



UNIVERZITET U NIŠU
MEDICINSKI FAKULTET



Dragana S. Lazarević

**UTICAJ POLIMORFIZMA FokI GENA ZA VITAMIN D
RECEPTOR I TNF α -308 GENA ZA FAKTOR NEKROZE
TUMORA NA TEŽINU I ISHOD BOLESTI KOD DECE
SA JUVENILNIM IDIOPATSKIM ARTRITISOM**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Niš, 2016.



UNIVERSITY OF NIŠ
FACULTY OF MEDICINE



Dragana S. Lazarević

**INFLUENCE OF VITAMIN D RECEPTOR FokI AND TUMOR
NECROSIS FACTOR TNF α -308 GENE POLYMORPHISM
ON SEVERITY AND LONG TERM OUTCOME
IN JUVENILE IDIOPATHIC ARTHRITIS**

DOCTORAL DISSERTATION

Niš, 2016.

ZAHVALNICA

Posebnu zahvalnost dugujem svojoj mentorki prof. dr Jeleni Vojinović na stalnoj i stručnoj pomoći koja je nesebično uložila svoje znanje, stručnost i iskustvo dajući dragocene sugestije i komentare i svojim primerom nesvakidašnje energije mi je pomogla u realizaciji dela svojih profesionalnih ambicija.

Zahvaljujem prim. dr sci med. Gordani Sušić sa Instituta za reumatologiju u Beogradu na predusretljivosti i saradnji tokom izrade doktorata.

Zahvaljujem prof. dr Tatjani Jevtović-Stoimenov sa Medicinskog fakulteta u Nišu na stručnoj pomoći i nesebičnoj saradnji tokom izvođenja molekularnog dela istraživanja.

Veliku zahvalnost dugujem doc. dr Jeleni Bašić sa Medicinskog fakulteta u Nišu, što mi je pružila nesebičnu pomoć, uvela u polje medicinske genetike i pomogla u izvođenju genetskog dela istraživanja.

Prof. dr Srđanu Pašiću sa Medicinskog fakulteta u Beogradu dugujem zahvalnost na kolegijalnoj podršci tokom izrade doktorata.

Zahvaljujem se profesorima i kolegama iz Naučnoistraživačkog centra za biomedicinu, Medicinskog fakulteta u Nišu, bez čije pomoći ne bih mogla da ostvarim osnovnu zamisao ovog istraživanja.

Ova doktorska disertacija je urađena u okviru projekta Ministarstva nauke Republike Srbije "Preventivni, terapijski i etički pristup prekliničkim i kliničkim istraživanjima gena i modulatora redoks ćelijske signalizacije u imunskom, inflamatornom i proliferativnom odgovoru ćelije", broj 41018, čiji je rukovodilac prof. dr Dušica Pavlović.

Dr Dragana Lazarević

Podaci o doktorskoj disertaciji

| | |
|---|--|
| Mentor | Prof. dr Jelena Vojinović, redovni profesor, Medicinski fakultet, Univerziteta u Nišu |
| Naslov: | Uticaj polimorfizma FokI gena za vitamin D receptor i TNF- α -308 gena za faktor nekroze tumora na težinu i ishod bolesti kod dece sa juvenilnim idiopatskim artritisom |
| Rezime: | <p>Cilj istraživanja bio je ispitivanje uticaja polimorfizma FokI gena za vitamin D receptor (VDR) i TNF-α -308 gena za faktor nekroze tumora (TNF-α) na dugotrajni ishod lečenja biološkim lekovima kod dece sa juvenilnim idiopatskim artritisom (JIA). Retrospektivno su analizirani podaci JIA pacijenata koji se kontinuirano prate kroz registar biološke terapije tokom 6 godina praćenja. Svim pacijentima uzorkovana je krv za izolaciju dezoksiribonukleinske kiseline (DNK) i genetsko testiranje na prisustvo TNF-α (G-308A) i FokI VDR polimorfizma. Aktivnost bolesti i remisija su definisani pomoću ACR Pedi kriterijuma. Rezultati istraživanja su pokazali da između različitih JIA podtipova nije postojala statistički značajna razlika u distribuciji TNF-α-308 i FokI VDR genetskih polimorfizma. Pacijenti sa -308 GG (p=0,004) i GA (p=0,026) genotipom, za TNF-α-308 polimorfizam, su češće postizali dobar klinički odgovor u odnosu na one sa -308 AA genotipom nakon 36 meseci praćenja. Pacijenti sa FF (p=0,006) i Ff (p=0,036) genotipom, za FokI VDR polimorfizam, su nakon primene biološke terapije imali nižu aktivnost bolesti i češće su postizali povoljan klinički odgovor u poređenju sa nosiocima ff genotipa na kraju opservacionog perioda. Prisustvo -308 TNF-α polimorfizma nije imao statistički značajan uticaj na postizanje remisije, za razliku od FokI polimorfizma koji je imao statistički značajnog uticaja na mogućnost postizanja remisije tokom šestogodišnjeg perioda praćenja. Pacijenti sa homozigotnim prisustvom ff genotipa statistički značajno nisu postizali pozitivni terapijski odgovor na primenu bioloških lekova dok su pacijenti sa heterozigotnim prisustvom Ff genotipa statistički češće postizali remisiju tokom šestogodišnjeg praćenja ($\chi^2=6,52$, p=0,038). Nosioци TNF-α-308 AA genotipa i VDR ff genotipa imaju manju verovatnoću za postizanje maksimalnog terapijskog odgovora čak i uz primenu biološke terapije.</p> |
| Naučna oblast: | Medicina |
| Naučna disciplina: | pedijatrija / reumatologija |
| Ključne reči: | Juvenilni idiopatski artritis, TNF- α -308 polimorfizam gena za TNF, FokI polimorfizam gena za vitamin D receptor, ishod bolesti |
| UDK: | 616. 72-002-053. 2-08 (043. 3), 575. 22 (043. 3) |
| CERIF klasifikacija: | B660 Pedijatrija, B220 Genetika, citogenetika, B580 Skelet, mišići, reumatologija, lokomocija |
| Tip licence Kreativne zajednice: | CC BY-NC-ND |

Data on Doctoral Dissertation

| | |
|---------------------------------------|---|
| Doctoral Supervisor | Prof. Jelena Vojinović, MD, PhD, full professor, Faculty of Medicine, University of Niš |
| Title: | Influence of Vitamin D Receptor FokI and Tumor Necrosis Factor TNF α -308 Gene Polymorphism on Severity And Long Term Outcome in Juvenile Idiopathic Arthritis |
| Abstract: | <p>Our main objective was to investigate possible influence of tumor necrosis factor alpha (TNF-α-308) and FokI Vitamin D receptor (VDR) gene polymorphism on long term disease outcome in JIA patients treated with biologics. We have retrospectively analyzed data from our registry of JIA patients treated with biologics in whom 6 years follow-up data could be obtained and genomic deoxyribonucleic acid (DNA) extracted to test TNF-α-308 promoter and FokI VDR polymorphism. Disease activity was evaluated by ACR Pedi core set criteria for inactive disease. Among 78 JIA patients was not significant distribution difference of TNF-α-308 and FokI VDR gene polymorphism among different JIA subtypes. Patients with -308 GG (p=0,004) and GA (p=0,026) genotype achieved clinical response significantly more frequently than those with the -308 AA genotype after 36 month of follow up period. Patients with FF (p=0,006) and Ff (p=0,036) genotypes had a reduction of disease activity and more frequently reached clinical response to biologics with respect to the ff genotype at the end of the observational period. There was no influence of distribution of the -308 TNF-α on achieving remission, but there was different distribution of FokI polymorphism on possibility to achieve remission at the end of the observational period. Patients resistant to biologics had significantly more frequent ff genotype, while those achieved remission had significantly more frequent Ff genotype ($\chi^2=6,52$, p=0,038). JIA patients carrying TNF-α-308 AA genotype and those with VDR ff genotype despite biological treatment, have lesser chance to achieve remission.</p> |
| Scientific Field: | Medicine |
| Scientific Discipline: | pediatrics / reumatology |
| Keywords: | juvenile idiopathic arthritis, TNF- α -308 polymorphism, FokI VDR polymorphism, disease outcome |
| UDC: | 616. 72-002-053. 2-08 (043. 3), 575. 22 (043. 3) |
| CERIF Classification: | B660 Pediatrics, B220 Genetics, cytogenetics, B580 Skeleton, muscle system, rheumatology locomotion |
| Creative Commons Licence Type: | CC BY-NC-ND |

LISTA SKRAĆENICA

| | |
|--------------------------|--|
| 1,25-[OH] ₂ D | – 1,25-dihidroksivitamin D |
| 25-[OH]D | – 25-hidroksivitamin D |
| A | – Adenin |
| AA | – Aktivni artritis |
| ACR | – American College of Rheumatology |
| ACR PEDI | – American College of Rheumatology Pediatric response criteria |
| ANA | – Antinuklearna antitela |
| Anti-CCP antitela | – Antitela na ciklični citrulizovni peptid |
| C | – Citozin |
| CHAQ | – Childhood Health Assesment Questionnaire |
| CRP | – C-reaktivni protein |
| DAS 28 | – Disease activity score |
| DNK | – Dezoksiribonukleinska kiselina |
| ERA | – Artritis sa entezitisom |
| EULAR | – The European League Against Rheumatism |
| FDA | – Food and Drug Administration |
| HLA | – Humani leukocitni antigeni |
| IFN- γ | – Interferon- γ |
| Ig | – Imunoglobulini |
| IL 17 | – Interleukin 17 |
| IL1 | – Interleukin 1 |
| IL10 | – Interleukin 10 |
| IL18 | – Interleukin 18 |
| IL2 | – Interleukin 2 |
| IL4 | – Interleukin 4 |
| IL5 | – Interleukin 5 |
| IL6 | – Interleukin 6 |
| ILAR | – Internacionalna liga za borbu protiv reumatizma |
| JADAS | – Juvenile Arthritis Disease Activity Score |

| | |
|---------------|---|
| JIA | – Juvenilni idiopatski artritis |
| JRA | – Juvenilni reumatoidni artritis |
| LMB | – Lekovi koji modifikuju tok bolesti |
| LOM | – Ograničena pokretljivost zglobova |
| MHC | – Glavni histokompatibilni kompleks |
| MMP | – Matriks metaloproteinaze |
| MTX | – Metotreksat |
| NK | – Čelije prirodne ubice |
| NMR | – Nuklearna magnetna rezonanca |
| NSAIL | – Nesteroidni antiinflamatorni lekovi |
| PRES | – Pediatric Rheumatology International Trial Organisation |
| RA | – Reumatoidni artritis |
| RF | – Reumatoidni faktor |
| RXR | – Retinoidni X receptor |
| SE | – Sedimentacija eritrocita |
| SLE | – Sistemski lupus eritematosus |
| SNP | – Polimorfizam jednog nukleotida |
| SUN | – Standardization of Uveitis Nomenclature |
| T | – Timin |
| TACE | – TNF- α konvertujući enzim |
| TFIIB | – Bazalni transkripcioni faktori |
| Th1 | – T pomoćnički limfociti tip 1 |
| Th17 | – T pomoćnički limfociti tip 17 |
| TNF R | – TNF receptor |
| TNF- α | – Faktor nekroze tumora |
| Treg | – T regulatorni limfociti |
| VAS | – Vizuelna analogna skala |
| VDR | – Vitamin D receptor |
| VDRE | – Specifični region genoma za vitamin D |

SADRŽAJ

| | | |
|------------|--|-----------|
| I | UVOD..... | 1 |
| 1.1. | Definicija juvenilnog idiopatskog artritisa | 1 |
| 1.2. | Etiopatogeneza JIA | 1 |
| 1.2.1. | Genetska heterogenost JIA | 2 |
| 1.2.2. | Imunopatogenetska heterogenost JIA | 3 |
| 1.3. | Značaj genskog polimorfizma u imuno-patogenezi JIA | 5 |
| 1.3.1. | Polimorfizam gena za faktor nekroze tumora (TNF- α) | 5 |
| 1.3.2. | Polimorfizam gena za vitamin D receptor (VDR) | 7 |
| 1.4. | Klasifikacija juvenilnog idiopatskog artritisa | 10 |
| 1.4.1. | Sistemska JIA | 10 |
| 1.4.2. | Oligoartikularni JIA (perzistentni i prošireni) | 12 |
| 1.4.3. | Poliartikularni JIA (RF pozitivan i RF negativan) | 13 |
| 1.4.4. | Artritis sa entezitisom (ERA) | 14 |
| 1.4.5. | Psorijazni JIA..... | 14 |
| 1.4.6. | Nediferentovani artritis | 15 |
| 1.4.7. | Uveitis u JIA | 15 |
| 1.5. | Dijagnostička i laboratorijska obrada u JIA | 15 |
| 1.5.1. | Laboratorijska obrada | 16 |
| 1.5.2. | Vizuelizacione metode u dijagnostici JIA | 17 |
| 1.6. | Algoritam lečenja JIA | 18 |
| 1.6.1. | Biološki lekovi u lečenju JIA | 21 |
| 1.7. | Procena aktivnosti bolesti, terapijske efikasnosti i kriterijumi kliničke remisije | 24 |
| 1.8. | Prognoza JIA..... | 26 |
| II | CILJEVI ISTRAŽIVANJA | 28 |
| III | RADNE HIPOTEZE | 29 |
| IV | MATERIJAL I METODE ISTRAŽIVANJA | 30 |
| 4.1. | Protokol istraživanja i ispitanici | 30 |
| 4.2. | Ispitivanje genetskih polimorfizama..... | 34 |
| 4.3. | Statistička obrada | 36 |
| V | REZULTATI..... | 37 |
| 5.1. | Demografski podaci ukupne grupe ispitanika | 37 |
| 5.1.1. | Demografski podaci ispitanika u zavisnosti od JIA podtipa | 38 |
| 5.1.2. | Remisija u celoj grupi ispitanika nakon primene biološke terapije..... | 39 |
| 5.2. | Distribucija TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizma u celoj grupi ispitanika..... | 40 |
| 5.2.1. | Distribucija TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizma u odnosu na JIA podtipove | 41 |
| 5.2.2. | Distribucija udruženog prisustva kombinacije genotipova za TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizam | 42 |

| | |
|--|------------|
| 5.3. Rezultati nakon 24 meseca praćenja..... | 43 |
| 5.3.1. Rezultati u zavisnosti od postizanja remisije..... | 43 |
| 5.3.1.1. Mogućnost postizanja remisije u odnosu na podtip JIA | 44 |
| 5.3.1.2. Karakteristike JIA podtipova u odnosu na postignutu remisiju | 44 |
| 5.3.1.3. Klinički prediktivni faktori za postizanje remisije | 45 |
| 5.3.2. Mogućnost postizanja remisije u odnosu na prisustvo TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizama | 46 |
| 5.3.2.1. Mogućnost postizanja remisije u odnosu na prisustvo TNF- α -308 polimorfizma..... | 46 |
| 5.3.2.1.1. Uticaj prisustva genskih alela za TNF- α -308 polimorfizam u odnosu na postizanje remisije..... | 49 |
| 5.3.2.2. Mogućnost postizanja remisije u odnosu na prisustvo FokI VDR polimorfizma..... | 51 |
| 5.3.2.2.1. Uticaj prisustva genskih alela za FokI VDR polimorfizam u odnosu na postizanje remisije..... | 53 |
| 5.3.2.3. Uticaj udruženog prisustva genotipova za TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizam u odnosu na postizanje remisije | 55 |
| 5.3.2.4. Prediktivni značaj prisustva genetskih markera u 24. mesecu | 56 |
| 5.3.3. ACR Pedi odgovor..... | 58 |
| 5.3.4. Uveitis..... | 63 |
| 5.4. Rezultati nakon 72 meseca praćenja..... | 64 |
| 5.4.1. Rezultati u zavisnosti od postizanja remisije..... | 64 |
| 5.4.1.1. Mogućnost postizanja remisije u odnosu na podtip JIA | 66 |
| 5.4.1.2. Karakteristike podtipova JIA u R, RR i NR grupama..... | 67 |
| 5.4.1.3. Klinički prediktivni faktori za postizanje remisije..... | 70 |
| 5.4.2. Uticaj TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizama na mogućnost postizanja i održanja remisije..... | 71 |
| 5.4.2.1. Uticaj TNF- α -308 polimorfizma | 71 |
| 5.4.2.1.1. Uticaj prisustva genskih alela za TNF- α -308 polimorfizam u odnosu na postizanje remisije..... | 72 |
| 5.4.2.2. Uticaj FokI VDR polimorfizma | 74 |
| 5.4.2.2.1. Uticaj prisustva genskih alela za FokI VDR polimorfizam u odnosu na postizanje remisije..... | 77 |
| 5.4.2.3. Uticaj udruženog prisustva kombinacije genotipova za TNF- α -308 i FokI VDR u odnosu na postizanje remisije | 79 |
| 5.4.2.4. Prediktivni značaj prisustva genetskih markera u 72. mesecu | 80 |
| 5.4.2.5. Prediktivni značaj prisustva genetskih markera tokom šestogodišnjeg perioda praćenja | 81 |
| 5.4.3. ACR Pedi odgovor..... | 82 |
| VI DISKUSIJA | 89 |
| VII ZAKLJUČAK | 104 |
| VIII LITERATURA..... | 106 |
| Biografija autora | 129 |

1.1. Definicija juvenilnog idiopatskog artritisa

Juvenilni idiopatski artritis (JIA) po definiciji predstavlja pojavu hroničnog upalnog procesa jednog ili više zglobova koji traje najmanje 6 nedelja i javlja se kod deteta pre njegovog navršenog 16. rođendana (1, 2). Predstavlja najčešće reumatološko oboljenje dečjeg uzrasta, od koga oboli svako hiljadito dete (3), ali prava incidenca bolesti još uvek nije poznata. U Evropi i Americi oboli 7 do 21 dece na 100 000 dece godišnje (4). Nažalost podaci o incidenci u našoj zemlji još uvek ne postoje. Hronična upala zgloba tj. artritis podrazumeva upalu zgloba i okolozglobnih struktura. Klinički se manifestuje kao prisustvo najmanje dva od tri sledeća simptoma: otok, bol na palpaciju i ograničen obim pokreta zgloba (5). U dečjem uzrastu artritisi mogu predstavljati ozbiljan diferencijalno dijagnostički problem jer se javljaju kao deo kliničke slike različitih bolesti i patoloških stanja. Pravilnu dijagnozu je moguće postaviti samo na osnovu dobro uzete anamneze i kliničkog pregleda uz poznavanje specifičnosti kliničke prezentacije zglobnih tegoba u različitim oboljenjima.

JIA je ranije bio nazivan različitim terminima: juvenilni reumatoidni artritis (JRA) i juvenilni hronični artritis, koji su bili aktuelni sve do kraja prošlog veka. Internacionalna liga za borbu protiv reumatizma (ILAR) je usvojila savremeni naziv "juvenilni idiopatski artritis" i nove dijagnostičke i klasifikacione kriterijume još 1994. godine, koji su do sada revidirani već dva puta, aktuelan je onaj iz 2001. godine (1, 6). Ovaj naziv potencira idiopatski karakter ovih hroničnih oboljenja koja se javljaju u dečjem uzrastu.

1.2. Etiopatogeneza JIA

Etiologija bolesti još uvek nije do kraja razjašnjenja. Danas je poznato da delovanje specifičnih infektivnih patogena ili delovanje nekih od faktora spoljne sredine u genetski predisponiranih osoba mogu dovesti do izmenjene regulacije imunog odgovora koji pokreće nespecifičnu sistemsku zapaljensku reakciju i dovodi do ispoljavanja karakteristične kliničke slike pojedinih podtipova JIA (7, 8). Jasna genetska uslovljenost i povezanost sa pojavom JIA nije utvrđena, ali dokazi o bitnoj naslednoj komponenti postoje, obzirom da su brojne porodične studije pokazale povećanu prevalencu pojave JIA kod bliskih srodnika (9). Ukoliko bi genetska predispozicija jedino bila presudna za nastanak bolesti, onda bi se očekivalo da su

jednojajčani blizanci u podjednakom riziku za razvoj JIA, međutim dokazano je da ukoliko jedan od blizanaca ima JIA kod drugog se može očekivati pojava bolesti u 25-40% slučajeva (10). Ovakvi podaci na indirektan način dokazuju da osim genetske skolonosti u procesu etiopatogeneze veliki značaj pripada i trigger faktorima (najčešće su to faktori spoljne sredine) da li će se bolest manifestovati (11).

1.2.1. Genetska heterogenost JIA

Dosadašnje mnogobrojne studije i istraživanja na genima histokompatibilnosti su dokazala značaj povezanosti pojedinih HLA lokusa sa pojavom JIA ili njihov protektivni efekat na nastanak JIA (12). Do danas je utvrđen veći broj alela HLA skupine I (HLA A-2 i HLA B27) i II (HLA DRB1) koji pokazuju povećanu učestalost javljanja u bolesnika s određenim podtipom JIA i imaju prognostički značaj. HLA B27 je prvi genetski faktor za koji se dokazalo da je udružen sa pojavom oligoartikularnog oblika artritisa kod dečaka, kod kojih to može biti prva manifestacija kasnijeg nastanka kliničke slike artritisa udruženog sa entezitisom. Studije su pokazale udruženost HLA:A2 genskog alela sa češćim nastankom oligoartikularnog i poliartikularnog RF negativnog artritisa. Takođe se ukazuje na povezanost HLA DRB1:01, DRB1:08, nDRB1:11, DRB1:13, DPB1:02 i DQB1:04 sa oligoartikularnim oblikom, DRB1:08 i DPB1:03 sa poliartikularnim RF negativnim oblikom JIA, dok je poliartikularni RF pozitivni oblik bolesti udružen sa DRB1*04, DQA1*03 i DQB1*03 haplotipom. Češće prisustvo HLA DRB1*01, DQA1*010, DQB1:05 kao i HLA B27 haplotipa prisutno je kod obolelih od psorijaznog artritisa i artritisa udruženog sa entezitisom, dok je kod sistemskog oblika JIA dokazano češće prisustvo HLA-DRB1*11 (13). Interesantno je da su istraživanja dokazala protektivni efekat pojedinih haplotipova poput HLA DRB1*04 i DRB1*07 na nastanak oligoartikularnog oblika bolesti (11,14). Izuzev HLA antigena utvrđeni su i drugi geni u području i izvan područja HLA regije koji su uključeni u patogenezu JIA (15), te se danas zna da važan genetski uticaj na pojavu određenog podtipa JIA imaju polimorfizmi nukleotida gena (SNP - single nucleotide polymorphism). Utvrđeno je udruženo prisustvo specifično različitih SNP sa oligoartikularnim i poliartikularnim RF negativnim podtipovima JIA (14). Važnu ulogu u pojedinim podtipovima JIA ima i ekspresija specifičnih gena. Dokazano je prisustvo različite ekspresije HLA gena između bolesnika kod kojih je oligoartikularni JIA počeo pre i posle 6-te godine života. Slično ovome uočeno je prisustvo različite genske ekspresije u zavisnosti od uzrasta na početku bolesti i kod bolesnika

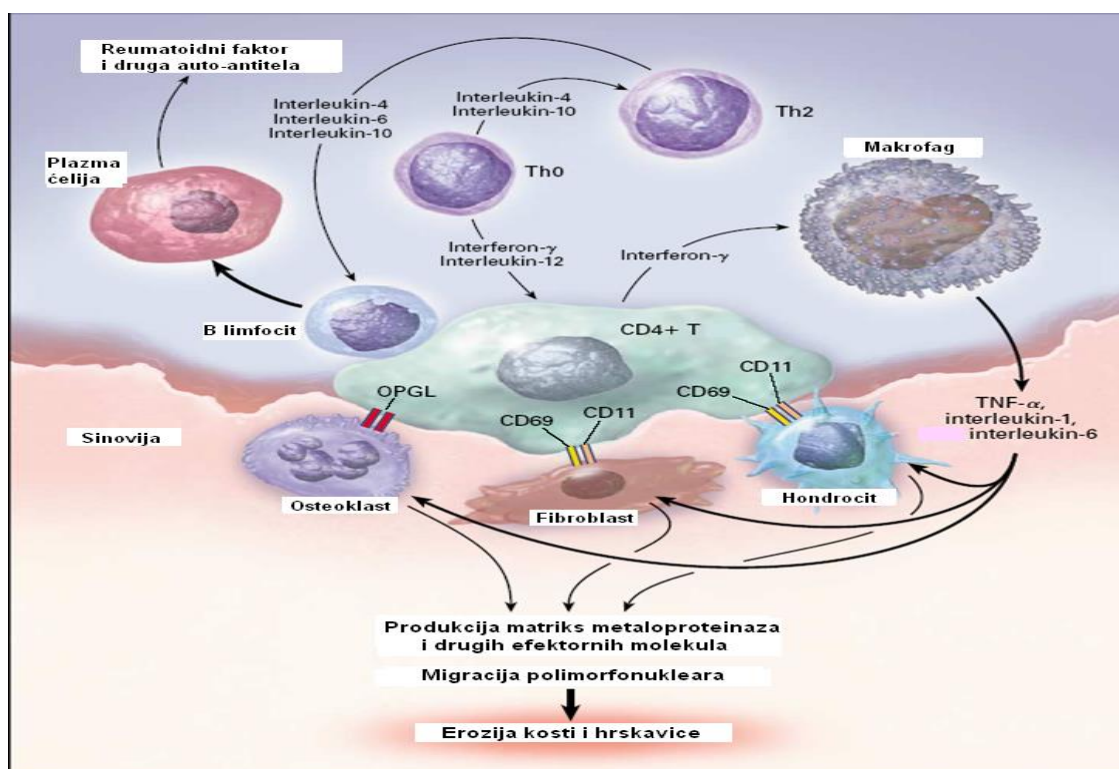
sa RF negativnim poliartikularnim oblikom bolesti. U sistemskom JIA ovakve razlike u zavisnosti od uzrasta bolesnika nisu uočene (16, 17).

1.2.2. Imunopatogenetska heterogenost JIA

Poslednjih dvadeset godina veliki broj različitih imunoloških istraživanja ukazao je na imunopatogenetsku razliku u nastanku sistemskog oblika i ostalih podtipova JIA, te se nakon dvadesetogodišnjeg istraživanja danas zna da je sistemski JIA posledica poremećaja primarnog imunog odgovora i nastalog nekontrolisanog autoinflamatornog procesa koji može predstavljati diferencijalno dijagnostički problem u odnosu na različite sindrome periodične febrilnosti (18). Saznanje da ključnu ulogu u nastanku ovog autoinflamatornog procesa imaju tri citokina: IL1, IL 6 i IL 18 je doprinelo razvoju drugačijeg terapijskog pristupa, a samim tim i prognoze pacijenata sa sistemskim formom JIA (19, 20). Kod ostalih podtipova glavnu ulogu u nastanku bolesti ima poremećaj stečenog imunog odgovora. Nakon delovanja nekog antigena iz okolne sredine, dolazi do nespecifične zapaljenske reakcije i disregulacije imunog odgovora usled čega dolazi do predomincije Th1 imunog odgovora, supresije stvaranja ćelija odgovornih za kontrolu inflamacije T regulatornih ćelija (Treg) i povećane produkcije IL 17 u T helper (Th17) ćelijama (15). Aktivacijom Th1 imunog odgovora dolazi do povećane infiltracije sinovijalne membrane i sinovijalne tečnosti aktiviranim CD4⁺T limfocitima i dolazi do poremećaja prirodne ravnoteže citokina u zglobnim strukturama. Usled toga sinovijalna membrana postaje infiltrisana ćelijama koje učestvuju u inflamaciji, sa predominacijom monocita, makrofaga i sinovijalnih fibroblasta koji nekontrolisano proizvode proinflamatorne citokine: interleukin-1 (IL-1), interleukin 6 (IL-6) i faktor nekroze tumora (TNF- α), te sinovijalna membrana koja je glavni target organ u JIA postaje hiperplastična i hipervaskularizovana (21). Aktivirani makrofagi, limfociti i fibroblasti mogu takođe potencirati proces angiogeneze, usled čega dolazi do povećane vaskularizacije sinovije kod obolelih od JIA. Endotelne ćelije koje se nalaze u sinoviji ekspresuju adhezione molekule na površini nakon čega dolazi do povećane migracije ćelija inflamacije unutar zgloba uz pomoć hemokina (IL-8) (7). Antigenom aktivirani CD4⁺ T imfociti stimulišu i B ćelije preko $\alpha_1\beta_2$ integrina, CD154 (CD40 ligand) i CD28. CD 40 predstavlja najvažniji ligand u interćelijskoj komunikaciji između T i B limfocita. Aktivirani T limfociti na površini ekspresiraju ligand za CD 40, a to je CD 40L. Usled njegovog vezivanja na T i B limfocitima, dolazi do aktivacije B limfocita i stvaranja imunoglobulina (antitela) na antigen prezentovan od strane T limfocita. B limfociti stvaraju imunoglobuline (Ig), među kojima je i reumatoidni faktor (RF). Prava uloga

RF-a u samom procesu patogeneze JIA nije poznata, ali može dovesti do aktivacije komplekta nakon stvaranja imunih kompleksa (22). Pored ovoga aktivisani $CD4^+T$ putem ćelijske signalizacije uz učešće CD69 i CD11 molekula i sekrecijom solubilnih medijatora (interferon- γ (IFN- γ), IL-17) imaju značaj u aktivaciji matriks metaloproteinaza (MMP), enzima koji vrše degradaciju komponenti ekstracelularnog matriksa i predstavljaju glavne medijatore oštećenja zgloba u JIA. Poslednjih godina mnogobrojne studije su usmerene na detekciju citokina kod određenih podtipova JIA, na merenje njihove koncentracije i korelacije sa aktivnošću bolesti kao mogućeg terapijskog i prognostičkog biomarkera (23, 24).

TNF- α i IL-1 su citokini koji se mogu naći u sinovijalnoj tečnosti, imaju važnu ulogu u nastanku bolesti, stimulišu mezenhimalne ćelije (sinovijalne fibroblaste, osteoklaste i hondroците), dovodeći do oslobađanja matriks metaloproteinaza (MMP), enzima koji dovodi do destrukcije zglobnih struktura. Usled opisanih dešavanja dolazi do zadebljanja sinovije i formiranja panusa koji degradira zglobnu hrskavicu i sužava zglobni prostor, dok istovremeno dolazi do aktivacije IL-1 koji stimuliše osteoklaste odgovorne za proces resorpcije kosti (7) (Slika 1).



Slika 1. Imunološki mehanizmi u patogenezi JIA

preuzeta iz: Choy EH, Panayi GS. Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis. N Engl J Med 2001;344 (12):907-16.

1.3. Značaj genskog polimorfizma u imuno-patogenezi JIA

Polimorfizam jednog nukleotida - SNP (single nucleotide polymorphism), predstavlja zamenu jedne baze koja se može desiti u bilo kom regionu DNK, a neki od njih mogu dovesti do varijacije transkripcije i sinteze proteina i na taj način direktno uticati na patogenezu bolesti i njen ishod (25). Obzirom na to da još uvek postoje kontradiktorni podaci o ulozi polimorfizama u različitim bolestima, njihovo izučavanje još uvek ima veliki značaj.

1.3.1. Polimorfizam gena za faktor nekroze tumora (TNF- α)

Faktor nekroze tumora TNF- α pripada grupi multifunkcionalnih proinflamatornih citokina, a primarni naziv je dobio po svojoj sposobnosti da pokrene nekrozu transplantiranih tumorskih ćelija miša (26). Predstavlja važan regulator inflamatornog procesa i poseduje mnogobrojne imunostimulatorne aktivnosti (27). Primarno ga sekretuju aktivirani makrofagi, a može se sintetisati u ćelijama prirodnim ubicama NK (natural killer cells), nešto manje u B i T limfocitima i malignim ćelijama. Nakon stimulacije pod uticajem različitih signalnih molekula (citokini IL-1 i IFN- γ), signali se sa receptora na ćelijskoj membrani prenose u citoplazmu, pri čemu se aktiviraju transkripcioni faktori, koji se potom vezuju za promotorne regione target gena, sa sledstvenom transkripcijom odgovarajuće informacione-RNK i sintezom TNF- α . Tako sintetisan TNF- α predstavlja transmembranski protein, koji je sastavljen od tri identične subjedinice i 212 amino kiselina, sa intraćelijskim amino, i ekstraćelijskim karboksilnim krajem. Ekstraćelijski deo ovog transmembranskog proteina se može otpustiti u cirkulaciju uz pomoć TNF- α konvertujućeg enzima (TACE) i postati zrela forma TNF- α tj. solubilni molekul. Solubilni TNF- α u cirkulaciji se nalazi kao homotrimer oblika trostrane piramide (28) i svoje biološke efekte ostvaruje nakon vezivanja za odgovarajuće receptore na ćelijskoj površini (TNF R). Ovi receptori (TNF R) su prisutni na svim ćelijama u organizmu. TNF- α se može vezivati za veći broj različitih receptora, bilo da su iz grupe TNF-RI (p55) ili TNF-RII (p75). TNF-RII ima veći afinitet od TNF-RI za vezivanje TNF- α (29) i pri niskim koncentracijama ovog citokina nastaje kompleks sTNFR-TNF- α , što stimuliše proliferaciju T limfocita, nastanak proinflamatornog odgovora i prolongira njegove efekte dovodeći do oštećenja tkiva (8). Međutim, u uslovima visokih koncentracija TNF- α , TNF-RI uslovljava nastanak citotoksične reakcije dovodeći do ćelijske smrti (30). I TNF-RI i TNF-RII se mogu pronaći u solubilnoj formi receptora (sTNFR), koja nastaje delovanjem proteaza (TACE) na transmembranski receptor, nakon vezivanja TNF- α za receptor. Ove solubilne forme neutrališu TNF- α kompeticijom sa ćelijskom formom

receptora, stabilizuju i sprečavaju aktivnost TNF- α . Mnogobrojne studije kod pacijenata sa JIA su dokazale da postoji korelacija koncentracije solubilnih receptora, pri čemu nivo receptora u serumu najbolje korelira sa kliničkim i laboratorijskim parametrima aktivne bolesti (31, 32). Takođe, dokazano je da nivo TNF- α i njegovih receptora u sinovijalnoj tečnosti pacijenata sa JIA prevazilazi vrednosti u serumu (33). TNF- α signalnim putevima stimuliše sintezu proteina akutne faze, povećava ekspresiju adhezivnih molekula u endotelu krvnih sudova i fibroblastima čime olakšava ulazak neutrofila i makrofaga na mesto inflamacije, stimuliše endotelne ćelije i makrofage na sekreciju hemokina, uslovljava nekontrolisanu produkciju proinflamatornih citokina (IL-1, IL-6 i TNF- α) koji stimulišu mezenhimalne ćelije (sinovijalne fibroblaste, osteoklaste i hondrocite), dovodeći do oslobađanja matriks metaloproteinaza (MMP), enzima koji dovodi do oštećenja tkiva i destrukcije zglobnih struktura. Centralnu ulogu TNF- α u patogenezi JIA dokazuje povećana koncentracija TNF- α u sinovijalnoj tečnosti i sinovijalnim tkivima nađena u obolele dece (34). Obzirom na ova saznanja, napredovanje u oblasti genetskog inženjeringa omogućilo je primenu biološke terapije kod JIA, što je rezultovalo promenom toka i ishoda obolelih od JIA. Nažalost, i pored primene TNF blokatora primećeno je da neki od pacijenti ostaju bez kliničkog odgovora, imaju težu formu bolesti i lošiju prognozu. To je pokrenulo mnogobrojna genetska istraživanja u cilju utvrđivanja potencijalnog biološkog markera koji će imati prediktivni značaj za nastanak, tok i ishod lečenja bolesti kod ovih pacijenata.

