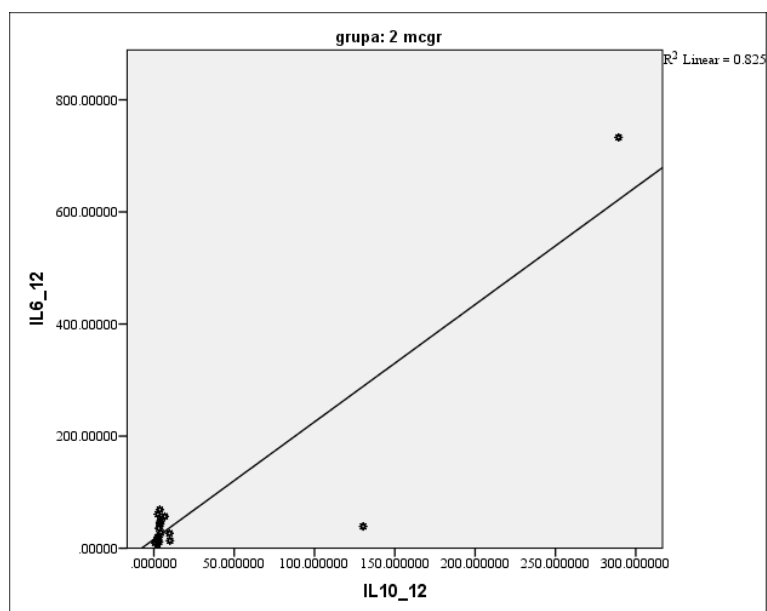
Grafikon 52. Povezanost između serumskog IL6 i IL 10 na početku perioda aktivnog lečenja u A2 grupi



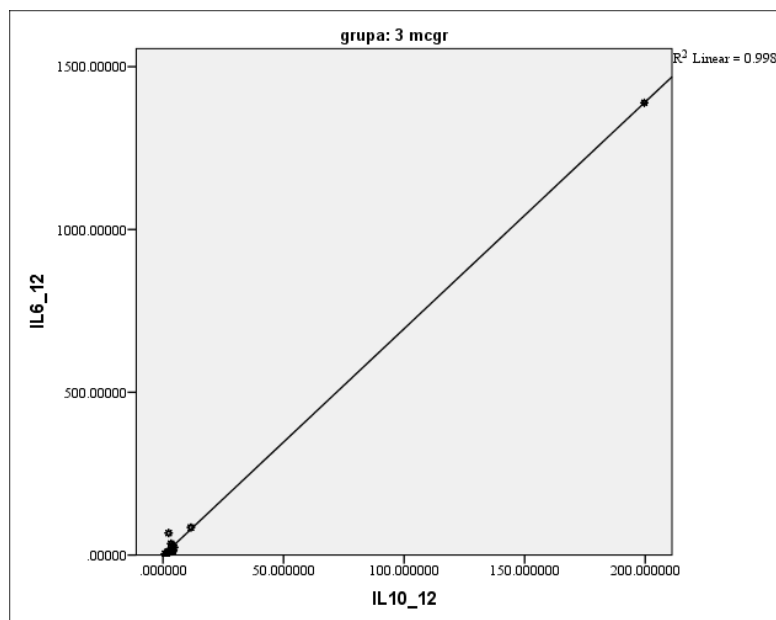
Grafikon 53. Povezanost između serumskog IL 6 i IL10 na početku perioda aktivnog lečenja u A3



Grafikon54. Povezanost između IL6 i IL 10 na početku perioda aktivnog lečenja u grupi C



Grafikon 55. Povezanost zmeđu serumskog IL6 i IL 10 na kraju perioda aktivnog lečenja u grupi A2



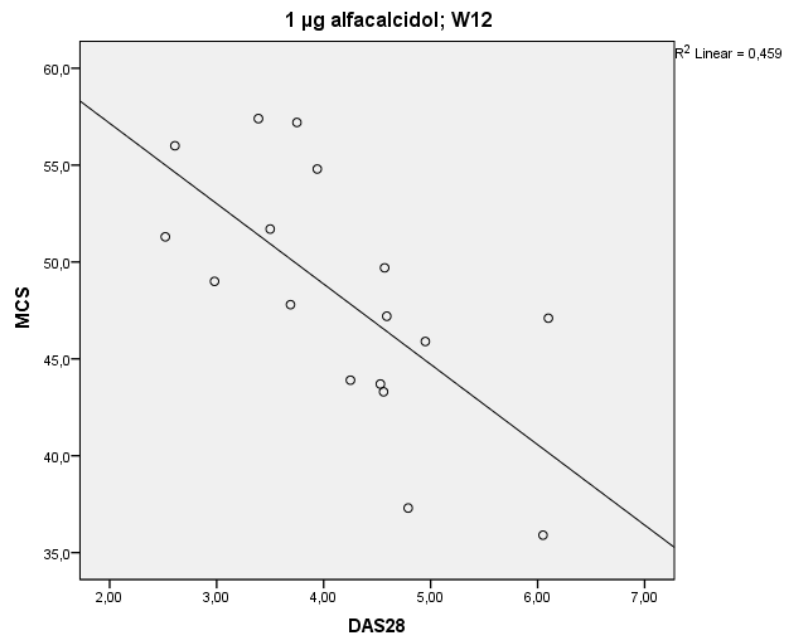
Grafikon 56. Povezanost između serumskog IL6 i IL 10 na kraju perioda aktivnog lečenja u grupi A3

Serumski nivoi citokina IL6 i IL10 su visoko statistički značajno pozitivno korelirali na početku a i na kraju perioda praćenja u terapijskim grupama A2 ($p < 0,01$, u obe tačke posmatranja), A3 ($p < 0,01$, Spearman test), u obe tačke posmatranja, a u grupi C samo na početku perioda aktivnog lečenja ($p < 0,05$, Spearman test).

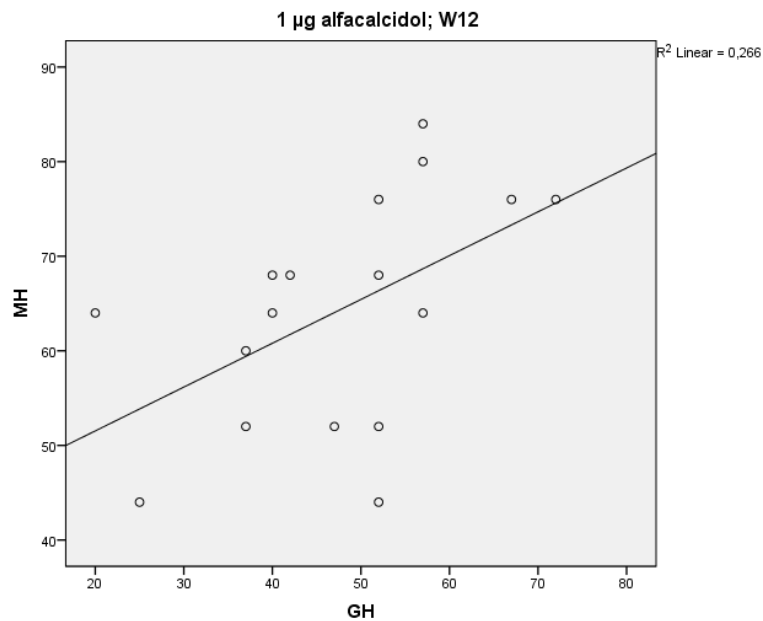
5.9.2. Korelacije kliničkih nalaza

Nije nađena značajna korelacija između MCS i PCS kod bolesnika lečenih alfakalcidolom, a u grupi lečenih pronizonom, nađena je pozitivna korelacija između ovih zbirnih parametara kvaliteta života, kako na početku ($p < 0,05$, Spearman test), tako i na kraju perioda aktivnog lečenja ($p < 0,01$, Spearman test). Što se tiče korelacija između aktivnosti bolesti i parametara kvaliteta života, na kraju tromesečnog perioda lečenja značajna negativna korelacija je nađena između DAS28 i MCS, kao i opšteg zdravlja i mentalnog zdravlja kod bolesnika lečenih sa $1\mu\text{g}$ alfakalcidola ($p < 0,01$, Spearman test). Značajna negativna korelacija je nađena između DAS28 i PCS, u grupi lečenih sa $2\mu\text{g}$ alfakalcidola, na kraju perioda aktivnog lečenja, a i

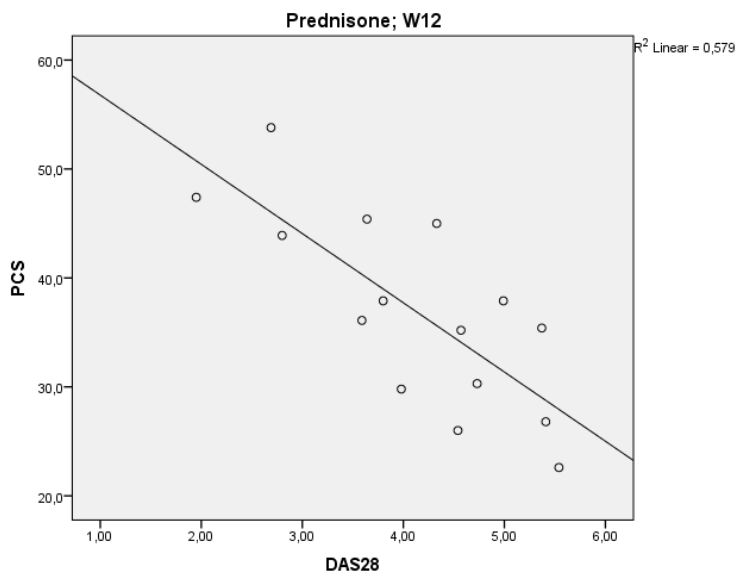
kod bolesnika lečenih prednizonom, između DAS28 i PCS, MCS ($p < 0,01$, kod svih grupa, Spearman test). Rezultati su prikazani na grafikonima 57-62.



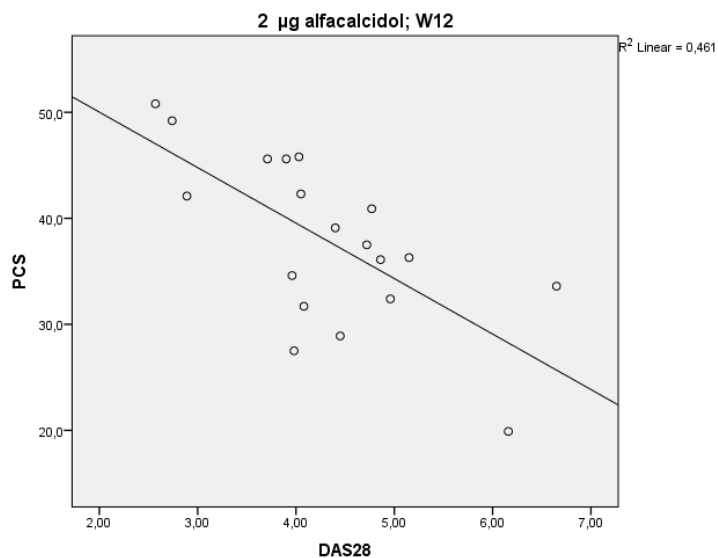
Grafikon 57. Povezanost između mentalnih komponenta kvaliteta života MCS i aktivnosti RA DAS28 na kraju aktivnog lečenja u grupi randomizovanih na 1µg alfakalcidola ($p < 0,01$, Spearman test)



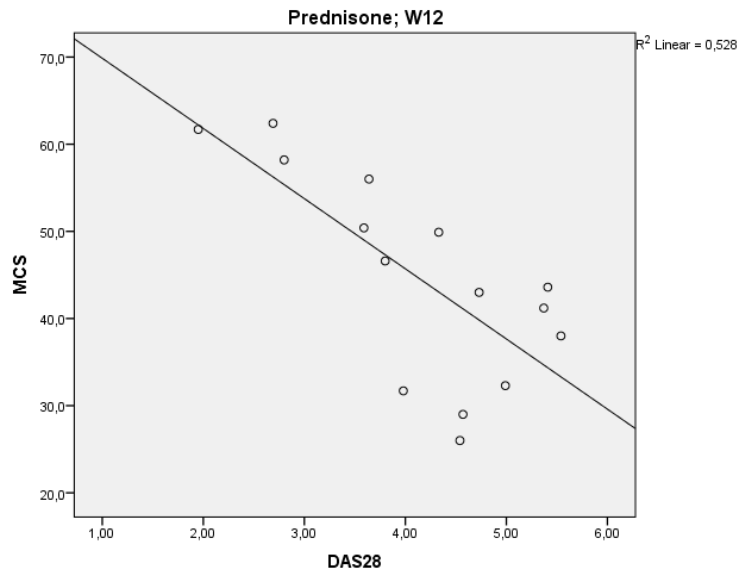
Grafikon 58. Povezanost između komponenta kvaliteta života opšteg zdravlja i mentalnog zdravlja na kraju perioda praćenja u grupi randomizovanih na lečenje sa 1µg alfakalcidola ($p < 0,01$, Spearman test)



Grafikon 59. Povezanost između fizičkih komponenata kvaliteta života PCS i aktivnosti RA DAS28 na kraju perioda praćenja u grupi randomizovanih na lečenje sa pronizonom ($p < 0,01$, Spearman test)



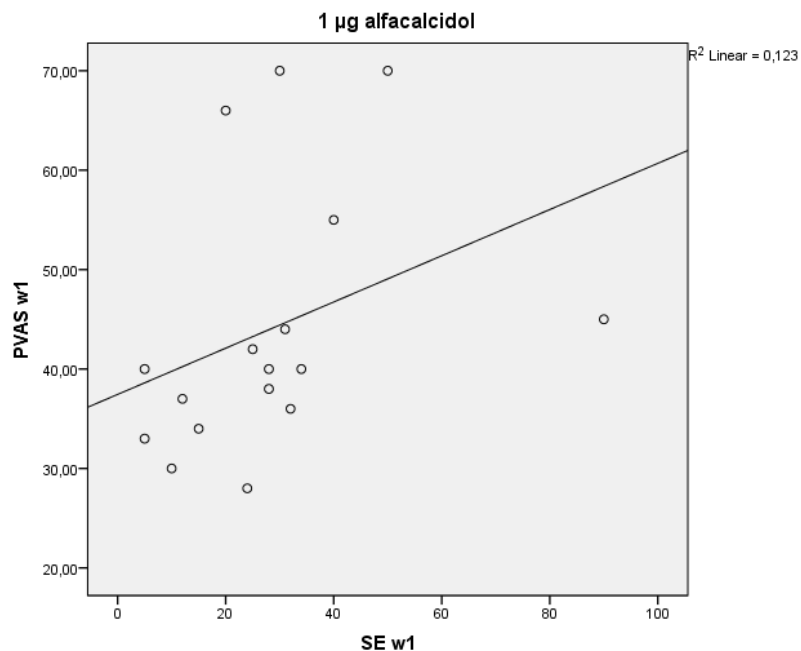
Grafikon 60. Povezanost između fizičkih komponenata kvaliteta života PCS i aktivnosti RA DAS28 na kraju perioda praćenja u grupi randomizovanih na lečenje sa 2µg alfakalcidola ($p < 0,01$, Spearman test)



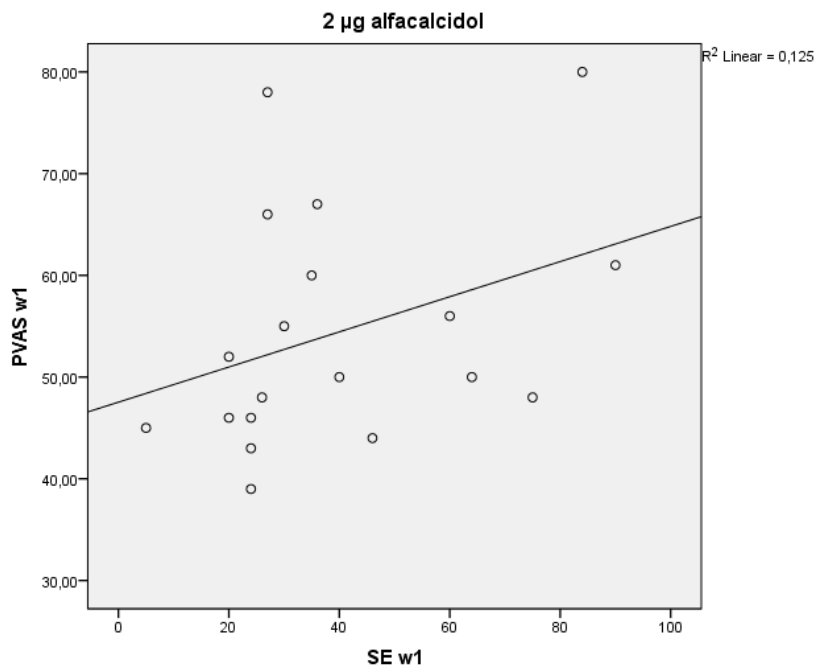
Grafikon 61. Povezanost između mentalnih komponenata kvaliteta života MCS i aktivnosti RA DAS28 na kraju perioda praćenja u grupi randomizovanih na lečenje prednizonom ($p < 0,01$, Spearman test)

5.9.3 Korelacije kliničkih i laboratorijskih nalaza

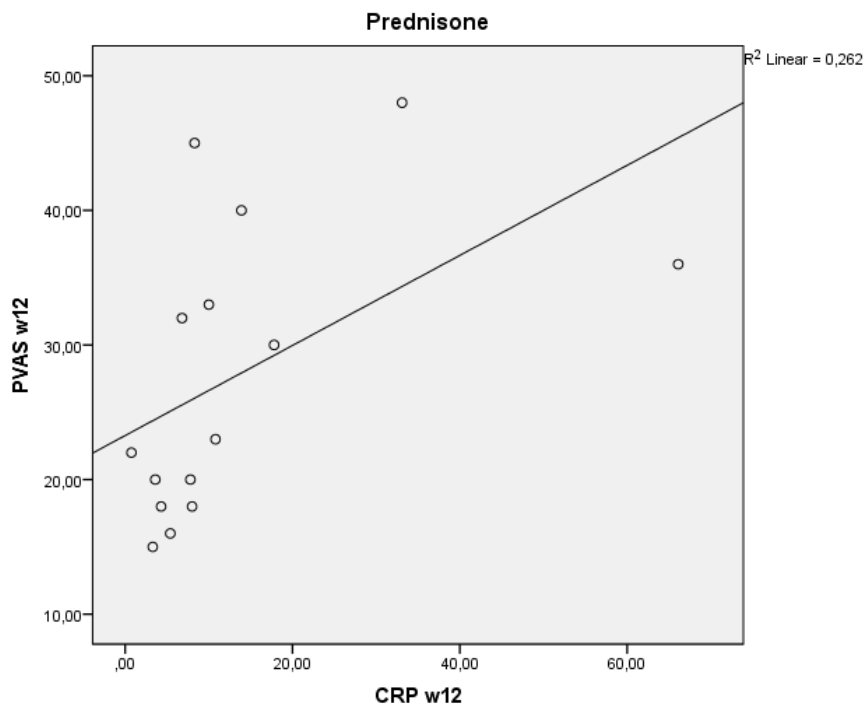
Ispitali smo i korelacije između bolesnikove procene aktivnosti bolesti-PVAS i biohumoralnih parametara zapaljenja SE i CRP. Visoko statistički značajna korelacija između PVAS i SE je nađena na početku perioda praćenja u grupi randomizovanih na 1 i 2 μ g alfakalcidola ($p < 0,01$, Spearman test, oba), dok je na kraju perioda praćenja samo u grupi bolesnika koji su primali tri meseca prednizon, nađeno visoko statistički značajna pozitivna korelacija PVAS i CRP ($p < 0,01$, Spearman test). Rezultati su prikazani na grafikonima 62-64.



Grafikon 62. Povezanost bolesnikove procene aktivnosti bolesti PVAS i sedimentacije eritrocita na početku perioda praćenja u grupi randomizovanih na lečenje sa 1µg alfakalcidola



Grafikon 63. Povezanost bolesnikove procene aktivnosti bolesti PVAS i vrednosti sedimentacije eritrocita na početku perioda praćenja u grupi randomizovanih na lečenje sa 2µg alfakalcidola



Grafikon 64. Povezanost bolesnikove procene aktivnosti bolesti PVAS i vrednosti serumskog CRP na kraju perioda praćenja u grupi randomizovanih na lečenje prednizonom

VI DISKUSIJA

Imajući u vidu rezultate dvostruko-slepeg placebo kontrolisanog istraživanja kod obolelih od aktivnog RA, bez LMTB terapije, a lečenih alfakalcidolom 1 μ g ili 2 μ g, u kome je pokazano da je veći udeo bolesnika sa poboljšanjem aktivnosti RA u grupi lečenih alfakalcidolom, nego u placebo grupi, uz korekciju patološkog odnosa T4/T8 ćelija u perifernoj krvi i poboljšanje parametara koštane gustine procenjene mikrodensitometrijom [96], još nekoliko drugih istraživanja je tokom prethodnih decenija potvrdilo terapijski potencijal alfakalcidola u autoimunskim bolestima, hroničnim artritima, osteoporozi, sarkopeniji [105-109,134,135]. Sveobuhvatniju analizu efekata indukovanih primenom ovog analoga vitamina D, dobijeno je publikovanjem rezultata studije iz Srbije, 1999. godine [69], u kojima je pokazano kliničko poboljšanje pacijenata sa RA, na bazičnoj terapiji, tretiranih dodavanjem 2 μ g/dan alfakalcidola, tokom tri meseca, koje je bilo snažnoj korelaciji sa in vitro dobijenim imunomodulatornim efektima. Nakon tri meseca terapije alfakalcidolom, 89% pacijenata je imalo pozitivan uticaj na aktivnost bolesti procenjeno Ritchie indeksom (45% ili 9 pacijenata sa kompletnom remisijom i 44% ili 8 pacijenata sa zadovoljavajućim efektom). Samo dva pacijenta ili 11% ispitanika, nije imalo nikakvo poboljšanje, ali se nisu javili novi simptomi. Dvostruki efekti na proliferaciju limfocita i apoptozu su primećeni u skladu sa prethodnim stanjem ćelijske aktivacije. U podgrupi bolesnika sa visoko aktivnim RA i povećanom spontanom proliferacijom limfocita indukovanom mitogenom pre ispitivanja, visoke doze oralne terapije alfakalcidolom i in vitro dodat alfakalcidol, značajno su smanjili kapacitet proliferacije. S druge strane, u podgrupi bolesnika sa umereno aktivnom bolešću i kod zdravih osoba, nije bilo uticaja na proliferaciju limfocita. Kod obe podgrupe RA pacijenata visoke doze alfakalcidola su imale pozitivan efekat u smislu kliničkog poboljšanja. Za tri meseca ovog ispitivanja otvorenog tipa, ni kod jednog od 19 RA bolesnika, nisu uočeni značajni neželjeni efekti. Nivoi serumskog kalcijuma i jonizovanog kalcijuma ostali su u fiziološkom opsegu. Povećanje nivoa kalcijuma u urinu je statistički značajno (2,91 prema 7,39 mmol/L), ali je ostalo u fiziološkim opsezima, a samo šest pacijenata (31,5%) je imalo hiperkalciuriju (>10,8 mmol/L) što je korigovano smanjenjem doze (na 0,25 μ g/dnevno).

U skladu sa prvim ciljem našeg istraživanja, aktivnost bolesti smo ispitivali upotrebom DAS28 indeksa [136], a iako su BBZ i BOZ sastavni deo ove složene mere, uključili smo i

njihovo poređenje u analizu, pre svega zbog u prethodnim istraživanjima uočenog brzog efekta alfakalcidola na osećaj bola i ukočenosti u zglobovima, a i zbog poređenja sa efektima glikokortikoida, koji se uobičajeno koriste u vidu konvencionalnog (ujutru) ili odloženog modifikovanog doziranja (u 22h) [137]. Dobili smo rezultate koji podržavaju nalaze efikasnosti alfakalcidola u lečenju hroničnih artritisa, a koji su u saglasnosti sa nalazima i u Psorijaznom artritisu [135] i u Reumatoidnom artritisu [69]. Naši ispitanici sa aktivnim RA, prosečno u zoni visoke aktivnosti RA-DAS28 u A2 5,8, u A3 5,7, u C 5,86, a i u grupi A1 gde je prosečni DAS 28 5,1, postigli su visoko statistički značajno smanjenje aktivnosti bolesti. Smanjenje BBZ je takođe statistički značajno u svim terapijskim grupama, osim u grupi A1. Smanjenje BOZ je svim grupama prisutno, a u A2 i C je i statistički značajno. Ovaj klinički nalaz potvrđuje prethodne indicije i dokaze da je alfakalcidol najefikasniji u najaktivnijoj bolesti, tj u visoko izraženom zapaljenju, jer su u grupama A2 i C na početku perioda aktivnog lečenja bile i najviševrednosti DAS28 zbira, od svih upoređenih grupa uz najveći broj bolnih i otečenih zglobova [138]. Poređenjem broja bolesnika koji su postigli razliku u DAS 28 > 1,2, tokom tromesečnog lečenja, našli smo da nema razlike između primene alfakalcidola 2 μ g, alfakalcidola 3 μ g ili glikokortikoida (prednizon 20mg dnevno mesec dana, potom dva meseca 10mg dnevno, prosečno 13,3mg/dnevno za tri meseca), što je prikazano u prvom delu rezultata. Između efekta alfakalcidola 2 μ g (Δ DAS28 1,49) i 3 μ g (Δ DAS28 1,28), na promenu DAS 28 zbira, nađena je značajna razlika u korist doze od 2 μ g, što je potvrdilo i post - hoc testiranje. Ovi nalazi uticaja na DAS28 zbir, kvalifikuju dozu od 2 μ g alfakalcidola dnevno kao potencijalnu alternativu upotrebi kortikosteoida, koji se uključuju intermitentno, kako u lečenju ranog RA, tako i u fazama pogoršanja RA dužeg trajanja. Kumulativno gledano, glikokortikoidi u RA ispoljavaju, kao i u drugim indikacijama, značajnu povezanost sa neželjenim događajima (ND) i ta povezanost je zavisna od doze i dužine primene. Meta analiza ND malih doza KS, od strane EULAR Task Force iz 2010. donosi najnovije preporuke za praćenje ND u studijama i dnevnoj praksi. Čak i pri upotrebi malih doza KS, treba redovno pratiti pojavu povećanja telesne težine, arterijskog pritiska, pojavu hiperglikemije i/ili definitivne šećerne bolesti, peptičkih ulceracija, infekcija, glaukoma, osteoporozе i preloma [139]. Prema našim nalazima, postoji realna mogućnost da terapija alfakalcidolom u nekom obimu bude alternativa glikokortikoidima u RA.