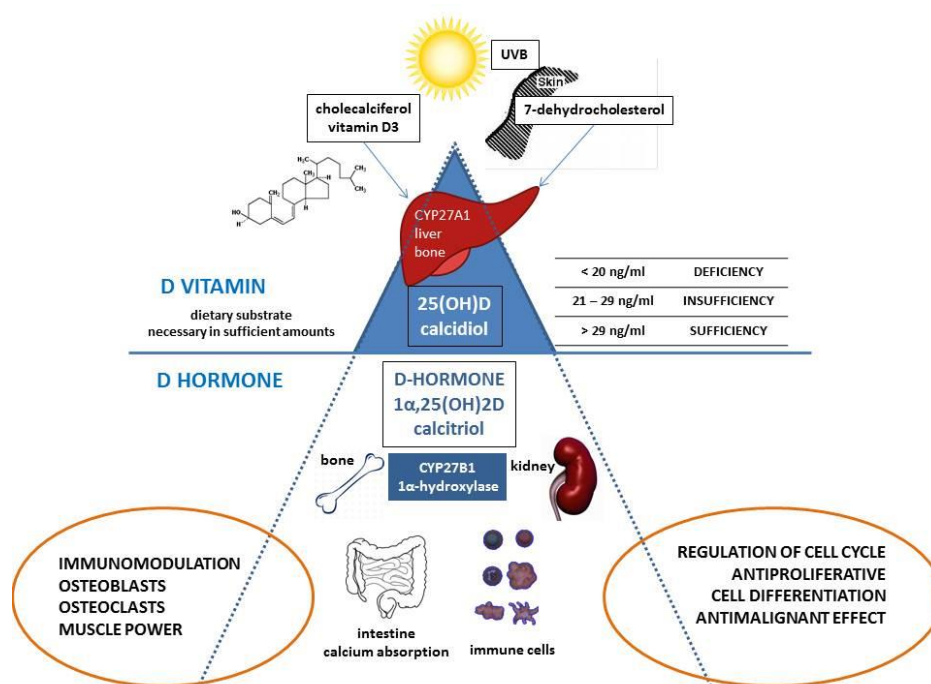
Gen koji kodira sintezu TNF- α nalazi se na kratkom kraku hromozoma 6p21.3 dužine je 3 kb i sadrži 4 egzona, između kojih je umetnuto 3 introna (35). Gen je smešten unutar klase III regiona glavnog histokompatibilnog kompleksa (MHC), između gena koji kodiraju klasu II humanog leukocitnog antigena (HLA molekula DP, DQ i DR) i klase I (HLA-A, B, C) (30, 36). Kontrola ekspresije gena odgovornih za proces transkripcije nalazi se na 5' regionu gena za TNF- α . Upravo u ovom regionu je opisano nekoliko različitih polimorfizama, obzirom da kodira više gena uključenih u imunološki proces, i to u pozicijama -1031 (supstitucija T \rightarrow C, nazvan -1031C), -863 (C \rightarrow A, -863A), -857 (C \rightarrow T, -857T), -308 (G \rightarrow A, -308A), -238 (G \rightarrow A, -238A) (37). Osim pomenutih, nađeni su i retki polimorfizmi u položaju -851, -575, -419, -376, -162, -49 (promotor gena), ali i u prvom intronu u položaju +488 (38). Najčešće proučavan polimorfizam je u promotoru gena za TNF u poziciji -308, pri čemu dolazi do supstitucije guanina adeninom (G \rightarrow A). Međutim, još uvek postoje kontraverzni podaci o njegovoj ulozi u ekspresiji gena za TNF- α . "In vivo" istraživanja su pokazala da -308A alel ima povećanu transkripcionu aktivnost u poređenju sa -308G alelom (39-41). Neki autori potvrđuju udruženost alela -308A sa povećanom transkripcionom

aktivnošću u odnosu -308G, dok drugi dokazuju da je ovaj polimorfizam bez uticaja na stvaranje TNF- α . Dosadašnje studije su potvrdile postojanje udruženosti ovog polimorfizma sa povećanim rizikom za nastanak autoimunih bolesti, poput dijabetes mellitusa tip I, miastenije gravis, sistemskog lupusa eritematozusa (SLE), antifosfolipidnog sindroma, Guillain Barreovog sindroma, astme, dermatomiozitisa (42-45). Mnogobrojna istraživanja su se bavila proučavanjem uticaja ovog polimorfizma kao predisponirajućeg faktora na težinu kliničke slike i prognoze bolesti kod pacijenata obolelih od RA, kao i kod dece sa JIA (36, 46-48). Postoje kontradiktorni podaci različitih autora o uticaju ovog polimorfizma na tok i ishod bolesti (49-51).

1.3.2. Polimorfizam gena za vitamin D receptor (VDR)

Danas postoje jasni dokazi da vitamin D₃ predstavlja hormon koji ostvaruje važnu ulogu u brojnim biološkim procesima u našem organizmu (52). Izuzev ključne uloge u regulisanju metabolizma kalcijuma, dokazana je i njegova bitna uloga u regulaciji ćelijske proliferacije i diferencijacije tj. imunomodulacije (53). Ćelije imunog sistema (B i T limfociti, antigen prezentujuće ćelije) izuzev što sintetišu vitamin D, omogućavaju i njegovu autokrinu funkciju preko vitamin D receptora koji se nalaze eksprimirani na njihovoj površini. Svoje imunološke efekte ostvaruje inhibirajući B ćelijsku proliferaciju i diferencijaciju i sintezu imunoglobulina. Imunomodulatorno dejstvo ostvaruje putem inhibicije proinflamacije suprimirajući T ćelijsku proliferaciju i oslobađanje Th1 citokinskog profila (IL2, INF γ i TNF- α), dok istovremeno potencira antiinflamatorni efekat i preusmerava imuni odgovor u pravcu Th2 i oslobađa citokine: IL4, IL5 i IL10. Takođe dovodi do povećane aktivnosti Treg ćelija i inhibira produkciju Th17 citokina, što dovodi do oslobađanja antiinflamatornih citokina (IL10). Inhibitorni efekat na oslobađanje proinflatornih citokina ostvaruje i na nivou monocita i dendritičnih ćelija (54). Metabolički je inertan i svoje delovanje ispoljava tek posle transformacije u aktivne metabolite. U organizam se unosi hranom u obliku vitamina D₂ (kalciferola) i vitamina D₃ (holekalciferola). Pored egzogenog unosa, vitamin D₃ u organizmu nastaje konverzijom prekursora 7-dehidroholesterolu u previtamin D₃ pod uticajem ultravioletnog spektra sunčeve svetlosti, koji potom izomerizuje u vitamin D₃ procesom zavisnim od telesne temperature. Prvi korak u metabolizmu neaktivnog vitamina D je hidroksilacija u 25-hidroksivitamin D (25-[OH]D) koja se odvija u mikrozomima jetre pod dejstvom enzima 25-hidroksilaze, dok se druga hidroksilacija odvija u mitohondrijama ćelija proksimalnih tubula, kada nastaje aktivna forma 1,25-dihidroksivitamin D (1,25-[OH]₂D) –

kalcitriol pod dejstvom 1 α hidroksilaze. Aktivni metabolit vitamina D deluje mehanizmom analognim delovanju steroidnih hormona vezujući se za intracelularne receptore koji pripadaju superfamiliji steroidnih receptora. Svoj biološki efekat kalcitriol ostvaruje vezivanjem za specifične regione vitamin D receptora (VDR) koji sa retinoidnim X receptorom (RXR) stvara heterodimer, koji se vezuje za specifične regione genoma (VDRE) i uz pomoć koaktivatora i bazalnih transkripcionih faktora (TFIIB) reguliše transkripciju nekoliko različitih ćelijskih gena(55-57) (Slika 2).



Slika 2. Sinteza i biološki efekti vitamina D

preuzeta iz: Vojinović J, Cimaz R. Vitamin D - update for pediatric rheumatologists. *Pediatr Rheumatol Online J* 2015;13:18.

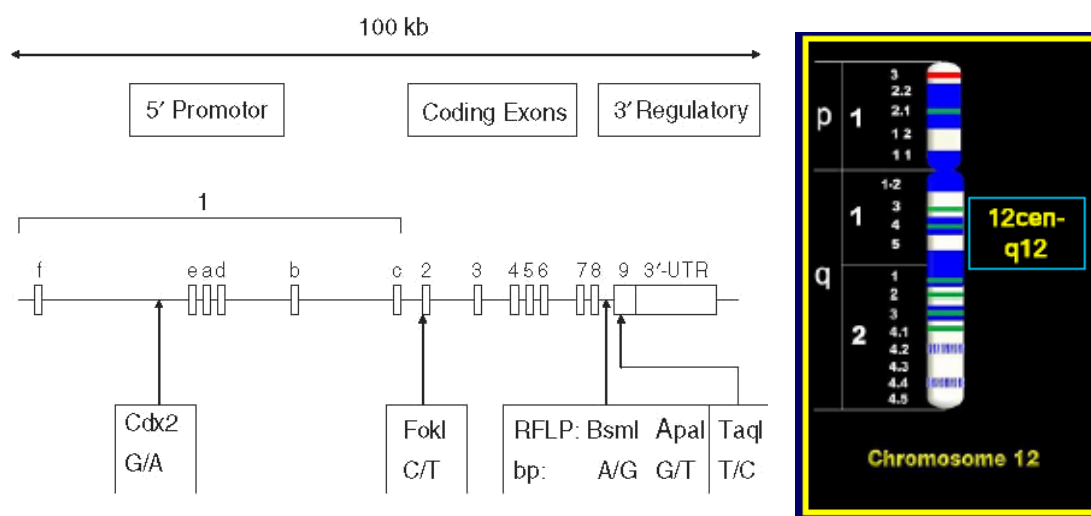
O značaju vitamina D₃ u funkcionisanju imunog sistema, kako u odbrani organizma tako i u održavanju autotolerancije, ukazuju mnogobrojni podaci skorašnjih istraživanja (58). Postoje jasni dokazi da vitamin D utiče na nastanak autoimunosti. Njegova deficijencija udružena je sa povećanim rizikom za razvoj različitih autoimunih bolesti, poput diabetes mellitusa tip I, SLE, RA, multiple skleroze, inflamatornih bolesti creva (54, 59, 60). Obzirom da je inflamacija u reumatoidnom artritisu posredovana Th1 imunim odgovorom, vitamin D₃ može u velikoj meri imati uticaj na nastanak bolesti. O ovome svedoče i podaci dosadašnjih istraživanja, koji ukazuju na inverzan odnos unosa vitamina D₃ i rizika oboljevanja od reumatoidnog artritisa (RA) (61), kao i postojanje negativne korelacije nivoa (1,25-[OH]₂D) sa aktivnošću bolesti. Zapravo pacijenti sa hroničim inflamatornim bolestima imaju povećane

nivoje cirkulišućih proinflammatoryh citokina (TNF- α i IL-6). TNF- α inhibiše 1 α hidroksilaciju (25-[OH]D) dovodeći do smanjenja serumske koncentracije (1,25-[OH]₂D) u hroničnim inflamatornim bolestima. Pacijenti sa visokom aktivnošću bolesti imaju manju koncentraciju (25-[OH]D) u poređenju sa onima sa manjom aktivnošću bolesti što je dokazano kod RA (62). Pored ovoga TNF- α indukuje rezistenciju na delovanje (1,25-[OH]₂D) delujući na steroidne nuklearne receptore zbog čega u stanjima hronične inflamacije postoji negativni bilans kalcijuma i sekundarno povećanje PTH. Zbog svega navedenog suplementacija vitaminom D je od velikog značaja kod pacijenata sa hroničnim bolestima, koji su neretko na terapiji steroidima. Pri tome je važno suplementisati ih sa analogima vitamina D koji ne zahtevaju 1 α hidroksilaciju, jer je kod ovih pacijenata redukovana aktivnost 1 α hidroksilaze (63).

Gen za VDR se nalazi na dugom kraku hromozoma 12 (12q13.11) i otkriveno je preko 470 polimorfizama nukleotidne sekvence u humanom VDR genu. Do sada je opisano nekoliko polimorfizama VDR-a i njihov moguć uticaj na nastanak bolesti. Smatra se da su upravo SNP odgovorni za polimorfizam gena VDR-a, od kojih su BsmI, ApaI (oba na intronu 8) i TaqI (na egzonu 9) identifikovani na 3' regionu gena za VDR. Drugi polimorfni region FokI je identifikovan na početnom kodonu (5' regionu gena), u egzonu 2 i on se povezuje sa nastankom mnogih autoimunih bolesti (Slika 3). FokI SNP je najčešće proučavani polimorfizam koji karakterišu 2 VDR proteina različite strukture i funkcionalnog efekta na ćelije imunog sistema, duži f-VDR i kraći F-VDR. Ovaj polimorfizam je uslovljen translacijom bilo koja od dva ATG početna kodona kada dolazi do supstitucije timina citozinom (T→C). Kod VDR ff genotipa translacija počinje na prvom ATG delu, dovodeći do nastanka VDR proteina sačinjena od 427 amino kiselina, dok kod VDR FF genotipa translacija počinje na drugom ATG delu i daje VDR protein kraći za 3 aminokiselinske sekvence (64). Ova dva proteina imaju različit uticaj na proces transkripcije (65). In vitro istraživanja su dokazala da F (kraći protein) ima veću transkripcionu aktivnost u odnosu na f (duži protein) i utiče na povećan rizik nastanka bolesti (66). Dok jedni autori ukazuju na značaj različite učestalosti alelnih formi i genotipova za FokI polimorfizam gena za VDR kod različitih autoimunih bolesti (67), drugi dokazuju sasvim suprotno (68). Klinički značaj identifikacije VDR polimorfizma je upravo u dokazivanju njegovog uticaja na aktivnost imunog sistema i veću učestalost pojave autoimunih bolesti, kao prediktivnog faktora toka i težine kliničke slike obolelih.

Do sada neke od objavljenih studija potvrđuju povezanost određenog genotipa FokI polimorfizma VDR-a sa rizikom oboljevanja od RA (69). Međutim, podaci o eventualnoj korelaciji distribucije određenih alela VDR polimorfizma sa težinom kliničke slike u obolelih

od RA nedostaju. Do danas nisu poznati ni podaci o distribuciji VDR polimorfizma i njihovog uticaja na težinu kliničke slike i ishod bolesti kod dece obolele od JIA.



Slika 3. Struktura VDR gena i regioni polimorfizama gena za VDR preuzeta iz: Rangaathan P. Genetics of bone loss in rheumatoid arthritis - role of vitamin D receptor polymorphisms. Rheumatology 2009;48:342-346.

1.4. Klasifikacija juvenilnog idiopatskog artritisa

JIA ne predstavlja jednu bolest već heterogenu grupu inflamatornih oboljenja, koje imaju specifičnu polnu, uzrastnu i genetsku predispoziciju, različite kliničke karakteristike, tok i prognozu bolesti. ILAR jasno definiše 7 različitih podtipova bolesti u zavisnosti od broja zahvaćenih zglobova u prvih šest meseci bolesti i prisutnih ekstraartikularnih manifestacija: sistemski artritis, oligoartritis (perzistentni i prošireni), poliartritis sa negativnim reumatoidnim faktorom (RF), poliartritis sa pozitivnim RF faktorom, psorijazni artritis, artritis sa entezitisima i nediferentovani artritis (Tabela 1).

Poznavanje pojedinačnih fenotipskih karakteristika, genetskih i seroloških specifičnosti svakog od JIA podtipa je omogućila razvoj specifičnih dijagnostičkih i terapijskih algoritama čime je izmenjen koncept lečenja, unapređen kvalitet života obolelih i prognoza ishoda bolesti.

1.4.1. Sistemski JIA

Predstavlja multisistemsko oboljenje sa kliničkim i laboratorijskim znacima izražene i generalizovane inflamacije, koje se po etiopatogenetskom mehanizmu nastanka izdvaja od ostalih podtipova JIA. Od ukupnog broja bolesnika sa JIA u ovu podgrupu spada oko 10-15% obolele dece, sa podjednakom zastupljenošću oba pola (19). U pogledu početka prvih

simptoma postoji blago povećana učestalost u periodu do pete godine života, ali je opisana i retka pojava bolesti u adutnom periodu (Stilova bolest).

Obavezan dijagnostički kriterijum jeste pojava artritisa i povišene telesne temperature intermitentnog tipa koja traje dve nedelje i praćena je pojavom eritematozne makulozne ospe koja se javlja na predilekcionim mestima: prednja strana grudnog koša i trbušnog zida i ekstenzornim stranama proksimalnih delova ekstremiteta. Karakteristično je da se ospa javlja samo u skokovima temperature, da bi nestala sa normalizacijom telesne temperature.

Opšte stanje deteta može biti izuzetno teško tokom perioda febrilnosti, da bi se van tog perioda deca sasvim dobro osećala. Artritis u sistemske forme JIA nemaju visoki evolutivni tok i obično zahvataju cervikalni deo kičmenog stuba, temporomandibularne zglobove, a u kasnijem toku i kukove. Ostali simptomi koji se mogu javiti jesu generalizovana limfadenopatija, hepatosplenomegalija i pojava serozitisa, koja ukoliko se javi na srcu u vidu mioperikarditisa ozbiljno može ugroziti život deteta (70).

Bolest može imati monociklični, policiklični i kontinuirani tok (71).

Druga životno ugrožavajuća komplikacija koju možemo očekivati kod sistemske JIA jeste sindrom aktivacije makrofaga, koji predstavlja formu reaktivne hemofagocitne limfohistiocitoze koji se javlja u oko 10% dece sa sistemske forme bolesti JIA i može rezultovati fatalnim ishodom kod 8% ovih pacijenata. Terapijski uspeh zavisi od što ranijeg prepoznavanja ovog sindroma, koji nastaje zbog nekontrolisane inflamacije, nastale usled disregulacije imunog odgovora koji je odgovoran za kontrolu aktivacije T limfocita i makrofaga usled čega nastaje prava prekomerna produkcija citokina dovodeći do tzv. citokinske oluje u organizmu. Raveli i sar. (72) dali su najnovije kliničke i laboratorijske preporuke za dijagnozu ovog potencijalno životno ugrožavajućeg sindroma, koje neretko može imati i subkliničku manifestaciju.

Klinički ga karakteriše iznenadna prividna pojava poboljšanja kod pacijenta, sa razvojem febrilnosti septičnog kontinuiranog toka za razliku od dotadašnje intermitentne febrilnosti, hepatosplenomegalija, razvoj jetrine isuficijencije i koagulopatije sa hemoragijskim manifestacijama i neurološkom simptomatologijom. Laboratorijske specifičnosti ovog sindroma jesu pancitopenija, povišene vrednosti transaminaza, triglicerida, feritina, laktat dehidrogenaze, D dimera uz pad vrednosti sedimentacije (SE) i fibrinogena. Dijagnoza sindroma se postavlja pregledom koštane srži u kojoj se nalazi veliki broj dobro diferentovanih makrofaga (ili histiocita) koji aktivno fagocituju hemopoetske ćelije. Ukoliko primena pulsniha doza methylprednisolona u kombinaciji sa ciklosporinom A nema uspeha jedino transplantacija koštane srži može postići zaustavljanje akutne inflamacije i uvođenje bolesti u remisiju.

Tabela 1. ILAR klasifikacioni kriterijumi za JIA iz 2004. godine (1)

| |
|--|
| 1. Sistemske artritise |
| 1. temperatura > 2 nedelje (>39°C bar 1x u toku dana koja se vraća <37 °C), dokumentovana u tri dana 2. artritis jednog ili više zglobova (> 6 nedelja) 3. prisustvo bar jednog od sledećeg: - prolazna nefiksirana eritematozna ospa - uvećanje limfnih žlezdi- hepato-splenomegalija - serozitis |
| 2. Oligoartritis |
| Artritis do 4 zglobova u toku prvih 6 meseci bolesti. a) perzistentni oligoartritis - do 4 zglobova tokom celog trajanja bolesti b) prošireni oblik - više od 4 zglobova posle prvih 6 meseci bolesti. |
| 3. Poliartritis sa negativnim RF faktorom |
| artritis 5 i više zglobova u toku prvih 6 meseci bolesti pri čemu je test na RF negativan |
| 4. Poliartritis sa pozitivnim RF faktorom |
| artritis zahvata 5 ili više zglobova u toku prvih 6 meseci bolesti, pri čemu su 2 ili više testova na RF negativna najmanje 3 meseca u toku prvih 6 meseci bolesti. |
| 5. Psorijazni artritis |
| artritis i psorijaza, ili artritis i 2 od sledećih znakova: - daktilitis - nokatne promene (tačkasta udubljenja ili oniholiza) - psorijaza u porodici u prvom stepenu srodstva |
| 6. Artritis sa entezitisima |
| artritis sa entezitisom, ili artritis ili entezitis uz najmanje još 2 znaka: - osetljivost sakroilijačnih zglobova i/ili zapaljenski karakter bola u kičmi - prisustvo HLA-B27 antigena - početak artritisa kod dečaka posle 6. godine - akutni prednji uveitis - pozitivna porodična anamneza za ankilozirajući spondilitis, artritis sa entezitisima, sakroilitis sa zapaljenskom bolešću creva, Rajterov sindrom, ili akutni prednji uveitis kod rođaka u prvom stepenu srodstva |
| 7. Nediferentovani artritis |
| artritis ne ispunjava kriterijume za klasifikaciju ili ispunjava za 2 ili više kategorija. |

1.4.2. Oligoartikularni JIA (perzistentni i prošireni)

Oligoartikularni je najčešći oblik JIA i karakteriše ga upala manje od 5 zglobova u prvih šest meseci od početka bolesti i odsustvo sistemskih znakova. Javlja se kod 40-60% bolesnika, najčešće između 3-5. godine života, 2-3 puta češće kod devojčica. Ako upala ostane lokalizovana na manje od pet zglobova tokom celog trajanja bolesti, onda govorimo o trajnom (perzistentnom) oligoartritisu. Međutim, ukoliko se u toku 6 meseci od pojave prvih zglobovni tegovi artritisa prošire na 5 i više zglobova onda govorimo o esktdiranoj, proširenoj formi oligoartritisa. Oligoartikularni tip JIA karakteriše asimetrična prezentacija i zahvat krupnih zglobova donjih ekstremiteta, najčešće zglob kolena i skočni zglob, a zatim po redosledu učestalosti slede laktovi i ručni zglobovi. Zglob kuka vrlo je retko zahvaćen kod

oligoartikularnog JIA. Roditelji najčešće primete da dete šteti nogu i hramlje u jutarnjim časovima, nakon ustajanja iz kreveta. Bol je u početku bolesti retko izražen. Klinički se često evidentira otok koji se obično pripisuje povredi, koja može biti i okidač bolesti. Deca zahvaćeni ekstremitet drže u najmanje bolnom položaju, te ukoliko se bolest ne prepozna rano i ne započne sa lečenjem na vreme dolazi do pojave fleksione kontrakture zahvaćenog zgloba. Vremenom nastaje vidljiva razika u dužini ekstremiteta (anatomski disegalitet) kao posledica inflamacije i hipervaskularizacije hrskavičave ploče rasta u blizini zapaljenog zgloba. Ozbiljna vanzglobna manifestacija koja se često viđa u kod ovog podtipa JIA jeste hronični uveitis, koji je najčešće asimptomatski i ukoliko se na vreme ne postavi dijagnoza i ne započne adekvatno lečenje može dovesti do ozbiljnih strukturnih oštećenja vida (73). ANA pozitivnost predstavlja visoki rizik za razvoj uveitisa u ovom podtipu JIA, te su u skladu sa najnovijim preporukama redovne oftalmološke kontrole neophodne kod ovih pacijenata (74, 75). Od svih JIA podtipova imaju najbolju prognozu, posebno ukoliko se radi o monoartikularnom zahvatu.

1.4.3. Poliartikularni JIA (RF pozitivan i RF negativan)

Klinički definiše prisustvo artritisa u pet i više zglobova tokom prvih šest meseci bolesti. U zavisnosti od prisustva reumatodnog faktora u serumu (RF), razlikujemo dve podgrupe: RF-pozitivni i RF-negativni poliartikularni JIA. Češće se javlja u devojčica sa različitim uzrastnom distribucijom, s tim što se bolest sa RF- negativnim poliartritisom javlja u mlađim godinama života u 15-20% svih obolelih od JIA, za razliku od RF- pozitivnog oblika koji se obično javlja u periodu adolescencije i to u svega 5 % dece obolele od JIA. Iako je klinička slika slična, međusobno se razlikuju po toku bolesti i u prognostičkom smislu. Početak bolesti je postepen i obično počinje sa simetričnom pojavom artritisa koji najpre zahvata sitne zglobove šaka i stopala, ručja i skočnih zglobova uz prisustvo jutarnje ukočenosti i osećaja umora. Ne tako retko bude zahvaćen i cervikalni deo kičme, kao i temporomandibularni zglobovi koji vremenom daju karakterističan izgled vilice i nastanak mikrognatije. Vanzglobne manifestacije bolesti su retke. RF-pozitivni poliartritis najviše nalikuje adultnom tipu reumatoidnog artritisa sa pojavom reumatoidnih čvorića i ranim nastankom erozivnih promena (76). Poslednjih godina se kod RF-pozitivnog poliartritisa veliki prognostički značaj pridaje i prisustvu anti-CCP antitela, ali dosadašnja istraživanja u pedijatrijskoj populaciji su pokazala oprečne rezultate (77). Tok poliartritisa je intermitentan, sa periodima egzacerbacije i remisije. RF-negativni ima nešto sporije progresivan tok, za razliku od RF-pozitivnog poliartritisa, kod koga je zbog toga neophodan agresivniji terapijski pristup.

1.4.4. Artritis sa entezitisom (ERA)

Najčešće se javlja kod dečaka uzrasta starijeg od 6 godina. Najvažnije kliničke manifestacije jesu oligoartritis krupnih zglobova donjih ekstremiteta i entezitis, koji predstavlja upalu na mestima pripoja tetiva ili ligamenata za kost. Klinički se entezitis ispoljava kao bol na palpaciju, a u kasnijoj fazi se može palpirati i zadebljanje na mestu zahvaćene enteze. Najčešća lokalizacija entezitisa su pripoj Ahilove tetive i pripoj plantarne fascije na kalkaneusu. Kod 30 do 40% pacijenata bolest može zahvatiti i sakroilijačne zglobove kičmenog stuba (sakroileitis) (15), te bolest kasnije poprima oblik spondiloartropatije odraslih (78). Postoji visoka udruženost sa prisustvom HLA B27 pozitivnosti. Od vanzglobnih manifestacija česta je pojava inflamatorne bolesti creva i akut-nog prednjeg uveitisa, koji se razlikuje od hroničnog uveitisa po tome što su znaci upale oka vidljivi. Klinički se prezentuje crvenilom, bolom, pečenjem, pojačanom lakrimacijom i fotofobi-jom. Može se javiti jednostrano ili obostrano i uglavnom prolazi bez sekvela. Tok bolesti je promenljiv. Bolest kod nekih pacijenata može ući i u kompletnu remisiju, dok kod drugih može zahvatiti veći broj zglobova i ponašati se kao poliartritis.

1.4.5. Psorijazni JIA

Klinički ga karakteriše artritis oligoartikularnog ili asimetričnog poliartrikularnog tipa i pojava kožnih promena koje su tipične za psorijazu. Artritisom su najčešće zahvaćeni zglobovi kolena, ali često i sitni zglobovi šaka i stopala, a posebno je patognomonična afekcija distalnih interfalangealnih zglobova (DIP). Zglobne promene mogu par godina predhoditi pojavi kožnih promena, te se u tom slučaju dijagnoza psorijaznog artritisa postavlja na osnovu artritisa i bar dva od sledeća tri kriterijuma: daktilitisa, promene na noktima ili pozitivne porodične anamneze psorijaze kod najmanje jednog bliskog srodnika prvog reda dijagnostifikovane od strane dermatologa. Daktilitis predstavlja karakterističan otok prsta šake ili stopala koji prevazilazi granice zgloba tkz. kobasičasti otok. Promene na noktima mogu biti u vidu tačkastih udubljenja "fenomen naprstka" ili u vidu oniholize - odlublјivanje nokatne ploče od ivice nokta. Poslednjih godina su najnovija istraživanja pacijenata sa juvenilnim psorijaznim artritisom pokazala da se u okviru ovog podtipa mogu izdvojiti dve nove grupe pacijenata: jedna koja najviše po kliničkoj prezentaciji nalikuje ANA pozitivnom oligoartikularnom JIA sa kasnijim nastankom poliartritisa (češće se javlja kod devojčica, obično u predškolskom uzrastu, sa pojavom asimetričnog oligoartritisa koji može kasnije imati i ekstenzivniji zahvat zglobova i čestom udruženošću sa hroničnim uveitisom i ANA

pozitivnošću) i druga grupa pacijenata koja najviše podseća na artritis sa entezitisom koja liči na spondiloartropatijske forme psorijazog artritisa odraslih (javlja se češće kod dečaka i u kasnijem detinjstvu, a prisutna HLA B27 pozitivnost je ekskluzioni faktor) (79). Shodno ovome primenjuju se terapijski algoritmi koji najviše odgovaraju primarnoj kliničkoj prezentaciji.

1.4.6. Nediferentovani artritis

Ovde se radi o bolesnicima koji klinički imaju artritis koji traje duže od 6 nedelja, ali ne ispoljavaju kriterijume za bilo koji od podtipova JIA ili pak ispunjavaju kriterijume za više od jednog podtipa JIA.

1.4.7. Uveitis u JIA

Uveitis je nesupurativni upalni proces prednjeg/zadnjeg segmenta oka koji se češće javlja u određenim podtipovima JIA. Tako je poznato da su u većem riziku da obole ANA pozitivne devojčice sa oligoartikularnim i proširenim oligo JIA mlađe od sedam godina, kao i dečaci stariji od 6 godina sa ERA obikom JIA (3). Uveitis predstavlja ozbiljnu ekstraartikularnu manifestaciju JIA, koja u dečjem uzrastu može biti asimptomatska i ukoliko se na vreme ne postavi dijagnoza i ne sprovede adekvatan tretman može dovesti do ozbiljnih strukturnih oštećenja vida (80). Poznato je da čak 30 do 50% dece u trenutku postavljanja dijagnoze ima ozbiljna oštećenja vida (81). Zbog toga postoje preporuke redovnih oftalmoloških pregleda (82) i novi kriterijumi za procenu stepena aktivnosti upalnog procesa oka tzv. SUN kriterijumi (Standardization of Uveitis Nomenclature) (83). Najnoviji terapijski algoritmi lečenja JIA pacijenata sa uveitisom su svakako promenili prognozu i kvalitet života ovih pacijenata (75, 84).

1.5. Dijagnostička i laboratorijska obrada u JIA

U reumatologiji postoji veliki broj laboratorijski testova, koji imaju za cilj da utvrde da li negde u organizmu postoji inflamacija i da na taj način izdiferenciraju da li se radi o zapaljenskom ili nezapaljenskom oboljenju zglobova (85). Obzirom da je dijagnoza artritisa klinička i da ne postoje specifični laboratorijski testovi koji bi mogli sa sigurnošću da potvrde definitivnu dijagnozu JIA, tražene laboratorijske analize mogu biti od pomoći pedijatrijskom reumatologu da izdiferencira da se ne radi o nekom patološkom procesu. Takođe omogućavaju

procenu stepena prisutne inflamacije, praćenje terapijskih efekata lečenja i eventualne toksične efekte primenjene terapije.

Kompletna krvna slika, biohemijski parametri i imunološke analize su sastavni deo laboratorijskog ispitivanja kod svakog deteta sa zglobnim tegobama.

1.5.1. Laboratorijska obrada

Reaktanti akutne faze zapaljenja – Sedimentacija eritrocita (SE) je jednostavan test za izvođenje koji ima visoku senzitivnost, ali malu specifičnost. Normalne vrednosti ne isključuju reumatsku etiologiju zglobnih tegoba. Brzina sedimentacije zavisi od mnogobrojnih faktora koji ne potiču od inflamacije i umanjuju njenu dijagnostičku vrednost. U pedijatrijskoj reumatologiji je veoma bitan parametar koji se koristi za praćenje aktivnosti bolesti.

C-reaktivni protein (CRP) je jedan od proteina akutne upale koji sintetiše jetra. Osetljiviji je biomarker inflamacije od SE, jer na njegovu vrednost ne mogu uticati faktori koji utiču na vrednost brzine sedimentacije, te zbog toga ima veću dijagnostičku vrednost. CRP se koristi i kao parametar koji ukazuje na prisustvo infekcija. Karakteriše ga visoka senzitivnost, ali mala specifičnost.

Imunološka ispitivanja u JIA – Kod dece obolele od JIA postoji povećana koncentracija imunoglobulina, i to svih klasa (IgG, IgA, IgM), ali pri tumačenju rezultata treba imati u vidu fiziološku i uzrastnu specifičnost u dečjoj populaciji. Porast vrednosti IgG korelira sa stepenom aktivnosti bolesti, posebno kod sistemske i poliartrikularne forme bolesti. Povišena vrednost IgM je često prisutna kod RF pozitivnog poliartritisa i udružena je sa pojavom reumatoidnih čvorića.

Imuni kompleksi se mogu sresti u obolelih od JIA, posebno kod sistemske forme bolesti. Koreliraju sa stepenom aktivnosti bolesti i mogu pokrenuti sistem aktivacije komplementa bilo klasičnim, bilo alternativnim putem, čime se delimično može objasniti njihovo učešće u nastanku i održavanju zapaljenskog procesa.

RF su imunoglobulini koji se vezuju za Fc fragment IgG i mogu pripadati svim klasama Ig (IgA, IgG, IgM, IgD, IgE). Najdostupniji laboratorijski testovi (Latex test, Rose-Walerova reakcija) koji se koriste zasnivaju se na principu aglutinacije i ne mogu izdiferencirati pojedinačne izotipove reumatoidnog faktora, za razliku od izoenzimskog kompleksnijeg testa ELISA metodom. RF pozitivnost tipična je za poliartrikularni JIA, prisutan u svega 5 % pacijenata. Odlikuje ga visoka specifičnost, ali mala senzitivnost, jer se može naći i kod zdravih osoba, ali isto tako i u drugim patološkim stanjima (neke druge autoimune bolesti,

hronične infekcije). Zbog toga je veoma nepouzdan dijagnostički marker za dokazivanje reumatske etiologije zglobnih tegoba. Retko se javlja kod dece mlađe od sedam godina. Mnogobrojni autori su potvrdili da prisustvo RF pozitivnosti predstavlja loš prognostički marker, ukazuje na visoko evolutivni tok bolesti i nastanak zglobnih oštećenja (76).

Poslednjih godina su mnogobrojna istraživanja pokušala da ukažu na značaj prisutnih anti-CCP antitela kod RF pozitivnih JIA pacijenata i njihovu povezanost sa agresivnijim tokom bolesti i ranim nastankom erozivnih promena, nalik na studije koje su to pokazale kod adultnih pacijenata sa reumatoidnim artritismom. Međutim, rezultati istraživanja u pedijatrijskoj populaciji su kontroverzni (86-88).

ANA označavaju veliku grupu antitela koja specifično reaguju sa antigenima jedra i koja su po prvi put bila otkrivena pedesetih godina prošlog veka kod osoba obolelih od sistemskog lupusa. Za njihovu detekciju je poželjnije koristiti znatno senzitivniju metodu indirektno imunofluorescence, gde se određivanje vrši uz pomoć Hep2 ćelijskih linija u odnosu na standardni ELISA test, koji je često nestandardizovan (89). U dijagnostičkom i prognostičkom smislu bitno je samo njihovo prisustvo, ali ne i titar, jer on ne ukazuje na stepen aktivnosti bolesti. Od značaja je odrediti njihovu pozitivnost kod oligo i proširenog oligo JIA, posebno u devojčica, jer njihovo prisustvo u ovim podtipovima JIA može biti od značaja i ukazivati na moguć razvoj uveitisa (74, 75).