Niži DAS 28 zbir ne treba da nas zadovolji kao jedinilj i ishod u lečenja RA, tj može se reći da nije dovoljan. Prema medicini zasnovanoj na dokazima, dobro je poznato da intenzivno

lečenje RA obezbeđuje ne samo smanjenje aktivnosti bolesti, već i ređu pojavu ND, poboljšanje funkcijskog statusa i kvaliteta života [140], tako da smo i kod naših ispitanika evaluirali i promene HAQ, SF-36MCS, SF-36 PCS, kao i pojedinačnih komponenata kvaliteta života. Kada se uporede RA bolesnici u remisiji sa drugim isto dobrim stanjem RA, kao što je niska aktivnost bolesti, ipak postoje razlike među njima, i to u parametrima kvaliteta života [141]. S obzirom da je zdravlje najvažniji preduslov dobrog kvaliteta života, to se uspeh bilo koje terapijske procedure ne može potvrditi u potpunosti bez testiranja kvaliteta života. Ove procene su važne i za finansiranje i planiranje zdravstvene zaštite. Jedna domaća studija preseka koja je istraživala kvalitet života bolesnika sa hroničnim reumatskim bolestima upitnikom EQ-5D, uključila je u analizu 3475 bolesnika, sa zaključkom da u našoj zemlji, bolesnici sa hroničnim zapaljenskim oboljenjima (od kojih je bilo 1310 RA) imaju visoko statistički značajno lošiji kvalitet života u svim domenima ispitivanja u odnosu na druge reumatske bolesti, što je povezano sa bolom, ograničenjima funkcionisanja u aktivnostima svakodnevnog života[142]. Unašem istraživanju smo pokazali da se funkcijski status (HAQ-DI) poboljšao u svim terapijskim grupama, nakon tromesečnog aktivnog lečenja, a u grupi A2 statistički značajno (0,65 vs 0,37), kao i klinički značajno (Δ HAQ-DI>0,25). Uopšte uzev, funkcijski status u našoj grupi ispitanika nije bio loš, nakon prosečnog trajanja bolesti od 7,7 godina, iznosio je 0,57, što poređeno sa izveštajima iz drugih centara, gde je u nekim studijama preseka najveći broj osoba sa RA približnog istog trajanja imao HAQ-DI 1,7, ukazuje na prethodno zadovoljavajuće lečenje RA, koje alfakalcidol dodatno unapređuje[143]. Mada, dobrom funkcijskom stanju naših bolesnika doprinosi i to što je naveći broj bolesnika (30/67) imao kraću bolest, tj. do 4 godine (1-33godine).Studije preseka longitudinalnog praćenja RA bolesnika su pokazale da i pored lečenja tokom godina dolazi do pogoršanja funkcijskog stanja (prosečno za 0,031/godišnje ili 1% od maksimalne moguće nesposobnosti), u tom smislu, naši nalazi klinički značajnog poboljšanje HAQ-DI pod terapijom alfakalcidolom ukazuju dodatno na terapeutski potencijal ovog VDR agoniste u lečenju RA[61]. Istraživanja efekta različitih terapijskih režima na HAQ-DI su pokazala da su najmoćiji u smislu poboljšanja funkcijskog statusa bLMTB, a za poređenje sa našim istraživanjem bi bilo pogodnije podsećanje na radove u kojima su ispitivani efekti primene malih doza GK sa ili bez bazične terapije u ranom RA, sa zaključkom da primene malih doza GK imaju povoljan efekat na progresiju zglobnih oštećenja, ali i na HAQ-DI sa ili bez LMTB [144,145]. Saglasne rezultate

smo i mi dobili, a potrebno je sprovesti dvostruko-slepo placebo kontrolisano ispitivanje lečenja RA alfakalcidolom, sa radiografskim praćenjem, radi pune uporedljivosti.

Što se tiče kvaliteta života, u svim grupama, sem grupe koja je koristila alfakalcidol 1 μ g, došlo je do poboljšanja zbirnih fizičkih komponenata kvaliteta života, a u grupi A2 i C je to poboljšanje na nivou statističke značajnosti (34,4vs37,9, odnosno 33,4vs36,9).

Zbirna mentalna komponenata kvaliteta života je u svim grupama poboljšana, na kraju tromesečnog lečenja, a u grupi A2 je to poboljšanje i statistički značajno (47,04vs52,15). Tokom perioda aktivnog lečenja nije došlo do smanjenja niti jedne pojedinačne komponente kvaliteta života u bilo kojoj od četiri terapijske grupe. U svim grupama, sem u A1 došlo je do statističkog poboljšanja neke od komponenata: u grupi A3 fizičkih uloge, a telesnog bola u grupi lečenoj glikokortikoidima. Najviše komponenata je statistički značajno poboljšano u grupi A2, a to su telesni bol, socijalne uloge, a visoko statistički značajno opšte zdravlje, umor, dok je poboljšanje mentalnog zdravlja na granici statističke značajnosti ($p=0,052$). Veoma značajan rad iz ove oblasti je publikovan 2012, a analizirane su promene pojedinačnih komponenata kvaliteta života kod obolelih od RA, Psorijaznog artritisa (PSA) i Psorijaze pod terapijom MTX i/ili anti TNF α lekom. Pokazano je da se komponente sa najnižim bazičnim vrednostima, najizrazitije poboljšavaju pod uticajem uspešne terapije osnovne bolesti. Naši rezultati pokazuju da osim smanjenja aktivnosti RA, lečenje alfakalcidolom doprinosi i poboljšanju kvaliteta života, naročito u grupi A2[146]. Dobro je poznato da je umor sastavni deo kliničke slike RA i ima karakter sveukupne iscrpljenosti, onesposobljavajući bolesnikau mentalnom i fizičkom funkcionisanju, koncentraciji, prema opisu obolelih [52]. Bolesnici taj osećaj razlikuju od umora koji nastaje kao posledica težeg rada ili neispavanosti. Efikasna terapija RA poboljšava i osećaj zamora, posebno bLMTB [54,55]. FACIT-F skalom smo kod naših ispitanika ispitivali umor. Pokazano je smanjenje osećaja zamora kod RA bolesnika lečenih alfakalcidolom, a povećanje u grupi lečenih glikokortikoidima. Najveću promenu je doživela grupa A2, ali ni u toj grupi promena FACIT-F nije na nivou statističke značajnosti. Međutim, ako pogledamo promenu osećaja umora kao komponente SF36Qol upitnika, što se takođe smatra relevantnim merilom (klinički značajno, ako je Δ umor>10J), u našoj grupi ispitanika lečenih alfakalcidolom 2 μ g, postignuto je značajno poboljšanje umora (Δ umor=16J), a to je saglasno onom koje se postiže primenom antiTNF α lekova iz grupe bLMTB[53]. Potpuno suprotno kretanje osećaja umora u grupi lečenoj alfakalcidolom i glikokortikoidima svakako ne može da bude ignorisano i ukazuje

na farmakološkim potencijal alfakalcidola u RA, jer je poboljšanje zamora pri primeni drugih lekova kao što su sLMTB i bLMTB direktno povezano sam snižavanjem nivoa prinflamatornih citokina [54,55]. I u našoj grupi obolelih najizrazitija redukcija zamora je regoistrovana u grupi lečenoj sa 2 μ g alfakalcidola, a u toj grupi je i nađeno statistički značajno smanjenje serumskog IL6 (113,2974 \pm 220,24976 vs 69,9228 \pm 161,58975, $p < 0,05$, t-test).

Možemo da predpostavimo da VDR agonist alfakalcidol delujući direktno na VDR u centralnom nervnom sistemu povećava ekspresiju gena za sintezu triptofan sintetaze, holin acetiltransferaze, i tako povećavaju raspoloživost dopamina, noradrenalina, adrenalina i acetilholina, te dovodi do povoljnih efekata i na osećaj zamora [147-150]. Nedostatak ovih neurotransmitera je u osnovi mnogih psiholoških i psihijatrijskih poremećaja [148]. S obzirom da osećaj zamora postoji i kod oko trećine bolesnika kod kojih je postignuta potpuna kontrola zapaljenja, jasno je da dalje dodavanje antizapaljenjskih lekova i imunska supresija neće dovesti do daljeg poboljšanja ovog stanja. Razmatra se upotreba kognitivno-bihevioralne terapije, vežbanja, unapređenja mentalnog zdravlja na osećaj zamora u RA [52]. U istraživanju izvedenom iz analize britanskog registra bolesnika sa RA, nađeno je da je poboljšanje umora povezano sa ženskim polom, dobrim mentalnim zdravljem, a odsustvom glikokortikoida u terapiji, lošeg funkcijskog stanja, prethodnog depresivnog reagovanja [53].

Nakon tromesečnog studijskog lečenja u našem istraživanju, u svim terapijskim grupama bolesnici su procenili značajno smanjenje aktivnosti svoje bolesti (PVAS), u grupi A1 (52,58 \pm 16,07 vs 25,06 \pm 8,4, $p < 0,01$), A2 (51,84 \pm 24,84 vs. 17,129 \pm 10,205, $p < 0,01$), A3 (51,73 \pm 24,6 vs 14,992 \pm 9,545, $p < 0,01$), a i u grupi C (50,43 \pm 27,53 vs 15,624 \pm 10,569, $p < 0,01$, paired t test). Dakle, subjektivnom procenom je nađena visoko statistički značajna razlika aktivnosti RA. Ovo smatramo značajnim pošto se i bolesnikove procene smatraju objektivnim merilima: naime, nađeno je da su bolesnike ocene – PRO, povezane sa primenjenim lečenjem i da se podudaraju sa parametrima inflamacije, te da su manje podložne placebo efektu [151]. Osim toga, subjektivno poboljšanje izraženo kao smanjenje PVAS, ispunjava kriterijume pouzdanosti u PRO, tj promena PVAS je veća od 25mm, kod svih lečenih alfakalcidolom [152].

Uz smanjenje aktivnosti RA najveći deo naših bolesnika je imao i poboljšanje laboratorijskih znakova smanjenja zapaljenja, poboljšanje kvaliteta života, funkcijskog statusa, manju zamorljivost, poboljšanje mišićne snage, koordinacije, što se svakako ne može pripisati korekcijom nedostatka vitamina D, jer su oni na početku lečenja imali zadovoljavajući nivo

serumskog 25(OH)D₃, već pretpostavljamo da je direktan efekat alfakalcidola na nuklearni VDR u raznim tkivima proizveo ove višestruke povoljne efekte. Nedavnom sistematskom revijom meta-analize efekta dugoročne suplementacije vitaminom D na kvalitet života u opštoj populaciji nije pokazano da postoji takva povezanost, niti u opštoj populaciji, niti kod obolelih, osim blagog poboljšanja nakon kratkotrajne suplementacije (kraće od 6 meseci) u pojedinim grupama obolelih od osteoporoze [153]. Ovaj nalaz je baziran i na rezultatima studije kod obolelih od teške osteoporoze lečenih alfakalcidolom 1 μ g tokom tri godine, koje je dovelo je do poboljšanja kvaliteta života procenjeno SF-36Qol upitnikom, pri čemu je komponenta telesnog bola najizrazitije poboljšana [154].

Nije najpogodnije lečenje analogom vitamina D, alfakalcidolom porediti sa lečenjem sLMTB niti bLMTB, ali je evidentno da alfakalcidol 2 μ g tokom tromesečnog lečenja nije inferioran, a čak je i efikasniji u odnosu na GK, u pogledu smanjenja aktivnosti bolesti, poboljšanja funkcijskog statusa i kvaliteta života. Pokazano je da je anksioznost i depresija na osnovu psihijatrijskog intervjua, visoko prevalentna kod RA bolesnika (16,8%), što je u odnosu na opštu populaciju značajno više, te da je povezana sa lošijim odgovorom na bilo koju vrstu lečenja RA, kao i na lošiji dugoročni ishod bolesti [59,60]. U našem istraživanju nismo pratili ove parametre, a u nekom budućem nastavku potencijala alfakalcidola u lečenju RA imamo u planu i praćenje anksioznosti i depresije, imajući u vidu dokaze da su hormon D/VDR agonisti vrlo aktivni signalni molekuli u CNS [148,149].

Funkcija mišića je značajno izmenjena u RA, pri čemu se bol, smanjenje pokretljivosti pripisuje plimi inflamatornih citokina, sniženom serumskom 25(OH)D₃ i poremećenom metabolizmu kalcijuma, povišenom PTH, primeni GK, prisustvu pridruženih bolesti, godinama starosti, a kako je u našoj grupi bolesnika prosečna starost bila 56,24 godina, da nisu koristili GK dva meseca pred uključenje u istraživanje, da nije bilo pridruženih bolesti sem kod 28/67(41%), a nijedna u težem obliku, te da nisu bili u deficijenciji serumskog vitamina D (31,56ng/ml, NV>30ng/ml), niti imali hiperparatiroidizam (38,63pg/ml - NV do 50pg/ml), možemo reći da se može eliminisati uticaj bilo čega na funkciju mišića sem RA, samog po sebi. Tokom aktivnog perioda lečenja kod svih ispitanika je došlo do poboljšanja testa mišićne snage kao što je „test ustajanja sa stolice“(CRT), u grupi A3 je poboljšanje i statistički značajno. Takođe, kod svih ispitanika je došlo od povećanja distance pri izvođenju „šestominutnog testa hodanja“ (6MWT) i to statistički značajno, što indirektno govori o povećanju mišićne snage i izdržljivosti, kao

iopštem poboljšanju kondicije i pokretljivosti. Test mišićne koordinacije „ustani sa stolice i kreni“ (TUG) je u svim grupama poboljšan, u grupi A2 je ovo poboljšanje statistički značajno. Izvođenje „tandem hoda“ (TW), što je takođe test mišićne koordinacije je u grupi A2 i A3 poboljšano, dok je u A1 i C pogoršano, a promene nisu bile na nivou statističke značajnosti. Lips u svom istraživanju efekta primene kalcitriola i vitamina D nije dobio poboljšanje mišićne funkcije, dok je Dukas primenom alfakalcidola pokazao povećanje mišićne snage i funkcije, smanjenje učestalosti padova [155,156], kao i Jansen u svom istraživanju primene prirodnog vitamina D, mada su oba istraživanja obavljena u selektovanim populacijama, starijih ispitanika, a koji nisu imali hronični artritis, a prisutnom insuficijencijom vitamina D [156,157], te samim tim nisu direktno uporedljiva sa našim ispitanicima. Korist od alfakalcidola u pogledu unapređenje mišićne funkcije je prema našim nalazima nedvosmislena, definitivno ne kao rezultat korekcije vitamin D deficijencije, već pretpostavljamo direktnim delovanjem na VDR u mišićnom tkivu, kao i ukupnim smanjenjem sistemske inflamacije. U grupi C je takođe došlo do blagog poboljšanja mišićne funkcije, iako je 25(OH)D₃ u serumu statistički visoko značajno opao tokom tromesečnog lečenja glikokortikoidima (37,02vs21,93, $p<0,01$). Ovakav značajan pad 25(OH)D₃ koji smo našli u toj grupi naših ispitanika, sasvim je u skladu sa podacima i literature o efektima glikokortikoidne terapije na serumski vitamin D i PTH [156]. Statistički značajno smanjenje serumskog PTH u grupi lečenoj sa 2 μ g alfakalcidola (31,20 vs 26,42 pg/ml, $p<0,05$) i visoko statistički značajno smanjenje u grupi koja je lečena sa 3 μ g afakalcidola tokom 3 meseca (42,88vs26,45pg/ml, $p<0,01$), može indirektno da nam ukaže na zadovoljavajuću snabdevenost ciljnih tkiva hormonom D u ovim grupama, je je ovo obrnuto srazmerno nivou PTH. Vitamin D, odnosno hormon D endokrini sistem ima sledeće komponente - bubreg kao endokrinu žlezdu koja stvara hormon D, ciljne ćelije sa specifičnim VDR i negativnu povratnu spregu serumski kalcijum-serumski PTH, koja reguliše aktivnost α hidroksilaze, tj. konverziju u hormon D [158]. Veoma je korisno po opšte zdravlje, pa i aktivnost RA, što antiinflamatorni efekat alfakalcidola ne prati pad serumskog vitamina D, kao što je to slučaj sa antiinflamatornim efektom glikokortikoida [108,113].