1.5.2. Vizuelizacije metode u dijagnostici JIA

Vizuelno prikazivanje zglobova je jedna od veoma bitnih metoda u dijagnostici artritisa. Klasična radiografija je standardna metoda i dostupna je svima. U inicijalnoj fazi bolesti služi prvenstveno za diferencijalnu dijagnozu, obzirom da se ireverzibilne promene na koštanom sistemu nastale usled hronične inflamacije u zglobu evidentiraju dosta kasno. Nedostatak klasične radiografije jeste i izlaganje dece jonizujućem zračenju i nemogućnost kontinuiranog praćenja bolesti. Zbog toga veliku prednost ima primena muskuloskeletne ehosonografije koja predstavlja neinvazivnu i bezbednu dijagnostičku metodu kod dece i koristi se u svakodnevnoj kliničkoj praksi već dugi niz godina. Dosadašnja iskustva u inostranim centrima ukazuju na veliki značaj i suverenost ove metode. Pomoću pomenute dijagnostičke metode može se postaviti rana dijagnoza JIA, pratiti aktivnost bolesti, njena evolucija i efekti lečenja. Nedavno su Collado i sar. (78) ukazali na senzitivnost ove dijagnostičke metode u otkrivanju još uvek aktivnih zglobova u pacijenata koji su kliničkim pregledom definisani da se nalaze u stanju kliničke remisije. EULAR (The European League Against Rheumatism) i PRES (Pediatric

Rheumatology International Trial Organisation) su ukazali na značaj korišćenja ultrasonografije muskuloskeletnog sistema u dijagnostici i praćenju terapijskih efekata u svakodnevnom kliničkom radu (90), a standarizacija normativa za procenu aktivnosti bolesti na osnovu ultrazvučnog nalaza za različite uzrastne kategorije pedijatrijskih pacijenata je potrebna, što je predmet budućih istraživanja. Nuklearna magnetna rezonanca (NMR) je senzitivna metoda i omogućava uvid u sve zglobne strukture. Visoka cena pregleda, nemogućnost istovremenog prikaza većeg broja zglobova i neophodnost da se dete sedira zbog dugog trajanja pregleda jesu nedostaci izvođenja ove metode vizuelizacije.

1.6. Algoritam lečenja JIA

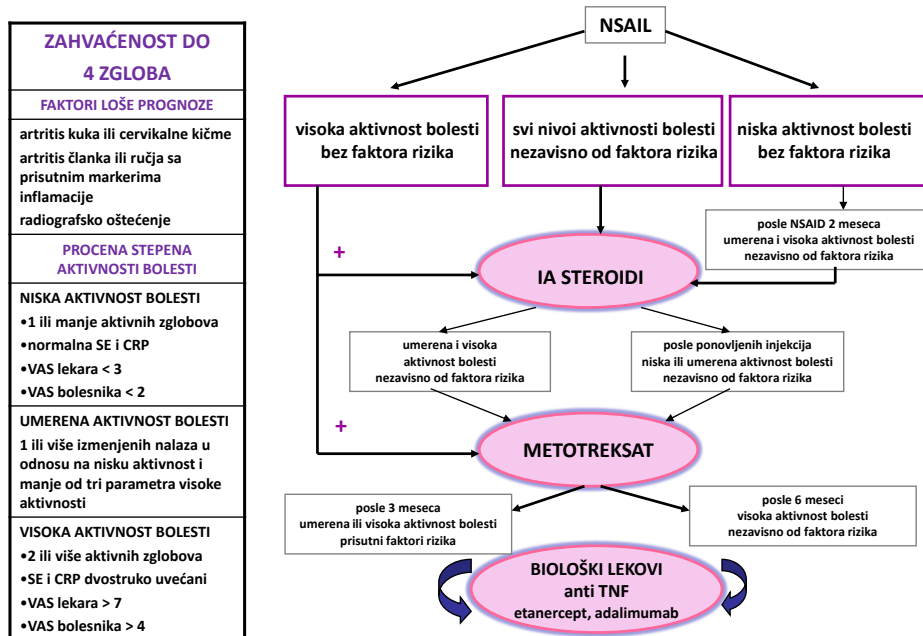
Poslednjih godina nova saznanja o etiopatogenezi JIA i napredak genetskog inženjeringa su omogućili razvoj i primenu najnovijih terapijskih sredstava kod obolelih od JIA. Savremeni koncept lečenja pacijenata sa JIA ima za cilj da obezbedi dobar kvalitet života ovim pacijentima, da se aktivnost bolesti dovede pod kontrolu, da umanja subjektivne tegobe, omogući normalan rast i razvoj dece, očuva funkcionalnost zglobova i prevenira pojavu deformiteta i nastanak invalidnosti. Obzirom da se radi o hroničnoj bolesti neophodna je kontinuirana edukacija pacijenata i roditelja, kao i stalna psihosocijalna podrška. Terapijski pristup u JIA mora biti strogo individualno prilagođen svakom bolesniku u zavisnosti od podtipa JIA i predstavlja kombinaciju primene antiinflamatornih i imunomodulatornih lekova uz neophodnost sprovođenja fizikalne terapije.

Lekovi koji se koriste u terapiji ovih pacijenta dele se na sledeće grupe: antiinflamatorne lekove: nesteroidni antiinflamatorni lekovi (NSAIL) i kortikosteroidi, lekove koji modifikuju tok bolesti (LMB): metotreksat, hidroksihlorokin, sulfosalazin i biološke lekove: etanercept, infliksimab, adalimumab, anakinra, tocilizumab.

Obzirom da postoje dokazi da u određenim podtipovima JIA, već na početku bolesti dolazi do pojave destrukcije zglobova, najnovije preporuke američkog koledža za reumatologiju (ACR) savetuju što agresivniji pristup i ranije uvođenje lekova koji modifikuju tok bolesti, pa čak i biološke terapije ukoliko nema adekvatnog terapijskog odgovora na LMB (3). NSAIL (Naproksen, Ibuprofen, Indometacin) su efikasni samo kod malog broja JIA bolesnika (kod 25-30%), uglavnom sa oligoartikularnim tipom bolesti i karakteriše ih izuzetno dobra podnošljivost. Ukoliko nema adekvatnog terapijskog odgovora posle 4 do 6 nedelja kod oligoartikularnog oblika indikovana je intraartikularna instilacija depo preparata kortikosteroida

(triamcinolon-heksacetonida) koja se pokazala vrlo efikasnom u terapiji ovog oblika JIA (91) (Slika 4).

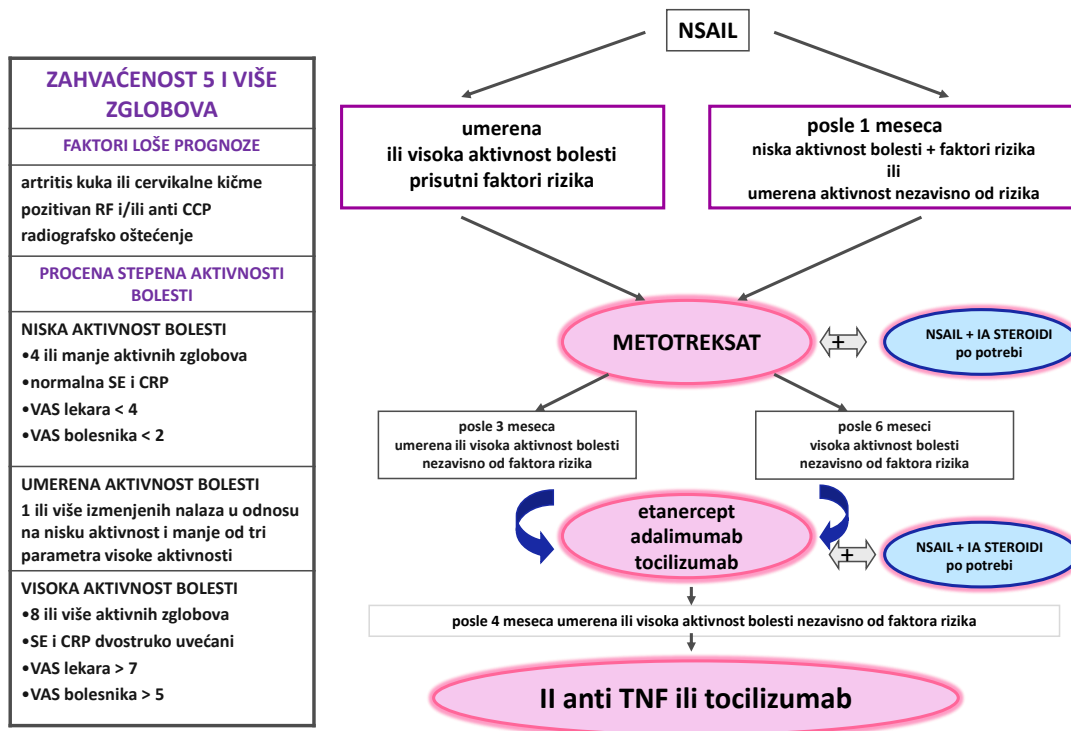
OLIGOARTIKULARNI JIA



Slika 4. Prikaz savremenog koncepta lečenja oligoartikularnog JIA modifikovano iz Beukelman T et al. 2011 American College of Rheumatology recommendations for the treatment of juvenile idiopathic arthritis. Arthritis Care Res 2011;63(4):465-82.

Pacijente koji razviju prošireni oligoartritis ili ne odgovore na ove terapijske mere treba lečiti po algoritmu za poliartritis (Slika 5). Ovi pacijenti imaju najlošiju prognozu i treba ih lečiti što ranije i što agresivnije uključujući ranu primenu metotreksata (MTX) i anti-TNF lekova, posebno ukoliko ne postignu adekvatan terapijski odgovor ili imaju gastričnu nepodnošljivost na metotreksat (92). Metotreksat (analog folne kiseline) je pokazao visoku terapijsku efikasnost i bezbednost i predstavlja "zlatni standard" u lečenju JIA. Optimalna terapijska doza metotreksata je 10–20mg/m² jedanput nedeljno oralno. Ukoliko postoji gastrična intolerancija, koja je relativno je česta, lek se daje uveče pred spavanje ili se dodaje folna kiselina i antiemetici ili se MTX daje parenteralno subkutano. Pojava fibroze jetre ili pluća izuzetno je retka, čak i kod dugogodišnje upotrebe (93).

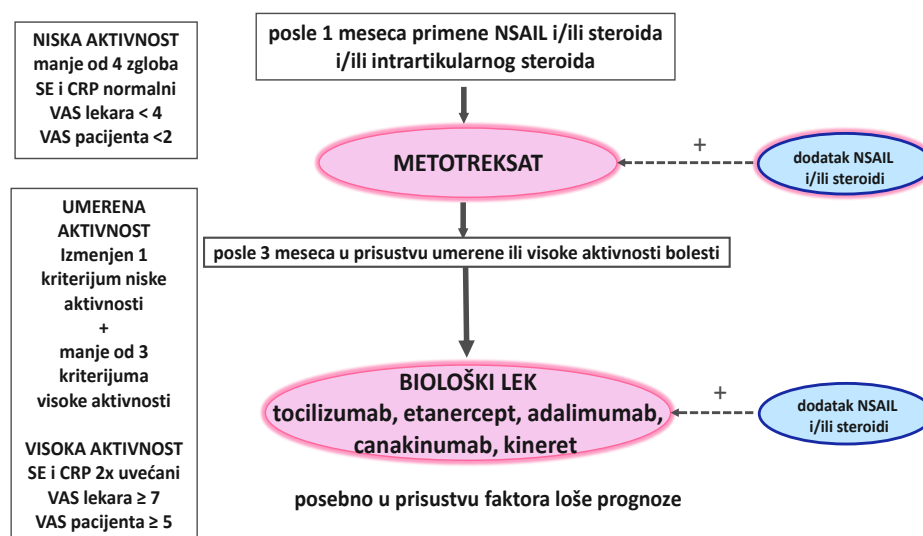
POLIARTIKULARNI JIA



Slika 5. Prikaz savremenog koncepta lečenja poliartikularnog JIA modifikovano iz Beukelman T et al. 2011 American College of Rheumatology recommendations for the treatment of juvenile idiopathic arthritis. Arthritis Care Res 2011;63(4):465-82.

Kod ERA pacijenata kao LMB se uvodi sulfosalazin, koji se daje u dozi od 30 do 50 mg/kg podeljen u dve doze. Lek se postepeno uvodi (najpre se daje četvrtina pune doze) da bi se ispitala osetljivost pacijenta, pa se postepeno povećava sve do pune doze koja se postiže za 2 do 3 nedelje. Smatra se relativno netoksičnim lekom i dobro se toleriše. Ukoliko sulfosalazin ne dovede do remisije bolesti indikovano je uvođenje biološke terapije. Kod psorijaznog artritisa lečenje zavisi od kliničkih manifestacija bolesti. Psorijazni JIA se može prezentovati kao oligoartikularna ili poliartikularna forma bolesti ili kao artritis sa entezitisima, te se primenjuju terapijski algoritmi koji najviše odgovaraju primarnoj kliničkoj prezentaciji. Kod opsežnih kožnih promena sa intenzivnim poliartritisom odlični rezultati se postižu primenom MTX i bioloških lekova. Revolucionarno otkriće bioloških lekova je u mnogome promenilo tok i ishod JIA bolesnika sa sistemskim podtipom bolesti (94). Upotreba sistemskih kortikosteroida u pedijatrijskoj reumatologiji zbog velikog broja neželjenih efekata se izbegava. Najbezbedniji način je jednokratno dnevno davanje najmanje moguće doze leka sa modelom alternativnog davanja (na drugi dan) u što kraćem vremenskom periodu. Njihova primena je jedino opravdana samo ukoliko efekti terapije imaju prevagu nad neželjenim dejstvima.

SISTEMSKI JIA SA AKTIVNIM ARTRITISOM BEZ SISTEMSKIH MANIFESTACIJA



Slika 6. Prikaz savremenog koncepta lečenja sJIA

modifikovano iz Beukelman T et al. 2011 American College of Rheumatology recommendations for the treatment of juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Care Res* 2011;63(4):465-82.

1.6.1. Biološki lekovi u lečenju JIA

Brojna istraživanja imunoloških etiopatogenetskih mehanizama u nastanku JIA i razvoj biotehnoloških procesa doprinela su dostupnosti novih terapijskih sredstava, koja modifikuju imunološki odgovor u reumatskim bolestima delujući direktno na citokine ili signalne molekule regulacije funkcije B i T ćelijskog odgovora (95). Nazvani su biološkim lekovima, jer pripadaju grupi različitih proteina koji regulišu produkciju i funkciju jedinjenja i molekula nastalih u procesu regulacije imunog odgovora. Citokini su biološki molekuli i svoje efekte ostvaruju slično hormonima, vezivanjem za receptore visokog afiniteta na ćelijskim membranama ciljnih ćelija koji omogućuju prenos signala i koordinaciju imunskog odgovora, kao i proces remodelovanja i angiogeneze. Citokinski receptori se mogu otpuštati u cirkulaciju i imati solubilnu formu, tako da se kasnije u cirkulaciji mogu vezivati za odgovarajući citokin.

Zbog toga su upravo i inhibitori TNF- α najznačajniji u lečenju obolelih od JIA, izuzev kod sistemske forme JIA, gde je upravo primena bioloških lekova koji blokiraju IL-1 (Anakinra) i IL-6 (Tocilizumab) dala povoljan terapijski odgovor i dokazala da ključnu ulogu u nastanku ovog autinflatarnog procesa imaju citokini IL-1 i IL-6 i ukazala na novi koncept etiopatogeneze ovog oblika JIA (94).

Različiti anti TNF lekovi se nalaze nekoliko poslednjih godina u kliničkoj upotrebi u reumatskim bolestima. TNF inhibicija podrazumeva vezivanje za cirkulišući TNF- α čime se onemogućava njegovo vezivanje za TNF receptore na ćelijskim membranama i zaustavlja se inflamatorni proces. Blokada TNF- α se postiže upotrebom monoklonskih anti TNF antitela: infliksimab (Remicade) i adalimumab (Humira) i upotrebom solubilnih TNF receptora: etanercept (Enbrel).

Etanercept je prvi biološki lek odobren za lečenje JIA je od strane FDA (96) i to nakon objavljenih rezultata Lovellove studije (97) koji su ukazali na njegovu znatno veću efikasnost od metotreksata kod obolelih sa poliartikularnim JIA koji su imali gastričnu intoleranciju ili nisu postigli zadovoljavajući terapijski odgovor na LMB. Etanercept je solubilni TNF- α receptor i predstavlja fuzioni protein (dimer) koji se sastoji od dva TNF receptora - TNF RII (p75) povezanih jednim Fc fragmentom humanih imunoglobulina IgG1. Lek se vezuje za solubilni TNF- α , čime je blokirano vezivanje ovog citokina za TNF- α ćelijski receptor i pokretanje efektivnog imunog odgovora (91). U kliničkim studijama i tokom višegodišnje primene dokazana je njegova visoka terapijska efikasnost u lečenju svih podtipova poliartikularnog JIA, osim nešto slabije efikasnosti u sistemske forme JIA, koji se kasnije i izdvojio kao poseban podtip JIA koji zahteva uvođenje bioloških lekova sa drugačijim mehanizmom delovanja. Prve studije o primeni etanercepta u dece sa poliartikularnim JIA pokazala su značajno kliničko poboljšanje nakon četvorogodišnje i osmogodišnje kontinuirane primene (98, 99). Obzirom da su biološki lekovi monoklonska antitela koja modulišu imuni odgovor, očekivana je pojava neželjenih efekata, te se javila potreba za uvođenjem nacionalnih bioloških registara koji će omogućiti praćenje bezbednosnog profila ove terapije. Najčešći neželjni efekti jesu: reakcija nakon aplikacije leka, alergijski kožni osip i povećana sklonost ka infekcijama. Teži neželjeni efekti poput ozbiljnih i oportunističkih infekcija (sepsa, tuberkuloza), pojava sekundarnih maligniteta i autoimunosti (lupus like sindrom, demijelinizacija) su na sreću izuzetno retki (100). Nemački i Danski registar pokazali su visoku bezbednost i veliku terapijsku efikasnost (101, 102). Naime, dokazali su da se pozitivan efekat leka održavao dve godine nakon primene terapije, posebno ukoliko se davao zajedno sa metotreksatom. Primenuje se kao subkutana injekcija dva puta nedeljno u dozi od 0,4 mg/kg pro dosis, a pozitivan terapijski odgovor očekuje se nakon 3 do 4 nedelje. Posebna prednost ove terapije jeste konformnost i mogućnost ambulantne primene kroz dnevnu bolnicu uz redovne kontrole.

Infliximab predstavlja himera miš/čovek monoklonsko antitelo visokog afiniteta vezivanja za TNF. Za razliku od etanercepta blokira i solubilni i za membranu vezan TNF- α . Primenuje se u infuziji u dozi od 3-6 mg/kg (maksimalno 100 mg) svakih 4 do 8 nedelja, a

terapijski odgovor se očekuje nakon mesec dana. Primena infliksimaba je odobrena kod spondiloartropatija, inflamatorne bolesti creva, psorijaznog artritisa i uveitisa (91). Dokazana je veća efikasnost primene infliksimaba od etanercepta u terapiji kod JIA sa uveitisom (103). Čak postoje dokazi da primena etanercepta kod JIA može indukovati pojavu uveitisa "de novo", ili može dovesti do relapsa bolesti (104). Odobrenje za zvaničnu upotrebu kod JIA formalno ne postoji, ali je efikasnost njegove primene u ovih pacijenata dokazana. Na to su ukazali rezultati PRINTO (Pediatric Rheumatology International Trial Organisation) studije gde je Infliksimab ordiniran u dozi od 3 do 6 mg/kg kod JIA pacijenata sa poliartritisom (105) koji nisu imali adekvatan terapijski odgovor na primenu metotreksata. Međutim primećena je učestala pojava infuzijskih reakcija, od lakšeg osipa pa sve do anfilaktoidnih reakcija. Infliksimab ima veliki imunogeni potencijal, zbog prisustva mišjih komponenti u molekulu, što indukuje pojavu humanih anti himera antitela i smanjuje njegovu terapijsku efikasnost uz pojavu neželjenih efekata (106). Pojava antitela je ređa ukoliko se primenjuje u dozi od 6 mg/kg, te je zbog toga preporučeno doziranje u dece drugačije nego u odraslih i treba ga davati od 6 do 10 mg/kg pro dosis (107).

Adalimumab je potpuno humanizovano antitelo koje se vezuje za solubilni i membranski TNF. FDA ga je odobrio za upotrebu kod dece sa umerenim i teškim oblikom poliartrikularnog JIA. Daje se subkutano i to kod dece do 12. godine u dozi od 24 mg /m² površine tela, do maksimalne pojedinačne doze od 40 mg koja se primenjuje svake druge nedelje kao subkutana injekcija. Za adolescente od 13. godine doza od 40 mg se primenjuje svake druge nedelje nezavisno od površine tela. Njegova efikasnost je dokazana studijom Lovella i sar. (108) kod JIA pacijenata koji nisu odgovorili na terapiju metotreksatom, što su kasnije potvrdili Ruperto i saradnici kod JIA pacijenata sa poliartritisom koji nisu postigli zadovoljavajući terapijski efekat na primenu LMB i drugih anti TNF inhibitora (109). Nemačka grupa autora je dokazala njegovu bezbednost i efikasnost kod JIA poliartritisa kod kojih je izostao povoljan klinički odgovor na predhodno korišćenu biološku terapiju (110). Mnogobrojna dosadašnja istraživanja su potvrdila bolju efikasnost adalimumaba u poređenju sa infliksimabom kod JIA uveitisa (111), kao i dobar terapijski odgovor primene adalimumaba kod refraktarnih JIA uveitisa (112), iako je upotreba u ovim indikacijama off label. Simonini i saradnici su dokazali bolju efikasnost adalimumaba u lečenju uveitisa sa JIA ukoliko se koristi kao prvi biološki lek u pacijenata koji ranije nisu bili lečeni biološkom terapijom (113).

Tocilizumab predstavlja monoklonsko antitelo koji svoje efekte ostvaruje blokiranjem IL 6. FDA ga je odobrio za upotrebu kod dece do 2. godine sa sistemskim oblikom JIA, kao i kod dece starije od 2. godine sa poliartrikularnom formom bolesti. Primenjuje se u jednosatnoj

infuziji u dozi od 8–12 mg/kg svake 2 do 4 nedelje. Na njegovu efikasnost i bezbednost primene kod pacijenata sa sistemskim JIA su ukazali Yokota i sar. (114), a kod poliartiknog oblika Brunner i sar. (115). Efikasnost mu je ista nezavisno od toga da li se daje kao monoterapija ili kao kombinovana terapija sa metotreksatom (116).

1.7. Procena aktivnosti bolesti, terapijske efikasnosti i kriterijumi kliničke remisije

Mnoge kliničke manifestacije, koje se razlikuju kako među različitim tipovima bolesti tako i među obolelima sa istim podtipom bolesti zahtevali su formiranje jedinstvenog načina procene težine i stanja bolesti. Zbog toga su razvijeni parametri na osnovu kojih se može pouzdano proceniti aktivnost bolesti i odgovor na terapiju i nazivaju se ACR PEDI kriterijumi (117). Oni definišu poboljšanje ili pogoršanje bolesti u zavisnosti od procentualne promene svakog od šest parametara koji ulaze u procenu:

1. globalna procena lekara (vizuelnom analognom skalom - VAS) čija se vrednost može kretati od 0–100 mm;
2. globalna procena pacijenta/roditelja (vizuelnom analognom skalom - VAS) čija se vrednost može kretati od 0-100 mm;
3. broj aktivnih zglobova (aktivnim se smatra zglob koji ispunjava dve od sledeće tri karakteristike: otok, bol na palpaciju i ograničen obim pokreta zgloba);
4. broj zglobova sa ograničenom pokretljivošću;
5. procena funkcionalne sposobnosti na osnovu upitnika za procenu funkcionalne sposobnosti CHAQ (Childhood Health Assessment Questionnaire) čija se vrednost može kretati od 0 – 3;
6. sedimentacija ili CRP.

VAS skala predstavlja liniju dužine 100 mm (od 0 do 100 mm), gde se povlačenjem vertikalne linije procenjuje aktivnost bolesti u poslednjih nedelju dana. Što su vrednosti, koje se izražavaju u mm, bliže 0 bolest je manje aktivna, a što su bliže suprotnom kraju skale bolest je aktivnija. Popunjavaju se od strane lekara i pacijenta, odnosno roditelja.

CHAQ (Childhood Health Assessment Questionnaire) upitnik se sastoji iz 8 segmenata pitanja kojima su obuhvaćene uobičajene aktivnosti svakodnevnog života i služi za procenu funkcionalnog statusa pacijenta. Ocene se kreću od 0–3, pri čemu veći zbir označava i veći stepen nesposobnosti. Upitnik je predviđen za decu uzrasta od 5 godina i starije, popunjava ga

jedan od roditelja, ocenjujući sposobnost svog deteta u poslednjih 7 dana. Posebno pitanje se odnosi na jačinu bola koju je dete imalo i popunjava se pomoću VAS skale bola (118, 119).

Šematski prikazi zglobova koji služe za procenu aktivnog artritisa (AA) i ograničene pokretljivosti zglobova (LOM) su standardizovani i međunarodno prihvaćeni u svakodnevnom radu pedijatrijskog reumatologa. Služe za procenu svih 76 zglobova, gde za svaki pojedinačni zglob obostrano postoji polje kojim se označava da li u pregledanom zglobu postoji bol, otok i ograničena pokretljivost. Da bi definisali postojanje aktivnog artritisa neophodno je da 2 od pomenuta 3 kriterijuma budu prisutna: bol, otok, ograničena pokretljivost.

Poboljšanje bolesti definiše se kao ACR Pedi 30% (ili 50% ili 70% ili 90% ili 100%) ukoliko je u najmanje tri od šest definisanih varijabli prisutno poboljšanje za odgovarajući procenat, a da pri tome nema pogoršanja od 30% ili više u ne više od jedne varijable.

Pogoršanje bolesti definiše se ako je prisutno pogoršanje od 30% (ili 50% ili 70%) u tri od šest varijabli koje se procenjuju.

Poslednjih godina je za procenu aktivnosti bolesti u upotrebi instrument JADAS (Juvenile Arthritis Disease Activity Score) (120), koji je italijanska grupa autora osmislila po ugledu na upitnik DAS 28 (Disease Activity Score) koji se upotrebljava u reumatoidnom artritisu. U pedijatrijskoj reumatologiji ima namenu da jedna numerička vrednost izražava ukupnu aktivnost bolesti, što omogućava realniju procenu i mogućnost poređenja aktivnosti bolesti i terapijski efekat kod pacijenata sa JIA. JADAS obuhvata procenu 4 parametara:

1. globalna procena lekara (vizuelnom analognom skalom – VAS) čija se vrednost može kretati od 0–100 mm;
2. globalna procena pacijenta/roditelja (vizuelnom analognom skalom – VAS) čija se vrednost može kretati od 0–100 mm;
3. broj aktivnih zglobova (aktivnim se smatra zglob koji ispunjava dve od sledeće tri karakteristike: otok, bol na palpaciju i ograničen obim pokreta zgloba);
4. sedimentacija ili CRP.

Bitno je istaći da se vrednost sedimentacija standardizuje u rasponu od 0 do 10 i izračunava prema sledećoj formuli: $SE \text{ (mm/sat)} - 20/10$. Pre izračunavanja bitno je izvršiti konverziju vrednosti SE i to na način da ukoliko je vrednost SE manja od 20 onda joj dodeljujemo vrednost 0, i ukoliko je vrednosti SE preko 120 dodeljujemo joj vrednost 120. JADAS se izračunava kao prosti zbir 4 komponente, gde je moguće dobiti sledeće sume: 0–57, 0–101, i 0–40 za JADAS-27, JADAS-71, JADAS-10 (121). Numeričke vrednosti uz JADAS označavaju broj zglobova koji su ušli u definitivan skor.

Procena aktivnosti bolesti kod JIA pacijenata je veoma bitna, jer se radi o hroničnoj bolesti sa smenjivanjem perioda potpune ili delimične remisije. Zahvaljujući Wallace i sar. (122), ustanovljeni su kriterijumi za definisanje inaktivne bolesti, kliničke remisije na lekovima i kliničke remisije bez lekova koji su kasnije modifikovani (123). Prema ovim kriterijumima inaktivnu bolest imaju pacijenti bez aktivnog artritisa i bez sistemskih manifestacija bolesti (bez temperature, osipa, serozitisa, splenomegalije ili generalizovane limfadenopatije kao posledice JIA), bez uveitisa, sa normalnim vrednostima parametara akutne faze zapaljenja i sa VAS lekara koja ukazuje na neaktivnu bolest. Ukoliko je bolest inaktivna 6 meseci dok je pacijent na terapiji smatramo da je pacijent u kliničkoj remisiji na lekovima. Ukoliko je bolest inaktivna tokom 12 meseci od prestanka upotrebe lekova smatramo da je pacijent u kliničkoj remisiji bez lekova. Obzirom da su novija istraživanja pokazala da u definiciju inaktivne bolesti ne ulazi percepcija aktivnosti bolesti roditelja odnosno deteta, već samo lekara i parametra inflamacije (124) i da je teško postići kriterijume inaktivne bolesti po Wallacu posebno za poliartritis javila se potreba za uvođenjem novog termina minimalne aktivnosti bolesti (125). Koristeći ovu činjenicu Consolaro i saradnici su jasno dali cut-off vrednosti JADAS-a za definisanje remisije, minimalne aktivnosti bolesti i prihvatljivog kliničkog stanja (126, 127), što će sa sigurnošću omogućiti lakše praćenje evolucije bolesti, lečenja i terapijskog odgovora kod ovih pacijenata.

1.8. Prognoza JIA

JIA je još uvek neizlečiva bolest. Primarni ciljevi terapije su kontrola aktivnosti bolesti u cilju očuvanja funkcije zglobova, normalnog rasta i razvoja, sprečavanje nastanka trajnih oštećenja zglobova i nastanka radne nesposobnosti. Zbog toga je veoma bitno na vreme postaviti dijagnozu i što agresivnije započeti sa adekvatnom terapijom. To je potvrdilo istraživanje Fantinija i sar. (128) koji su pokazali da su erozije zglobova u dece sa JIA značajno manje ukoliko se ranije započne agresivnija terapija, kao i da odlaganje terapije smanjuje mogućnost postizanja remisije. Ranije se verovalo da JIA prestaje nakon puberteta, ali danas je opšte poznata činjenica da bolest ima hroničan karakter i da je aktivna bolest prisutna tokom celog života kod više od 50% dece i da samo 20% njih nema tegobe dve godine nakon prestanka terapije, dok samo 5% bude bez simptoma i tegoba nakon 5 godina od završetka lečenja (5). Ovi podaci jasno ukazuju zbog čega deca sa ovom bolešću moraju biti kontinuirano na terapiji, kao i neophodnost primene savremenog terapijskog pristupa kako bi se bolest kontrolisala i sprečilo trajno oštećenje zglobova. Uvođenje biološke terapije i

dosadašnja decenijska pozitivna iskustva su u mnogome promenila tok i ishod bolesti ovih pacijenta.

Naše decenijsko iskustvo upotrebe biološke terapije je ukazalo na visok stepen terapijske efikasnosti i bezbednosti kod najmlađih bolesnika, što je u skladu sa rezultatima drugih evropskih zemalja. Naime, Nemci i Danci su dokazali da se pozitivan efekat biološke terapije održavao dve godine nakon primene terapije, posebno ukoliko su se biološki lekovi primenjivali u kombinaciji sa metotreksatom (101, 102). Na slične rezultate su ukazali podaci ReACCh-Out kanadskog registra (129) gde su bolesnici nakon 2 godine zbog postizanja inaktivne bolesti mogli da prekinu lečenje biološkom terapijom. Nemačka grupa autora je ukazala na podjednaku efikasnost lečenja adalimumabom kao prvog anti TNF leka kod biološki naivnih JIA bolesnika, kao i kod onih koji su već lečeni biološkom terapijom, ali su zbog neefikasnosti prešli na lečenje adalimumabom (110). Na efikasnost lečenja biološkim lekovima su ukazali i podaci iz BIKER registra (130).

II CILJEVI ISTRAŽIVANJA

1. Ispitivanje potencijalnog prediktivnog kliničkog značaja genetskih biomarkera na mogućnost postizanja povoljnog terapijskog odgovora i remisije kod dece sa JIA.
2. Ispitivanje prisustva, distribucije i značaja učestalosti alela i genotipova polimorfizama TNF- α -308 gena za faktor nekroze tumora (TNF) i FokI gena za vitamin D receptor (VDR) kod dece sa različitim podtipovima JIA.
3. Uticaj i značaj učestalosti genetskih polimorfizama TNF- α -308 gena za faktor nekroze tumora (TNF) i FokI gena za vitamin D receptor (VDR) na težinu bolesti kod dece obolele od različitih podtipova juvenilnog idiopatskog artritisa.
4. Ispitivanje značaja udruženog prisustva genetskih polimorfizama TNF- α -308 gena za faktor nekroze tumora (TNF) i FokI gena za vitamin D receptor (VDR) kod dece sa JIA na ishod bolesti nakon dugoročnog praćenja.

III RADNE HIPOTEZE

1. Određivanje prisustva genetskih polimorfizama TNF α -308 gena za faktor nekroze tumora (TNF) i FokI gena za vitamin D receptor (VDR) može imati prediktivni značaj za postizanje remisije u JIA.
2. Prisustvo genetskih polimorfizama TNF α -308 gena za faktor nekroze tumora (TNF) i FokI gena za vitamin D receptor (VDR) može uticati na dugoročni terapijski odgovor u JIA.

IV MATERIJAL I METODE ISTRAŽIVANJA

Ispitivanje je organizovano kao kombinovana prospektivna i retrospektivna studija preseka i ishoda bolesti u kome su analizirani podaci o aktivnosti bolesti tokom šestogodišnjeg perioda praćenja dece obolele od juvenilnog idiopatskog artritisa (JIA) koja su lečena primenom bioloških lekova.

Istraživanje je sprovedeno u sledećim ustanovama, tj. njihovim organizacionim jedinicama:

1. Klinici za dečije interne bolesti, Kliničkog centra u Nišu, Medicinskog fakulteta Univerziteta u Nišu,
2. Naučnoistraživačkom Centru za biomedicinu, Medicinskog fakulteta Univerziteta u Nišu
3. Institutu za reumatologiju Medicinskog fakulteta u Beogradu

Istraživanje je sprovedeno u okviru projekta “Preventivni, terapijski i etički pristup prekliničkim i kliničkim istraživanjima gena i modulatora redoks ćelijske signalizacije u imunskom, inflamatornom i proliferativnom odgovoru ćelije“ Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja br. 41018 (Ministarstvo nauke RS 2011-2014).

Tokom istraživanja poštovani su principi Helsinške deklaracije i preporuke dobre kliničke prakse (GCP). Etički komitet Medicinskog fakulteta u Nišu dao je saglasnost za sprovođenje istraživanja.

Svi ispitanici su pre uključivanja u istraživanje bili informisani o ciljevima i dizajnu istraživanja. Za svakog maloletnog ispitanika je obezbeđena pisana saglasnost roditelja ili zakonskog zastupnika o učestvovanju u ovom istraživanju. Pored toga, pisani pristanak je obezbeđen i od strane maloletnih ispitanika koji su stariji od 10 godina i koji su razumeli ciljeve i postupke istraživanja.

4.1. Protokol istraživanja i ispitanici

U istraživanje su uključivana deca obolela od JIA koja su lečena primenom bioloških lekova i za koju su detaljni podaci o kretanju aktivnosti bolesti postojali u registru za period od punih šest godina. Naše istraživanje nije obuhvatilo bolesnike sa aktivnim sistemskim manifestacijama sistemskog podtipa juvenilnog idiopatskog artritisa

Dijagnoza JIA kao i specifičnog podtipa bolesti postavljena je na osnovu ILAR kriterijuma (1).