Serumski i urinarni kalcijum su redovno praćeni tokom istraživanja. Mnogi autori daju podatak o porastu kalcijuma u serumu i urinu tokom primene alfakalcidola, naročito ukoliko su primenjivane visoke doze [69,96,107]. Zapravo je nedoumica oko hiperkalcemijskog efekta analoga vitamina D i bila najveća prepreka ograničenoj farmakološkoj primeni analoga vitamina

D, te mnogi nisu ni razvijani dalje od prekliničkih faza istraživanja. U našoj grupi bolesnika lečenih alfakalcidolom je došlo do blagog povećanja serumskog kalcijuma, kao i jonizovanog kalcijuma u grupama A2 i A3, ali povećanje je statistički neznačajno i nije prelazilo gornju granicu referentnih vrednosti (2,26mmol/l, odn 1,25mmol/l za jonizovani kalcijum). U grupama A2 i A3 je zabeleženo visoko statistički značajno povišenje kalciurije, od čega je u A3 grupi prosečna dnevna kalciurija na kraju tromesečnog lečenja za 0,02mmol/l iznad gornje granice normalnih vrednosti. Takođe je u toj terapijskoj grupi kod četiri bolesnika posle dve kontrole, smanjivana doza alfakalcidola sa 3µg na 1µg na po nedelju dana, zbog uočene hipekalciurije. Zaista, prirodni vitamin D i kalcitriol - D hormon svoja genetička i epigenetička dejstva mogu ostvariti, uz ispoljavanje ND u vidu hiperkalcemije, no istražuju se i registrovani su za lečenje neki analozi vitamina D kao što je elocalcitol koji nemaju hiperkalcemijski efekat [159]. Naši nalazi ukazuju da strah od poremećaja kalcijumskog metabolizma nije opravdan i ne treba da koči dalje istraživanje alfakalcidola kao antizapaljenski i imunomodulatorno delotvornog leka.

Autoimunske bolesti u celini imaju značajnu povezanost sa ubrzanom arteriosklerozom, povećanim rizikom od kardiovaskularnog oboljevanja i smrti, sadelimičnim uplivom tradicionalnih riziko-faktora za kardiovaskularne bolesti [44,45]. U sistemskom zapaljenju i autoimunskim reakcijama, aktivacija monocita i limfocita dovodi i do izmena u reaktivnosti intime krvnih sudova, povećanog depozita lipidnih materija u istim. Povezanost između dislipidemije i ateroskleroze u autoimunskim bolestima je kompleksnija nego u opštoj populaciji [160,161]. Modifikacije u kompoziciji i funkciji lipoproteina u funkciji razvoja ateroskleroze su obimno istraživani specijalno u pogledu HDL holesterola [162]. HDL frakcija holesterola ima ateroprotektivna dejstva, pre svega zbog svojih holesterol vezujućih, antiinflamatornih i antioksidativnih efekata, što ne zavisi samo od cirkulišućeg nivoa, već i od kompozicije i funkcionalnosti HDL, što je sve oštećeno u autoimunskim bolestima [163]. Antizapaljenska terapija GK, sLMTB, bLMTB koriguje poremećene odnose serumskih lipoproteina u zapaljenskim reumatskim bolestima [164]. Poznata je i povezanost vitamin D deficijencije i povećanog rizika za razvoj kardiovaskularnih bolesti [165]. U našem istraživanju smo određivali ukupni holesterol i HDL, LDL frakcije na početku i nakon tromesečnog lečenja. U terapijskim grupama lečenim alfakalcidolom 2µg i 3µg i u grupi lečenih GK je došlo do neznačajnog povišenja ukupnog i LDL holesterola, a povišenja HDL frakcije, pri čemu je povišenje HDL statistički značajno u grupi koja je koristila 2µg alfakalcidola. Takođe, u grupi A2 je došlo do

korekcije odnosa HDL/LDL u povoljnom pravcu, sa 0,48 na 0,54, koji inače treba da bude $> 0,4$, tj do daljeg smanjenja aterogenog indeksa. U ostali grupama, sem u A1 (0,43-0,43), takođe je došlo do popravljavanja odnosa HDL/LDL, ali ne u tolikoj meri izraženo (u A3 0,49-0,50 i u C 0,50-0,55). Posebno treba istaći da se već povoljan odnos HDL/LDL dodatno poboljšao nakon aktivnog lečenja. Ovaj podatak dodatno ukazuje na povoljan antizapaljenski i metabolički efekat alfakalcidola kod bolesnika sa aktivnim RA, a sa suficijentnim nivoom 25(OH)D3 u serumu. Naša ispitanici, iako ukupno prema DAS 28 zbiru nisu u kategoriji niske aktivnosti ili remisije, dobili su povoljne promene serumskih lipida, kao što je ijedna studija iz 2003 pokazala: bolesnici koji su u remisiji ili u dobro kontrolisanoj bolesti imaju porast HDL i redukciju aterogenog indeksa u poređenju sa bolesnicima sa aktivnim RA [166]. Korekcija aterogenog indeksa je prisutna i u bolesnika lečenih sa alfakalcidolom 2 μ g i 3 μ g, kao i u grupi bolesnika lečenoj drugom snažnom antiinflamatornom terapijom, kao što su glikokortikoidi. Odnos između triglicerida i HDL holesterola reprezentuje nivo insulinske rezistencije u organizmu. Boyer i saradnici su u istraživanja tg β /HDL odnosa u ranom artritisu našli da je patološki u odnosu na kontrolnu grupu zdravih ispitanika [167]. U svim našim grupama je bio blago iznad idealnih vrednosti (0,87). Poboljšanje odnosa trigliceridi/HDL holesterol je nađeno u grupama koje su primale 2 μ g, 3 μ g alfakalcidola i prednizon, a najizraženije smanjenje/korekcija ovog odnosa je nastupilo u grupi A2. S obzirom na nalaze drugih studija lipidnog statusa i hroničnih inflamatornih stanja, koje su prikazale povezanost sniženja CRP i korekcije odnosa ovih lipidnih materija u serumu RA bolesnika, naš nalaz je u skladu sa tim zapažanjem, jer je jedino u grupi A2 došlo do visoko statistički značajnog sniženja i CRP tokom perioda aktivnog lečenja (28,2vs9,9 $p < 0,001$)[167]. Potrebno je istaći korekciju aterogenog indeksa kao dokaz antiinflamatornog dejstva alfakalcidola. Povećan mortalitet kod RA bolesnika proističe pre svega iz povećane smrtnosti od KVB, te ovaj dokaz da alfakalcidol, pre svega 2 μ g dnevno, snažno smanjuje proaterogeni status kod naših ispitanika predstavlja polaznu tačku i za eventualna istraživanja uticaja primene alfakalcidola na stopu smrtnosti kod RA bolesnika.

U grupi lečenih prednizonom tokom 12 nedelja, zapaženo je povećanje glikemije naše, (za oko 40% u donosu na bazalne vrednosti) koje nije statistički značajno (4,09vs5,79mmol/l). Uticaj glikokortikoida bilo endogenih, bilo egzogenih na funkciju endokrinog pankreasa je višestruka, pre svega jer neposrednonakon početka terapije izazivaju insulinsku rezistenciju uticajem na insulinske signalne puteve, stimulišući povećanje sekrecije insulina iz β ćelija

pankreas, pri čemu GK remete i lučenje glukagona, somatostatina, amilina, grelina, što sve zajedno vodi izraženom dijabetogenom efektu, a ako lečenje GK traje duže i ako je bolesnik ima sklonost ka DM, dovodi do klinički ispoljenog DM, sa svim komplikacijama [168]. Metabolički poremećaji izazvani GK dovode i do abdominalne gojaznosti, dislipidemije i hipertenzije. Kumulativna doza GK je najvažniji faktor za nastanak DM [169]. Mogućnost zamene GK alfakalcidolom u lečenju dela RA bolesnika (npr. onih u visokom riziku za nastanak DM) predstavljalo bi napredak u lečenju i prognozi obe bolesti.

Određivanje citokina u serumu kod zdravih i obolelih od različitih akutnih i hroničnih bolesti uključujući i autoimunske bolesti, dovelo je do kontroverznih saznanja. Dok *in vitro* istraživanja u RA pokazuju varijacije u produkciji citokina koje podkrepljuju nalaze kliničkog stanja i efekte lečenja, *in vivo* istraživanja uglavnom ne pokazuju povezanost serumskih nivoa citokina i kliničkih parametara aktivnosti RA [170]. Jedno od novijih istraživanja povezanosti prisustva power Doppler signala pri ultrasonografskom pregledu 40 zglobova, sa serumskim nivoima citokina kod ispitanika, pokazala je da nema nikakve korelacije između jasno evidentiranog sinovitisisa uz pomoć muskuloskeletnog ultrazvuka i serumskih nivoa IL1 α , IL1 β , IL2, IL6, IL8, IFN γ , TNF α , a povezano je sa serumskim VEGF [171], što je protumačeno kao biomarker sinovijalne neo-angiogeneze u sinovitisu. U analizi efikasnosti tocilizumaba, humanizovanog monoklonskog antitela na IL6 receptor, za koji se pokazalo da je jedan od najmoćnijih bLMTB, efikasan i kao monoterapija RA, određivani su i proinflamatorni citokini u serumu bolesnika pre i posle ekspozicije, pokazalo se da primena tocilizumaba, iako je veoma značajno snizila aktivnost RA mereno CDAI indeksom, nije dovela do promene koncentracije TNF α , IL6, a jeste do smanjenje MIF (inhibitora migracije makrofaga)[172]. Neke studije su se bavile analizom desetina serumskih citokina i hemokina kod RA bolesnika sa ciljem boljeg odabira RA bolesnika za različite terapijske strategije, ali prognostički značajni citokinski profili nisu definisani za sada. Serumski nivoi proinflamatornih citokina se značajno razlikuju u odnosu na zdrave kontrole [172,173]. Svakako da je međuzavisnost imunskih ćelija, citokina i hemokina izuzetno složen, te da je taj dinamični sistem funkcionalno višesmernih, pleiotropnih uticaja, sinergija, konkomitantnih regulacija još nepoznat današnjoj medicini. Nastajanje, a i lečenje neke autoimunske bolesti ima za podlogu kompleksnu međuzavisnost mnogobrojnih signalnih puteva i ćelija, kroz proces pogrešnog prepoznavanja sopstvenih ćelija i tkiva kao stranih. U 2011. je objavljena studija E. Zold u kojoj je pokazano da primena alfakalcidola 1 μ g tokom 5 nedelja,

može da restaurira poremećene nivoe pro i antiinflamatornih citokina kod obolelih od Nediferentovane sistemske bolesti vezivnog tkiva, tj. smanjenje nivoa IF_{γ} , IL6, IL12, IL23, IL17, $TNF\alpha$, a povišenje serumskog IL10, a i da koriguje vitamin D deficijenciju [134]. Druga studija je kod obolelih od PSA je nakon tromesečne primene 0,5 μ g alfakalcidola uz standradnu LMTB terapiju, našla sniženje serumskog nivoa IF_{γ} i kliničko smanjenje aktivnosti artritisa, u poređenju sa grupom obolelih koji nisu primali analog vitamina D [135]. Huckins je još 1990. primenivši 2 μ g alfakalcidola dnevno tokom 6 meseci kod PSA, našao statistički značajno smanjenje aktivnosti artritisa, bez bilo kakvog efekta na imunološke serumske paremetre [174]. U našem istraživanju je ispitano kretanje serumskih citokina pre i posle tromesečnog aktivnog tretmana, koje je u slučaju IL6 pokazalo trend snižavanja u svim terapijskim grupama, sem u grupi A1, pri čemu je pad IL 6 (113,2vs69,9pg/ml) u grupi A2 bio na nivou statističke značajnosti. Došlo je i do sniženja nivoa IL 4 je u svim grupama, sem u grupi A2, a IL10 je imao trend povišenja u grupama A1(5,095vs5,33) i A2(14,61vs25,76pg/ml), dok je u A3 i C grupi opao nakon aktivnog lečenja. Nivo $TNF\alpha$, IF_{γ} , IL17, IL 21 je minimalno varirao od grupe do grupe, što nije moguće povezati sa nekim od evidentnih kliničkih nalaza. Treba istaći da je $TNF\alpha$ nakon tromesečnog lečenja najviše porastao u A2 grupi (3,402vs6,827pg/ml), što indirektno govori o tome da pod antiinflamatornom efektu alfakalcidola ne dolazi do potpune supresije ovog citokina koji ima i značajne fiziološke uloge, a izrazita supresija ovog citokina se povezuje sa povećanom sklonošću infekcijama na bLMTB [37,40]. Nije nađena nikakva značajna povezanost između serumskih nivoa citokina sem visoko značajne pozitivne korelacije serumskih IL6 i IL 10 u svim terapijskim grupama na početku praćenja i u grupama A2 i A3 na kraju perioda praćenja. Takođe, nađena je pozitivna korelacija IL17 i IF_{γ} i MCS u grupi A1, IL4 i MCS u grupi C, a i IL 6 i HAQ u istoj grupi. Ovakve nalaze je teško interpretirati sa nekim stepenom sigurnosti, ali standardizacija i reproducibilnost merenja serumskih citokina nije idealna, a postoji ne mali broj studija koje su pokazale i značajne dnevne varijacije čitavog spektra citokina i inhibitora citokina, nezavisnu od primene bilo kakve terapije, a i tokom primene i najmoćnijih lekova kao što su bLMTB [170].

Najviše dokaza o farmakološkom dejstvu alfakalcidola imamo u primeni u osteoporozu i glikokortikoidima izazvanoj osteoporozu. Alfakalcidol je kroz dve meta analize efekta na koštanu mineralnu gustinu i frakture u postmenopauznoj OP, pokazao statistički značajno superiorniji efekat na porast KMG i relativnu redukciji rizika za prelome pršljenova u poređenju

sa placebom ili suplementacijom kalcijumom, a i u poređenju sa kalcitriolom [105-107]. U poređenju sa efektom prirodnog vitamina D alfakalcidol je takođe pokazao statistički značajnu efikasnost na porast KMG na centralnom skeletu. Svoju povoljnu ulogu u metabolizmu kosti dokazao je i u studijama primene alfakacidola uz bisfosfonate u lečenju OP [175]. Trogodišnja studija poređenja efekta 1 μ g alfakacidola ili 1000 IU holecaciferola uz supstituciju kalcijumom, kod osoba na dugogodišnjoj terapiji glikokortikoidima i dijagnostikovanom OP, pokazala je značajno veće povećanje koštane mineralne gustine na lumbalnoj kičmi (+2,4% vs -0,8%), na kuku (+1,2% vs +0,8%) i značajno veće smanjenje učestalosti vertebralnih i nevertebralnih preloma (RR 0,52) kod ispitanika tretiranih alfakacidolom [107]. Povoljan efekat na koštanometabolizam alfakalcidol ostvaruje kroz indirektnu supresiju PTH, povećanje osetljivosti osteoblasta na efekte polnih steroida, povećanje sekrecije kalcitonina i normalizacije koštanog prometa kroz povećanje faktora transformacije β (TGF β), te osteoprotegerina, koji inhibiše maturaciju osteoklasta, inhibicije lokalne produkciju citokina stimulatora resorpcije kosti, sprečavanje apoptoze osteoblasta, a ima dokaza i da 24,25(OH) $_2$ D $_3$ sam, kao produkt degradacije-transformacije alfakacidola, ima ulogu u regulaciji funkcije osteoblasta i mineralizaciji [176-178,107]. Neophodno je napomenuti da je lokalna i sistemska OP manifestacija RA, te da je kod RA bolesnika povećan rizik za vertebralne i nevertebralne prelome [45]. U našoj grupi ispitanika oba pola, koji su prosečno gledano u istraživanje ušli sa zadovoljavajućom koštanom gustinom, DXA analizom L1L4 segmenta i vrata butne kosti, nakon primene alfakacidola 1 μ g, 2 μ g ili 3 μ g tokom tri meseca, a potom 1 μ g tokom 9 meseci (ukupno 12 meseci), pokazalo je blag porast koštane mineralne gustine na L1L4 segmentu, u grupi koja je sve vreme primala 1 μ g alfakacidola, do neznačajnog sniženja u grupi A2 i A3, dok je na istom segmentu kod ispitanika koje su tokom tri meseca primali GK, a zatim alfakalcidol 1 μ g tokom 9 meseci, došlo do statistički značajnog pada koštane mineralne gustine. Imajući u vidu da Δ KMG u A1 (0,017gr/cm 2) A2 (0,045gr/cm 2) i A3 (0,01gr/cm 2) ne prelazi najmanju značajnu promenu od 2,7% u odnosu na bazalnu vrednost BMD, može se smatrati da u tim grupama nije došlo do bilo kakve promene KMG. Kretanja TBS, pokazatelja koštane miroarhitekturne građe, novog parametra koji se pokazao kao značajan nezavisni faktor rizika za prelom, po jačini uticaja približan prethodnom prelomu kosti, koji je analizirano samo u grupi od 40 ispitanica (kompjuterska aplikacija na aparatu primenjuje se samo na osobe ženskog pola), dobili smo sledeće rezultate: u grupi koja j primala 2 μ g, a zatim 1 μ g, kao i u grupi koja je primala 3 μ g pa

nastavila sa 1 μ g, došlo je do statistički značajnog povećanja TBS, tj poboljšanje mikroarhitekture koštanog tkiva, dok je u grupi koja je u prvom delu istraživanja lečena GK, nađeno neznačajno sniženje TBS. Ispitivanjem alfakalcidol grupe u celini, našli smo da je TBS povećan visoko statistički značajno, nakon 52 nedelje praćenja (1,2559 vs1,2997). Za ovaj parametar je sve više dokaza kao ključni u razlikovanju žena koje nemaju OP, a koje su u riziku od nastanka preloma kosti [180], tako da se porast TBS može interpretirati kao povoljan ishod u smislu smanjenja rizika za prelom kosti, kako kod osteoporotičnih, tako i neosteoporotičnih žena.

Jedno od novijih istraživanje u grupi bolesnika sa OP (N=2164) u kome je upoređivan efekat kombinovane terapije alendronatom sa alfakalcidolom i monoterapije alendronatom u pogledu kvaliteta života (upotrebom japanskog upitnika za kvalitet života - JOQOL), pokazalo je da su u grupi bolesnika na kombinovanoj terapiji značajno unapređene rekreativne i socijalne aktivnosti u odnosu na grupu lečenu monoterapijom, a što se tiče prevencije preloma, nije bilo razlike. Ovi nalazi su u skladu sa našim nalazima poboljšanja mnogih elemenata fizičkog i mentalnog funkcionisanja, mišićne sposobnosti, umora, kvaliteta kosti, pa i metabolizma [175].

Nalik primerima iz strategija lečenja drugih hroničnih bolesti, kao što su kardiovaskularne, gde najviše koristi od intenzivnog lečenja imaju osobe sa najvišim rizikom [181], tako u najaktivnijem RA, treba maksimalno iskoristiti saznanja o terapijskim sredstvima koja individualnom bolesniku mogu pružiti brzo i efikasno smanjenje subjektivnih tegoba, aktivnosti bolesti, naročito ako primena tih lekova ima korisnih efekata i po opšte zdravlje, kvalitet života, uz povoljan bezbednosni profil, čak uporedivo sa efektima najsnažnijih ciljanih terapija [182]. S obzirom na višestruke pozitivne efekte, koje smo pokazali u našem istraživanju, ne samo na stanje artritisa, alfakalcidol ima terapijski kapacitet vredan pažnje, što zajedno sa dokazima iz predkliničkih istraživanja [138] daje čvrstu osnovu za dalje kliničke studije radi potvrde opravdanosti lečenja aktivnog RA ovim VDR agonistom.

VII ZAKLJUČCI

1. Lečenje bolesnika sa aktivnim reumatoidnim artritismom na standardnoj LMTB terapiji, bilo alfakalcidolom u dozi od 1 μ g, 2 μ g, 3 μ g dnevno ili prednizonom, tokom 12 nedelja, dovelo je do visokostatistički značajnog smanjenja aktivnosti bolesti, procenjeno objektivnim (DAS28 zbirom) i subjektivnim(PVAS) merilima.
2. Lečenje bolesnika sa aktivnim reumatoidnim artritismom na standardnoj LMTB terapiji alfakalcidolom 2 μ g dnevno, tokom 12 nedelja, dovelo je do statistički značajnog povećanja funkcijske sposobnosti, poboljšanja zbirnih merila fizičkog i mentalnog kvaliteta života, kao i nekih od pojedinačnih komponenata kvaliteta života, a to su telesni bol, umor, opšte zdravlje, socijalno funkcionisanje, praćeno i značajnim smanjenjem broja bolnih i otečenih zglobova.
3. Lečenje bolesnika sa aktivnim reumatoidnim artritismom na standardnoj LMTB terapiji, tokom 12 nedelja, alfakalcidolom 2 μ g dnevno, dovelo je do poboljšanja mišićne funkcije, snage i koordinacije, mereno „šestominutnim testom hodanja“ i testom „ustani i kreni“.
4. Lečenje bolesnica sa aktivnim reumatoidnim artritismom na standardnoj LMTB terapiji, tokom 12 nedelja, alfakalcidolom 2 μ g i 3 μ g dnevno, potom 1 μ g dnevno, tokom narednih 9 meseci, dovelo je do statistički značajnog povećanja TBS zbira, parametra mikroarhitekturne građe koštanog tkiva.
5. Lečenje bolesnika sa aktivnim reumatoidnim artritismom na standardnoj LMTB terapiji, tokom 12 nedelja, alfakalcidolom 2 μ g dnevno, dovelo je do statistički značajnog snižavanja serumskih koncentracija inflamatornog citokina, interleukina 6.
6. Alfakalcidol u dozi od 2 μ g dnevno, primenjen tokom 12 nedelja, kod bolesnika sa aktivnim reumatoidnim artritismom na standardnoj LMTB terapiji, podjednako je antiinflamatorno efikasan kao i prednizon u prosečnoj dozi od 13,3mg dnevno, procenjeno kliničkim i laboratorijskim parametrima zapaljenja, a za razliku od prednizona ima ipovoljan efekat na funkcijski status, kvalitet života i umor.
7. Lečenje bolesnika sa aktivnim reumatoidnim artritismom na standardnoj LMTB terapiji, tokom 12 nedelja, alfakalcidolom bilo 1 μ g, 2 μ g ili 3 μ g dnevno, je klinički i laboratorijski bezbedno.

VIII LITERATURA

1. Davies, K., & Woo, P. (2004). The process of inflammation. In Icenberg D, Maddison P, Woo P, Glass D, Breedveld F. Oxford textbook of rheumatology, 3rd ed.(pp.399-432). Oxford University Press.
2. Stupar N. Reumatoidni arthritisa, U Damjanov N. i saradnici: Reumatologija, Institut za reumatologiju, u štampi.
3. Bartold, P.M. Marino, V., Cantley, M.,& Haynes, D.R. (2010). Effect of Porphyromonas gingivalis-induced inflammation on the development of rheumatoid arthritis. *J Clin Periodontol*,37(5),405-411.
4. Jacobsson, L., Lindegarde, F., Manthorpe, R.,& Ohlsson, K. (2005). Effect of education, occupation, and some lifestyle factors on common rheumatic complaints in a Swedish group aged 60-70 years. *AnnRheumDis*,51,835-843.
5. Stojanović, R.(1996). Epidemiološko-klinička studija hroničnih artritisa. Doktorska disertacija.Beograd:Medicinski fakultet.
6. Passero, G., Olivieri, P., Gemignani, G.,&Vitali, C. (1989).Urticaria/arthritis syndrome in our B51 positive patients.*AnnRheum Dis*,48,508-511.
7. Lipsky, P.E. (2005). Rheumatoid arthritis.In Kasper D, Fauci A, Braunwald E, Hauser S, Lango D, Jameson J, editors. Harrison's Principles of Internal Medicine.(pp.1968-1977).16th edition:New York,NY,USA:McGraw-Hill.
8. Lanchbury, J.S., & Panayi, G.S.(1994). HLA and rheumatoid arthritis association. *Rheumatology Europe*,23,89-91.
9. Backdahl, L., Bushell, A., & Beck, S.(2009). Inflammatory signaling as mediator of epigenetic modulation in tissue-specific chronic inflammation. *Int J Biochem Cell Biol* (1),176-184.
10. Pitzalis, C. (1996). Role of adhesion mechanisms in the pathogenesis of chronic synovitis. *Br J Rheumatol*35,1198-1215.
11. Koopman, W.J., &Moreland, L.W. (2005).Pathogenesis of rheumatoid arthritis. In Arthritis and Allied Conditions,15th Edition. (pp.1089-1107). Lippincot. Williams & Wilkins.
12. Bansback, N., Marra, CA., Finckh, A.,&Anis, A.(2009). The economics of treatment in early rheumatoid arthritis. *Best Practice Research in Clinical Rheumatology*,23(1),83-92.
13. Nishimura, K.,Sugiyama, D.,Kogata, Y.,Tsuji, G.,Nakazawa, T.,Kawano, S.,et al. (2007).Meta-analysis: diagnostic accuracy of anti-cyclic citrullinated peptide antibody and rheumatoid factor for rheumatoid arthritis.*Ann Intern Med*,146(11),797-808.

14. Sokka, T., Kautianen, H., Mottonen, T., & Hannonen, P. (1999). Work disability in rheumatoid arthritis 10 years after diagnosis. *J Rheumatol*, 26,168, 1-1685.
15. Wolfe, F., Mitchell, D.M., Sibley, J.T., Fries, J.F., Bloch, D.A., Williams, C.A., et al. (1994). The mortality of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 37,481-494.
16. Colebath, A., Edwards, C., Östergaard, M., van der Heide, D., Balint, P., D'Agostino, M-A., et al. (2012). EULAR recommendations for the use of imaging of the joints in the clinical management of Rheumatoid arthritis *Ann Rheum Dis*, doi:10.1136/annrheumdis-2012-203158
17. Aletaha, D., Neogi, T., Silman, J.A., Funovits, J., Felson, D.T., Bingham, C.III., et al. (2010). Rheumatoid Arthritis Classification Criteria. *Ann Rheum Dis* 69, 1580-1588
18. Smolen, J.S. (2012). Treat to target: rationale and strategies. *Clin Exp Rheumatol*, 30(Suppl 73), S2-S6.
19. Smolen, J.S., Aletaha, D., Bijlsma, J., et al. (2010). Treating rheumatoid arthritis to target: recommendations of an international task force. *Ann Rheum Dis*, 69,631-7.
20. Smolen, J., Landevé, R., Breedveld, F., Buch, M., Burmeister, G. et al. (2014). EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease modifying drugs: 2013 update. *Ann Rheum Dis*, 73,492-509.
21. Smolen, J.S., Breedveld, F.C., Burmeister, G.R., et al. (2016). Treating rheumatoid arthritis to target: 2014 update of the recommendations of an international task force. *Ann Rheum Dis*, 75,3-15.
22. Contreras-Yanez, I., Ponce De, L.S., Caibades, J. et al. (2010). Inadequate therapy behaviour is associated to disease flares in patients with rheumatoid arthritis who have achieved remission with disease-modifying antirheumatic drugs. *Am J Med Sci*, 34,282-90.
23. Gronning, K., Rodevand, E., & Steinsbekk, A. (2010). Paid work is associated with improved health related quality of life in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol*, 29,1317-22.
24. Visser, K., & van der Heide, D. (2009). Optimal dosage and route of administration of methotrexate in rheumatoid arthritis: a systematic review of literature. *Ann Rheum Dis*, 68,1094-9.
25. Hobl, E.L., Mader, R.M., Jilma, B. et al. (2012). A randomized, double-blind, parallel, single-site pilot trial to compare two different starting doses of methotrexate in methotrexate-naïve adult patients with rheumatoid arthritis. *Clin Ther*, 34,1195-203.