Kriterijumi uključenja u istraživanje bili su:

1. uzrast od 4-25 godina
2. definitivna dijagnoza JIA na osnovu ILAR kriterijuma, postavljena pre 16. godine života
3. prethodno ili sadašnje lečenje lekovima koji modifikuju tok bolesti (LMTB) koji nakon 6 meseci primene nisu doveli do remisije bolesti
4. započeto lečenje biološkim lekom, zbog perzistentne aktivnosti bolesti
5. potpisani pristanak za učešće u istraživanju

Protokol prikupljanja podataka bio je u skladu sa ranije dogovorenom kliničkom praksom prikupljanja podataka za Nacionalni registar obolelih od JIA koji se leče biološkim lekovima. Ovaj protokol podrazumevao je redovno sistematsko prikupljanje podataka.

Pacijenti koji su ispunili kriterijume uključenja u istraživanje tokom šestogodišnjeg praćenja su klinički i laboratorijski opservirani na svaka tri meseca od početka uvođenja biološke terapije. Tom prilikom su kontinuirano prikupljeni podaci u skladu sa protokolom istraživanja za svakog pacijenta i to:

- a) osnovni demografski podaci (datum rođenja, pol)
- b) osnovni podaci o bolesti (uzrast na početku bolesti, tip JIA, dužina trajanja bolesti pre uvođenja biološke terapije, dosadašnje lečenje – konkomitantna terapija, uzrast kada je započeto lečenje biološkim lekovima, dužina primene biološke terapije, tok bolesti i pojava neželjenih efekata)
- c) redovna tromesečna procena aktivnosti bolesti i terapijske efikasnosti koja je određivana primenom međunarodno usvojenih ACR Pedi kriterijuma (117) koji definišu poboljšanje ili pogoršanje bolesti u zavisnosti od procentualne promene svakog od šest parametara koji ulaze u procenu. Na osnovu ACR Pedi kriterijuma poboljšanje bolesti definiše se kao ACR Pedi 30% (ili 50% ili 70% ili 90% ili 100%) ukoliko je u najmanje tri od šest definisanih varijabli prisutno poboljšanje za odgovarajući procenat, a da pri tome nema pogoršanja od 30 % ili više u ne više od jedne varijable. Pogoršanje bolesti definiše se ako je prisutno pogoršanje od 30% (ili 50% ili 70% ili 90% ili 100%) u tri od šest varijabli koje se procenjuju, a to su:

1. globalna procena lekara (vizuelnom analognom skalom – VAS) čija se vrednost može kretati od 0–100 mm;
2. globalna procena pacijenta/roditelja (vizuelnom analognom skalom – VAS) čija se vrednost može kretati od 0–100 mm;
3. broj aktivnih zglobova (aktivnim se smatra zglob koji ispunjava dve od sledeće tri karakteristike: otok, bol na palpaciju i ograničen obim pokreta zgloba);
4. broj zglobova sa ograničenom pokretljivošću;
5. procena funkcionalne sposobnosti na osnovu upitnika za procenu funkcionalne sposobnosti CHAQ (Childhood Health Assessment Questionnaire) čija se vrednost može kretati od 0 – 3;
6. sedimentacija ili CRP.

d) vrsta i dužina lečenja određenim biološkim lekom

e) redovna tromesečna kontrola laboratorijski parametara za praćenje bezbednosti primenjene terapije

f) redovna tromesečna procena da li je postignuta remisija bolesti u skladu sa kriterijumima Wallace i sar. (5) prikazana je na Tabeli 2.

Uzorci krvi bez antikoagulansa centrifugirani su 10 minuta na 3500 obrtaja i temperaturi +4°C, nakon čega je odvojen serum, u kome je određivan nivo C reaktivnog proteina na biohemijском analizatoru IL 300 (Biosystems).

Tabela 2. Kriterijumi remisije JIA koji su korišćeni u studiji

| Kriterijum definicija | |
|--------------------------------------|---|
| Kriterijumi | bez aktivnog sinovitisa bez temperature, osipa, serozitisa, splenomegalije ili generalizovane limfadenopatije kao posledice JIA bez aktivnog uveitisa normalna vrednost SE i/ili CRP VAS lekara ukazuje na neaktivnu bolest |
| Neaktivna bolest | Ispunjeni svi gore navedeni kriterijumi |
| Klinička remisija na lekovima | 6 uzastopnih meseci ispunjenosti kriterijuma neaktivne bolesti |
| Klinička remisija bez lekova | 12 uzastopnih meseci ispunjenosti kriterijuma neaktivne bolesti bez primene lekova za artritis ili uveitis |

Podaci prikupljeni istraživanjem, posmatrani su i analizirani u dve tačke vremenskog preseka:

- a) nakon 24 meseca primene biološke terapije
- b) nakon 72 meseca (6 godina)

U ovim tačkama vremenskog preseka utvrđivano je da li ispitanik postigao ili nije kriterijume remisije bolesti. Pored ovoga, nakon isteka vremenskog perioda od šest godina ispitanici su grupisani u 3 grupe:

- i) **R grupa (remisija)** – grupa bolesnika koja je postigla remisiju nakon 24 meseca primene biološke terapije zbog čega je bilo moguće prekinuti biološku terapiju. Ispitanici u ovoj grupi ostali su u remisiji bolesti do isteka perioda praćenja (do 72. meseca).
- ii) **RR grupa (remisija-relaps)** – grupa bolesnika koja je postigla remisiju nakon 24 meseca primene biološke terapije zbog čega je bilo moguće prekinuti biološku terapiju. Ispitanici u ovoj grupi su zbog ponovnog pogoršanja bolesti morali ponovo da započnu terapiju biološkim lekom u bilo kom trenutku do kraja perioda praćenja (do 72. meseca).
- iii) **NR grupa (ne remisija)** – grupa bolesnika koja ni u jednom trenutku tokom celog perioda praćenja (do 72 meseca) nije mogla da postigne remisiju bolesti zbog čega je kontinuirano bila nekom od bioloških lekova.

Svi prikupljeni podaci, uključujući i rezultate genetskog polimorfizma analizirani su u zavisnosti od podtipa bolesti. Na osnovu rezultata mnogobrojnih istraživanja na genima histokompatibilnosti koja su dokazala važnu udruženost pojedinih HLA lokusa sa pojavom određenih podtipova JIA (13, 14) što značajno utiče na njihov klinički tok i terapijski odgovor, uticaj genetskih polimorfizama ispitali smo u 4 podgrupe:

- a) grupa pacijenata sa proširenim oligo JIA podtipom i RF- poliartikularnim podtipom (Poly RF-);
- b) grupa pacijenata sa ERA podtipom JIA i psorijaznim JIA (ERA+PsA);
- c) grupa pacijenata sa RF+ poliartikularnim podtipom JIA (Poly RF+) i
- d) grupa pacijenata sa sistemskim oblikom JIA (sJIA).

U skladu sa najnovijim preporukama tokom perioda praćenja JIA bolesnici su redovno išli na oftalmološke kontrolne preglede (80). Tokom prvih 24 meseci pratili smo terapijsku efikasnost i bezbednost primene biološke terapije kod JIA biološki naivnih pacijenata sa

aktivnim uveitisom, kod kojih je prethodno izostao odgovor na standardnu lokalnu topičnu terapiju steroidima i midrijaticima i lekovima koji modifikuju tok bolesti.

Pacijenti su lečeni biološkim lekovima i to: Etanerceptom u dozi od 0,4 mg/kg dva puta nedeljno subkutano ili ukoliko su dobijali Adalimumab u dozi od 24 mg/m²/ svake 2 nedelje subkutano. Tocilizumab su dobijali u dozi od 8–12 mg/kg telesne mase putem jednosatne infuzije svake dve do četiri nedelje. Nastavljeno je sa primenom metotreksata ukoliko su imali dobru podnošljivost leka. Nisu postojala ograničenja primene druge konkomitantne terapije (kortikosteroida i NSAIL).

4.2. Ispitivanje genetskih polimorfizama

Uzorci krvi za genetske analize i utvrđivanje TNF- α -308 i FokI VDR genskog polimorfizma su uzimani neposredno pri uključenju u istraživanje, a nakon dobijanja pristanka za učešće u istraživanju. Iz uzoraka pune krvi sa EDTA kao antikoagulansom, odvojeno je 200 μ l krvi, koja je korišćena za izolaciju DNK.

Izolacija DNK iz uzorka pune krvi vršena je uz pomoć komercijalnog QIAamp DNA Blood Mini Kita (Quiagen GmbH, Hilden, Nemačka). Na dobijenom uzorku DNK, ispitivani su polimorfizmi G-308A za TNF- α i FokI za VDR metodom lančane reakcije polimeraze-polimorfizam dužine restrikcijskih fragmenata (prema eng. Restrictione fragment long polymorphism) (PCR-RFLP) (131, 132).

Amplifikacija gena za TNF- α – Fragment od 117 baznih parova (bp) amplifikovan je korišćenjem ushodnog (5'-AGGCAATAGGTTTTGAGGGCCAT-3') i nishodnog prajmera (5'-ACACTCCCCATCCTCCCTGCT-3'). Reakciona smeša zapremine 25 μ l za PCR sadržala je: 5 μ l Q rastvora, 2,5 μ l 10 x PCR reakcionog pufera (150mM Tris-HCl, pH 8,0, 500mM KCl), 2 μ l (10 mM) dNTP, po 1 μ l prajmera (20 pmol/ μ l), 0,5 U HotStarTaq DNK polimeraze (Qiagen GmbH, Hilden, Nemačka) i 20 ng DNK. Lančano umnožavanje gena vršeno je pod sledećim uslovima: inicijalna denaturacija na 95°C-15 min, praćena sa 35 ciklusa denaturacije na 94°C-1 min, anilingom na 50°C-1 min, elongacijom na 72°C-1min, i terminacijom na 72°C-10 min.

Amplifikacija gena za VDR – Fragment od 265 baznih parova (bp) amplifikovan je korišćenjem ushodnog (5'- AGCTGGCCCTGGCACTGACTCTGCTCT-3') i nishodnog prajmera (5'-ATGGAAACACCTTGCTTCTTCTCCCTC-3'). Reakciona smeša zapremine 25 μ L za PCR sadržala je: 12,5 μ L KAPA 2G Fast HS Ready-Mix PCR kit rastvora (KAPA Biosystems, Nemačka), po 0,5 μ L prajmera (10 pmol/ μ L) (Fermentas, GmbH, St. Leon-Rot,

Nemačka) i 20 ng DNK. Lančano umnožavanje gena vršeno je pod sledećim uslovima: inicijalna denaturacija na 95°C-2 minuta, praćena sa 35 ciklusa denaturacije na 95°C-15 sekundi, anilingom na 60°C-15 sekundi, elongacijom na 72°C-15 sekundi, i terminacijom na 72°C-30 sekundi.

PCR amplifikati proveravani su elektroforezom na agaroznom gelu (2%). Gel je ostavljan 30 minuta u smeši etidijum bromid i 1xTBE (0,5 µg/µL), nakon čega je vršena vizuelizacija DNK fragmenata pod UV zracima.

Nakon potvrđene amplifikacije na agaroznom gelu, PCR amplifikati su metodom restriktivne digestije uz pomoć restriktivnih endonukleaza isecani na manje fragmente, zavisno od prisustva polimorfizama restrikcionog mesta.

1. Restriktivna digestija za TNF- α . Reakciona smeša finalne zapremine 20 µL sadržala je: 2 µL pufera Tango, 1 U NcoI enzima (Fermentas GmbH, St. Leon-Rot, Nemačka), 15 µL PCR amplifikata i dd H₂O do finalne zapremine. Digestija je vršena u vodenom kupatilu na 37°C preko noći.
2. Restriktivna digestija za VDR. Reakciona smeša finalne zapremine 20 µL sastojala se od: 2 µL pufera 10xFAST, 1 U Fast digest FokI enzima (Fermentas GmbH, St. Leon-Rot, Nemačka), 5 µL PCR amplifikata i dd H₂O do finalne zapremine. Digestija je vršena u vodenom kupatilu na 37°C 120 minuta.

Nakon završene digestije, dobijeni DNK fragmenti identifikovani su vertikalnom elektroforezom na 8% poliakrilamid gelu. Gel je pripreman tako što je napravljena smeša koja sadrži 2,66 mL 30% rastvora akrilamida (29:1 akrilamid:N’N’ metilen bisakrilamid u vodi), 1 mL 10x TBE pufera, 6,130 mL dd H₂O. Neposredno pre nalivanja gela, dodati su inicijatori polimerizacije (10% amonijum persulfat-100 µL i TEMED (N,N,N’,N’-tetrametilenetilen-diamin)-10 µL.

Elektroforeza je izvedena u 1xTBE puferu pod sledećim uslovima: jačina struje-20 mA, napon-120 V, vreme-80 min.

Nakon završene elektroforeze, gel je ostavljen 30 min u smeši etidijum bromid i 1xTBE (0,5 µg/µL), nakon čega je vršena vizuelizacija DNK fragmenata pod UV zracima.

Polimorfizam za TNF- α 308: Homozigot za G alel prikazuje se na gelu u vidu dva fragmenta od 97 i 20 bp (normalan genotip, GG), dok se homozigot za A alel (AA) prikazuje kao neisečen fragment veličine 117 bp. Heterozigot (GA) potvrđuje se prisustvom tri fragmenta na gelu (117, 97 i 20 bp).

Polimorfizam FokI za VDR: Homozigot za C (F) alel se na gelu detektuje kao jedan fragment veličine 265 bp (genotip CC ili FF), dok se homozigot za T alel (TT ili ff) prikazuje u vidu dva fragmenta od 169 i 96 bp. Heterozigot (CT ili Ff) potvrđuje se prisustvom tri fragmenta na gelu (265, 169 i 96 bp).

4.3. Statistička obrada

Podaci su prikupljeni i kodirani u bazu podataka. U okviru deskriptivne statistike određena je aritmetička sredina, standardna devijacija, medijana i najmanja i najveća vrednost. Hardy–Weinbergov princip je primenjen radi testiranja frekvenci alela ispitivanih polimorfizama. Za procenu odstupanja učestalosti alela i genotipova korišćen je hi - kvadrat (χ^2) test i Fisher-ov test egzaktno verovatnoće. Za poređenje kontinuiranih promenljivih u dve grupe korišćen je t-test (normalna distribucija podataka) ili Mann - Whitney U testom (kada nije zadovoljena normalnost u distribuciji vrednosti parametara). Za poređenje kontinuiranih promenljivih u 3 i više grupa korišćena je analiza varijanse (ANOVA, za normalnu distribuciju) ili Kruskal-Wallis-ov test (kada nije zadovoljena normalnost u distribuciji vrednosti parametara). Testiranje normalnosti podataka vršeno je Kolmogorov-Smirnov testom. Kondiciona logistička regresiona analiza za uparene podatke je korišćena za testiranje uzročno-posledične povezanosti TNF i VDR genotipova i ishoda terapije. Statističke analize urađene su pomoću softverskog paketa SPSS (verzija 16) na nivou značajnosti $p < 0,05$. Statistička obrada podataka i grafička prikazavanje vršeno je u programskom paketu SPSS 16.0 i Excel MS Office.

V REZULTATI

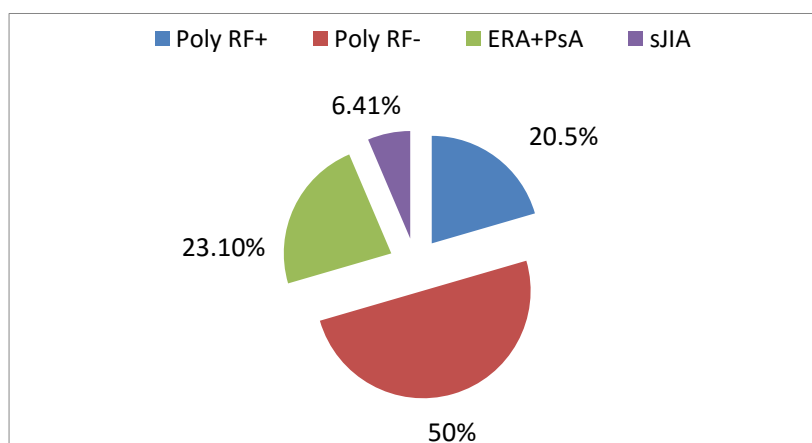
5.1. Demografski podaci ukupne grupe ispitanika

Naše istraživanje obuhvatilo je 78 bolesnika, od čega je 24-oro bolesnika bilo muškog pola (30,80%) i 54 ženskog pola (69,20%). Prosečan uzrast ispitivane populacije u trenutku postavljanja dijagnoze JIA bio je $9,52 \pm 4,74$ godina sa prosečnom dužinom trajanja bolesti pre uvođenja biološke terapije od $65,78 \pm 43,52$ meseci. Detalji demografskih podataka prikazani su u Tabeli 3.

Tabela 3. Demografski podaci svih ispitanika

| Parametar | AS \pm SD | Medijana | Min-Max |
|---|-------------------|----------|-------------|
| Uzrast na početku bolesti (godine) | 9,52 \pm 4,74 | 10,10 | 1,00-16,00 |
| Uzrast na početku lečenja (godine) | 15,27 \pm 5,05 | 15,71 | 4,00-24,00 |
| Dužina bolesti pre biološke terapije (meseci) | 65,78 \pm 43,52 | 56,50 | 9,00-228,00 |
| Dužina biološke terapije (meseci) | 39,71 \pm 19,58 | 36,00 | 12,00-72,00 |
| Dužina terapije MTX (meseci) | 57,40 \pm 42,64 | 51,50 | 0,00-181,00 |
| Dužina postignute remisije (meseci) | 30,33 \pm 21,04 | 31,00 | 0,00-70,00 |
| Srednja doza MTX (mg) | 13,14 \pm 5,03 | 15,00 | 0,00-20,00 |
| Dužina steroidne terapije (meseci) | 19,85 \pm 29,67 | 6,50 | 0,00-180,00 |
| Doza steroida (g) ^Δ | 1,51 \pm 2,89 | 0,15 | 0,00-17,00 |

AS \pm SD- aritmetička sredina \pm standardna devijacija, Min- minimalna vrednost, Max- maksimalna vrednost, MTX- metotreksat, mg- miligrami, g- grami, ^Δ- kumulativna doza kortikosteroida



Poly RF+: poliartikularni RF+ podtip JIA, Poly RF-: oligo JIA i poliartikularni RF- podtip JIA, ERA+PsA : ERA podtip i psorijazni JIA, sJIA grupa: sistemski oblik JIA

Grafik 1. Distribucija JIA podtipova u ispitivanoj grupi pacijenata

U ispitivanoj populaciji bilo je 16 bolesnika (20,50%) koji su ispunjavali kriterijume za postavljanje dijagnoze poliartrikularnog RF+ JIA (Poly RF+), 39 bolesnika (50,00%), poliartrikularnog RF- i proširenog oligoartrikularnog JIA (Poly RF-), 18 bolesnika (23,10%), sindroma entezopatije i artropatije i psorijaznim JIA podtipom (ERA+PsA) i 5 bolesnika (6,40%) sa dijagnozom sistemskog JIA (sJIA) (Grafik 1).

Analizom podataka cele ispitivane grupe bolesnika tokom perioda praćenja većina bolesnika, tačnije njih 68 (81,93%) su lečeni etanerceptom tokom $40,69 \pm 20,78$ meseci, trinaestoro bolesnika je lečeno (15,66%) adalimumabom tokom $30,50 \pm 16,26$ meseci, dok je tocilizumab dobijalo dvoje bolesnika (2,41%) tokom $22,00 \pm 16,96$ meseca. Prosečan period remisije bez primene biološke terapije trajao je $37,18 \pm 18,14$ meseci u celoj observiranoj grupi bolesnika tokom ispitivanog perioda. Zbog pogoršanja osnovne bolesti 33 bolesnika (42,30%) je moralo ponovo da dobije biološki lek, i to njih 20 (25,64%) je ponovo lečeno istim biološkim lekom etanerceptom, dok je 15 (19,23%) bolesnika lečeno adalimumabom.

Tokom perioda praćenja naših bolesnika registrovano je samo prisustvo blažih oblika infekcija. Zabeležen je i jedan smrtni ishod kao ozbiljan neželjeni događaj, nastao kao komplikacija osnovne bolesti usled razvoja sindroma aktivacije makrofaga, a ne primene biološke terapije. Drugih ozbiljnih neželjenih događaja usled primene biološke terapije nije bilo, zbog čega nije bilo dugoročnijeg prekida biološke terapije u ispitivanoj grupi bolesnika.

5.1.1. Demografski podaci ispitanika u zavisnosti od JIA podtipa

Detalji demografskih karakteristika JIA bolesnika u odnosu na podtip bolesti prikazani su Tabeli 4.

Detaljnijom analizom utvrđeno je da nije postojala statistički značajna razlika među grupama podtipova JIA u odnosu na pol, uzrast na početku bolesti i u vreme postavljanja dijagnoze, trajanju bolesti pre početka biološke terapije kao i kumulativnoj primenjenoj dozi kortikosteroida u lečenju. Najmlađi pacijenti u trenutku postavljanja dijagnoze su bili pacijenti sa sistemskim podtipom JIA, dok su najstariji bili pacijenti sa Poly RF+ podtipom.

U odnosu na JIA podtipove utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u primenjenoj dozi MTX-a kojom su bolesnici bili lečeni ($\chi^2=8,54$, $p=0,036$). Srednja doza metotreksata kojom su lečeni bila je najveća u grupi Poly RF+ bolesnika, a najmanja u sJIA grupi. Statistički značajna razlika nađena je i u dužini primene MTX-a i to između sledećih grupa: Poly RF+ grupe, Poly RF- grupe, kao i sJIA grupe bolesnika u odnosu na bolesnike ERA+PsA grupe, koji su najkraće lečeni metotreksatom.

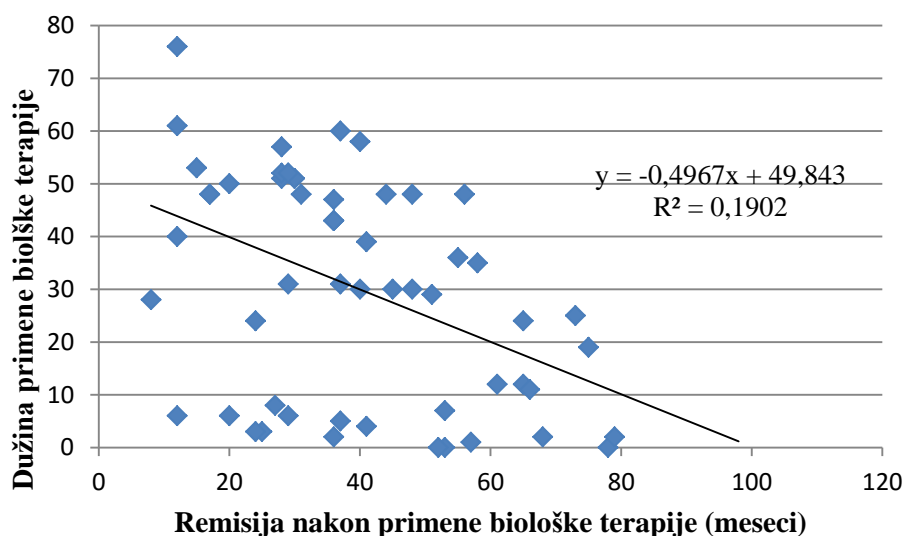
Tabela 4. Demografski podaci JIA podtipova

| Parametar | Poly RF+ | Poly RF- | ERA+PsA | sJIA | F/K | p |
|---|--------------------------|--------------------------|-------------|---------------------------|-------|--------|
| Uzrast na početku bolesti (godine) | 12,00±4,98 ^a | 8,41±4,74 | 10,92±3,06 | 5,45±3,45 ^{b,c} | 11,39 | 0,010* |
| Dužina bolesti pre biološke terapije (meseći) | 57,44±38,30 | 72,59±44,99 | 50,50±33,98 | 94,40±63,36 | 4,92 | 0,177 |
| Dužina terapije MTX (meseći) | 68,12±44,08 ^c | 61,00±37,12 ^c | 27,83±30,72 | 101,40±54,27 ^c | 15,71 | 0,001* |
| Srednja doza MTX (mg) | 16,09±3,76 | 12,51±4,49 ^b | 12,50±6,42 | 10,90±4,5 ^b | 8,54 | 0,036* |
| Dužina terapije steroidima (meseći) | 15,94±23,15 | 18,49±32,65 | 26,06±31,13 | 20,60±20,73 | 1,98 | 0,577 |
| Doza steroida (g) ^Δ | 1,05±1,57 | 0,83±1,59 | 2,33±3,07 | 5,40±7,78 | 3,58 | 0,311 |

Poly RF+: poliartikularni RF+ podtip JIA, Poly RF-: oligo JIA i poliartikularni RF- podtip JIA, ERA+PsA: ERA podtip i psorijazni JIA, sJIA grupa: sistemski oblik JIA, F- analiza varijanse (ANOVA), K- Kruskal Wallis-ov test, MTX-metotreksat, mg- miligrami, g- grami, ^Δ- kumulativna doza kortikosteroida, ^a- vs Poly RF- grupa, ^b- vs Poly RF+ grupa, ^c- vs ERA + PsA, †aritmetička sredina±standardna devijacija, * statistička značajnost

5.1.2. Remisija u celoj grupi ispitanika nakon primene biološke terapije

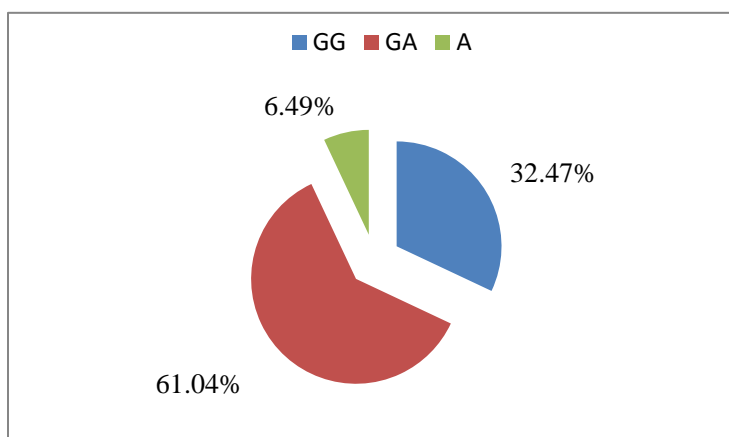
Utvrđeno je da postoji statistički značajna negativna korelacija između dužine postignute remisije i dužine primene biološke terapije u celoj ispitivanoj grupi bolesnika (r= 0,436, p= 0,001) (Grafik 2).



Grafik 2. Korelacija dužine primene biološke terapije i dužine postignute remisije nakon primene biološke terapije

5.2. Distribucija TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizma u celoj grupi ispitanika

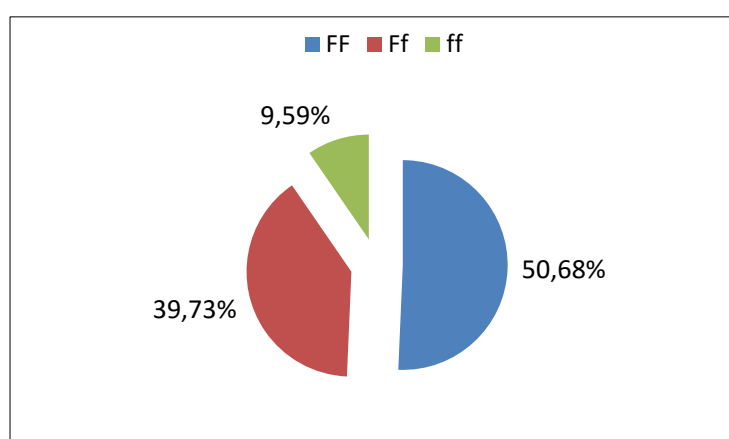
Zastupljenost TNF- α -308 polimorfizma u celoj grupi ispitanika je bila sledeća: 25 bolesnika (32,47%) je imalo homozigotni GG genotip, 47 bolesnika (61,04%) je imalo heterozigotni GA genotip dok je samo 5 bolesnika (6,49%) imalo polimorfni homozigotni genotip (AA) (Grafik 3).



GG- homozigotni GG genotip, GA- heterozigotni GA genotip, AA- homozigotni AA genotip

Grafik 3. Zastupljenost TNF- α -308 polimorfizma u celoj grupi ispitanika

Analiza polimorfizma za FokI VDR pokazala je da 37 bolesnika (50,68%) ima homozigotni FF genotip, 29 bolesnika (39,73%) ima heterozigotni Ff genotip i 7 bolesnika (9,59%) ima polimorfni gen homozigot za f alel (ff). (Grafik 4).



FF- homozigotni FF genotip, Ff- heterozigotni Ff genotip, ff- homozigotni ff genotip

Grafik 4. Zastupljenost FokI VDR polimorfizma u celoj grupi ispitanika

Statističkom analizom distribucije alela za oba genska polimorfizma koji su ispitivani utvrdili smo da je postojala jasna Hardy-Weinberg-ova ravnoteža distribucije koja ukazuje da nije postojala mogućnost pojave neočekivanih događaja koji bi poremetili distribuciju alela u populaciji (Tabela 5).

Tabela 5. Distribucija alela u ispitivanoj populaciji

| <i>TNF (N=77)</i> | frekvencija alela |
|--------------------------------|-------------------|
| f (G) | 0,629 |
| f (A) | 0,370 |
| frekvencije uočenih genotipova | |
| f (GG) | 0,325 |
| f (GA) | 0,610 |
| f (AA) | 0,065 |
| <i>VDR (N=73)</i> | frekvencija alela |
| f (F) | 0,706 |
| f (f) | 0,295 |
| frekvencije uočenih genotipova | |
| f (FF) | 0,507 |
| f (Ff) | 0,397 |
| f (ff) | 0,0959 |

N- broj bolesnika, GG- homozigotni GG genotip, GA- heterozigotni GA genotip, AA- homozigotni AA genotip, FF- homozigotni FF genotip, Ff- heterozigotni Ff genotip, ff- homozigotni ff genotip

5.2.1. Distribucija TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizma u odnosu na JIA podtipove

Nije nađena statički značajna razlika u distribuciji genskih polimorfizama između podgrupa bolesnika sa različitim podtipovima JIA. Za TNF- α -308 polimorfizam $\chi^2=2,841$, $p=0,828$, a za FokI VDR polimorfizam $\chi^2=5,358$, $p=0,499$.

Analiza distribucije polimorfizma gena za TNF- α -308 pokazala je da je u sve četiri posmatrane podgrupe JIA uočeno značajno češće prisustvo heterozigotnog GA genotipa, ali nije postojala statistički značajna razlika u distribuciji TNF- α -308 polimorfizama u odnosu na JIA podtipove ($\chi^2=2,841$, $p=0,828$) (Tabela 6). U grupi Poly RF- bolesnika uočeno je nešto češće prisustvo G alela (u homozigotnom GG ili heterozigotnom GA obliku) i to kod 52% bolesnika sa RF- poliartikularnim podtipom bolesti i 46,8% bolesnika sa proširenim oligoartikularnim oblikom bolesti.

Analiza distribucije polimorfizma gena za FokI VDR pokazala je da je u grupama Poly RF+ kao i ERA+PsA najčešće bio zastupljen heterozigotni Ff (50,00% odnosno 56,20%), dok je kod pacijenata u Poly RF- negativnoj grupi najčešći polimorfizam bio homozigotni FF genotip (61,10%) (Tabela 6).

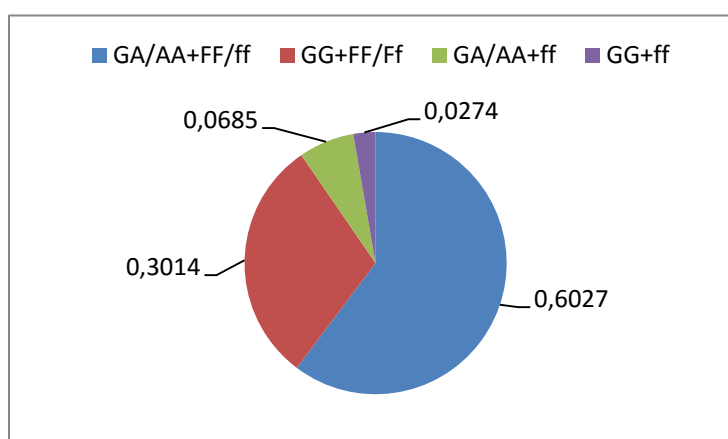
Tabela 6. Distribucija TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizma u odnosu na JIA podtipove

| Polimorfizam | Poly RF+ | Poly RF- | ERA+PsA | sJIA |
|-------------------------|------------|------------|------------|-------------|
| TNF polimorfizam | | | | |
| GG | 3 (18,8%) | 13 (34,2%) | 7 (38,9%)† | 2 (40,0%) |
| GA | 12 (75,0%) | 22 (57,9%) | 10 (55,6%) | 3 (60,0%) |
| AA | 1 (6,2%) | 3 (7,9%) | 1 (5,6%) | 0 |
| VDR polimorfizam | | | | |
| FF | 7 (43,8%) | 22 (61,1%) | 6 (37,5%) | 2 (40,0%) † |
| Ff | 8 (50,0%) | 10 (27,8%) | 9 (56,2%) | 2 (40,0%) |
| Ff | 1 (6,2%) | 4 (11,1%) | 1 (5,6%) | 1 (20,0%) |

Poly RF+: poliartikularni RF+ podtip JIA, Poly RF-: oligo JIA i poliartikularni RF- podtip JIA, ERA+PsA: ERA podtip i psorijazni JIA, sJIA grupa: sistemski oblik JIA, † - n (%)

5.2.2. Distribucija udruženog prisustva kombinacije genotipova za TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizam

U ispitivanoj grupi bolesnika najčešća je bila zastupljenost GA/AA+FF+Ff (60,27%) udružene kombinacije genotipova za TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizam, sa sledstvenim prisustvom GG+FF/Ff (30,14%) i GA/AA+ff (6,85%) kombinacije genotipova, dok je najmanje bila zastupljenost GG+ff (2,74%) udružene kombinacije genotipova za TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizam. (Grafik 5).



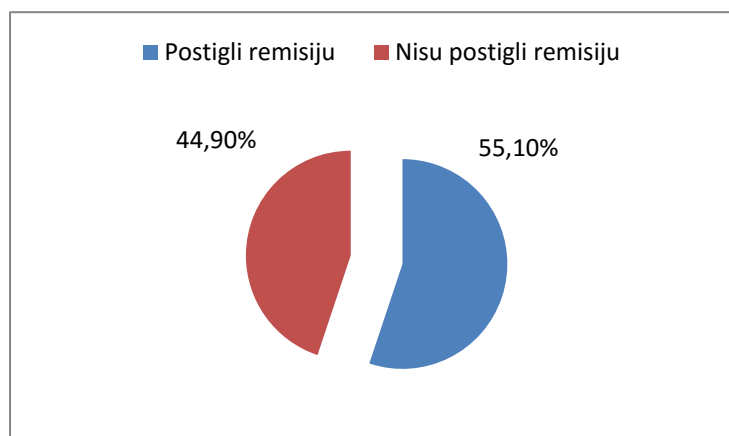
GG+Ff/ff, GA/AA+FF/Ff, GG+ff, GA/AA+ff - udružene kombinacije genotipova za TNF i VDR polimorfizam

Grafik 5. Distribucija udruženih kombinacija genotipova za TNF i VDR polimorfizam

5.3. Rezultati nakon 24 meseca praćenja

5.3.1. Rezultati u zavisnosti od postizanja remisije

Nakon 24 meseca primene biološke terapije remisija je postignuta kod 43 JIA bolesnika (55,10%) dok remisiju nije postiglo 35 bolesnika (44,90%) (Grafik 6).



Grafik 6. Remisija JIA bolesnika nakon 24 meseca primene biološke terapije

Utvrđeno je da nije postojala statistički značajna razlika u učestalosti postizanja remisije u odnosu na pol, uzrast kada je postavljena dijagnoza, dužinu trajanja bolesti pre biološke terapije, dužinu lečenja i srednju primenjivanu dozu metotreksata kao niti u odnosu na dužinu terapije i primenjene doze steroida (Tabela 7).

Tabela 7. Karakteristike bolesnika u zavisnosti od postignute ili ne postignute remisije

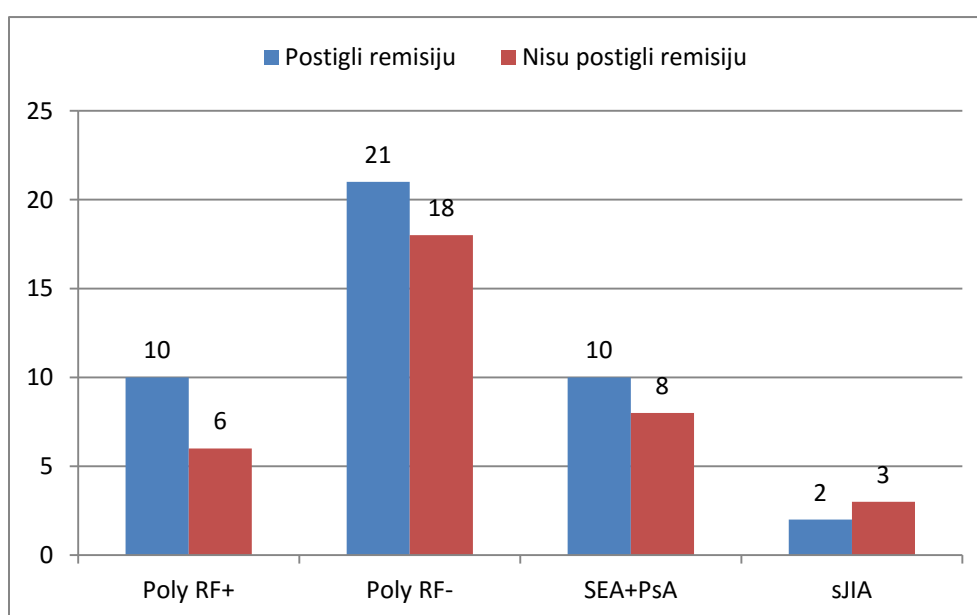
| Parametar | Postigli remisiju | Nisu postigli remisiju | χ^2 /MW | p |
|---|-------------------|------------------------|--------------|-------|
| Pol (M/Ž) | 13/30 | 11/24 | 0,013 | 0,909 |
| Uzrast na početku bolesti (godine) | 10,13±4,30† | 8,66±5,24† | 1,328 | 0,184 |
| Uzrast na početku terapije (godine) | 15,48±4,38 | 14,98±5,94 | 0,193 | 0,847 |
| Dužina bolesti pre biološke terapije (meseci) | 60,86±34,63 | 71,83±52,35 | 0,447 | 0,655 |
| Dužina terapije MTX (meseci) | 55,05±39,73 | 60,29±46,38 | 0,36 | 0,721 |
| Srednja doza MTX (mg) | 13,65±4,58 | 12,51±5,53 | 0,788 | 0,431 |
| Dužina terapije steroidima (meseci) | 16,60±22,02 | 23,83±36,94 | 0,348 | 0,728 |
| Doza steroida (g) ^Δ | 0,76±1,39 | 2,45±3,87 | 1,882 | 0,060 |

M- muški pol, Ž- ženski pol, χ^2 - Hi kvadrat test, MW- Mann-Whitney test, † aritmetička sredina±standardna devijacija, MTX-metotreksat, mg- miligrami, g- grami, ^Δ- kumulativna doza kortikosteroida

5.3.1.1. *Mogućnost postizanja remisije u odnosu na podtip JIA*

Detaljnijom analizom utvrđeno je da nije postojala statistički značajna razlika između JIA podtipova u odnosu na mogućnost postizanja remisije nakon 24 meseca lečenja biološkim lekovima ($\chi^2=0,844$, $p=0,839$).

Nakon 24 meseca primene biološke terapije remisiju je postiglo 10 bolesnika (23,26%) u Poly RF+ grupi, 21 bolesnik (48,83%) u Poly RF- grupi, 10 bolesnika (23,26%) u ERA+PsA grupi i 2 bolesnika (4,65%) u sJIA grupi. U grupi bolesnika koji nisu postigli remisiju njih 6 (17,14%) pripada Poly RF+ podtipu, 18 bolesnika (51,43%) ima Poly RF-, 8 bolesnika (22,85%) je sa ERA+PsA podtipom i 3 bolesnika (8,57%) je sa sJIA (Grafik 7).



Poly RF+: poliartikularni RF+ podtip JIA, Poly RF-: oligo JIA i poliartikularni RF- podtip JIA, ERA+PsA: ERA podtip i psorijazni JIA, sJIA grupa: sistemski oblik JIA

Grafik 7. Postizanje remisije nakon 24 meseca u odnosu na JIA podtipove

5.3.1.2. *Karakteristike JIA podtipova u odnosu na postignutu remisiju*

Kod bolesnika koji su postigli remisiju kao i kod onih koji nisu postigli remisiju nakon 24 meseca primene biološke terapije postojala je statistički značajna razlika u dužini terapije metotreksatom u odnosu na JIA podtipove (Tabela 8). U grupi koja je postigla remisiju statistički značajna razlika u dužini terapije metotreksatom nađena je između podtipova: Poly RF+ grupe u odnosu na ERA+PsA grupu bolesnika i Poly RF- grupu u odnosu na ERA+PsA grupu. Međutim, kod bolesnika koji nisu postigli remisiju statistički značajna razlika postojala je između sJIA i obe ERA+PsA grupe kao i Poly RF- grupe (Tabela 8).

Tabela 8. Karakteristike JIA podtipova u odnosu na postizanje remisije

| Parametri | Poly RF+ | Poly RF- | ERA+PsA | sJIA | p |
|---|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------|--------|
| PACIJENTI KOJI SU POSTIGLI REMISIJU | | | | | |
| Uzrast na početku bolesti (godine) | 12,39±3,81 | 9,12±4,66 | 10,73±3,37 | 6,90±3,55 | 0,154 |
| Uzrast na početku terapije (godine) | 17,60±2,61 | 14,72±4,88 | 15,51±2,79 | 12,00±10,72 | 0,372 |
| Dužina bolesti pre biološke terapije (meseći) | 52,20±23,25 | 68,67±36,03 | 51,50±34,43 | 69,00±76,37 | 0,624 |
| Dužina terapije MTX (meseći) | 65,50±41,24 ^a | 64,38±40,23 ^a | 24,70±26,71 | 56,50±7,78 | 0,042* |
| Srednja doza MTX (mg) | 15,50±3,69 | 13,21±4,62 | 13,25±5,53 | 11,00±1,41 | 0,412 |
| Dužina terapije steroidima (meseći) | 22,30±26,52 | 10,10±15,69 | 24,80±27,36 | 15,50±21,92 | 0,278 |
| Doza steroida (g) ^Δ | 0,60±1,26 | 0,38±0,56 | 1,84±2,22 | 0,00 | 0,075 |
| PACIJENTI KOJI NISU POSTIGLI REMISIJU | | | | | |
| Uzrast na početku bolesti (godine) | 11,41±6,75 | 7,46±4,85 | 11,26±2,73 | 4,49±3,75 | 0,128 |
| Uzrast na početku terapije (godine) | 15,83±6,49 | 14,46±6,35 | 16,18±5,44 | 13,75±6,39 | 0,860 |
| Dužina bolesti pre biološke terapije (meseći) | 66,17±57,28 | 77,17±54,39 | 49,25±35,73 | 111,33±63,54 | 0,300 |
| Dužina terapije MTX (meseći) | 72,50±52,27 | 57,06±36,25 ^b | 31,75±36,65 ^b | 131,33±50,00 | 0,029* |
| Srednja doza MTX (mg) | 17,08±4,00 | 11,69±4,32 | 11,56±7,67 | 10,83±6,29 | 0,087 |
| Dužina terapije steroidima (meseći) | 5,33±11,22 | 28,28±43,65 | 27,62±37,24 | 24,00±24,00 | 0,510 |
| Doza steroida (g) ^Δ | 1,82±1,86 | 1,35±2,18 | 2,93±3,98 | 9,00±8,57 | 0,434 |

Poly RF+: poliartikularni RF+ podtip JIA, Poly RF-: oligo JIA i poliartikularni RF- podtip JIA, ERA+PsA: ERA podtip i psorijazni JIA, sJIA grupa: sistemski oblik JIA, MTX-metotreksat, mg- miligrami, g- grami, ^Δ- kumulativna doza steroida, ^a- vs ERA+PsA, ^b- vs sJIA, *- statistička značajnost

5.3.1.3. Klinički prediktivni faktori za postizanje remisije

Testiranjem kliničkih parametara kao potencijalnih prediktivnih faktora rizika za postizanje remisije nakon 24 meseca primene biološke terapije, u ispitivanoj populaciji se kao statistički značajan faktor rizika izdvojila primenjena doza steroida (OR 0,749, p=0,025). Neophodnost primene manje doze steroida povećavala je šansu da pacijenti postignu remisiju za 33,00% nakon 24 meseca lečenja biološkim lekovima (Tabela 9).

Tabela 9. Klinički parametri kao faktori rizika remisije nakon 24 meseca

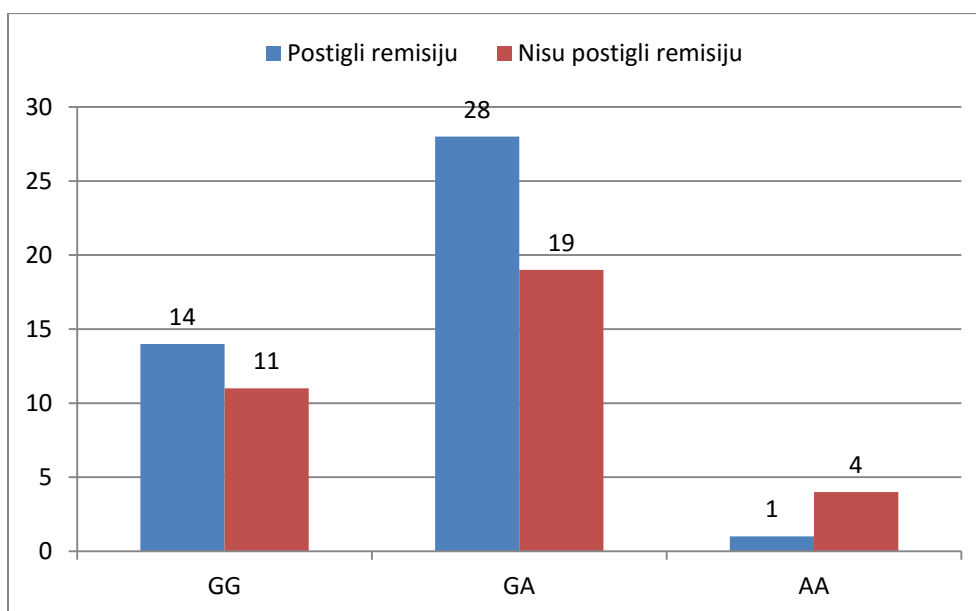
| Faktor rizika | OR | 95%CI | p |
|------------------------------|-----------|--------------|----------|
| Muški pol | 1,058 | 0,403-2,779 | 0,909 |
| Poly RF+ | 1,465 | 0,474-4,527 | 0,507 |
| Poly RF- | 0,902 | 0,369-2,201 | 0,820 |
| ERA+PsA | 1,023 | 0,354-2,951 | 0,967 |
| sJIA | 0,520 | 0,082-3,302 | 0,488 |
| uzrast kad je postavljena dg | 1,069 | 0,963-1,188 | 0,211 |
| uzrast kad je početa th | 1,020 | 0,926-1,123 | 0,687 |
| dužina bolesti pre th | 0,994 | 0,984-1,005 | 0,271 |
| SE | 1,007 | 0,989-1,027 | 0,434 |
| AA | 0,975 | 0,914-1,040 | 0,435 |
| CHAQ | 0,534 | 0,275-1,034 | 0,063 |
| VAS I | 0,987 | 0,959-1,016 | 0,371 |
| VAS p | 0,995 | 0,979-1,012 | 0,574 |
| dužina th MTX | 0,997 | 0,987-1,008 | 0,588 |
| doza MTX | 1,047 | 0,956-1,146 | 0,322 |
| dužina th steroidima | 0,991 | 0,976-1,008 | 0,296 |
| doza steroida | 0,749 | 0,581-0,965 | 0,025* |

OR– unakrsni odnos, 95%CI– 95% interval poverenja, Poly RF+: poliartikularni RF+ podtip JIA, Poly RF-: oligo JIA i poliartikularni RF- podtip JIA, ERA+PsA: ERA podtip i psorijazni JIA, sJIA grupa: sistemski oblik JIA, dg- dijagnoza, th- terapija, SE- sedimentacija eritrocita, AA- broj aktivnih zglobova, CHAQ- Childhood Health Assessment Questionnaire, VAS I - vizuelno analogna skala lekara, VAS p - vizuelno analogna skala pacijenta, MTX- metotreksat,*- statistička značajnost

5.3.2. Mogućnost postizanja remisije u odnosu na prisustvo TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizama

5.3.2.1. Mogućnost postizanja remisije u odnosu na prisustvo TNF- α -308 polimorfizma

Detaljnijom analizom utvrđeno je da nije postojala statistički značajna razlika učestalosti genotipova za TNF- α -308 polimorfizam između bolesnika koji su postigli remisiju i onih koji nisu postigli remisiju nakon 24 meseca primene biološke terapije ($\chi^2=2,871$, $p=0,238$) (Grafik 8).



GG- homozigotni GG genotip, GA- heterozigotni GA genotip, AA- homozigotni AA genotip

Grafik 8. Zastupljenost TNF- α -308 polimorfizma u odnosu na postizanje remisije

Nakon 24 meseca primene biološke terapije distribucija TNF- α -308 polimorfizma u grupi bolesnika koja je postigla remisiju bila je: 14 bolesnika (32,60%) je imalo homozigotni GG genotip, 28 bolesnika (65,10%) heterozigotni GA genotip i samo 1 bolesnik (2,30%) je imao homozigotni AA genotip. U grupi bolesnika koji nisu postigli remisiju 11 bolesnika (32,40%) je imalo GG, 19 bolesnika (55,90%) je imalo GA i 4 bolesnika AA (11,80%) polimorfizam (Grafik 8).

Tabela 10. Distribucija genotipova za TNF- α -308 polimorfizam kod JIA podtipova

| JIA podtipovi u remisiji | TNF | | |
|-------------------------------|-------------|-------------|------------|
| | GG | GA | AA |
| Poly RF+ | 2 (14,3%) | 8 (28,6%) | 0 |
| Poly RF- | 7 (50,0%) | 14 (50,0%) | 0 |
| ERA+PsA | 3 (21,4%) | 6 (21,4%) | 1 (100,0%) |
| sJIA | 2 (14,3%) | 0 | 0 |
| Ukupno | 14 (100,0%) | 28 (100,0%) | 1 (100,0%) |
| JIA podtipovi nisu u remisiji | TNF | | |
| | GG | GA | AA |
| Poly RF+ | 1 (9,1%) | 4 (21,1%) | 1 (25,0%) |
| Poly RF- | 6 (54,5%) | 8 (42,1%) | 3 (75,0%) |
| ERA+PsA | 4 (36,4%) | 4 (21,1%) | 0 |
| sJIA | 0 | 3 (15,8%) | 0 |
| Ukupno | 11 (100,0%) | 19 (100,0%) | 4 (100,0%) |

Poly RF+: poliartikularni RF+ podtip JIA, Poly RF-: oligo JIA i poliartikularni RF- podtip JIA, ERA+PsA: ERA podtip i psorijazni JIA, sJIA grupa: sistemski oblik JIA, GG- homozigotni GG genotip, GA- heterozigotni GA genotip, AA- homozigotni AA genotip

Detaljnou analizom utvrđeno je da nije postojala statistički značajna razlika u učestalosti genotipova za TNF- α -308 polimorfizam kod različitih JIA podtipova u grupi bolesnika koji su postigli remisiju nakon 24 meseca primene biološke terapije ($\chi^2=8,266$, $p=0,219$), kao ni kod JIA podtipova koji nisu postigli remisiju nakon 24 meseca primene biološke terapije ($\chi^2=7,593$, $p=0,269$) (Tabela 10).

Tabela 11. Karakteristike JIA bolesnika u zavisnosti od TNF- α -308 polimorfizma

| Parametri | GG | GA | AA | K | p |
|---|-------------------|-------------------|-------------------|-------|-------|
| PACIJENTI KOJI SU POSTIGLI REMISIJU | | | | | |
| | N=14 | N=28 | N=1 | | |
| Uzrast na početku bolesti (godine) | 9,50 \pm 4,35 | 10,23 \pm 4,33 | 14,59 | 0,499 | 0,634 |
| Uzrast na početku biološke terapije (godine) | 16,35 \pm 5,22 | 15,10 \pm 4,09 | 15,58 | 0,445 | 0,807 |
| Dužina bolesti pre biološke terapije (meseci) | 65,57 \pm 43,74 | 60,14 \pm 29,23 | 15,00 | 0,240 | 0,823 |
| Dužina terapije MTX (meseci) | 60,21 \pm 34,28 | 53,71 \pm 42,86 | 20,00 | 0,734 | 0,468 |
| Srednja doza MTX (mg) | 12,28 \pm 5,04 | 14,46 \pm 4,27 | 10,00 | 1,638 | 0,119 |
| Dužina terapije steroidima (meseci) | 19,86 \pm 20,43 | 23,28 \pm 4,40 | 24,00 | 1,078 | 0,308 |
| Doza steroida (g) ^Δ | 0,45 \pm 1,08 | 0,92 \pm 1,53 | 0,40 | 1,412 | 0,208 |
| PACIJENTI NISU POSTIGLI REMISIJU | | | | | |
| | N=11 | N=19 | N=4 | | |
| Uzrast na početku bolesti (godine) | 9,02 \pm 4,46 | 7,38 \pm 5,38 | 13,91 \pm 1,90 | 5,458 | 0,065 |
| Uzrast na početku biološke terapije (godine) | 14,32 \pm 4,17 | 14,30 \pm 6,64 | 19,08 \pm 3,63 | 2,297 | 0,317 |
| Dužina bolesti pre biološke terapije (meseci) | 53,27 \pm 34,21 | 86,42 \pm 57,68 | 65,00 \pm 61,76 | 2,548 | 0,280 |
| Dužina terapije MTX (meseci) | 42,00 \pm 34,97 | 69,84 \pm 50,50 | 62,25 \pm 56,10 | 2,039 | 0,361 |
| Srednja doza MTX (mg) | 11,32 \pm 5,62 | 13,08 \pm 5,12 | 12,50 \pm 8,66 | 0,960 | 0,619 |
| Dužina terapije steroidima (meseci) | 15,27 \pm 17,91 | 22,42 \pm 28,82 | 60,00 \pm 84,85 | 0,519 | 0,771 |
| Doza steroida (g) ^Δ | 0,91 \pm 1,45 | 3,31 \pm 4,81 | 2,91 \pm 3,02 | 2,965 | 0,227 |

GG- homozigotni GG genotip, GA- heterozigotni GA genotip, AA- homozigotni AA genotip, K- Kruskal Wallis-ov test, N- broj bolesnika, MTX- metotreksat, mg- miligrami, g- grami, ^Δ- kumulativna doza steroida

Kod bolesnika koji su postigli remisiju i onih koji nisu postigli remisiju nakon 24 meseca primene biološke terapije nije utvrđeno postojanje statistički značajne razlike u uzrastu kada je postavljena dijagnoza, uzrastu kada je započeto lečenje biološkom terapijom,

dužini trajanja bolesti pre biološke terapije, dužini i srednjoj dozi primene metotreksata kao i u dužini i dozi primenjivanih steroida u odnosu na prisutne genotipove za TNF- α -308 polimorfizam (Tabela 11).

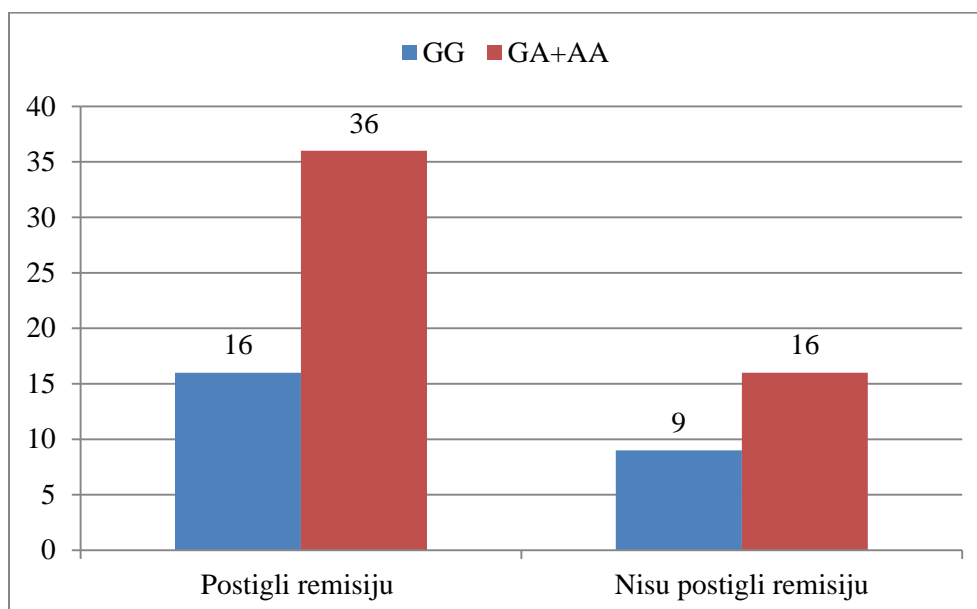
5.3.2.1.1. Uticaj prisustva genskih alela za TNF- α -308 polimorfizam u odnosu na postizanje remisije

Detaljnom analizom utvrđeno je da nije postojala statistički značajna razlika učestalosti genskih alela za TNF- α -308 polimorfizam između bolesnika koji su postigli remisiju i onih koji nisu postigli remisiju nakon 24 meseca primene biološke terapije (Tabela 12, Grafik 9).

Tabela 12. Prisustvo genskih alela za TNF- α -308 polimorfizam u zavisnosti od mogućnosti postizanja remisije

| TNF- α -308 | Postigli remisiju | Nisu postigli remisiju | χ^2 | p |
|--------------------|-------------------|------------------------|----------|-------|
| GG | 16 (30,80) | 9 (36,00)† | 0,040 | 0,842 |
| GA+AA | 36 (69,20) | 16 (64,00) | | |
| Ukupno | 52 (100,00) | 25 (100,0) | | |

GG- homozigotni GG genotip (G alel), GA+AA- heterozigotni GA genotip i homozigotni AA genotip (A alel), χ^2 - Hi-kvadrat test, †- N (%) - broj bolesnika (%)



GG- homozigotni GG genotip (G alel), GA+AA- heterozigotni GA genotip i homozigotni AA genotip (A alel)

Grafik 9. Distribucija genskih alela za TNF- α -308 polimorfizam u odnosu na mogućnost postizanja remisije

Detaljna analiza pojedinačnih karakteristika obe posmatrane grupe bolesnika nakon 24 meseca u odnosu na prisustvo genskih alela za TNF- α -308 polimorfizam ukazala je da je statistički značajno duže lečenje prvim kursom bioloških lekova bilo kod bolesnika sa prisutnim A alelom u odnosu na bolesnike sa prisutnim G alelom ($p=0,034$) u grupi bolesnika koja nije postigla remisiju. U grupi bolesnika koja je postigla remisiju statistička značajnost dužine primene prvog kursa biološke terapije u odnosu na prisustvo genskih alela za TNF- α -308 polimorfizam nije postojala (Tabela 13).

Statistički značajna razlika u uzrastu na početku lečenja biološkim lekovima, dužini postignute remisije, prosečno primenjivanoj dozi i dužini primene metotreksata, dužini primene i dozi kortikosteroidne terapije u odnosu na prisutne genske alele za TNF- α -308 polimorfizam između dve ispitivane grupe bolesnika nije postojala u odnosu na mogućnost postizanja remisije (Tabela 13).

Tabela 13. Karakteristike bolesnika u odnosu na postizanje remisije nakon 24 meseca u zavisnosti od prisutnih genskih alela za TNF- α -308 polimorfizam

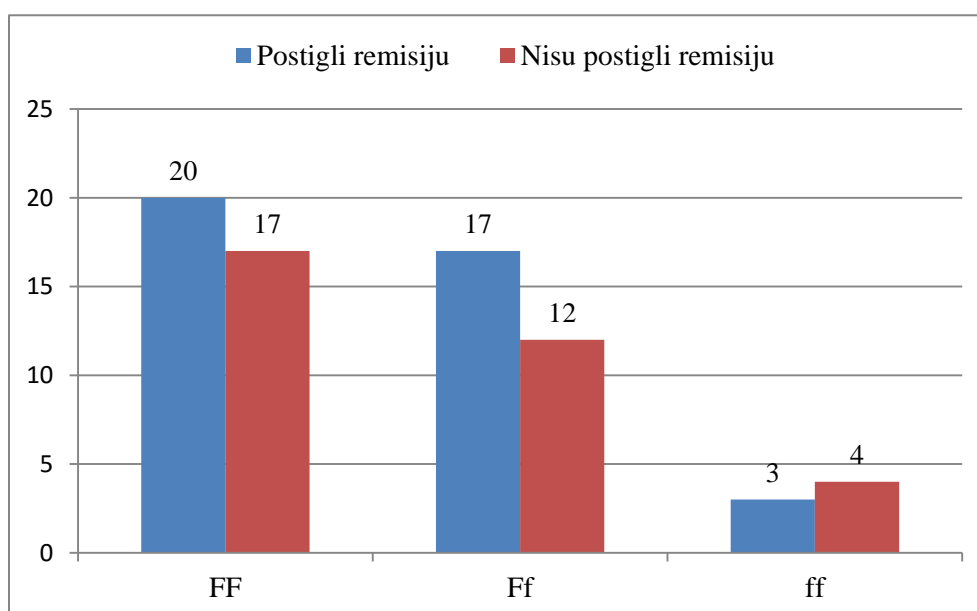
| | GG | GA+AA | MW | p |
|--|-------------------|------------------------------|-------|---------|
| PACIJENTI KOJI SU POSTIGLI REMISIJU | | | | |
| | N=16 | N=36 | | |
| Uzrast na početku biološke terapije (godine) | 9,46 \pm 4,27 | 9,72 \pm 9,72 [†] | 0,275 | 0,783 |
| Dužina prvog kursa biološke terapije (meseci) | 34,88 \pm 20,16 | 34,00 \pm 17,04 | 0,119 | 0,905 |
| Dužina remisije nakon prvog kursa (meseci) | 20,56 \pm 21,97 | 30,50 \pm 21,33 | 1,419 | 0,156 |
| Dužina lečenja MTX (meseci) | 61,50 \pm 37,58 | 58,69 \pm 45,80 | 0,446 | 0,655 |
| Doza MTX (mg) | 12,94 \pm 4,11 | 13,83 \pm 4,23 | 0,765 | 0,444 |
| Dužina steroidne th (meseci) | 18,38 \pm 19,54 | 15,75 \pm 23,28 | 0,825 | 0,409 |
| Doza steroida (g)^Δ | 0,39 \pm 1,02 | 0,94 \pm 1,69 | 1,580 | 0,114 |
| PACIJENTI NISU POSTIGLI REMISIJU | | | | |
| | N=5 | N=16 | | |
| Uzrast na početku biološke terapije (godine) | 9,02 \pm 4,70 | 9,29 \pm 5,93 | 0,165 | 0,869 |
| Dužina prvog kursa biološke terapije (meseci) | 40,11 \pm 11,53 | 56,50 \pm 20,05 | 2,125 | 0,034 * |
| Dužina lečenja MTX (meseci) | 35,67 \pm 23,77 | 61,69 \pm 48,81 | 0,992 | 0,321 |
| Doza MTX (mg) | 9,94 \pm 5,13 | 13,47 \pm 6,35 | 1,670 | 0,095 |
| Dužina steroidne th (meseci) | 16,89 \pm 19,45 | 33,44 \pm 48,97 | 0,322 | 0,747 |
| Doza steroida (g)^Δ | 1,11 \pm 1,54 | 4,18 \pm 4,91 | 1,911 | 0,056 |

GG- homozigotni GG genotip (G alel), GA+AA- heterozigotni GA genotip i homozigotni AA genotip (A alel), MW– Man Whitney test, N- broj bolesnika, † aritmetička sredina \pm standardna devijacija, MTX- metotreksat, mg- miligrami, g- gram, ^Δ - kumulativna doza steroida, th- terapija, * statistička značajnost

5.3.2.2. Mogućnost postizanja remisije u odnosu na prisustvo FokI VDR polimorfizma

Kod bolesnika koji su postigli remisiju i onih koji nisu postigli remisiju nakon 24 meseca primene biološke terapije utvrđeno je da nije postojala statistički značajna razlika učestalosti genotipova FokI VDR polimorfizma gena ($\chi^2=0,582$, $p=0,747$) (Grafik 10).

Nakon 24 meseca primene biološke terapije distribucija FokI VDR polimorfizma u grupi koja je postigla remisiju bila je: 20 bolesnika (50,00%) je imalo homozigotni FF genotip, 17 bolesnika (42,50%) imalo je heterozigotni Ff genotip i 3 bolesnika (7,50%) su imala homozigotni ff genotip. U grupi bolesnika koji nisu postigli remisiju 17 bolesnika (51,50%) je imalo homozigotni FF genotip, 12 bolesnika (36,40%) heterozigotni Ff genotip i 4 bolesnika (12,10%) imala su homozigotni ff genotip.



FF- homozigotni FF genotip, Ff- heterozigotni Ff genotip, ff- homozigotni ff genotip

Grafik 10. Zastupljenost FokI VDR polimorfizma u odnosu na postizanje remisije

Detaljnijom analizom utvrđeno je da nije postojala statistički značajna razlika u učestalosti genotipova za FokI VDR polimorfizam kod različitih JIA podtipove u grupi bolesnika koji su postigli remisiju nakon 24 meseca primene biološke terapije ($\chi^2=6,157$, $p=0,406$), kao ni kod JIA podtipova koji nisu postigli remisiju nakon 24 meseca primene biološke terapije ($\chi^2=4,516$, $p=0,607$) (Tabela 14).

Tabela 14. Distribucija genotipova za FokI VDR polimorfizam kod JIA podtipova

| JIA podtipovi u remisiji | VDR | | |
|--------------------------------------|-------------|-------------|------------|
| | FF | Ff | ff |
| Poly RF+ | 5 (25,0%) | 5 (29,4%) | 0 |
| Poly RF - | 11 (55,0%) | 6 (35,3%) | 3 (100,0%) |
| ERA+PsA | 3 (15,0%) | 5 (29,4%) | 0 |
| sJIA | 1 (5,0%) | 1 (5,9%) | 0 |
| Ukupno | 20 (100,0%) | 17 (100,0%) | 3 (100,0%) |
| JIA podtipovi nisu u remisiji | | | |
| Poly RF+ | 2 (11,8%) | 3 (25,0%) | 1 (25,0%) |
| Poly RF - | 11 (64,7%) | 4 (33,3%) | 1 (25,0%) |
| ERA+PsA | 3 (17,6%) | 4 (33,3%) | 1 (25,0%) |
| sJIA | 1 (5,9%) | 1 (8,3%) | 1 (25,0%) |
| Ukupno | 17 (100,0%) | 12 (100,0) | 4 (100,0%) |

Poly RF+: poliartikularni RF+ podtip JIA, Poly RF-: oligo JIA i poliartikularni RF- podtip JIA, ERA+PsA : ERA podtip i psorijazni JIA, sJIA grupa: sistemski oblik JIA, FF- homozigotni FF genotip, Ff- heterozigotni Ff genotip, ff- homozigotni ff genotip

Kod bolesnika koji su postigli remisiju i onih koji nisu postigli remisiju nakon 24 meseca primene biološke terapije nije utvrđeno postojanje statistički značajne razlike u uzrastu kada je postavljena dijagnoza, uzrastu kada je započeto lečenje biološkom terapijom, srednjoj dozi metotreksata kao i dužini lečenja i dozi primenjivanih steroida, u odnosu na prisutne genotipove za FokI VDR polimorfizam (Tabela 15).

Međutim kod bolesnika koji su postigli remisiju nakon 24 meseca primene biološke terapije dužina lečenja metotreksatom statistički se značajno razlikovala u odnosu na prisutne genotipove za FokI VDR polimorfizam ($\chi^2=7,242$, $p=0,027$). Na ovoj terapiji najduže su bili bolesnici sa ff genotipom, a najkraće bolesnici sa Ff genotipom. Daljom analizom je pokazano je da su bolesnici sa ff genotipom statistički značajno duže bili na terapiji metotreksatom u odnosu na bolesnike sa Ff genotipom u grupi bolesnika koja je postigla remisiju ($z=2,699$, $p=0,002$) (Tabela 15).

Kod bolesnika koji nisu postigli remisiju nakon 24 meseci primene biološke terapije postojala je statistički značajna razlika u dužini trajanja bolesti pre započinjanja biološke terapije u odnosu na prisutne genotipove za FokI VDR polimorfizam ($\chi^2=6,812$, $p=0,033$). Pre početka primene biološke terapije bolest je statistički značajno duže trajala kod bolesnika sa homozigotnim ff genotipom, a najkraće kod bolesnika sa FF genotipom. Post hoc analizom je pokazano da su bolesnici sa prisutnim ff genotipom statistički značajno duže bili bolesni pre početka primene biološke terapije u odnosu na bolesnike sa FF genotipom ($z=2,734$, $p=0,002$) i u odnosu na bolesnike sa Ff genotipom ($z=2,004$, $p=0,045$) (Tabela 15).