26. Gaujoux-Viala, C., Nam, J., Ramiro, S., et al. (2014). Efficacy of conventional synthetic disease-modifying antirheumatic drugs, glucocorticoids and tofacitinib: a systematic literature review informing the 2013 update of the EULAR recommendations for management of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, 73, 510-515.
27. Bakker, M.F., Jacobs, J.W.G., Welsing, P.M.J. et al. (2012). Low-dose prednisone inclusion in a methotrexate-based tight control strategy for early rheumatoid arthritis: a randomized trial. *Ann Intern Med*, 156, 329-39.
28. Da Silva, J.A., Jacobs, J.W., Kirwan, J.R. et al. (2006). Safety of low dose glucocorticoid treatment in rheumatoid arthritis: published evidence and prospective trial data. *Ann Rheum Dis*, 65, 285-93.
29. Hoes, J.N., Jacobs, J.W., Boers, M. et al. (2007). EULAR evidence based recommendations on the management of systemic glucocorticoid therapy in rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis*, 66, 1560-7.
30. van der Goes, M.C., Jacobs, J.W.G., Boers, M., Andrews, T., Blom-Baker, M.A.M., Buttgerit, F., et al. (2011). Monitoring adverse events of low-dose glucocorticoid therapy: EULAR recommendations for clinical trials and daily practice. *Ann Rheum Dis* published online August 6, 2010. doi:10.1136/ard2009.124958
31. Wegrzyn, J., Adeleine, P., & Miossec, P. (2004). Better efficacy of methotrexate given by intramuscular injection than orally in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, 63, 1232-4.
32. Whittle, S.Z., & Hughes, P.A. (2003). Folate supplementation and methotrexate treatment in rheumatoid arthritis: a review. *Rheumatology*, 43(3), 234-9.
33. Nam, J.L., Ramiro, S., Gaujoux-Viala, C. et al. (2014). Efficacy of biological disease-modifying antirheumatic drugs: a systematic literature review informing the 2013 update of the EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, 73, 516-528.
34. van der Heide, D., Tanaka, Y., Fleischmann, R. et al. (2013). Tofacitinib (CP-690,550) in patients with rheumatoid arthritis receiving methotrexate: twelve month data from a twenty-four-month phase III randomized radiographic study. *Arthritis Rheum*, 65, 559-70.

35. Burmester, G.R., Rigby, W., van Vollenhov, R. et al. (2013). Tocilizumab (TCZ) in combination and monotherapy versus methotrexate (MTX) in MTX naïve patients (pts) with early rheumatoid arthritis (RA): clinical and radiographic outcomes from a randomized placebo-controlled trial. *AnnRheum Dis*,72,63.
36. Emery, P., Hammoudeh, M., Fitzgerald, O. et al. (2013). Assessing maintenance of remission with reduced dose etanercept plus methotrexate, methotrexate alone, or placebo in patients with early rheumatoid arthritis who achieved remission with etanercept and methotrexate:the PRIZE study. *Ann Rheum Dis*,72,399.
37. Galloway, J.B, Mercer L.K., Moseley, A. et al. (2013). Risk of skin and soft tissue (including shingles) in patients exposed to anti-tumor necrosis factor alpha therapy:results from British Society for Rheumatology Biologics Register. *Ann Rheum Dis*,72,229-34.
38. Winthrop, K.L., Baddley J.W., Chen, L. et al.(2013). Association between the initiation of anti-tumor necrosis factor therapy and the risk of herpes zoster. *JAMA*,309,887-95.
39. Strangfeld, A., Hierse, F., Rau, R. et al.(2010). Risk of incident and recurrent malignancies among patients with rheumatoid arthritis exposed to biologic therapy in German biologics register RABBIT. *Arthritis Res Ther*,12,R5.
40. Ramiro, S., Gaujoux-Viala, C., Nam, J.L. et al. (2014). Safety of synthetic and biological DMARDs: systematic literature review informing the 2013 update of the EULAR recommendations for management of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*,73,529-535.
41. Choy, H.K., Hernán, M.A., Seeger, J.D. et al. (2002). Methotrexate and mortality in patients with rheumatoid arthritis: a prospective study. *Lancet*,39,1173-7.
42. Barnabe, C., Martin, B.J., &Ghalli, W.A.(2011). Systematic review and meta-analysis:anti-tumor necrosis factor α therapy and cardiovascular events in rheumatoid arthritis. *Arthritis CareRes*,63,522-9.
43. Aviña-Zubieta, J.A., Thomas, J., Sadatsafavi, M., Lehman, A.J.,& Lacaille., D.(2012). Risk of incident cardiovascular events in patients with rheumatoid arthritis:a meta-analysis of observational studies. *AnnRheum Dis*,71,1524-9.
44. Myasoedova, E., Crowson, C.S., Kremers, H.M., Roger V.L., Fitz-Gibbon P.D., Thernau T.M., et al. (2011). Lipid paradox in rheumatoid arthritis:the impact of serum

- lipid measures and systemic inflammation on the risk of cardiovascular disease. *Ann Rheum Dis*,70,482-7.
45. Kanis, J.A., Oden, A.,& Johnell, O.(2007). The use of clinical risk factors enhances the performance of BMD in the prediction of hip and osteoporotic fractures in men and women. *Osteoporos Int*,8,1033-1046.
 46. Wolfe, F., Caplan, L.,& Michaud, K. (2006). Treatment for rheumatoid arthritis and the risk of hospitalization for pneumonia:associations with prednisone, disease-modifying antirheumatic drugs and anti-tumor necrosis factor therapy. *Arthritis Rheum*,54,628-634.
 47. Baker, J., Long, J., Ibrahim, S., Leonard, M., &Katz, P. (2015). Are men at greater risk of lean mass deficits in rheumatoid arthritis? *Arthritis Care Res (Hoboken)*,67,112-9.
 48. Kramer, H.R., Fontaine, K.R., Bathon, J.M., & Giles, J.T. (2012). Muscle density in rheumatoid arthritis:associations eith disease features and functional outcomes. *Arthritis Rheum*,64,2438-50.
 49. Matschke, V., Murphy, P., Lemmey,A.B., Maddison, P.J.,& Thom, J.M. (2010). Sceletal muscle properties in rheumatoid arthritis patients. *Mes Sci Sports Excerc*,42,2149-55.
 50. Lee, Y.C. (2013). Effect and treatment of chronic pain in inflammatory arthritis. *Curr Rheumatol Rep*,15,300.
 51. Wolfe, F., Hawley, D.J.,& Wilson, K. (1996). The prevalence and managing of fatigue in rheumatic disease. *J Rheumatol*,23,1407-17.
 52. Hewlet, S., Cockshott, Z., Byron, M., Kitchen, K., Tipler, S., Pope, D.,& Hehir, M. (2005). Patients perceptions of fatigue in reheurmatoid arhritis:overwhelming, uncontrollable, ignored. *Arthritis Rheum*,53,697-702.
 53. Druce, K.L., Jones, G.T., Macfarlane, G.J.,&Basu. N. (2015).Patients receiving anti-TNF therapies experience clinically important improvements in RA-related fatigue:results from the British Society for Rheumatology Biologics Register for Rheumatoid Arthritis. *Rheumatology*,54,964-71.
 54. Smolen, J.S., Chester-Wasco, M., Ramos-Rebus, C.R., Mysler, E.F., Day, B., Wiese, C., &Alten, R. (2008).Tocilizumab improves hemoglobin levels and FACIT fatigue scores in patients Rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*,67(Suppl II),189.

-
55. Yount, S., Sorensen, M.V., Cella, D., Sengupta, N., Grober, J., & Chatash, E.K. (2007). Adalimumab plus methotrexate or standard therapy is more effective than methotrexate or standard therapies alone in the treatment of fatigue in patients with active, inadequately treated rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol*, 25, 838-846.
 56. Bergman, M.J., Shahouri, S.H., Shaver, T.S., Anderson, J.D., Weidensaul, D.N., Busch, R.E., et al. (2009). Is fatigue an inflammatory variable in rheumatoid arthritis (RA)? Analyses of fatigue in RA, osteoarthritis and fibromyalgia. *J Rheumatol*, 36, 2788-94.
 57. Ormseth, S.R., Taylor, L.D., Irwin, M.R., Weisman, M.H., Aréchiga, A.E., Hartoonian, N., et al. (2015). Multidimensional model of disability and role functioning in rheumatoid arthritis. *Arthritis Care & Research*, 67(12), 1686-1692.
 58. Raftery, G., He, J., Pearce, R., Birchall, D., Newton, J.L., Blamire, A.M., & Isaacs, J.D. (2012). Disease activity and cognition in rheumatoid arthritis: an open label pilot study. *Arthritis Research & Therapy*, 14, R263.
 59. Matcham, F., Rayner, L., Steer, S., & Hotopf, M. (2013). The prevalence of depression in rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis. *Rheumatology*, 52, 2136-48.
 60. Matcham, F., Norton, S., Scott, D.L., Steer, S., & Hotopf, M. (2016). Symptoms of depression and anxiety predict treatment response and long-term physical health outcomes in rheumatoid arthritis: secondary analysis of a randomized controlled trial. *Rheumatology*, 55, 268-278.
 61. Scott, D.L., Pugner, K., Kaarela, K., Doyle, D.V., Woolf, A., Holmes, J., et al. (2000). The links between joint damage and disability in rheumatoid arthritis. *Rheumatology*, 39, 122-32.
 62. Strand, V., Scott, D.L., Emery, P., Kalden, J.R., Smolen, J.S., Cannon, G.W., et al. (2005). Physical function and health related quality of life: analysis of 2-year data from randomized, controlled studies of leflunomide, sulfasalazine or methotrexate in patients with active rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*, 32, 590-601.
 63. Keystone, E.C., Kavanaugh, A.F., Sharp, J.T., Tannenbaum, H., Hua, Y., Teoh, L.S., et al. (2005). Radiographic, clinical and functional outcomes of treatment with adalimumab (a human anti-tumor necrosis factor monoclonal antibody) in patients

- with active rheumatoid arthritis receiving concomitant methotrexate therapy: a randomized, placebo controlled, 52 week trial. *Arthritis Rheum*, 50, 1400-11.
64. Haussler, M.R. et al. (2010). The nuclear vitamin D receptor controls the expression of genes encoding factors which feed the "Fountain of Youth" to mediate healthful aging. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 121, 88-97.
 65. Arnson, Y., Amital, H., & Shoenfeld, Y. (2007). Vitamin D and autoimmunity: new etiological and therapeutic considerations. *Ann Rheum Dis*, 66, 1137-1142.
 66. Pludowski, P., Holick, M.F., Pilz, S., Wagner, C.L., Hollis, B.W., Grant, W.B., et al. (2013). Vitamin D effects on musculoskeletal health, immunity, autoimmunity, cardiovascular disease, cancer, fertility, pregnancy, dementia and mortality – review of recent evidence. *Autoimmun Rev*, 12, 976-989.
 67. Wecker, M., & Holick, M.F. (2013). Vitamin D-effects on skeletal and extraskeletal health and the need for supplementation. *Nutrients*, 5, 111-148.
 68. De Luca, H. (2004). Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am J Clin Nutr*, 80, 1689S-1696S.
 69. Andjelkovic, Z., Vojinovic, J., Pejnovic, N., Popovic, M., Dujic, A., Mitrovic, D., et al. (1999). Disease modifying and immunoregulatory effects of high oral dose 1 α (OH)D₃ in rheumatoid arthritis patients. *Clin Exp Rheumatol*, 17(4), 59-62.
 70. Antico, A., Tampoia, M., Tozzoli, R., & Bizzaro, N. (2012). Can supplementation with vitamin D reduce the risk of modify the course of autoimmune diseases? A systematic review of the literature. *Autoimmun Rev*, 12, 127-136.
 71. Adorini, L. (2002). 1,25-dihydroxyvitamin D₃ analogs as potential therapies in transplantation. *Curr Opin Investig Drugs*, 3, 1458-1463.
 72. De Luca, H.F. (1974). Vitamin D: the vitamin and the hormone. *Fed Proc*, 33, 2211-2219.
 73. Adams, J.S., & Hewison, M. (2010). Update in vitamin D. *J Clin Endocrinol Metab*, 95, 471-478.
 74. Mora, R., Iwata, M., & von Andrian, U.H. (2008). Vitamin effects on the immune system: vitamin A and D take central stage. *Nat Rev Immunol*, 8, 685-698.
 75. Cutolo, M., Pizzorni, C., & Sulli, A. (2011). Vitamin D endocrine system involvement in autoimmune rheumatic diseases. *Autoimmun Rev*, 11, 84-87.