Tabela 15. Karakteristike JIA bolesnika u zavisnosti od postizanja remisije i FokI VDR polimorfizma

| Parametri | FF | Ff | ff | K | p |
|---|--------------------------|--------------------------|--------------|-------|--------|
| PACIJENTI KOJI SU POSTIGLI REMISIJU | | | | | |
| | N=20 | N=17 | N=3 | | |
| Uzrast na početku bolesti (godine) | 10,23±4,61 | 10,72±3,58 | 6,38±6,22 | 1,296 | 0,523 |
| Uzrast na početku biološke terapije (godine) | 16,69±3,70 | 15,06±4,60 | 12,94±7,74 | 2,311 | 0,315 |
| Dužina bolesti pre biološke terapije (meseći) | 67,70±40,07 | 53,41±30,08 | 73,00±26,85 | 1,633 | 0,442 |
| Dužina terapije MTX (meseći) | 67,95±45,22 | 40,65±23,76 ^a | 94,67±22,03 | 7,242 | 0,027 |
| Srednja doza MTX (mg) | 14,48±4,04 | 12,50±5,66 | 13,33±2,88 | 0,719 | 0,698 |
| Dužina terapije steroidima (meseći) | 23,30±24,74 | 11,06±18,57 | 15,00±25,98 | 4,418 | 0,110 |
| Doza steroida (g) ^Δ | 0,92±1,74 | 0,65±1,09 | 0,33±0,58 | 0,221 | 0,895 |
| PACIJENTI NISU POSTIGLI REMISIJU | | | | | |
| | N=17 | N=12 | N=4 | | |
| Uzrast na početku bolesti (godine) | 9,59±5,30 | 8,20±4,73 | 8,16±6,78 | 0,404 | 0,817 |
| Uzrast na početku biološke terapije (godine) | 14,50±5,02 | 15,03±6,75 | 19,33±4,62 | 2,402 | 0,301 |
| Dužina bolesti pre biološke terapije (meseći) | 59,53±37,72 ^a | 75,33±62,00 ^a | 137,00±36,61 | 6,812 | 0,033* |
| Dužina terapije MTX (meseći) | 54,06±38,86 | 61,42±51,27 | 78,25±77,23 | 0,233 | 0,890 |
| Srednja doza MTX (mg) | 13,67±4,13 | 11,25±6,70 | 11,87±8,00 | 0,482 | 0,786 |
| Dužina terapije steroidima (meseći) | 21,18±20,16 | 18,50±34,06 | 63,00±80,42 | 2,328 | 0,312 |
| Doza steroida (g) ^Δ | 1,66±3,03 | 2,46±3,32 | 2,54±7,32 | 3,009 | 0,222 |

FF- homozigotni FF genotip, Ff- heterozigotni Ff genotip, ff- homozigotni ff genotip, K- Kruskal Wallis-ov test, N- broj bolesnika, MTX- metotreksat, mg- miligrami, g- grami, ^a- vs ff genotip, ^Δ- kumulativna doza steroida, *statistička značajnost

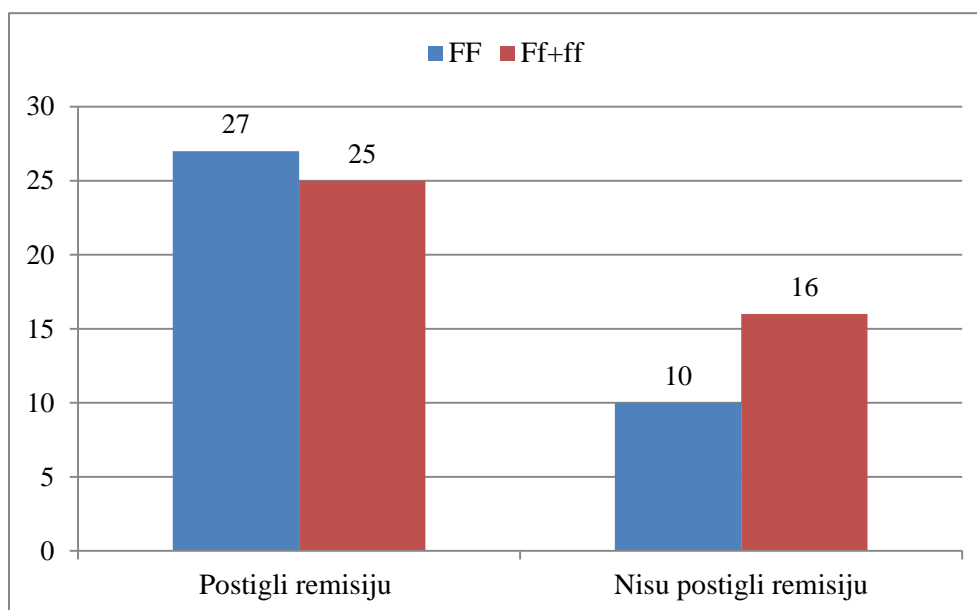
5.3.2.2.1. Uticaj prisustva genskih alela za FokI VDR polimorfizam u odnosu na postizanje remisije

Detaljnijom analizom utvrđeno je da su bolesnici sa prisutnim F genskim alelom za FokI VDR polimorfizam češće postigli remisiju u poređenju sa nosiocima f alela, kao i da su bolesnici sa f alelom češće bili zastupljeni u grupi bolesnika koja nije uspjela da postigne remisiju nakon 24 meseca primene biološke terapije. Međutim, statistički značajna razlika učestalosti genskih alela za FokI VDR polimorfizam između bolesnika koji su postigli remisiju i onih koji nisu postigli remisiju nije postojala nakon 24 meseca lečenja biološkim lekovima (p=0,842) (Tabela 16, Grafik 11).

Tabela 16. Prisustvo genskih alela za FokI VDR polimorfizam u zavisnosti od mogućnosti postizanja remisije

| FokI VDR polimorfizam | Postigli remisiju | Nisu postigli remisiju | χ^2 | p |
|-----------------------|-------------------|------------------------|----------|-------|
| FF | 27 (51,90) | 10 (38,50) † | 0,778 | 0,378 |
| Ff+ff | 25 (48,10) | 16 (61,50) | | |
| Ukupno | 52 (100,0) | 26 (100,0) | | |

R grupa remisija, NR- ne remisija FF - homozigotni FF genotip (F alel), Ff+ff - heterozigotni Ff i homozigotni ff genotip (f alel), χ^2 - Hi-kvadrat test, †- N (%) - broj bolesnika (%)



FF - homozigotni FF genotip (F alel), Ff+ff - heterozigotni Ff i ff homozigotni ff genotip (f alel)

Grafik 11. Distribucija genskih alela za FokI VDR polimorfizam u odnosu na mogućnost postizanja remisije

Detaljna analiza pojedinačnih karakteristika posmatranih grupa nakon 24 meseca u odnosu na prisustvo genskih alela za FokI VDR polimorfizam ukazala je da postoji statistički značajna razlika u dužini prvog kursa biološke terapije, dužini remisije nakon prvog kursa biološke terapije i dužini primenjivane kortikosteroidne terapije u grupi bolesnika koja je postigla remisiju. Statistički značajno duže je bilo lečenje kortikosteroidima ($p=0,004$) kod bolesnika sa F alelom u odnosu na bolesnike sa f alelom u grupi bolesnika koja je postigla remisiju. Bolesnici sa prisutnim f alelom su postigli statistički značajno kraću remisiju u odnosu na bolesnike sa F alelom ($p=0,034$) nakon statistički značajno duže primene prvog kursa biološke terapije ($p=0,040$) u grupi bolesnika koja je postigla remisiju. U grupi pacijenata koji nisu postigli remisiju ne postoji statistički značajna razlika u ispitivanim karakteristikama bolesnika u odnosu na prisutne genske alele za VDR polimorfizam (Tabela 17).

Tabela 17. Karakteristike bolesnika u odnosu na postizanje remisije u zavisnosti od prisutnih genskih alela za FokI VDR polimorfizam

| | FF | Ff+ff | MW | p |
|--|-------------|-------------|-------|--------|
| PACIJENTI KOJI SU POSTIGLI REMISIJU | | | | |
| | N=25 | N=21 | | |
| Uzrast na početku biološke terapije (godine) | 9,79±4,48 | 9,46±4,34† | 0,187 | 0,851 |
| Dužina prvog kursa biološke terapije (meseći) | 29,08±15,46 | 39,18±18,84 | 2,054 | 0,040* |
| Dužina remisije nakon prvog kursa (meseći) | 33,76±20,73 | 21,59±21,47 | 2,117 | 0,034* |
| Dužina lečenja MTX (meseći) | 68,04±44,35 | 50,40±40,59 | 1,594 | 0,111 |
| Doza MTX (mg) | 14,70±3,64 | 12,32±5,03 | 1,500 | 0,134 |
| Dužina steroidne th (meseći) | 23,74±23,92 | 8,80±17,10 | 2,913 | 0,004* |
| Doza steroida (g)^Δ | 0,96±1,90 | 0,56±0,99 | 0,280 | 0,780 |
| PACIJENTI NISU POSTIGLI REMISIJU | | | | |
| | N=10 | N=16 | | |
| Uzrast na početku biološke terapije (godine) | 10,48±6,18 | 4,45±5,24 | 0,797 | 0,426 |
| Dužina prvog kursa biološke terapije (meseći) | 56,20±19,50 | 47,06±17,71 | 1,187 | 0,235 |
| Dužina lečenja MTX (meseći) | 44,10±32,45 | 58,69±47,43 | 0,633 | 0,527 |
| Doza MTX (mg) | 12,50±4,95 | 12,19±6,70 | 0,349 | 0,727 |
| Dužina steroidne th (meseći) | 18,50±18,54 | 31,38±49,79 | 0,247 | 0,805 |
| Doza steroida (g)^Δ | 2,05±3,43 | 3,59±4,61 | 1,267 | 0,205 |

FF- homozigotni FF genotip (F alel), Ff+ff- heterozigotni Ff i homozigotni ff genotip (f alel), MW– Man Whitney test, N- broj bolesnika, † aritmetička sredina±standardna devijacija, MTX- metotreksat, mg- miligrami, g- grami, ^Δ - kumulativna doza steroida, th- terapija, * statistička značajnost

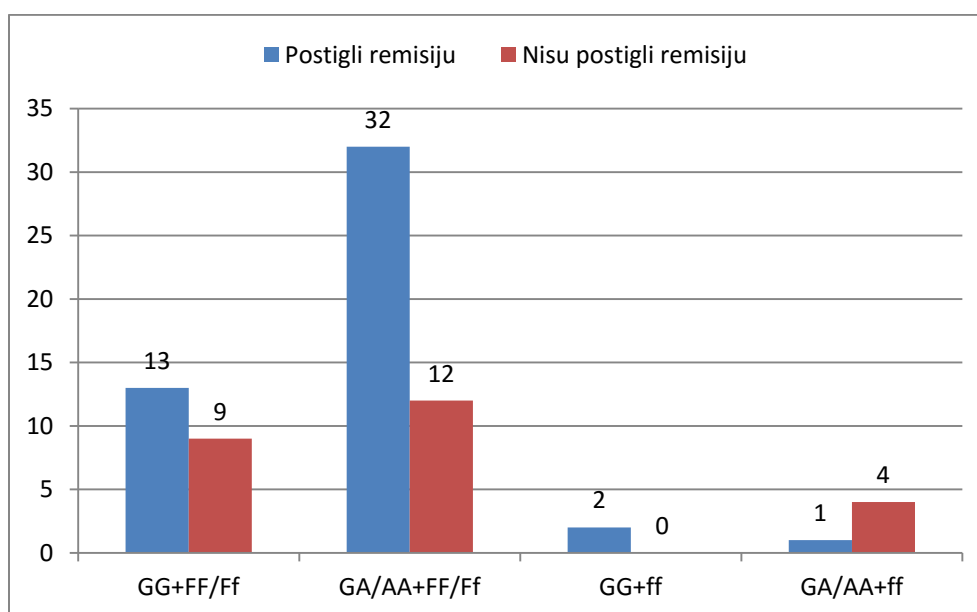
5.3.2.3. Uticaj udruženog prisustva genotipova za TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizam u odnosu na postizanje remisije

Nakon 24 meseca, utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji udruženih kombinacija genotipova za TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizam ($p=0,058$) u odnosu na postizanje remisije nakon 24 meseca primenjivane biološke terapije. Detaljnija statistička analiza je pokazala da su znatno češće bolesnici sa prisutnom kombinacijom GA/AA+FF/Ff udruženih genotipova (66,70%) uspeli da postignu remisiju, dok je nakon 24 meseca primene biološke terapije samo jedan bolesnik (2,10%) sa prisutnom udruženom kombinacijom genotipova GA/AA+ff bio u mogućnosti da postigne remisiju (Tabela 18, Grafik 12).

Tabela 18. Distribucija udruženih genotipova za TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizam u odnosu na postizanje remisije

| TNF+VDR polimorfizam | Postigli remisiju | Nisu postigli remisiju | χ^2 | p |
|----------------------|-------------------|------------------------|----------|-------|
| GG+Ff/ff | 13 (27,10) | 9 (36,00) † | 7,493 | 0,058 |
| GA/AA+FF/Ff | 32 (66,70) | 12 (48,00) | | |
| GG+ff | 2 (4,20) | 0 | | |
| GA/AA+ff | 1 (2,10) | 4 (20,00) | | |

χ^2 – Hi-kvadrat test, †- N (%) - broj bolesnika (%), GG+Ff/ff, GA/AA+FF/Ff, GG+ff, GA/AA+ff - udružene kombinacije genotipova za TNF i VDR polimorfizam



GG+Ff/ff, GA/AA+FF/Ff, GG+ff, GA/AA+ff - udružene kombinacije genotipova za TNF i VDR polimorfizam

Grafik 12. Distribucija udruženog prisustva genotipova za TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizma u odnosu na mogućnost postizanja remisije

5.3.2.4. Prediktivni značaj prisustva genetskih markera u 24. mesecu

Testiranjem pojedinačnih genotipova za TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizam kao potencijalnih genetskih prediktivnih faktora rizika za postizanje remisije bolesnika u 24. mesecu nakon primene biološke terapije, utvrđeno je da nijedan od pojedinačnih genotipova za TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizam nije bio statistički značajan nezavisni faktor rizika za postizanje remisije u 24. mesecu nakon lečenja biološkim lekovima (Tabela 20).

Tabela 20. Pojedinači genotipovi za TNF i VDR polimorfizam kao faktori rizika za postizanje remisije u 24. mesecu

| POSTIZANJE REMISIJE | OR | 95%CI | p |
|---------------------|------------------|-------------|-------|
| GG | referentna grupa | | |
| GA | 1,471 | 0,522-4,150 | 0,466 |
| AA | 0,375 | 0,052-2,680 | 0,328 |
| FF | referentna grupa | | |
| Ff | 0,606 | 0,213-1,721 | 0,347 |
| ff | 0,278 | 0,053-1,466 | 0,131 |

OR– unakrsni odnos, 95%CI– 95% interval poverenja, GG- homozigotni GG genotip, GA- heterozigotni GA genotip, AA- homozigotni AA genotip, FF- homozigotni FF genotip, Ff- heterozigotni Ff genotip, ff- homozigotni ff genotip

Testiranjem udruženih kombinovanih genotipova za TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizam kao potencijalnih genetskih prediktivnih faktora rizika za postizanje remisije bolesnika u 24. mesecu nakon primene biološke terapije, utvrđeno je da nijedan od prisutnih udruženih kombinovanih genotipova za TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizam nije bio statistički značajan nezavisni faktor rizika za postizanje remisije u 24. mesecu nakon lečenja biološkim lekovima (Tabela 21).

Tabela 21. Udruženi genotipovi za TNF i VDR polimorfizam kao faktori rizika za postizanje remisije u 24. mesecu

| POSTIZANJE REMISIJE | OR | 95%CI | p |
|---------------------|------------------|--------------|-------|
| GG+FF | referentna grupa | | |
| GG+Ff | 0,781 | 0,139-4,387 | 0,779 |
| GG+ff | 0,000 | 0,000-0,000 | 0,999 |
| GA+FF | 3,750 | 0,716-19,644 | 0,118 |
| GA+Ff | 1,071 | 0,250-4,591 | 0,926 |
| GA+ff | 0,208 | 0,017-2,600 | 0,223 |
| AA+FF | 0,313 | 0,022-4,413 | 0,389 |
| AA+Ff | 0,000 | 0,000-0,000 | 1,000 |
| AA+ff | 0,000 | 0,000-0,000 | 1,000 |

OR– unakrsni odnos, 95%CI– 95% interval poverenja, GG+FF, GG+Ff, GG+ff, GA+FF, GA+Ff, GA+ff, AA+FF, AA+Ff, AA+ff - udružene kombinacije genotipova za TNF i VDR polimorfizam

5.3.3. ACR Pedi odgovor

ACR Pedi 50, 70 i 100 kriterijumi poboljšanja statistički značajno češće su bili prisutni kod bolesnika koji su postigli remisiju nakon 12 i 24 meseca primene biološke terapije (Tabela 22).

Tabela 22. ACR Pedi klinički odgovor u odnosu na postizanje remisije

| | ACR Pedi | Remisija | Nisu postigli remisiju | p ^{χ²} |
|------------------|----------|------------|------------------------|----------------------------|
| | | N=43 | N=35 | |
| 12 meseci | 50 | 37 (82,20) | 18 (51,40) | 0,002* |
| | 70 | 28 (62,20) | 9 (25,70) | 0,038* |
| | 100 | 15 (33,30) | 3 (8,60) | 0,013* |
| 24 meseca | 50 | 41 (91,10) | 17 (48,60) | <0,001* |
| | 70 | 37 (82,20) | 13 (37,10) | <0,001* |
| | 100 | 32 (71,10) | 4 (11,40) | <0,001* |

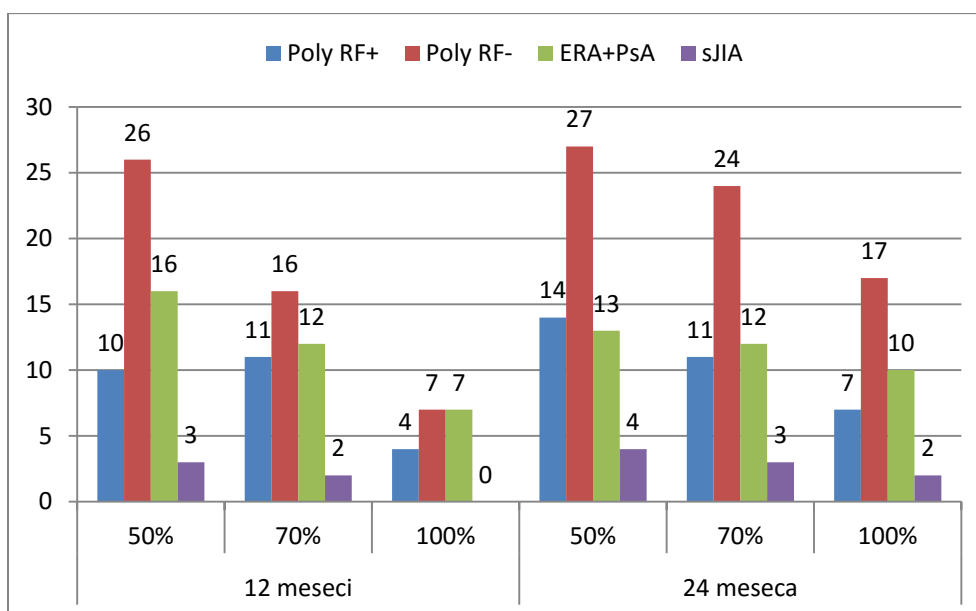
N- broj bolesnika, χ^2 -Hi- kvadrat test,*- statistička značajnost

Nije bilo statistički značajne razlike u postizanju ACR Pedi 50, 70 i 100 kriterijuma poboljšanja u odnosu na podtipove JIA. Kroz vremenski period praćenja kriterijuma poboljšanja u posmatranom periodu u odnosu na JIA podtipove nije zabeležen statistički značajan terapijski odgovor ACR Pedi 50, 70 i 100 (Tabela 23 i Grafik 13).

Tabela 23. ACR Pedi klinički odgovor kroz vreme u odnosu na JIA podtipove

| Vreme praćenja | ACR Pedi | Poly RF+ | Poly RF- | ERA+PsA | sJIA | p ^{χ²} |
|------------------|----------|------------|------------|------------|------------|----------------------------|
| 12 meseci | 50 | 10 (62,50) | 26 (66,67) | 16 (88,90) | 3 (60,00)† | 0,265 |
| | 70 | 11 (68,75) | 16 (41,00) | 12 (66,67) | 2 (40,00) | 0,137 |
| | 100 | 4 (25,00) | 7 (17,95) | 7 (38,89) | 0 | 0,199 |
| 24 meseca | 50 | 14 (87,50) | 27 (69,23) | 13 (72,22) | 4 (80,00) | 0,549 |
| | 70 | 11 (68,75) | 24 (61,54) | 12 (66,67) | 3 (60,00) | 0,950 |
| | 100 | 7 (43,75) | 17 (43,58) | 10 (55,56) | 2 (40,00) | 0,836 |

Poly RF+: poliartikularni RF+ podtip JIA, Poly RF-: oligo JIA i poliartikularni RF- podtip JIA, ERA+PsA : ERA podtip i psorijazni JIA, sJIA grupa: sistemski oblik JIA, † N (%) - broj bolesnika (%), χ^2 - Hi kvadrat test



Poly RF+: poliartikularni RF+ podtip JIA, Poly RF-: oligo JIA i poliartikularni RF- podtip JIA, ERA+PsA: ERA podtip i psorijazni JIA, sJIA grupa: sistemski oblik JIA

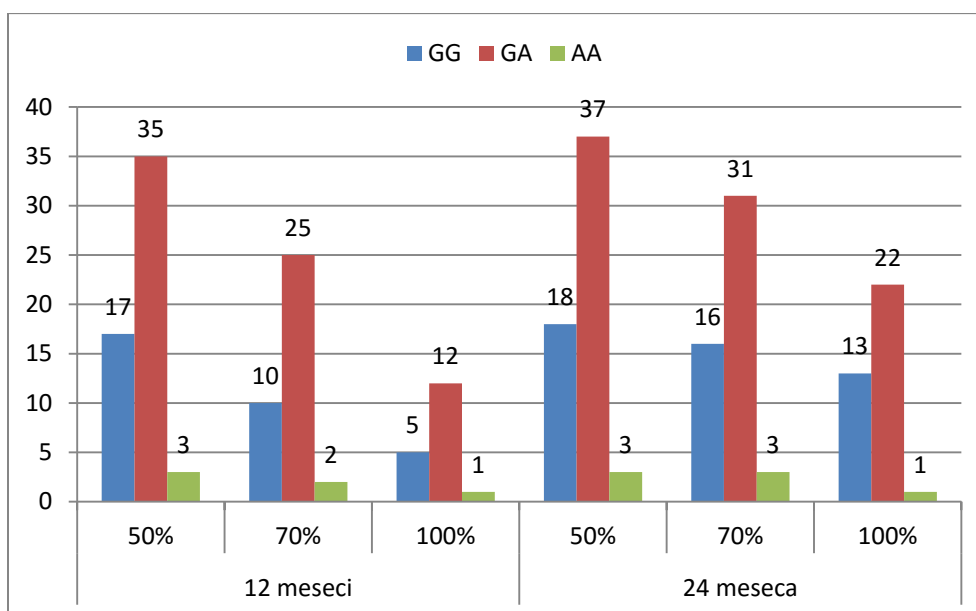
Grafik 13. Klinički odgovor kroz vreme u odnosu na JIA podtipove, nakon 24 meseca

Detaljnou statističkom obradom nije nađena statistički značajna povezanost prisustva TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizama sa mogućnošću postizanja ACR Pedi 50, 70 i 100 terapijskog odgovora nakon 24 meseca primene biološke terapije (Tabela 24, Grafik 14 i 15).

Tabela 24. Klinički odgovor kroz vreme u odnosu na TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizme

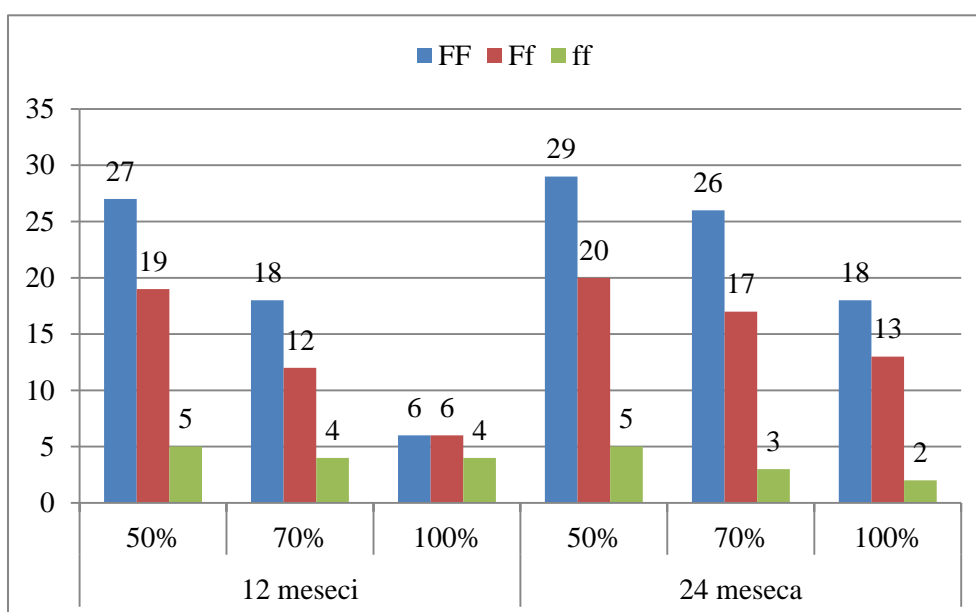
| Vreme praćenja | ACR Pedi | GG N=25 | GA N=47 | AA N=5 | p^{χ^2} |
|----------------|----------|-------------|------------|------------|--------------|
| 12 meseci | 50 | 17 (68,00) | 35 (74,45) | 3 (60,00)† | 0,713 |
| | 70 | 10 (40,00) | 25 (53,19) | 2 (40,00) | 0,528 |
| | 100 | 5 (20,00) | 12 (25,53) | 1 (20,00) | 0,855 |
| 24 meseca | 50 | 18 (72,00) | 37 (78,72) | 3 (60,00) | 0,584 |
| | 70 | 16 (64,00) | 31 (65,95) | 3 (60,00) | 0,958 |
| | 100 | 13 (52,00) | 22 (46,81) | 1 (20,00) | 0,424 |
| Vreme praćenja | | FF N=37 | Ff N=29 | ff N=7 | |
| 12 meseci | 50 | 27 (72,97) | 19 (65,51) | 5 (71,42)† | 0,803 |
| | 70 | 18 (48,57) | 12 (41,37) | 4 (57,10) | 0,162 |
| | 100 | 6 (16,20) | 6 (20,70) | 4 (57,10) | 0,055 |
| 24 meseca | 50 | 29 (100,00) | 20 (78,38) | 5 (71,42) | 0,679 |
| | 70 | 26 (70,27) | 17 (58,62) | 3 (42,85) | 0,317 |
| | 100 | 18 (48,60) | 13 (44,83) | 2 (28,60) | 0,618 |

GG- homozigotni GG genotip, GA- heterozigotni GA genotip, AA- homozigotni AA genotip, FF- homozigotni FF genotip, Ff- heterozigotni Ff genotip, ff- homozigotni ff genotip, χ^2 - Hi kvadrat test, †- N (%) - broj bolesnika (%)



GG- homozigotni GG genotip, GA- heterozigotni GA genotip, AA- homozigotni AA genotip

Grafik 14. Klinički odgovor kroz vreme u odnosu na TNF- α -308 polimorfizam, nakon 24 meseca



FF- homozigotni FF genotip, Ff- heterozigotni Ff genotip, ff- homozigotni ff genotip

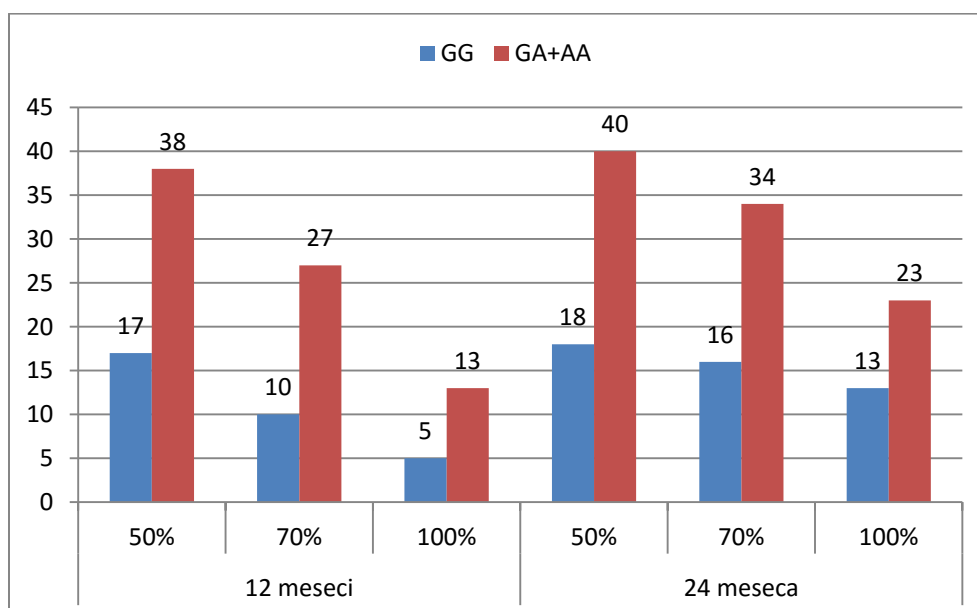
Grafik 15. Klinički odgovor kroz vreme u odnosu na FokI VDR polimorfizam, nakon 24 meseca

Detaljnou statističkom obradom nije nađena statistički značajna povezanost prisustva genskih alela za TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizam sa mogućnošću postizanja ACR Pedi 50, 70 i 100 terapijskog odgovora nakon 24 meseca primene biološke terapije (Tabela 25, Grafik 16 i 17).

Tabela 25. Klinički odgovor kroz vreme u odnosu na prisutne genske alele za TNF i VDR polimorfizam

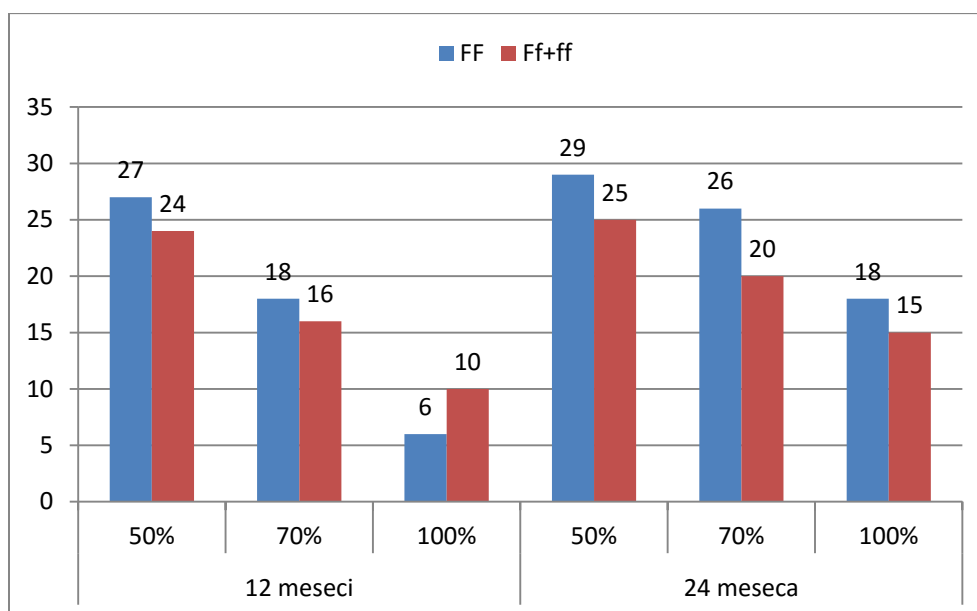
| Vreme praćenja | ACR Pedi | GG N=25 | GA+AA N=52 | p^{χ^2} |
|----------------|----------|------------|---------------|--------------|
| 12 meseci | 50 | 17 (68,00) | 38 (73,07) † | 0,847 |
| | 70 | 10 (40,00) | 27 (51,92) | 0,461 |
| | 100 | 5 (20,00) | 13 (25,00) | 0,843 |
| 24 meseca | 50 | 18 (72,00) | 40 (76,90) | 0,851 |
| | 70 | 16 (64,00) | 34 (65,40) | 0,891 |
| | 100 | 13 (52,00) | 23 (44,20) | 0,692 |
| | 100 | 19 (76,00) | 30 (57,70) | 0,189 |
| | | FF N=37 | Ff+ff N=36 | |
| 12 meseci | 50 | 27 (72,97) | 24 (66,67) | 0,739 |
| | 70 | 18 (48,65) | 16 (44,44) | 0,900 |
| | 100 | 6 (16,22) | 10 (27,78) | 0,362 |
| 24 meseca | 50 | 29 (78,38) | 25 (69,44) | 0,546 |
| | 70 | 26 (70,27) | 20 (55,56) | 0,289 |
| | 100 | 18 (48,65) | 15 (41,67) | 0,715 |

GG- homozigotni GG genotip (G alel), GA+AA- heterozigotni GA genotip i homozigotni AA genotip (A alel), FF- homozigotni FF genotip (F alel), Ff+ff- heterozigotni Ff i homozigotni ff genotip (f alel), χ^2 - Hi kvadrat test, †- N (%) - broj bolesnika (%)



GG- homozigotni GG genotip (G alel), GA+AA- heterozigotni GA genotip i homozigotni AA genotip (A alel)

Grafik 16. Klinički odgovor kroz vreme u odnosu na prisutne genske alele za TNF polimorfizam, nakon 24 meseca



FF- homozigotni FF genotip (F alel), Ff+ff- heterozigotni Ff i homozigotni ff genotip (f alel)

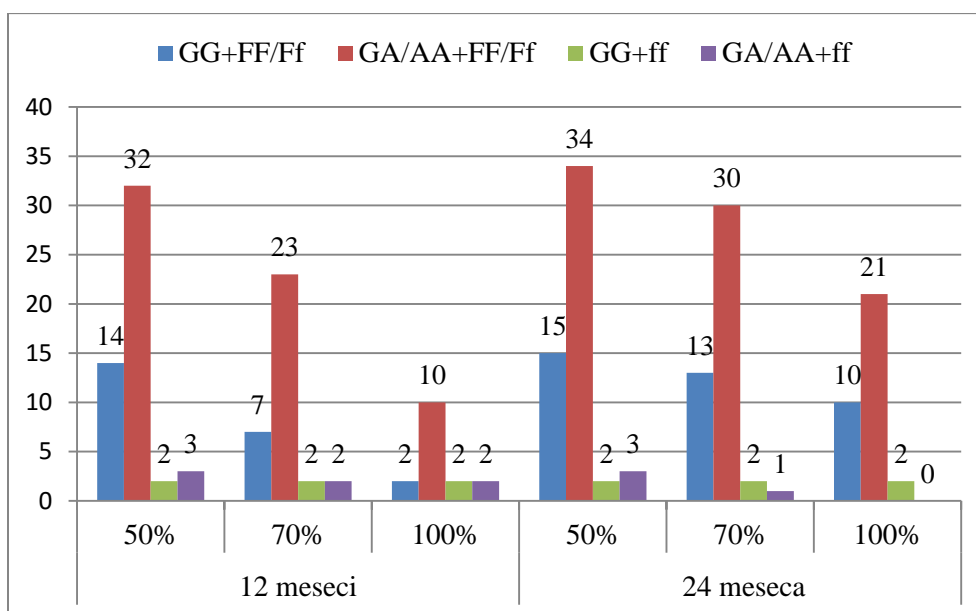
Grafik 17. Klinički odgovor kroz vreme u odnosu prisutne genske alele za FokI VDR polimorfizam, nakon 24 meseca

Statistički značajna razlika u terapijskom odgovoru ACR Pedi 50, 70 i 100 nije postojala između prisutnih udruženih kombinacija genotipova za TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizam nakon 12 meseci i 24 meseca lečenja biološkom terapijom. (Tabela 26, Grafik 18).