-
76. Bjelakovic, G., Gluud, L.L., Nikolova, D., Whitfield, K., Wetterslev, J., Simmoneti, R.G., et al. (2011). Vitamin D supplementation for prevention of mortality in adults. *Cochrane Database Syst Rev*7:CD007470
 77. Margolis, R.N., & Christakos, S. (2010). The nuclear receptor superfamily of steroid hormones and vitamin D gene regulation. *Ann N Y Acad Sci*, 1192, 208-214.
 78. Lonard, D.M., Lanz, R.B., & O'Malley B.W. (2007). Nuclear receptor coregulators and human disease. *Endocr Rev*, 28, 575-587.
 79. Eduardo – Canosa, S., Fraga, R., Sigüeiro, R., Marco, M., Rochel, N., Moras, D., et al. (2010). Design and synthesis of active vitamin D analogs. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 121, 7-12.
 80. Norman, A.W. (2006). Vitamin D receptor: new assignments for an already busy receptor. *Endocrinology*, 147, 5542-5548.
 81. Nagpal, S., Na, S., & Rathnachalam, R. (2005). Noncalcemic actions of vitamin D receptor ligands. *Endocr Rev*, 26, 662-687.
 82. Carlberg, C., & Molnar, F. (2012). Current status of vitamin D signaling and its therapeutic applications. *Curr Topics Med Chem*, 12, 1-20.
 83. Huhtakangas, J.A., Olivera, C.J., Bishop, J.E., Zanelo, L.P., & Norman, C. (2004). The vitamin D receptor is present in caveolae enriched plasma membranes and binds $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{-vitamin D}_3$ in vivo and in vitro. *Mol Endocrinol*, 18, 2660-2671.
 84. Hossein-Nezhad, A., & Holick, M.F. (2012). Optimize dietary intake of vitamin D: an epigenetic perspective. *Curr Clin Nutr Metab Care*, 15, 567-579.
 85. Razin, L. (1998). CpG methylation, chromatin structure and gene silencing - a -three - way connection. *EMBO J*, 17, 4905-4908.
 86. Vojinovic, J., & Damjanov, N. (2011). HDAC inhibition in rheumatoid arthritis and juvenile idiopathic arthritis. *Mol Med*, 7, 397-403.
 87. Takeyama, K.I. & Kato, S. (2012). The vitamin D3 1 α hydroxylase gene and its regulation by active vitamin D3. *Biosci Biotechnol Biochem*, 75, 208-213.
 88. Bouillon, R., Okamura W.H., & Norman, A.W. (1995). Structure-function relationships in the vitamin D endocrine system. *Endocrine Rev*, 16, 200-257.

-
89. Larsson, P., Mattsson, L., Klareskog, L., & Johnsson, C. (1998). A vitamin D analogue (MC1288) has immunomodulatory properties and suppress collagen induced arthritis (CIA) without causing hypercalcaemia. *Clin Exp Immunol*, *114*, 277-283.
 90. Cantorna, M.T. (2000). 1,25 – Dihydroxycholecalciferol prevents and ameliorates symptoms of experimental murine inflammatory bowel disease. *J Nutr*, *130*, 2648-2652.
 91. Lemire, J.M. & Archer, D.C. (1991). 1,25- Dihydroxyvitamin D3 prevents the in vivo induction of murine experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Clin Invest*, *87*, 1103-1107.
 92. Cantorna, M.T., Hayes, C.E., & De Luca, H.F. (1996). 1,25-Dihydroxyvitamin D3 reversibly blocks the progression of relapsing encephalomyelitis, a model of multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, *93*, 7861-7864.
 93. Nataf, S., Garcion, E., & Darcy, F. (1996). 1,25-Dihydroxyvitamin D3 exerts regional effects in the central nervous system during experimental allergic encephalomyelitis. *J Neuropathol Exp Neurol*, *55*, 904-914.
 94. Casteels, K., Wear, M., Laureys, J., Valckx, D., Depovere, J., & Buillon, R. (1998). Prevention of autoimmune destruction of syngeneic islet grafts in spontaneously diabetic nonobese diabetic mice by a combination of a vitamin D3 analogue and cyclosporine. *Transplantation*, *65*, 1225-1232.
 95. Hein, G., & Oelzner, P. (2000). Vitamin D metabolites in rheumatoid arthritis: findings-hypothesis-consequences. *Z Rheumatol*, *59*, 28-32.
 96. Yamauchi, Y., Tsunematsu, T., Konda S, Hoshino, T., Itokawa, Y., & Hoshizaki, H. (1989). A double blind trial of alfalcidol on patients with rheumatoid arthritis (RA). *Ryumachi*, *29*, 11-24.
 97. Vojinovic, J., Simic Pasalic, K., Sefik Bukilica, M, Zivanovic Radnic, T., & Damjanov, N. (2012). Alphacalcidol (D hormone analog) modulate inflammatory cytokine production without conversion to calcitriol. *Ann Rheum Dis*, *1*(Suppl3), 672.
 98. Van Etten, E., & Mathieu, C. (2005). Immunoregulation by 1,25-dihydroxy vitamin D3: basic concepts. *J Steroid Biochem Mol Biol*, *97*, 93-101.
 99. Adorini, L., Girratana, N., & Penna, G. (2004). Pharmacological induction of tolerogenic dendritic cells and regulatory T cells. *Semin Immunol*, *16*, 1271-1234.

100. Adams, J.S., & Hewison, M. (2008). Unexpected actions of vitamin D: new perspectives on the regulation of innate and adaptive immunity. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*, 4, 80-90.
101. Liu, P.T., Stenger, S., Li, H., Wenzel, L., Tan, B.H., Krutzik, S.R., et al. (2006). Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. *Science*, 311, 1770-1773.
102. Kirshnan, A.V., & Feldman, D. (2010). Molecular pathways mediating the antiinflammatory effects of calcitriol: implications for prostate cancer chemoprevention and treatment. *Endocr Relat Cancer*, 17(1), R19-R38.
103. Daniel, C., Sartory, N.A., Zahn N., Radeke., H.H., & Stein, J.M. (2008). Immune modulatory treatment of trinitrobenzene sulfonic acid colitis with calcitriol is associated with change of a T helper Th1/Th17 to a Th2 and regulatory T cell profile. *J Pharmacol Exp Ther*, 324, 23-33.
104. Cunningham, J., & Zahnder, D. (2011). New Vitamin D analogs and changing therapeutic paradigms. *Kidney International*, 79, 702-707.
105. Richey, F., Schacht, E., Bryere, O., Ethgen, O., Gourlay, M., & Reginster, J.Y. (2005). Vitamin D analogs versus plain vitamin D in preventing bone loss and osteoporosis related fractures: a comparative meta analysis. *Calcif Tissue Int*, 76, 176-186.
106. Ringe, J.D., & Schacht, E. (2004). Prevention and therapy of osteoporosis: The respective roles of plain vitamin D and alfakalcidol. *Rheumatol Int*, 24, 189-97.
107. Ringe., J.D., Dorst, A., Faber, H., Schacht, E., & Raffe, W. (2004). Superiority of alfakalcidol over plain vitamin D in the treatment of glucocorticoid induced osteoporosis. *Rheumatol Int*, 24, 63-70.
108. Dukas, L.C., & Schacht, E. (2005). Low creatinin clearance, glucocorticoid treatment, Rheumatoid arthritis-different etiologies for low D-hormone syndrome and its associated increased risk for falls. *J Rheumatol*, 32 (Suppl 76), 44-46.
109. Scharla., S.H., Schacht, E., & Bawey, S. (2003). Pleiotropic effects of alfakalcidol in elderly patients with rheumatoid arthritis, *Arthritis-rheuma*, 23, 268-274.
110. Sokka, T. (2005). Rheumatoid arthritis data bases in Finland. *Clin Exp Rheumatol*, (Suppl 39), S201-4.

-
111. Merlino, L.A., Curtis, J., Mikuls, T.R., Cerhan, J., Criswell, L.A., & Saag, K.G.(2004). Vitamin D intake is inversely associated with rheumatoid arthritis: results from the Iowa Women's Health Study. *Arthritis Rheum*,50,72–7.
 112. Oelzner, P., Müller, A., Deschner, F., Hüller, M., Abendroth, K., Stein, G., et al. (1998). Relationship between disease activity and serum levels of vitamin D metabolites and PTH in rheumatoid arthritis. *Calcif Tissue Int*,62,193–8.
 113. Cutolo, M., Otsa, K., Laas, K., Ypris, M., Lehime, R., Secchi, M.E., et al. (2006). Circannual vitamin D serum levels and disease activity in rheumatoid arthritis: Northern versus Southern Europe. *Clin Exp Rheumatol*,24,702–4.
 114. Cutolo, M., Pizzorni, C., & Sulli, A. (2011). Vitamin D endocrine system involvement in autoimmune rheumatic diseases. *Autoimmun Rev*,11,84-7.
 115. Kimura, Y.et al.(1991). Pharmacokinetics of active vitamins D₃, 1 alpha-hydroxyvitamin D₃ and 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D₃ in patients on chronic hemodialysis. *Clin Nephrol*, 35, 72–77.
 116. Brandi, L.(2002). Pharmacokinetics of 1,25(OH)D₃ and 1 α (OH)D in normal and uraemic men. *Nephrol Dial Transplant*,17, 827-842.
 117. Seino, Y., Tanaka, H., Yamaoka, K., & Yabuuchi, H.(1987). Circulating 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D levels after a single dose of 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D₃ or 1 alpha-hydroxyvitamin D₃ in normal men. *Bone Miner*,2, 479–485.
 118. Arnett, F.C., Edworthy, S.M., Bloch, D.A., Mc Shane, D.J., Fries, J.F., Cooper, N.S., et al.(1988). The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*,31(3),315-24.
 119. Smolen, J.S., Breedveld, F.C., Schiff, M.H., Kalden, J.R., Emery, P., Eberl, G., et al. (2003). A simplified disease activity index for rheumatoid arthritis for use in clinical practice. *Rheumatology (Oxford)*,42, 244-257.
 120. Gossec, L., Paternotte, S., Aanerud, G.J., Balanaescu, A., Boumpas, D.T., Carmona, L., et al. (2011). Finalisation and validation of the rheumatoid arthritis impact of disease score, a patient-derived composite measure of impact of rheumatoid arthritis: a EULAR initiative. *Ann Rheum Dis*, 70(6),935-42.
 121. Fransen, J.&van Riel, P.L. (2009). The Disease Activity Score and the EULAR response criteria. *Rheum Dis Clin North Am*, 35 (4),745-viii.

-
122. Webster, K., Odom, D.F., Peterman, A., Lent, L., & Cella, D.(1999). The Functional Assessment of Chronic Illness Therapy (FACIT) measurement system: Validation of version 4 of the core questionnaire. *Quality of Life Research*,8(7), 604.
 123. Cella, D., Yount, S., Sorensen, M., Chartash, E., Sengupta, N., & Grober, J. (2005). Validation of the functional assessment of chronic illness therapy fatigue scale relative to other instrumentation in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*,32,811-19.
 124. Bruce, B., & Fries, J.F.(2003). The Stanford health assessment questionnaire (HAQ): a review, issues, progress and documentation. *J Rheumatol*, 30(I),167-78.
 125. Wolfe, F., Pincus, T., & O'Dell, J.(2001). Evaluation and documentation of rheumatoid arthritis disease status in the clinic: which variables best predict change in therapy. *J Rheumatol*,28, 1712-1717.
 126. Revecki, D.A.,&Kline Leidy, N. (1998). *Questionnaire scaling: models and issues*. In Staquet, M.J., Haus, R.D., Fayers, P.M. ed. *Quality of life assessment in clinical trials, methods and practice*. (pp.157-68).New York: Oxford University Press.
 127. Ware, J.E., Kosinski,M.,& Dawey,J. (2001). How to score Version 2 of the SF-36 Health Survey. Lincoln, RI: QualityMetric Inc.
 128. Shumway-Cook, A., Brauer, S., & Woollacott, M.(2000). Predicting the probability for falls in community dwelling older adults using timed up and go test. *Physical Therapy*,80 (9), 896-903.
 129. Podsiadlo,D.,&Richardson, S. (1991). The time "Up & Go". A test of Basic Functional Mobility for Frail Elderly Persons. *Journal of the American Geriatrics Society*,39(2),142-48.
 130. Ferrucci, L.(2000). Characteristics of non disabled older persons who perform poorly in objective tests of lower extremity function. *J Am Geriatr Soc*,48,1102-1110.
 131. Harada, D.N., Chin, V., & Stewart, A.L. (1999). Mobility - related function in older adults: Assessment with a 6 - minutes walk test. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*,80(7),837-841.
 132. American Thoracic Society Statement. Guidelines for six-minutes walk test.(2002).*Am J Respir Crit Care Med*,166,111- 117.
 133. <http://www.iscd.org/official-positions/2013-iscd-official-positions-adult/>

134. Zold, E., Szodoray, P., Nakken, B., Barath, S., Kappelmayer, J., Csathy, L. et al. (2011). Alfakalcidol treatment restores derailed immune - regulation in patients with undifferentiated connective tissue disease. *Autoimmunity reviews*, *10*,155-162.
135. Gaal, J., Lakos, G., Szodoray, P., Kiss, J., Horvath, I., Horkay, E., et al.(2009). Immunological and clinical Effects of Alphacalcidol in Patients with Psoriatic Arthropathy:Results of an Open Follow up Pilot Study. *Acta Derm Venereol*, *89*,140-144.
136. Fransen, J.,& van Riel, P.L.C.M. (2005).The Disease Activity Score and the EULAR response criteria. *Clin Exp Rheumatol* (23):S93-S99.
137. Kirwan, J.R., & Buttgerit, F. (2012). Symptom control with low-dose glucocorticoid therapy for rheumatoid arthritis. *Rheumatology*, *51*,iv14-iv20.
138. Vojinović, J. (2014). Vitamin D receptor agonists' anti-inflammatory properties. *Annals of the NewYork Academy of Sciences*, *1317* (1), 47-56.
139. van der Goes, M.C., Jacobs, J.W.G., Boers, M., Andrews, T., Blom-Baker, M.A.M., Buttgerit, F., et al. (2010). Monitoring adverse events of low-dose glucocorticoid therapy:EULAR recommendations for clinical trials and daily practice. *Ann Rheum Dis* published online August 6, 2010. doi:10.1136./ard2009.124958
140. Grigor, C., Capell, H., Stirling, A., Mc Mahon, A.D., Lock, P., Vallance, R., et al. (2004). Effect of treatment strategy of tight controlfor rheumatoid arthritis (the TICORA study):a single blind randomised controlled trial. *Lancet*, *364*,263-9.
141. Radner, H., Smolen, J.S., & Aletaha, D. (2014). Remission in rheumatoid arthritis: benefits over low disease activity in patient-reported outcomes and costs. *Arthritis research&therapy*, *16*,R56.
142. Lapčević, M., Pervanov, D.,&Đorđević, S. (2010). Procena kvaliteta života obolelih od hroničnih reumatskih oboljenja. *Opšta medicina*, *16*(3-4),113-123.
143. Pollard, L., Choy, E.H.,& Scott, D.L. (2005). The consequences of rheumatoid arthritis:quality of life in the individual patient. *Clin Exp Rheum*, *23*(Suppl39),S43-S52.
144. Boers, M., Verhoeven, M.C., Markusse, H.M.,van der Laar, M.A., Westhovens, R., van Denderen, J.C., et al. (1997). Randomised comparison of combined step-down prednisolone, methotrexate and sulphosalazine with sulphosalazine alone in rheumatoid arthritis. *Lancet*, *350*,309-18.