Tabela 26. Klinički odgovor kroz vreme u odnosu na udružene kombinacije TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizama

| Vreme praćenja | ACR Pedi | GG+Ff/ff | GA/AA+FF/Ff | GG+ff | GA/AA+ff | χ^2 | p |
|----------------|----------|------------|--------------|---------|----------|----------|-------|
| 12 meseci | 50 | 14 (63,60) | 32 (72,70) † | 2 (100) | 3 (60,0) | 1,67 | 0,643 |
| | 70 | 7 (31,80) | 23 (52,30) | 2 (100) | 2 (40,0) | 4,88 | 0,180 |
| | 100 | 2 (19,10) | 10 (22,73) | 2 (100) | 2 (40,0) | 10,21 | 0,117 |
| 24 meseca | 50 | 15 (68,20) | 34 (77,30) | 2 (100) | 3 (60,0) | 4,13 | 0,248 |
| | 70 | 13(59,10) | 30 (68,20) | 2 (100) | 1 (20,0) | 5,79 | 0,122 |
| | 100 | 10 (45,50) | 21 (47,73) | 2 (100) | 0 (0,0) | 6,66 | 0,083 |

GG+Ff/ff, GA/AA+FF/Ff, GG+ff, GA/AA+ff - udružene kombinacije genotipova za TNF i VDR polimorfizam, χ^2 – Hi kvadrat test, †- N (%) - broj bolesnika (%)



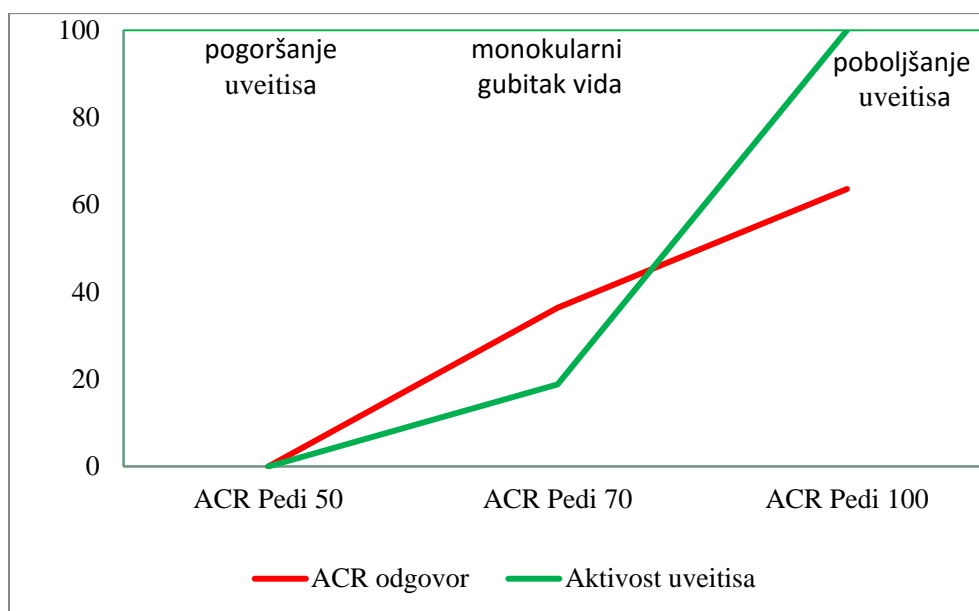
GG+FF/ff, GA/AA+FF/Ff, GG+ff, GA/AA+ff - udružene kombinacije genotipova za TNF i VDR polimorfizam

Grafik 18. Klinički odgovor kroz vreme u odnosu na udružene kombinacije TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizama

5.3.4. Uveitis

U posmatranj JIA grupi jedanaestoro bolesnika (14,10%) je imalo i aktivni uveitis. Njih troje (27,27%) je bilo sa postavljenom dijagnozom oligo i proširenog oligoartikularnog JIA i sve su bile devojčice. Osmoro bolesnika (72,73%) je bilo muškog pola i bolovalo je od artritisa sa entezitisom (ERA). Prosečan uzrast kada je postavljena JIA dijagnoza bio je $77,9 \pm 36,5$ meseci, a uveitisa $111,8 \pm 54,11$ meseci. Svi pacijenti su prethodno lečeni metotreksatom tokom $47,2 \pm 39,19$ meseci u prosečnoj dozi od 10 mg/m^2 nedeljno i nisu lečeni biološkom terapijom. Antinuklearna pozitivnost (ANA) je bila prisutna kod svih devojčica, dok je HLAB51 haplotip utvrđen kod 62,5% i HLAB27 kod 12,5% dečaka.

Tokom dvogodišnjeg praćenja i lečenja adalimumabom došlo je do smirivanja upalnog procesa na oku i nije bilo novih relapsa bolesti. U prva 4 meseca nakon početka terapije adalimumabom svi pacijenti su bili u mogućnosti da prekinu primenu topičnih kortikosteroida. Sedam pacijenata (63,64%) je postiglo ACR Pedi 100% terapijski odgovor, dok je četvoro (36,36%) postiglo ACR Pedi 70% kriterijume poboljšanja. Nova strukturna oštećenja oka nisu zabeležena, izuzev što je monookularni gubitak vida već bio prisutan kod dva pacijenta (18%) i pre uvođenja biološke terapije (Grafik 19). Ozbiljne neželjene reakcije nisu zabeležene.



Grafik 19. Efikasnost primene adalimumaba kod JIA sa uveitisom

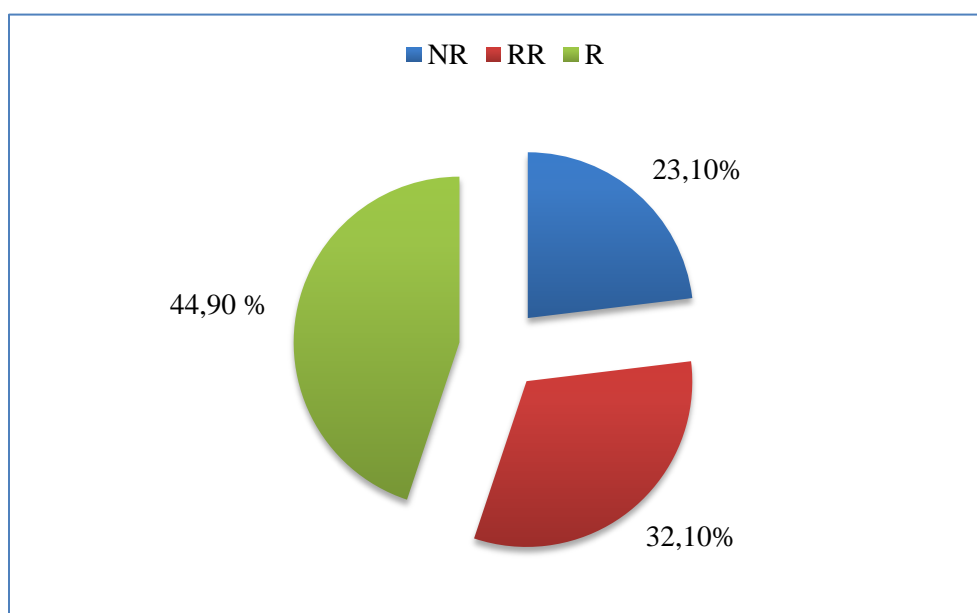
5.4. Rezultati nakon 72 meseca praćenja

5.4.1. Rezultati u zavisnosti od postizanja remisije

Na kraju ukupnog perioda praćenja od 72 meseca celokupna grupa ispitanika je podeljena u tri grupe:

- i) **R grupa (remisija)**- grupa bolesnika koja je postigla remisiju nakon 24 meseca primene biološke terapije zbog čega je bilo moguće prekinuti biološku terapiju. Ispitanici u ovoj grupi ostali su u remisiji bolesti do isteka perioda praćenja (do 72. meseca).
- ii) **RR grupa (remisija-relaps)**- grupa bolesnika koja je postigla remisiju nakon 24 meseca primene biološke terapije zbog čega je bilo moguće prekinuti biološku terapiju. Ispitanici u ovoj grupi su zbog ponovnog pogoršanja bolesti morali ponovo da započnu terapiju biološkim lekom u bilo kom trenutku do kraja perioda praćenja (do 72. meseca).
- iii) **NR grupa (ne remisija)**- grupa bolesnika koja ni u jednom trenutku tokom celog perioda praćenja (do 72 meseca) nije mogla da postigne remisiju bolesti zbog čega je kontinuirano bila na nekom od bioloških lekova.

Zastupljenost bolesnika po grupama bila je: **R grupa** 35 pacijenata (44,90%); **RR grupa** 25 pacijenata (32,10%) i **NR grupa** 18 pacijenata (23,10%) (Grafik 20).



R grupa remisija, RR grupa remisija-relaps, NR- ne remisija

Grafik 20. Zastupljenost bolesnika po grupama nakon 72 meseca praćenja

Upoređivanjem karakteristika bolesnika između sve tri grupe utvrđeno je da nije postojala razlika u uzrastu bolesnika u trenutku postavljanja dijagnoze, u uzrastu bolesnika kada je započeto lečenje biološkim lekovima, u dužini trajanja bolesti pre početka biološke terapije, dužini terapije metotreksatom i srednjoj dozi metotreksata, dužini primene i dozi steroidne terapije u odnosu na mogućnost postizanje remisije.

Dužina prvog kursa biološke terapije se statistički značajno razlikovala među grupama u odnosu na mogućnost postizanja remisije. Naime, očekivano bolesnici koji su postigli stabilnu remisiju (R grupa) i bolesnici koji su postigli remisiju, ali su se zbog relapsa bolesti vratili na biološku terapiju (RR grupa) imali su statistički značajno kraći prvi kurs biološke terapije u odnosu na bolesnike koji nikada nisu uspeali da postignu remisiju bolesti (NR grupa) ($p < 0,001$). Takođe, trajanje drugog kursa biološke terapije je statistički značajno bilo kraće kod bolesnika RR grupe u odnosu na bolesnike NR grupe ($p < 0,001$). Dužina postignute remisije nakon prekida primene biološke terapije je statistički značajno bila duža kod bolesnika R grupe u odnosu na bolesnike RR grupe ($p < 0,001$) (Tabela 27).

Tabela 27. Karakteristike bolesnika nakon 72 meseca u odnosu na mogućnost postizanja remisije

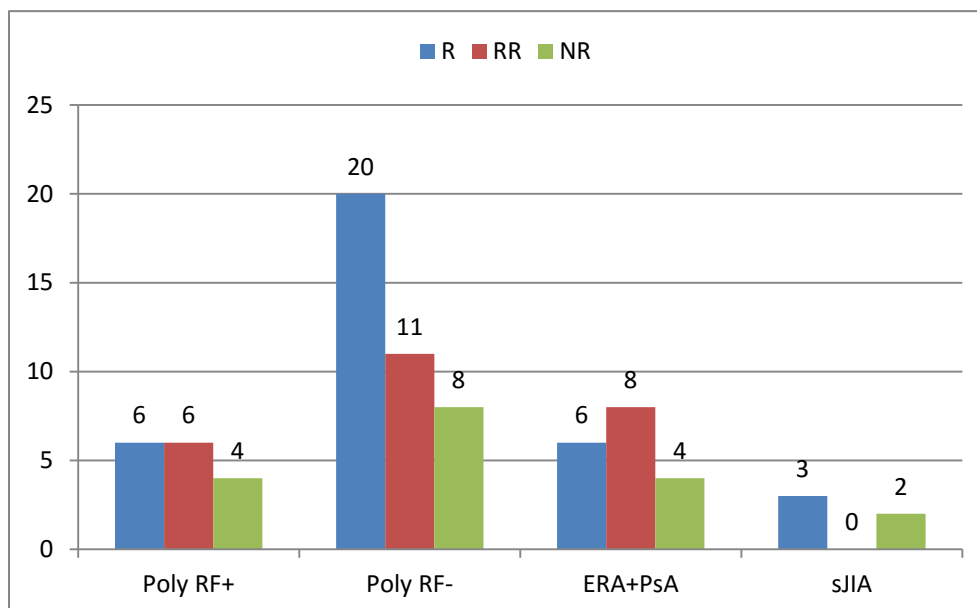
| Parametar | R grupa | RR grupa | NR grupa | F/ ^K | p |
|---|--------------------------|-------------------------|-------------|---------------------|---------|
| Uzrast na početku bolesti (godine) | 10,35±4,03 | 8,34±5,00 | 9,18±5,88† | 1,18 | 0,313 |
| Uzrast na početku biološke terapije (godine) | 15,40±4,66 | 14,47±5,39 | 16,25±5,66 | 0,567 ^K | 0,753 |
| Dužina bolesti pre biološke terapije (meseći) | 65,46±37,60 | 58,52±36,08 | 76,50±60,94 | 0,58 ^K | 0,753 |
| Dužina terapije MTX (meseći) | 48,66±41,13 | 64,04±42,78 | 65,17±44,49 | 3,01 ^K | 0,222 |
| Srednja doza MTX (mg) | 12,29±4,70 | 13,82±5,38 | 13,86±5,17 | 3,02 ^K | 0,221 |
| Dužina terapije steroidima (meseći) | 17,43±26,96 | 19,64±21,83 | 24,83±42,68 | 0,54 ^K | 0,765 |
| Doza steroida (g) ^Δ | 0,83±1,42 | 1,29±1,85 | 3,16±5,02 | 1,48 ^K | 0,478 |
| Dužina I kursa biološke terapije (meseći) | 37,26±17,87 ^a | 30,20±13,6 ^a | 57,67±18,65 | 19,846 | <0,001* |
| Dužina II kursa biološke terapije (meseći) | - | 19,28±14,38 | 7,11±13,24 | 4,655 ^{MW} | <0,001* |
| Dužina remisije (meseći) | 38,11±19,50 | 14,12±11,29 | - | 4,269 ^{MW} | <0,001* |

F- analiza varijanse, ^K-Kruskal-Wallis-ov test, †- aritmetička sredina±standardna devijacija, ^{MW}- Mann-Whitney test, MTX- metotreksat, mg- miligrami, g- gram, ^Δ - kumulativna doza steroida, ^a vs NR grupa, * statistička značajnost

5.4.1.1. Mogućnost postizanja remisije u odnosu na podtip JIA

Nije utvrđeno postojanje statistički značajne razlike u mogućnosti postizanja remisije u odnosu na JIA podtip na kraju posmatranog perioda ($\chi^2=6,320$, $p=0,388$) (Grafik 21).

U grupi bolesnika sa Poly RF+ šestoro bolesnika (37,50%) je postiglo remisiju, isti broj (37,50%) je zbog relapsa nakon postignute remisije morao da se vrati na biološku terapiju, dok njih četvoro (25,00%) nikada nije postiglo remisiju. Kod bolesnika sa Poly RF- dvadesetoro (51,30%) je postiglo remisiju, 11 bolesnika (28,20%) su zbog relapsa nakon postignute remisije vraćeni na biološku terapiju i 8 bolesnika (20,50%) nikada nije ušlo u remisiju. Kod ERA+PsA podtipa, 6 bolesnika (33,30%) je ušlo u remisiju, njih 8 (44,40%) su nakon remisije vraćeni na biološku terapiju zbog relapsa bolesti i 4 bolesnika nikada nije ušlo u remisiju. Kod sJIA tri bolesnika je postiglo (60%) remisiju, dok njih dvoje (40%) nikada nije ušlo u remisiju.



R grupa remisija, RR grupa remisija-relaps, NR- ne remisija, Poly RF+: poliartikularni RF+ podtip JIA, Poly RF-: oligo JIA i poliartikularni RF- podtip JIA, ERA+PsA: ERA podtip i psorijazni JIA, sJIA grupa: sistemski oblik JIA

Grafik 21. Postizanje remisije u odnosu na JIA podtipove nakon 72 meseca

5.4.1.2. Karakteristike podtipova JIA u R, RR i NR grupama

I) R grupa

U R grupi bolesnika koji su nakon 24 meseca lečenja biološkom terapijom ostali u remisiji do kraja perioda praćenja (72 meseca) nije nađena statistički značajna razlika u uzrastu kada je postavljena dijagnoza, uzrastu kada je započeta biološka terapija, dužini trajanja bolesti pre uvođenja biološke terapije, srednjoj dozi MTX i dužini steroidne terapije u odnosu na JIA podtipove.

Dužina trajanja terapije MTX i doza steroida statistički su se značajno razlikovale u odnosu na JIA podtipove ($\chi^2=13,111$, $p=0,004$, odnosno $\chi^2=8,400$, $p=0,038$). Dužina terapije MTX statistički se značajno razlikovala između sledećih grupa: Poly RF+ i ERA+PsA, Poly RF- grupe i ERA+PsA grupe, kao i ERA+PsA grupe i sJIA. Kumulativna doza steroida statistički se značajno razlikovala između Poly RF- grupe i ERA+PsA grupe. Postojala je statistički značajna razlika u dužini prvog kursa biološke terapije u odnosu na JIA podtipove kod bolesnika R grupe ($p=0,019$) između sledećih grupa: Poly RF+ grupa u odnosu na ERA+PsA grupu ($p=0,041$), Poly RF- grupa u odnosu na sJIA grupu ($p=0,026$), kao i ERA+PsA grupa u odnosu na sJIA ($p=0,024$). Dužina remisije statistički značajno se razlikovala u odnosu na JIA podtipove kod ove grupe bolesnika ($p=0,009$). Daljom analizom je utvrđeno da je statistički značajna razlika postojala između

sledećih grupa: Poly RF- u odnosu na ERA+PsA ($p=0,009$), Poly RF- u odnosu na sJIA ($p=0,035$), ERA+PsA u odnosu na sJIA ($p=0,024$) (Tabela 28).

Tabela 28. Karakteristike JIA podtipova u R grupi bolesnika

| Parametar | Poly RF+ | Poly RF- | ERA+PsA | sJIA | F/ ^k | p |
|---|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------|--------|
| Uzrast na početku bolesti (godine) | 12,43±4,39 | 9,29±4,31 | 10,79±3,33 | 7,41±2,66 | 5,512 ^k | 0,133 |
| Uzrast na početku biološke terapije (godine) | 16,80±3,59 | 14,74±4,74 | 16,45±3,49 | 14,67±8,88 | 0,785 ^k | 0,853 |
| Dužina bolesti pre biološke terapije (meseći) | 48,71±27,56 | 68,33±37,42 | 60,8±37,52 | 94,67±69,94 | 1,870 ^k | 0,600 |
| Dužina terapije MTX (meseći) | 61,43±48,55 ^a | 59,25±40,63 ^a | 14,1±13,93 | 98,00±72,09 ^a | 13,11 ^k | 0,004* |
| Srednja doza MTX (mg) | 15,00±4,08 | 12,94±4,50 | 11,50±6,69 | 9,00±3,61 | 3,500 ^k | 0,321 |
| Dužina steroidne terapije (meseći) | 27,58±29,92 | 10,17±17,42 | 35,00±36,39 | 10,33±17,90 | 7,227 ^k | 0,065 |
| Doza steroida (g) ^Δ | 0,57±1,51 | 0,74±1,41 ^a | 2,14±2,29 | - | 8,400 ^k | 0,038* |
| Dužina I kursa | 44,00±18,60 ^a | 35,55±15,84 ^b | 23,17±12,62 ^b | 63,33±2,08 | 9,974 | 0,019* |
| Dužina remisije | 32,00±20,33 | 38,9±17,6 ^{a,b} | 55,33±9,33 ^b | 10,33±8,62 | 11,523 | 0,009* |

Poly RF+: poliartikularni RF+ podtip JIA, Poly RF-: oligo JIA i poliartikularni RF- podtip JIA, ERA+PsA : ERA podtip i psorijazni JIA, sJIA grupa: sistemski oblik JIA, F- analiza varijanse, ^k Kruskal-Wallis-ov test, ^a vs ERA+PsA, ^b vs sJIA, MTX- metotreksat, mg- miligrami, g- grami, ^Δ - kumulativna doza steroida,* statistička značajnost

II) RR grupa

Dužina lečenja MTX statistički se značajno razlikovala u odnosu na JIA podtipove kod bolesnika koji su vraćeni na biološku terapiju nakon što su postigli remisiju ($p=0,010$). Post hoc analizom utvrđeno je da je između grupa Poly RF+ u odnosu na ERA+PsA ($p=0,003$) i Poly RF- u odnosu na ERA+PsA ($P=0,026$) postojala statistički značajna razlika. Doza primenjivanih steroida statistički se značajno razlikovala u odnosu na JIA podtipove ($p=0,035$) i to bolesnici sa Poly RF- podtipom statistički značajno su koristili niže vrednosti steroida u odnosu na ERA+PsA podtip ($p=0,020$). Dužina postignute remisije se statistički značajno razlikovala u odnosu na JIA podtipove ($p=0,023$) i to bolesnici sa Poly RF- podtipom su statistički značajnije imali dužu remisiju u odnosu na ERA+PsA ($p=0,007$) (Tabela 29).

Tabela 29. Karakteristike JIA podtipova u RR grupi bolesnika

| Parametar | Poly RF+ | Poly RF- | ERA+PsA | F/ ^K | p |
|---|--------------------------|--------------------------|-------------|--------------------|--------|
| Uzrast na početku bolesti (godine) | 9,38±5,86 | 6,91±5,94 | 9,61±2,16 | 0,909 | 0,635 |
| Uzrast na početku biološke terapije (godine) | 15,62±5,58 | 13,69±6,72 | 14,47±3,18 | 1,082 | 0,582 |
| Dužina bolesti pre biološke terapije (meseći) | 50,00±12,63 | 76,09±44,36 | 40,75±25,10 | 4,652 | 0,098 |
| Dužina terapije MTX (meseći) | 94,33±30,26 ^a | 72,91±41,50 ^a | 29,12±29,30 | 9,125 | 0,010* |
| Srednja doza MTX (mg) | 15,83±3,76 | 13,46±3,50 | 12,81±8,18 | 1,493 ^K | 0,474 |
| Dužina steroidne terapije (meseći) | 16,00±26,20 | 16,55±19,87 | 26,62±22,31 | 2,015 | 0,365 |
| Doza steroida (g) ^Δ | 1,17±1,47 | 0,30±0,46 ^a | 2,75±2,43 | 6,694 | 0,035* |
| Dužina I kursa biološke terapije | 33,67±9,77 | 32,09±17,78 | 25,00±8,42 | 1,788 | 0,409 |
| Dužina II kursa biološke terapije | 24,00±13,08 | 12,91±11,42 | 24,50±16,94 | 4,068 | 0,131 |
| Dužina remisije | 19,50±15,81 | 16,55±9,74 ^a | 6,75±5,20 | 7,532 | 0,023* |

Poly RF+: poliartikularni RF+ podtip JIA, Poly RF-: oligo JIA i poliartikularni RF- podtip JIA, ERA+PsA : ERA podtip i psorijazni JIA, sJIA grupa: sistemski oblik JIA, F – analiza varijanse, ^K Kruskal-Wallis-ov test, MTX- metotreksat, mg- miligrami, g- grami, ^Δ - kumulativna doza steroida, ^a vs ERA+PsA, * statistička značajnost

III) NR grupa

Kod bolesnika koji nakon 72 meseca nisu postigli remisiju nije postojala statistički značajna razlika u uzrastu kada je postavljena dijagnoza, uzrastu kada je započeto lečenje biološkim lekovima, dužini trajanja bolesti pre početka biološke terapije, dužini primene MTX, dužini primene i prosečnoj dozi steroidne terapije, dužini prvog i drugog kursa biološke terapije u odnosu na JIA podtipove. Srednja doza MTX statistički značajno se razlikovala u odnosu na JIA podtipove ($\chi^2=8,284$, $p=0,040$). Bolesnici sa Poly RF+ primenjivali su statistički značajno veće doze MTX u odnosu na bolesnike sa Poly RF- oblikom ($z=2,800$, $p=0,007$) (Tabela 30).

Tabela 30. Karakteristike JIA podtipova u NR grupi bolesnika

| Parametar | Poly RF+ | Poly RF- | ERA+PsA | sJIA | F/ ^K | p |
|---|-------------------------|-------------|-------------|--------------|--------------------|--------|
| Uzrast na početku bolesti (godine) | 11,63±5,72 | 6,66±5,27 | 11,52±2,85 | 2,51±2,13 | 7,404 ^k | 0,060 |
| Uzrast na početku biološke terapije (godine) | 17,10±3,39 | 15,75±6,60 | 17,46±7,24 | 10,62±4,77 | 3,531 ^k | 0,317 |
| Dužina bolesti pre biološke terapije (meseći) | 64,22±45,41 | 79,40±55,81 | 37,62±25,56 | 94,00±79,20 | 5,049 ^k | 0,168 |
| Dužina terapije MTX (meseći) | 73,33±42,50 | 63,80±34,95 | 45,00±38,90 | 106,50±36,06 | 4,573 ^k | 0,206 |
| Srednja doza MTX (mg) | 16,94±3,49 ^a | 11,83±4,54 | 13,75±6,27 | 13,75±5,03 | 8,284 ^k | 0,040* |
| Dužina steroidne terapije (meseći) | 6,89±11,09 | 31,80±45,68 | 14,88±19,85 | 36,00±16,97 | 4,788 ^k | 0,188 |
| Doza steroida (g) ^Δ | 1,43±1,61 | 0,98±1,89 | 2,56±4,00 | 13,50±4,95 | 7,373 ^k | 0,061 |
| Dužina I kursa biološke th | 73,75±10,97 | 52,50±21,56 | 53,00±17,32 | 55,50±7,78 | 3,570 | 0,312 |
| Dužina II kursa biološke th | - | 8,00±13,74 | 7,50±15,00 | 17,00±24,04 | 2,374 | 0,498 |

Poly RF+: poliartikularni RF+ podtip JIA, Poly RF-: oligo JIA i poliartikularni RF- podtip JIA, ERA+PsA : ERA podtip i psorijazni JIA, sJIA grupa: sistemski oblik JIA, F – analiza varijanse, ^K Kruskal-Wallis-ov test, MTX- metotreksat, mg- miligrami, g- grami, ^Δ - kumulativna doza steroida, th- terapija, ^a vs Poly RF-, * statistička značajnost

5.4.1.3. Klinički prediktivni faktori za postizanje remisije

Testiranjem kliničkih parametara kao potencijalnih prediktivnih faktora rizika za postizanje i ostanak u remisiji nakon 72 meseca primene biološke terapije, utvrđeno je da nijedan pojedinačan parametar nije predstavljao statistički značajan nezavisni faktor rizika za postizanje remisije (Tabela 31).

Tabela 31. Klinički parametri kao faktori rizika remisije nakon 72 meseca

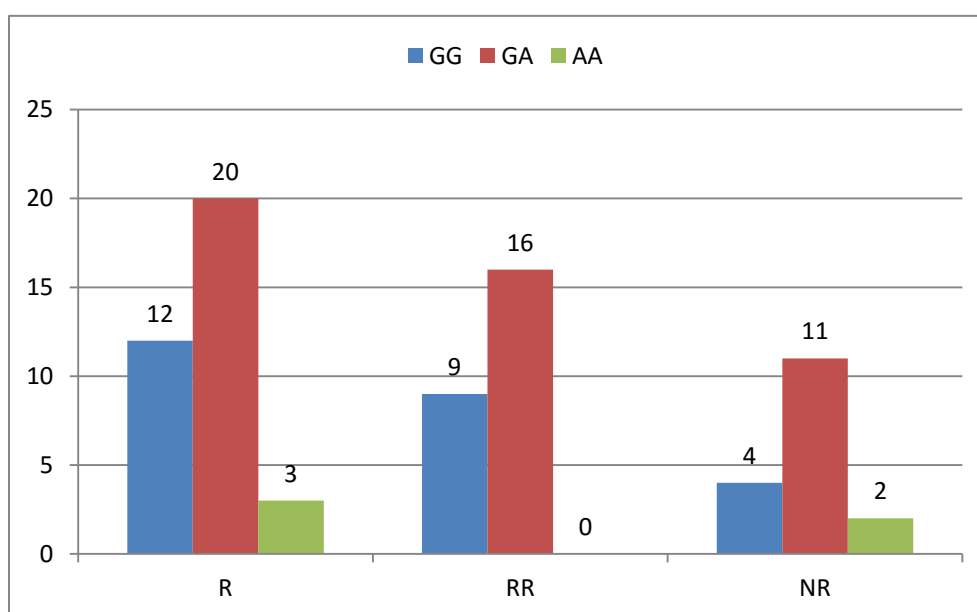
| Faktor rizika | OR | 95%CI | p |
|------------------------------|-------|--------------|-------|
| Muški pol | 0,742 | 0,283-1,947 | 0,544 |
| Poly RF+ | 0,683 | 0,221-2,110 | 0,507 |
| Poly Rf- | 1,684 | 0,685-4,143 | 0,256 |
| ERA+PsA | 0,534 | 0,177-1,611 | 0,266 |
| sJIA | 1,922 | 0,303-12,198 | 0,488 |
| uzrast kad je postavljena dg | 1,081 | 0,973-1,200 | 0,148 |
| uzrast kad je početa th | 1,010 | 0,909-1,111 | 0,835 |
| dužina bolesti pre th | 1,007 | 0,995-1,019 | 0,238 |
| SE | 0,992 | 0,974-1,011 | 0,412 |
| AA | 0,963 | 0,897-1,034 | 0,298 |
| CHAQ | 0,681 | 0,358-1,297 | 0,242 |
| VAS l | 0,988 | 0,960-1,017 | 0,421 |
| VAS p | 0,999 | 0,982-1,016 | 0,890 |
| dužina th MTX | 0,991 | 0,980-1,002 | 0,106 |
| doza MTX | 0,939 | 0,856-1,029 | 0,179 |
| dužina th steroidima | 0,995 | 0,979-1,011 | 0,518 |
| doza steroida | 0,808 | 0,636-1,027 | 0,082 |

OR– unakrsni odnos, 95%CI– 95% interval poverenja, Poly RF+: poliartikularni RF+ podtip JIA, Poly RF-: oligo JIA i poliartikularni RF- podtip JIA, ERA+PsA: ERA podtip i psorijazni JIA, sJIA grupa: sistemski oblik JIA, dg- dijagnoza, th- terapija, SE- sedimentacija eritrocita, AA- broj aktivnih zglobova, CHAQ- Childhood Health Assesment Questionnaire, VAS l- vizuelno analogna skala lekara, VAS p- vizuelno analogna skala pacijenta, MTX- metotreksat

5.4.2. Uticaj TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizama na mogućnost postizanja i održanja remisije

5.4.2.1. Uticaj TNF- α -308 polimorfizma

U sve tri posmatrane grupe najzastupljeniji je bio heterozigotni GA genotip (R grupa 57,10%, RR grupa 64,00%, NR grupa 64,70%), a najmanje zastupljen homozigotni AA genotip (R grupa 8. 60 %, RR grupa 0%, NR grupa 11,80%), ali nije postojala statistički značajna razlika u distribuciji TNF polimorfizma u odnosu na mogućnost postizanja remisije na kraju observacionog perioda ($\chi^2=4,80$, $p=0,309$) (Grafik 22).



GG- homozigotni GG genotip, GA- heterozigotni GA genotip, AA- homozigotni AA genotip, R grupa remisija, RR grupa remisija-relaps, NR- ne remisija

Grafik 22. Distribucija genotipova za TNF- α -308 polimorfizam u odnosu na mogućnost postizanja remisije

Kod sve tri posmatrane grupe bolesnika nije postojala statistički značajna razlika u uzrastu bolesnika na početku lečenja biološkim lekovima, dužini prvog kursa biološke terapije, dužini remisije nakon prvog kursa biološke terapije, dozi MTX, dužini i dozi steroidne terapije u odnosu na prisutan TNF- α -308 polimorfizam. Statistička značajnost postoji kod bolesnika koji su postigli remisiju, ali su se zbog relapsa bolesti vratili na biološku terapiju (RR grupa bolesnika), gde su bolesnici sa prisutnim heterozigotnim GA genotipom statistički značajno duže lečeni metotreksatom u odnosu na bolesnike sa GG genotipom ($z=2,15$, $p=0,031$) (Tabela 32).

Tabela 32. Karakteristike bolesnika u odnosu na remisiju i prisutne pojedinačne genotipove za TNF- α -308 polimorfizam

| | GG | GA | AA | K | p |
|---|-------------------|--------------------|--------------------|-------|--------|
| R GRUPA PACIJENATA | | | | | |
| | N=12 | N=20 | N=3 | | |
| Uzrast na početku biološke terapije (godine) | 15,24 \pm 5,88 | 15,21 \pm 4,26 | 17,28 \pm 2,51† | 0,892 | 0,640 |
| Dužina prvog kursa biološke terapije (meseći) | 40,58 \pm 19,13 | 34,60 \pm 15,39 | 41,67 \pm 31,66 | 1,08 | 0,583 |
| Dužina remisije nakon prvog kursa (meseći) | 31,67 \pm 23,22 | 42,10 \pm 15,65 | 37,33 \pm 27,59 | 1,57 | 0,456 |
| Dužina lečenja MTX (meseći) | 58,25 \pm 32,12 | 38,25 \pm 42,68 | 79,67 \pm 51,96 | 5,71 | 0,057 |
| Doza MTX (mg) | 11,21 \pm 2,48 | 12,78 \pm 5,82 | 13,33 \pm 2,89 | 2,49 | 0,288 |
| Dužina steroidne th (meseći) | 12,83 \pm 17,19 | 18,60 \pm 31,64 | 28,00 \pm 30,20 | 1,12 | 0,571 |
| Doza steroida(g) ^Δ | 0,58 \pm 1,00 | 0,74 \pm 1,06 | 2,34 \pm 3,73 | 1,26 | 0,532 |
| RR GRUPA PACIJENATA | | | | | |
| | N=9 | N=16 | | | |
| Uzrast na početku biološke terapije (godine) | 17,15 \pm 2,20 | 13,39 \pm 5,95 | | 0,948 | 0,330 |
| Dužina prvog kursa biološke terapije (meseći) | 27,44 \pm 8,53 | 31,75 \pm 15,86† | | 0,028 | 0,977 |
| Dužina remisije nakon prvog kursa (meseći) | 14,33 \pm 8,86 | 14,00 \pm 12,73 | | 0,45 | 0,650 |
| Dužina lečenja MTX (meseći) | 40,00 \pm 34,53 | 77,56 \pm 41,84 | | 2,15 | 0,031* |
| Doza MTX (mg) | 13,33 \pm 7,91 | 14,09 \pm 3,58 | | 0,54 | 0,637 |
| Dužina steroidne th (meseći) | 29,00 \pm 20,68 | 14,38 \pm 21,27 | | 1,64 | 0,101 |
| Doza steroida (g) ^Δ | 1,03 \pm 1,71 | 1,44 \pm 1,96 | | 0,84 | 0,401 |
| NR GRUPA PACIJENATA | | | | | |
| | N=4 | N=11 | N=2 | | |
| Uzrast na početku biološke terapije (godine) | 11,00 | 15,97 \pm 5,82 | 20,05 \pm 5,24 | 1,886 | 0,390 |
| Dužina prvog kursa biološke terapije (meseći) | 46,25 \pm 21,54 | 64,82 \pm 16,33 | 45,00 \pm 19,80 | 0,000 | 1,000 |
| Dužina remisije nakon prvog kursa (meseći) | 61,50 \pm 46,69 | 75,00 \pm 45,25 | 15,00 \pm 21,21 | 1,389 | 0,267 |
| Dužina lečenja MTX (meseći) | 10,50 \pm 4,20 | 15,65 \pm 2,98 | 10,00 \pm 14,14 | 0,000 | 1,000 |
| Doza MTX (mg) | 7,75 \pm 9,39 | 21,45 \pm 20,26 | 90,00 \pm 127,28 | 0,492 | 0,800 |
| Dužina steroidne th (meseći) | 0,00 | 4,63 \pm 5,95 | 2,50 \pm 2,12 | 2,191 | 0,133 |
| Doza steroida (g) ^Δ | 11,00 | 15,97 \pm 5,82 | 20,05 \pm 5,24 | 1,886 | 0,390 |

GG- homozigotni GG genotip, GA- heterozigotni GA genotip, AA- homozigotni AA genotip
 K – Kruskal-Wallis-ov test, R grupa remisija, RR grupa remisija-relaps, NR- ne remisija, N- broj bolesnika, † Aritmetička sredina \pm standardna devijacija, MTX- metotreksat, mg- miligrami, g- grami, ^Δ - kumulativna doza steroida, th- terapija, * statistička značajnost

5.4 2.1.1. Uticaj prisustva genskih alela za TNF- α -308 polimorfizam

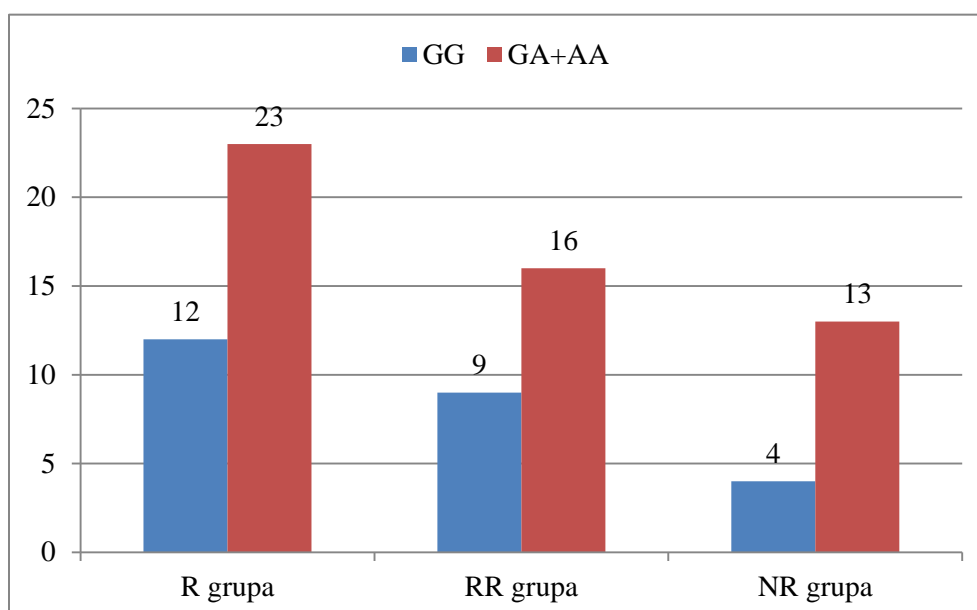
u odnosu na postizanje remisije

U sve tri ispitivane grupe bolesnika na kraju observacionog perioda najzastupljeniji je bio A alel za TNF- α -308 polimorfizam, ali bez statistički značajne razlike uticaja prisustva A ili G alela za TNF- α -308 polimorfizam u odnosu na mogućnost postizanja remisije nakon 72 meseca ($\chi^2=0,848$, $p=0,654$) (Tabela 33, Grafik 23).