-
145. Kirwan, J.R.(1995). Arthritis and rheumatism council low dose glucocorticoid study group. The effect of glucocorticoid on joint destruction in rheumatoid arthritis. *N Engl J Med*, 333,142-6.
 146. Strand, V., Sharp, V., Koenig, A.S., Park, G., Shi, Y., Wang, B., et al. (2012). Comparison of health-related quality of life in rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis and psoriasis and effectof etanercept treatment. *Ann Rheum Dis*,71,1143-1150.doi:10.1136/annrheumdis-2011-2003.
 147. Smolen, J.S., Beaulieu, A., Rubbert-Roth, A., Ramos-Remus, C., Rowensky, J., Alecock, E., et al. (2008). Effect of interleukin-6 receptor inhibition with tocilizumab in patients with rheumatoid arthritis (OPTION study):a double-blind, placebo-controlled, randomized trial. *Lancet*,371,987-997.
 148. Kiraly, S.J., Kiraly, M.A., Hawe, R.D., & Makhani, N. (2006). Vitamin D as neuroactive substance:review. *Scientific World J*,6,125-139.
 149. Kalueff, A.V., & Tuohimaa, P. (2007). Neurosteroid hormone vitaminD and its utility in clinical nutrition. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, (10),12-19.
 150. Humble,M.B. (2010). Vitamin D, light and mental health. *Biology*,101,142-149.
 151. Strand, V., Cohen, S., Crawford, B., Smolen, J.S., & Scott, D.L. (2004). Patient-reported outcomes better discriminate active treatment from placebo in randomized controlled trials in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*,43,640-7.
 152. Studenic, P., Stamm, T., Smolen, J.S., & Aletaha,D.(2016). Reliability of patient-reported outcomes in rheumatoid arthritis patients:an observational prospective cohort. *Rheumatology*,55,41-48.
 153. Hoffmann, M.R., Senior, P.A., & Mager, R.D.(2015). Vitamin D supplementation and health-related quality of life: a systematic review of the literature. *J Acad Nutr Diet*,115,406-418.
 154. Hagino, H., Takano, T., Fukunaga, M., Shiraki, M., Nakamura, T., & Matsumoto, T. (2013). Eldecalcitol reduces the risk of severe vertebral fractures and improves the health-related quality of life in patients with osteoporosis. *J Bone Miner Metab*,31,183-189.

155. Lips, P., Graafmans, W.C., Ooms, M.E., Bezemer, P.D., & Bouter, L.M.(1996). Vitamin D supplementation and fracture incidence in elderly persons. A randomized placebo-controlled clinical trial. *Ann Intern Med*,124,400-6.
156. Dukas, L., Bischoff, H.A., Lindpaintner, L.S., et al. (2004). Alfacalcidol reduces the number of fallers in a community-dwelling elderly population with a minimum calcium intake of more than 500mg daily. *J AmGeriatr Soc*,52,230-6.
157. Janssen, H.C., Samson, M.M.& Verhaar, H.J. (2002). Vitamin D deficiency, muscle function and falls in elderly people. *Am J ClinNutr*,75,611-5.
158. Cutolo, M. (2008). Vitamin D or hormone D deficiency in autoimmune rheumatic diseases, including undifferentiated connective tissue disease. *Arthritis Research & Therapy*,10(6),123-4.
159. Maggi, M., Crescioli, C, Morelli, A, Colli, E., &Adorini. (2006). Preclinical evidence and clinical translation of benign prostatic hyperplasia treatment by vitamin D receptor agonist BXL-628(Elocalcitol). *J Endocrinol Invest*, 29,665-674.
160. Schoenfeld, Y., Gerli, R., Doria, A., Matsumura, E., Cerinic, M.M., Ronda, N., et al. (2005). Accelerated atherosclerosis in autoimmune rheumatic diseases. *Circulation*,112,3337-47.
161. Symmons, D.P.,& Gabriel,S.E. (2011). Epidemiology of CVD in rheumatic disease, with a focus on RA and SLE. *Nat Rev Rheumatol*, 7,399-408.
162. Watanabe, J., Charles-Schoeman, C.,Miao, Y., Elashoff, D., Lee, Y.Y., Katselis, G., et al. (2012). Proteomic profiling following immunoaffinity capture of high-density lipoprotein:association of acute-phase proteins and complement factors with proinflammatory high-density lipoprotein in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*,64,1828-37.
163. Duffy, D.,& Rader, D.J. (2009). Update on strategies to increase HDL quantity and function. *Nat RevCardiol*, 6,455-63.
164. Georgiadis, A.N., Papavasilou, E.C., Lourida, E.S., Alamanos, Y., Kostar, C., Tselepis, A.D.,& Drosos, A. A. (2006). Atherogenic lipid profile is a feature characteristic of patients with early rheumatoid arthritis:effect of early treatment – a prospective controlled study. *Arthritis Reasearch&Therapy*,8,R82.

-
165. Lee, J.H., O Keefe, J.H., Bell, D., Hensrood, D.D., & Holick, M. (2008). Vitamin D Deficiency. An Important, Common, Easily Treatable Cardiovascular Risk Factor? *JACC*,24(52), 1949-56.
 166. Boers, M., Nurmohamed, M.T., Doelman, C.J., Lard, L.R., Verhoeven, A.C., Voskuyl, A.E., et al. (2003). Influence of glucocorticoid and disease activity on total and high density lipoprotein cholesterol in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*,62,842-845.
 167. Boyer, J-F., Bongard, V., Cantagrel, A., Jamard, B., Gottenberg, J-E., Mariette, X., et al.(2012). Link Between Traditional Cardiovascular Risk Factors and Inflammation in Patients With Early Arthritis: Results From a French Multicenter Cohort. *Arthritis Care & Research*,64(6),872-880.
 168. Rafacho, A., Ortsäter, H., Nadal, A., & Quesada, I. (2014). Glucocorticoid treatment and endocrine pancreas function:implications for glucose homeostasis, insulin resistance and diabetes. *Journal of Endocrinology*,223,R49-R62.
 169. Origuchi, T., Yamaguchi, S., Inoue, A., Kazaura,Y., Matsuo, N., Abiru, N., et al.(2011).Increased incidence of of pre-diabetes mellitus at a departmentof rheumatology: a retrospective study *Modern Rheumatology*,21,495-499(doi:10.3109/s10165-011-0433-8)
 170. Charles, P., Eliot, M.J., Davis, D., Potter, A., Kalden, J.R., Antoni, C., et al. (1999). Regulation of Cytokines, Cytokine Inhibitors and Acute-Phase proteins Following anti-TNF α Therapy in Rheumatoid Arthritis. *J Immunol*,163,1521-1528.
 171. Kitchen, J., & Kane, D. (2015). Greyscale and power Doppler ultrasonographic evaluation of normal synovial joints:correlation with pro- and anti-inflammatory cytokines and angiogenic factors. *Rheumatology*,54,458-452.
 172. Alex, P., Szodoray, P., Knowlton, N., Dozomorov, I.M., Turner, I.M., Frank, M.B., et al. (2007). Multiplex serum cytokine monitoring as a prognostic tool in reumatoid arthritis. *ClinExp Rheumatol*,25(4),584-92.
 173. Jacobs, R., Pawlak, C.R., Mikeska, E., Meyer-Olson, D., Martin, M., Heijnen C.J., et al. (2001). Systemic lupus erythematoses and rheumatoid arhritis differ from healthy controls in their cytokine pattern after stress exposure. *Rheumatology*, 40,868-875.

-
174. Huckins, D., Felson, D.T., & Holick, M. (1990). Treatment of psoriatic arthritis with oral 1,25 dihydroxyvitamin D₃: a pilot study. *Arthritis Rheum*, 33, 1723-1727.
 175. Orimo, H., Ohta, H., Shiraki, M., & Nakamura, T. (2015). QOL improvement of osteoporotic patients treated with alendronate alone or alendronate plus alfacalcidol therapy: results of the Japanese osteoporosis intervention trial (JOINT)02, THUP279 ECCEO2015
 176. van Leeuwen, J.P., van den Bemd, G.J., van Driel, M., Burman, C.J., & Pols, H.A. (2001). 24,25 dihydroxyvitamin D₃ and bone metabolism. *Steroids*, 66, 375-80.
 177. Hofbauer, L.C., Dunstan, C.R., Spelsberg, T.C., Riggs, B.L., & Khosla, S. (1998). Osteoprotegerin production by human osteoblast lineage cells is stimulated by vitamin D, bone morphogenic protein 2, and cytokines. *Biochem Biophys Res Commun*, 250, 776-81.
 178. Chen, J.T., Shiraki, M., Hasumi, K., et al. (1997). 1- α -Hydroxy vitamin D₃ treatment decreases bone turnover and modulates calcium-regulating hormones in early postmenopausal women. *Bone*, 20, 557-62.
 179. Spector, T.D., Hall, G.M., McCloskey, E.V., & Kanis, J.A. (1993). Risk of vertebral fracture in women with rheumatoid arthritis. *BMJ*, 306, 558.
 180. Hans, D., Goertzen, A.L., Krieg, M.A., & Leslie, W.D. (2011). Bone microarchitecture assessment by TBS predicts osteoporotic fractures independent of bone density: Manitoba study. *J Bone Miner Res*, 26 (11), 2762-9.
 181. Timbie, J.W., Hayward, R.A., & Vijan, S. (2010). Validation in the net benefit of aggressive cardiovascular risk factor control across the US population of patients with diabetes mellitus. *Arch Intern Med*, 170, 1037-44.
 182. Strand, V., & Singh, J.A. (2010). Newer biological agents in rheumatoid arthritis: impact on health-related quality of life and productivity. *Drugs*, 70, 121-45.

BIOGRAFIJA AUTORA

Katarina Simić Pašalić je rođena 18. januara 1965. u Gornjem Milanovcu.

Srednje usmereno obrazovanje je završila 1984. kao nosilac diplome „Vuk Karadžić“ i diplome „Mihailo Petrović-Alas“.

Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu je završila 23. aprila 1990, sa prosečnom ocenom 8,58.

Specijalistički ispit iz interne medicine je položila 8. oktobra 1998, sa ocenom odličan.

Subspecijalistički ispit je položila decembra 2000, sa ocenom 10.

Rad uže specijalizacije pod naslovom „Kliničke i laboratorijske karakteristike bolesnika sa nediferentovanom sistemskom bolešću vezivnog tkiva,“ je odbranila 18. jula 2002.

Zaposlena je kao klinički lekar i šef Odseka za osteodenzitometriju u Institutu za reumatologiju u Beogradu.

Koautor je u 9 radova koji su objavljeni u istaknutim i prestižnim međunarodnim časopisima, kao i više saopštenja u časopisima međunarodnog značaja. Autor je poglavlja u monografiji od nacionalnog značaja i ima objavljeno više desetina radova u časopisima od nacionalnog značaja.

IZJAVE AUTORA

ИЗЈАВО АУТОРСТВУ

Изјављујем да је докторска дисертација, под насловом

**ЕФИКАСНОСТ И БЕЗБЕДНОСТ ПРИМЕНЕ ВИСОКИХ ДОЗА
АЛФАКАЛЦИДОЛА У ЛЕЧЕЊУ АКТИВНОГ РЕУМАТОИДНОГ
АРТРИТИСА**

која је одбрањена на Медицинском факултету Универзитета у Нишу:

- Резултат сопственог истраживачког рада;
- Да ову дисертацију, ни у целини, нити у деловима, нисам пријављивао/ла на другим факултетима, нити универзитетима;
- да нисам повредио/ла ауторска права, нити злоупотребио/ла интелектуалну својину других лица.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци, који су у вези са ауторством и добијањем академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада, и то у каталогу Библиотеке, Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Нишу, као и у публикацијама Универзитета у Нишу.

У Нишу, _____.

Потпис аутора дисертације:



Прим. др Катарина Симић - Пашалић

**ИЗЈАВО И СТОВЕТНОСТИ ШТАМПАНОГИ ЕЛЕКТРОНСКОГ
ОБЛИКА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Наслов дисертације:

**ЕФИКАСНОСТ И БЕЗБЕДНОСТ ПРИМЕНЕ ВИСОКИХ ДОЗА
АЛФАКАЛЦИДОЛА У ЛЕЧЕЊУ АКТИВНОГ РЕУМАТОИДНОГ
АРТРИТИСА**

Изјављујем да је електронски облик моје докторске дисертације, коју сам предао/ла за уношење у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу, истоветан штампаном облику.

У Нишу, _____.



Прим. др Катарина Симић - Пашалић

ИЗЈАВО КОРИШЋЕЊУ

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „НиколаТесла“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу унесе моју докторску дисертацију, под насловом:

ЕФИКАСНОСТ И БЕЗБЕДНОСТ ПРИМЕНЕ ВИСОКИХ ДОЗА АЛФАКАЛЦИДОЛА У ЛЕЧЕЊУ АКТИВНОГ РЕУМАТОИДНОГ АРТРИТИСА

Дисертацију са свим прилозима предала сам у електронском облику, погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију, унету у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу, могу користити сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons), за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде (CC BY-NC-ND)
4. Ауторство – некомерцијално – дели типодистим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прераде (CC BY-ND)
6. Ауторство – дели типодистим условима (CC BY-SA)

У Нишу, _____



Прим. др Катарина Симић - Пашалић