Tabela 33. Prisustvo genskih alela za TNF- α -308 polimorfizam u zavisnosti od mogućnosti postizanja remisije

| TNF- α -308 | R grupa | RR grupa | NR grupa | χ^2 | p |
|--------------------|-------------|-------------|------------|----------|-------|
| GG | 12 (34,30) | 9 (36,00) | 4 (23,50)† | 0,848 | 0,654 |
| GA+AA | 23 (65,70) | 16 (64,00) | 13 (76,50) | | |
| Ukupno | 35 (100,00) | 25 (100,00) | 17 (100,0) | | |

R grupa remisija, RR grupa remisija-relaps, NR- ne remisija, GG- homozigotni GG genotip (G alel), GA+AA- heterozigotni GA genotip i homozigotni AA genotip (A alel), χ^2 – Hi-kvadrat test, †- N (%) - broj bolesnika (%)



R grupa remisija, RR grupa remisija-relaps, NR- ne remisija, GG- homozigotni GG genotip (G alel), GA+AA- heterozigotni GA genotip i homozigotni AA genotip (A alel)

Grafik 23. Distribucija genskih alela za TNF- α -308 polimorfizam u odnosu na mogućnost postizanja remisije

Detaljna analiza pojedinačnih karakteristika svake od posmatranih grupa na kraju observacionog perioda u odnosu na prisustvo genskih alela za TNF- α -308 polimorfizam ukazala je da je statistički značajno duže lečenje MTX-om bilo kod bolesnika sa prisutnim A alelom u odnosu na bolesnike sa prisutnim G alelom ($z=2,153$, $p=0,031$) u grupi bolesnika koja je postigla remisiju, ali se zbog relapsa bolesti vratila na biološku terapiju (RR grupa). Kod preostale dve grupe bolesnika koji su sve vreme u stabilnoj remisiji (R grupa) i onih koji nikada nisu postigli remisiju (NR grupa) statistička značajnost dužine primene metotreksata nije postojala u odnosu na prisustvo A ili G alela za TNF- α -308 polimorfizam (Tabela 34).

Statistički značajna razlika u uzrastu na početku lečenja biološkim lekovima, dužini postignute remisije, prosečno primenjivanoj dozi metotreksata, dužini primene i dozi

kortikosteroidne terapije u odnosu na prisutne genske alele za TNF- α -308 polimorfizam između tri ispitivane grupe bolesnika (R, RR, NR) nije postojala u odnosu na mogućnost postizanja remisije (Tabela 34).

Tabela 34. Karakteristike bolesnika u odnosu na postizanje remisije u zavisnosti od prisutnih genskih alela za TNF- α -308 polimorfizam

| | GG | GA+AA | MW | p |
|---|-------------|-------------|-------|--------|
| R GRUPA PACIJENATA | | | | |
| | N=12 | N=23 | | |
| Uzrast na početku biološke terapije (godine) | 15,24±5,88 | 15,48±4,09† | 0,276 | 0,800 |
| Dužina prvog kursa biološke terapije (meseći) | 40,58±19,13 | 35,52±17,38 | 0,906 | 0,365 |
| Dužina remisije nakon prvog kursa (meseći) | 31,67±23,22 | 41,48±16,84 | 1,253 | 0,210 |
| Dužina lečenja MTX (meseći) | 58,25±32,12 | 43,65±44,97 | 1,565 | 0,118 |
| Doza MTX (mg) | 11,21±2,48 | 12,85±5,48 | 1,578 | 0,115 |
| Dužina steroidne th (meseći) | 12,83±17,19 | 19,83±30,95 | 0,074 | 0,941 |
| Doza steroida (g) ^Δ | 1,00±0,29 | 1,60±0,33 | 0,875 | 0,382 |
| RR GRUPA PACIJENATA | | | | |
| | N=9 | N=16 | | |
| Uzrast na početku biološke terapije (godine) | 17,15±2,20 | 13,39±5,95 | 0,973 | 0,340 |
| Dužina prvog kursa biološke terapije (meseći) | 27,44±8,52 | 31,75±15,86 | 0,028 | 0,977 |
| Dužina remisije nakon prvog kursa (meseći) | 14,33±8,86 | 14,00±12,73 | 0,454 | 0,650 |
| Dužina lečenja MTX (meseći) | 40,00±34,53 | 77,56±41,84 | 2,153 | 0,031* |
| Doza MTX (mg) | 13,33±7,91 | 14,10±3,58 | 0,544 | 0,587 |
| Dužina steroidne th (meseći) | 29,00±20,68 | 14,38±21,27 | 1,639 | 0,101 |
| Doza steroida (g) ^Δ | 1,03±1,71 | 1,44±1,96 | 0,840 | 0,401 |
| NR GRUPA PACIJENATA | | | | |
| | N=4 | N=13 | | |
| Uzrast na početku biološke terapije (godine) | 11,50 | 16,65±5,72 | - | - |
| Dužina prvog kursa biološke terapije (meseći) | 46,25±21,55 | 61,77±17,61 | 1,417 | 0,163 |
| Dužina lečenja MTX (meseći) | 61,50±46,69 | 65,77±47,45 | 0,113 | 0,956 |
| Doza MTX (mg) | 10,50±4,20 | 14,81±5,35 | 1,859 | 0,079 |
| Dužina steroidne th (meseći) | 7,75±9,39 | 32,00±48,53 | 1,175 | 0,296 |
| Doza steroida (g) ^Δ | 0,00 | 4,30±5,53 | 1,962 | 0,079 |

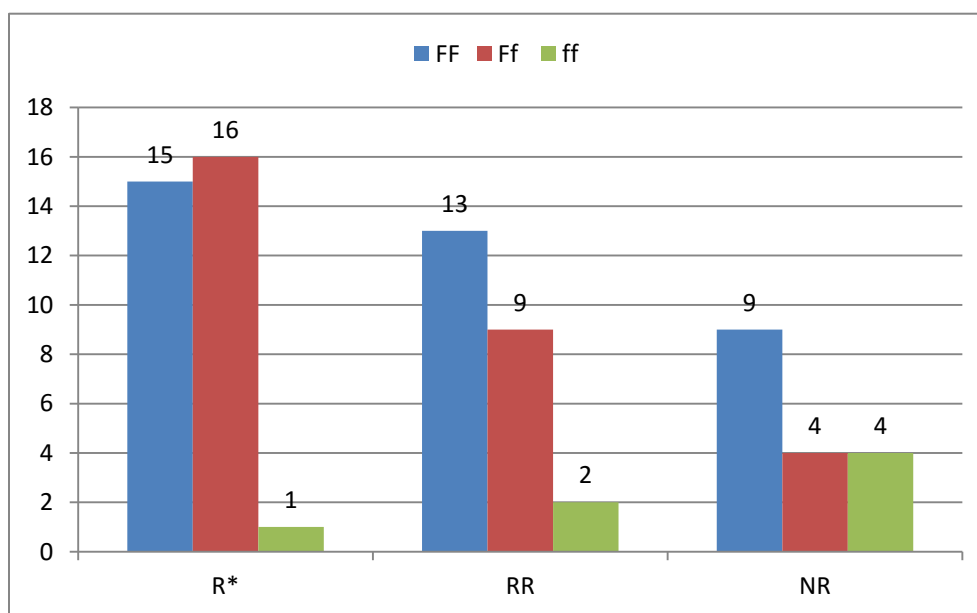
GG- homozigotni GG genotip (G alel), GA+AA- heterozigotni GA genotip i homozigotni AA genotip (A alel), MW– Man Whitney test, N- broj bolesnika, † aritmetička sredina±standardna devijacija, MTX- metotreksat, mg- miligrami, g- gram, ^Δ - kumulativna doza steroida, th- terapija, * statistička značajnost

5.4.2.2. Uticaj FokI VDR polimorfizma

Utvrđeno je da je postojala statistički značajna razlika učestalosti genotipova FokI VDR polimorfizma gena između bolesnika koji su postigli remisiju i ostali u stabilnoj remisiji do kraja perioda praćenja (R grupa) u odnosu na bolesnike koji nikada nisu uspeli da postignu

remisiju (NR grupa) ($\chi^2=6,52$, $p=0,038$), dok između ostalih grupa statistički značajna razlika nije postojala ($p>0,05$) (Grafik 24).

Detaljna analiza distribucije genotipova za FokI VDR polimorfizam nakon 72 meseca primene biološke terapije u grupi bolesnika koja je postigla stabilnu remisiju (R grupa) je pokazala je da su najzastupljeniji bili homozigotni FF genotip kod 15 bolesnika (46,90%) i heterozigotni Ff genotip kod 16 bolesnika (50,00%), dok je samo jedan bolesnik imao (3,10%) homozigotni ff genotip. U grupi koja je postigla remisiju, ali je zbog relapsa bolesti vraćena na biološku terapiju (RR grupa) najzastupljeniji je bio FF genotip kod 13 bolesnika (54,20%), dok je njih devetoro (37,50%) imalo heterozigotni Ff, a dvoje bolesnika (8,30%) je imalo homozigotni ff genotip. I kod bolesnika koji nikada nisu postigli remisiju (NR grupa) bolesnika najviše je bilo onih sa homozigotnim FF genotipom, njih 9 (52,90%), dok su po četvoro bolesnika (23,50%) imali heterozigotni Ff i homozigotni ff genotip (Grafik 24).



FF- homozigotni FF genotip, Ff- heterozigotni Ff genotip, ff- homozigotni ff genotip, R grupa remisija, RR grupa remisija-relaps, NR- ne remisija, *vs NR grupa

Grafik 24. Distribucija genotipova za FokI VDR polimorfizam u odnosu na mogućnost postizanja remisije

Detaljna analiza pojedinačnih karakteristika svake od posmatranih grupa na kraju observacionog perioda ukazala je da je statistički značajna razlika postojala u dužini primene kortikosteroidne terapije u grupi bolesnika koji su postigli stabilnu remisiju (R grupa), gde su bolesnici sa FF genotipom statistički značajno duže lečeni kortikosteroidnom terapijom u odnosu na bolesnike sa Ff genotipom ($\chi^2=2,033$, $p=0,042$) (Tabela 35).

Statistički značajna razlika u dužini primene prvog kursa biološke terapije, dužini postignute remisije, dužini primene metotreksata, srednjoj dozi metotreksata i dozi steroida u odnosu na prisustvo FokI VDR polimorfizma nije postojala između tri ispitivane grupe (R, RR, NR) u odnosu na mogućnost postizanja remisije (Tabela 35).

Tabela 35. Karakteristike bolesnika u odnosu na remisiju i prisutne genotipove za FokI VDR polimorfizam

| | FF | Ff | ff | K | p |
|---|-------------|--------------|-------------|-------|--------|
| R GRUPA PACIJENATA | | | | | |
| | N=15 | N=16 | N=1 | | |
| Dužina prvog kursa biološke terapije (meseći) | 42,00±19,26 | 35,25±16,14† | 40,00 | 0,834 | 0,404 |
| Dužina remisije nakon prvog kursa (meseći) | 33,73±20,34 | 39,27±19,60 | 46,00 | 0,812 | 0,412 |
| Dužina lečenja MTX (meseći) | 51,27±40,04 | 45,44±41,75 | 120,00 | 0,455 | 0,649 |
| Doza MTX (mg) | 13,63±3,66 | 11,09±5,63 | 10,00 | 1,094 | 0,274 |
| Dužina steroidne th (meseći) | 26,33±25,91 | 12,94±29,21 | | 2,033 | 0,042* |
| Doza steroida (g) ^Δ | 0,87±1,71 | 0,86±1,31 | | 0,043 | 0,965 |
| RR GRUPA PACIJENATA | | | | | |
| | N=13 | N=9 | N=2 | | |
| Dužina prvog kursa biološke terapije (meseći) | 34,46±14,92 | 28,11±11,15 | 15,00±4,24† | 5,01 | 0,082 |
| Dužina remisije nakon prvog kursa (meseći) | 13,23±12,56 | 13,56±8,86 | 28,00±4,24 | 3,46 | 0,178 |
| Dužina lečenja MTX (meseći) | 78,84±46,90 | 44,11±31,73 | 82,00±2,83 | 4,14 | 0,126 |
| Doza MTX (mg) | 15,23±4,06 | 11,39±7,19 | 15,00 | 1,15 | 0,249 |
| Dužina steroidne th (meseći) | 21,92±22,67 | 17,11±22,24 | 22,50±31,82 | 0,425 | 0,808 |
| Doza steroida (g) ^Δ | 1,15±2,08 | 1,70±1,77 | - | 1,20 | 0,230 |
| NR GRUPA PACIJENATA | | | | | |
| | N=9 | N=4 | N=4 | | |
| Dužina prvog kursa biološke terapije (meseći) | 59,89±20,67 | 53,25±15,90 | 59,00±22,73 | 0,724 | 0,696 |
| Dužina lečenja MTX (meseći) | 53,78±35,25 | 76,00±33,94 | 78,25±77,23 | 0,769 | 0,681 |
| Doza MTX (mg) | 13,28±4,85 | 16,88±2,39 | 11,88±8,00 | 2,136 | 0,344 |
| Dužina steroidne th (meseći) | 16,22±15,91 | 12,25±24,50 | 63,00±80,42 | 1,995 | 0,369 |
| Doza steroida (g) ^Δ | 2,05±3,67 | 2,86±5,74 | 6,50±7,32 | 1,862 | 0,394 |

FF- homozigotni FF genotip, Ff- heterozigotni Ff genotip, ff- homozigotni ff genotip, R grupa remisija, RR grupa remisija-relaps, NR- ne remisija, K- Kruskal-Wallis-ov test, N- broj bolesnika, † aritmetička sredina±standardna devijacija, MTX- metotreksat, mg- miligrami, g- grami, ^Δ - kumulativna doza steroida, th- terapija, * statistička značajnost

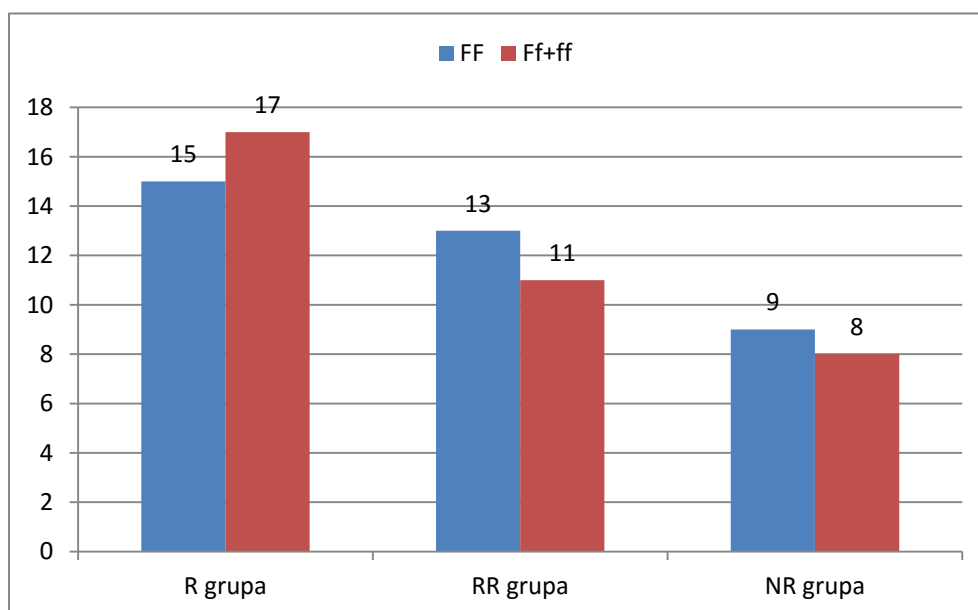
5.4.2.2.1. Uticaj prisustva genskih alela za FokI VDR polimorfizam u odnosu na postizanje remisije

Analiza prisustva genskih alela za FokI VDR polimorfizam u sve tri ispitivane grupe bolesnika (R, RR, NR grupa) je ukazala da ne postoji statistički značajna razlika uticaja prisustva genskih alela za FokI VDR polimorfizam u odnosu na mogućnost postizanja remisije nakon 72 meseca ($\chi^2=0,337$, $p=0,845$) (Tabela 36, Grafik 25).

Tabela 36. Prisustvo genskih alela za FokI VDR polimorfizam u zavisnosti od mogućnosti postizanja remisije

| FokI VDR polimorfizam | R grupa | RR grupa | NR grupa | χ^2 | p |
|-----------------------|------------|------------|-------------|----------|--------|
| FF | 15 (46,90) | 13 (54,20) | 9 (52,90) † | 0,337 | 0. 845 |
| Ff+ff | 17 (53,10) | 11 (45,80) | 8 (47,10) | | |
| Ukupno | 32 (100,0) | 24 (100,0) | 17 (100,0) | | |

R grupa remisija, RR grupa remisija-relaps, NR- ne remisija FF- homozigotni FF genotip (F alel), Ff+ff- heterozigotni Ff i homozigotni ff genotip (f alel), χ^2 – Hi-kvadrat test, †- N (%) - broj bolesnika (%)



R grupa remisija, RR grupa remisija-relaps, NR- ne remisija, FF- homozigotni FF genotip (F alel), Ff+ff- heterozigotni Ff i homozigotni ff genotip (f alel)

Grafik 25. Distribucija genskih alela za za FokI VDR polimorfizam u odnosu na mogućnost postizanja remisije

Detaljna analiza pojedinačnih karakteristika svake od posmatranih grupa na kraju observacionog perioda u odnosu na prisustvo genskih alela za FokI VDR polimorfizam ukazala je da je steroidna terapija primenjivana statistički značajno duže kod bolesnika sa F alelom u

odnosu na bolesnike sa prisutnim f alelom ($p=0,040$) u grupi bolesnika koja je postigla stabilnu remisiju (R grupa). Kod preostale dve grupe bolesnika koji su postigli remisiju, ali su zbog relapsa bolesti vraćeni na biološku terapiju (RR grupa) i onih koji nikada nisu postigli remisiju (NR grupa) statistička značajnost dužine primene steroida nije postojala u odnosu na prisutne genske alele za FokI VDR polimorfizam (Tabela 37).

Statistički značajna razlika u uzrastu na početku lečenja biološkim lekovima, dužini postignute remisije, dužini lečenja i prosečno primenjivanoj dozi metotreksata, niti u dozi kortikosteroidne terapije u odnosu na prisutne genske alele za FokI VDR polimorfizam između tri ispitivane grupe bolesnika (R, RR, NR) nije postojala u odnosu na mogućnost postizanja remisije (Tabela 37).

Tabela 37. Karakteristike bolesnika u odnosu na postizanje remisije u zavisnosti od prisutnih alela za FokI VDR polimorfizam

| | FF | Ff+ff | MW | p |
|---|-------------|-------------|-------|--------|
| R GRUPA PACIJENATA | | | | |
| | N=15 | N=17 | | |
| Uzrast na početku biološke terapije (godine) | 17,20±3,13 | 14,76±5,18† | 1,514 | 0,137 |
| Dužina prvog kursa biološke terapije (meseci) | 42,00±19,26 | 35,53±15,67 | 0,739 | 0,460 |
| Dužina remisije nakon prvog kursa (meseci) | 33,73±20,34 | 39,76±19,04 | 0,851 | 0,411 |
| Dužina lečenja MTX (meseci) | 51,27±40,04 | 49,82±44,28 | 0,151 | 0,882 |
| Doza MTX (mg) | 13,63±3,66 | 11,03±5,46 | 1,227 | 0,246 |
| Dužina steroidne th (meseci) | 26,33±25,91 | 12,18±28,45 | 2,173 | 0,040* |
| Doza steroida (g) ^Δ | 0,87±1,71 | 0,87±1,26 | 0,185 | 0,882 |
| RR GRUPA PACIJENATA | | | | |
| | N=13 | N=11 | | |
| Uzrast na početku biološke terapije (godine) | 15,44±4,99 | 13,74±5,53 | 0,797 | 0,437 |
| Dužina prvog kursa biološke terapije (meseci) | 34,46±14,92 | 25,73±11,38 | 1,625 | 0,106 |
| Dužina remisije nakon prvog kursa (meseci) | 13,23±12,56 | 16,18±9,94 | 0,900 | 0,392 |
| Dužina lečenja MTX (meseci) | 78,85±46,90 | 51,00±32,27 | 1,624 | 0,106 |
| Doza MTX (mg) | 15,23±4,06 | 12,04±6,59 | 1,084 | 0,331 |
| Dužina steroidne th (meseci) | 21,92±22,67 | 18,09±22,40 | 0,632 | 0,569 |
| Doza steroida (g) ^Δ | 1,15±2,07 | 1,39±1,73 | 0,681 | 0,531 |
| NR GRUPA PACIJENATA | | | | |
| | N=13 | N=11 | | |
| Uzrast na početku biološke terapije (godine) | 12,79±4,78 | 19,08±6,00 | 1,549 | 0,167 |
| Dužina prvog kursa biološke terapije (meseci) | 59,89±20,67 | 53,25±15,90 | 0,851 | 0,414 |
| Dužina lečenja MTX (meseci) | 53,78±35,25 | 76,00±33,94 | 1,004 | 0,330 |
| Doza MTX (mg) | 13,28±4,85 | 16,88±2,39 | 1,418 | 0,199 |
| Dužina steroidne th (meseci) | 16,22±15,91 | 12,25±24,50 | 0,730 | 0,503 |
| Doza steroida (g) ^Δ | 2,05±3,67 | 2,87±5,74 | 0,264 | 0,825 |

FF- homozigotni FF genotip (F alel), Ff+ff- heterozigotni Ff i homozigotni ff genotip (f alel), MW- Man Whitney test, N- broj bolesnika, † aritmetička sredina±standardna devijacija, MTX- metotreksat, mg- miligrami, g- grami, ^Δ - kumulativna doza steroida, th- terapija, * statistička značajnost

5.4.2.3. Uticaj udruženog prisustva kombinacije genotipova za TNF- α -308 i FokI VDR u odnosu na postizanje remisije

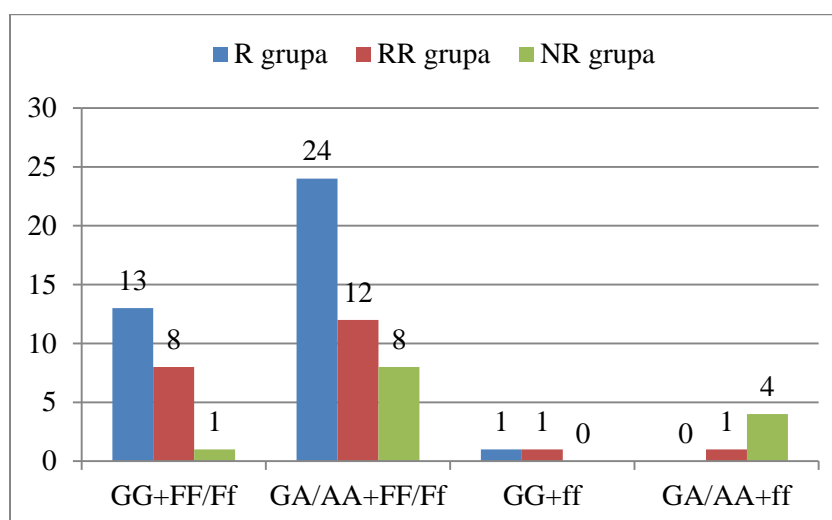
Utvrđeno je da je postojala statistički značajna razlika učestalosti u postizanja remisije u odnosu na prisutne udružene kombinacije genotipova za TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizam ($\chi^2=15,880$, $p=0,014$) (Tabela 38).

Detaljna analiza distribucije udruženih genotipova za TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizam u sve 3 posmatrane grupe bolesnika (R, RR i NR) pokazala je da najveći broj bolesnika imao GA/AA+FF/Ff kombinaciju udruženih genotipova. Oko trećina bolesnika koji su u nekom trenutku uspeli da postignu remisiju (R i RR grupa) su imali GG+Ff/ff udruženu kombinaciju genotipova (34,20%, odnosno 36,40%). Remisiju nikada nisu postigli bolesnici sa GA/AA+ff udruženim genotipovima. Udružena kombinacija GA/AA+ff genotipova činila je trećinu grupe ispitanika koja nikada nije uspjela da postigne remisiju (NR grupa) (Tabela 38, Grafik 26).

Tabela 38. Distribucija udruženih genotipova za TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizam u odnosu na postizanje remisije

| TNF+VDR polimorfizam | R grupa | RR grupa | NR grupa | χ^2 | p |
|----------------------|------------|-------------|-----------|----------|--------|
| GG+Ff/ff | 13 (34,20) | 8 (36,40) † | 1 (7,70) | 15,880 | 0,014* |
| GA/AA+FF/Ff | 24 (63,20) | 12 (54,50) | 8 (61,50) | | |
| GG+ff | 1 (2,60) | 1 (4,50) | 0 | | |
| GA/AA+ff | 0 | 1 (4,50) | 4 (30,80) | | |

R grupa remisija, RR grupa remisija-relaps, NR- ne remisija, GG+Ff/ff, GA/AA+FF/Ff, GG+ff, GA/AA+ff - udružene kombinacije genotipova za TNF i VDR polimorfizam, χ^2 - Hi-kvadrat test, †- N (%) - broj bolesnika (%),* statistička značajnost



GG+Ff/ff, GA/AA+FF/Ff, GG+ff, GA/AA+ff - udružene kombinacije genotipova za TNF i VDR polimorfizam

Grafik 26. Distribucija udruženog prisustva genotipova za TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizma u odnosu na mogućnost postizanja remisije

5.4.2.4. Prediktivni značaj prisustva genetskih markera u 72. mesecu

Testiranjem pojedinačnih genotipova za TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizam kao potencijalnih genetskih prediktivnih faktora rizika za postizanje remisije bolesnika u 72. mesecu nakon primene biološke terapije, utvrđeno je da se nijedan od genotipova za TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizam nije pokazao kao statistički značajan prediktivni nezavisni faktor rizika za postizanje remisije (Tabela 39).

Tabela 39. Pojedinačni genotipovi za TNF i VDR polimorfizam kao faktori rizika za postizanje remisije u 72. mesecu

| POSTIZANJE REMISIJE | OR | 95%CI | p |
|---------------------|------------------|-------------|-------|
| GG | referentna grupa | | |
| GA | 0,426 | 0,144-1,261 | 0,123 |
| AA | 0,474 | 0,063-3,538 | 0,466 |
| FF | referentna grupa | | |
| Ff | 1,805 | 0,675-4,824 | 0,239 |
| ff | 0,244 | 0,027-2,243 | 0,213 |

OR – unakrsni odnos, 95%CI – 95% interval poverenja, GG- homozigotni GG genotip, GA- heterozigotni GA genotip, AA- homozigotni AA genotip, FF- homozigotni FF genotip, Ff- heterozigotni Ff genotip, ff- homozigotni ff genotip

Testiranjem udruženih kombinovanih genotipova za TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizam kao potencijalnih genetskih prediktivnih faktora rizika za postizanje remisije bolesnika u 72. mesecu nakon primene biološke terapije, utvrđeno je da nijedan od prisutnih udruženih kombinovanih genotipova za TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizam nije bio statistički značajan nezavisni faktor rizika za postizanje remisije (Tabela 40).

Tabela 40. Udruženi genotipovi za TNF i VDR polimorfizam kao faktori rizika za postizanje remisije u 72. mesecu

| POSTIZANJE REMISIJE | OR | 95%CI | p |
|---------------------|------------------|--------------|-------|
| GG+FF | referentna grupa | | |
| GG+Ff | 3,556 | 0,326-38,777 | 0,298 |
| GG+ff | 0,444 | 0,022-9,032 | 0,598 |
| GA+FF | 0,593 | 0,138-2,554 | 0,483 |
| GA+Ff | 0,000 | 0,000-0,000 | 0,999 |
| GA+ff | 0,889 | 0,061-12,885 | 0,931 |
| AA+FF | 0,000 | 0,000-0,000 | 0,931 |
| AA+Ff | 0,000 | 0,000-0,000 | 1,000 |
| AA+ff | 0,000 | 0,000-0,000 | 1,000 |

OR– unakrsni odnos, 95%CI– 95% interval poverenja, GG+FF, GG+Ff, GG+ff, GA+FF, GA+Ff, GA+ff , AA+FF, AA+Ff, AA+ff - udružene kombinacije genotipova za TNF i VDR polimorfizam

5.4.2.5. Prediktivni značaj prisustva genetskih markera tokom šestogodišnjeg perioda praćenja

Logistička regresiona analiza je testiranjem pojedinačnih genotipova za TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizam kao potencijalnih genetskih prediktivnih faktora rizika za postizanje remisije, tokom šestogodišnjeg perioda praćenja pokazala da su AA genotip za TNF- α -308 polimorfizam (OR 0,063, p=0,043) i ff genotip za FokI VDR polimorfizma (OR 0,091, p=0,010) faktori rizika koji ukazuju na manju verovatnoću postizanja remisije. Bolesnici sa prisutnim AA genotipom imaju 15,87 puta manju verovatnoću da postignu remisiju u bilo kom trenutku tokom celokupnog perioda praćenja u odnosu na bolesnike sa prisutnim GG genotipom za TNF- α -308 polimorfizam. Bolesnici sa prisutnim ff genotipom imaju 10,90 puta manju verovatnoću da postignu remisiju u odnosu na bolesnike sa prisutnim FF genotipom za FokI VDR polimorfizam (Tabela 41).

Tabela 41. Pojedinačni genotipovi za TNF i VDR polimorfizam kao faktori rizika za postizanje remisije tokom šestogodišnjeg praćenja

| POSTIZANJE REMISIJE | OR | 95%CI | p |
|---------------------|------------------|-------------|-------|
| GG | referentna grupa | | |
| GA | 0,154 | 0,019-1,283 | 0,084 |
| AA | 0,063 | 0,004-0,915 | 0,043 |
| FF | referentna grupa | | |
| Ff | 0,582 | 0,141-2,398 | 0,453 |
| ff | 0,091 | 0,015-0,562 | 0,010 |

OR – unakrsni odnos, 95%CI – 95% interval poverenja, GG- homozigotni GG genotip, GA- heterozigotni GA genotip, AA- homozigotni AA genotip, FF- homozigotni FF genotip, Ff- heterozigotni Ff genotip, ff- homozigotni ff genotip

Logistička regresiona analiza je nakon testiranja udruženih kombinovanih genotipova za TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizam kao potencijalnih genetskih prediktivnih faktora rizika za postizanje remisije tokom šestogodišnjeg praćenja, pokazala da udružena kombinacija GA/AA+ff genotipova (OR 0,012, p=0,003) predstavlja faktor rizika koji ukazuje na manju verovatnoću postizanja remisije. Pacijenti sa udruženom kombinacijom GA/AA+ff genotipova imaju 83,33 manju verovatnoću da postignu remisiju u bilo kom trenutku tokom celokupnog perioda praćenja u odnosu na pacijente sa GG+Ff/ff genotipom (Tabela 42).

Tabela 42. Udruženi genotipovi za TNF i VDR polimorfizam kao faktori rizika za postizanje remisije tokom šestogodišnjeg praćenja

| POSTIZANJE REMISIJE | OR | 95%CI | p |
|---------------------|------------------|-------------|-------|
| GG+Ff/ff | referentna grupa | | |
| GA/AA+FF/Ff | 0,214 | 0,025-1,835 | 0,160 |
| GG+ff | 0,000 | 0,000-0,000 | 0,999 |
| GA/AA+ff | 0,012 | 0,001-0,232 | 0,003 |

OR – unakrsni odnos, 95%CI – 95% interval poverenja, GG+Ff/ff, GA/AA+FF/Ff, GG+ff, GA/AA+ff - udružene kombinacije genotipova za TNF i VDR polimorfizam

5.4.3. ACR Pedi odgovor

Statistički značajna razlika je postojala u postizanju ACR Pedi 50, 70 i 100 kriterijuma poboljšanja nakon 36 i 72 meseca u odnosu na mogućnost postizanja remisije. Detaljna statistička analiza pokazala je da je nakon 36 meseci primene biološke terapije statistički značajno veći procenat bolesnika postiglo ACR Pedi 50 (p=0,008; p=0,037) i ACR Pedi 70 (p=0,012; p=0,040) terapijski odgovor u grupi bolesnika koji su u stabilnoj remisiji (R grupa) i onih koji su postigli remisiju, ali su se zbog relapsa bolesti vratili na biološku terapiju (RR grupa) u poređenju sa grupom bolesnika koja nikada nije postigla remisiju (NR grupa). Postizanje ACR Pedi 100 terapijskog odgovora statistički značajno je češće bilo prisutno u R grupi bolesnika u odnosu na grupu bolesnika koja nikada nije postigla remisiju (NR grupa) (p=0,019) nakon 36 meseci lečenja biološkom terapijom. ACR Pedi 50, 70 i 100 poboljšanje je statistički značajno češće bilo prisutno kod bolesnika koji su postigli stabilnu remisiju (R grupa) u odnosu na bolesnike koji nikada nisu uspeali da postignu remisiju nakon 72 meseca primene biološke terapije (p<0,001) (Tabela 43).

Tabela 43. ACR Pedi klinički odgovor u odnosu na postizanje remisije

| | ACR Pedi | R grupa N=35 | RR grupa N=25 | NR grupa N=18 | p ^{χ²} |
|------------------|----------|--------------------------|-------------------------|------------------|----------------------------|
| 36 meseci | 50 | 33 (94,29) ^a | 24 (96,00) ^a | 11 (61,11) † | <0,001* |
| | 70 | 30 (85,71) ^a | 22 (88,00) ^a | 10 (55,56) | 0,016* |
| | 100 | 23 (65,71) ^a | 13 (52,00) | 5 (27,78) | 0,003* |
| 72 meseca | 50 | 35 (100,00) ^a | 21 (84,00) | 12 (66,67) | 0,001* |
| | 70 | 35 (100,00) ^a | 19 (76,00) | 8 (44,44) | <0,001* |
| | 100 | 32 (91,43) ^a | 11 (44,00) | 7 (38,89) | <0,001* |

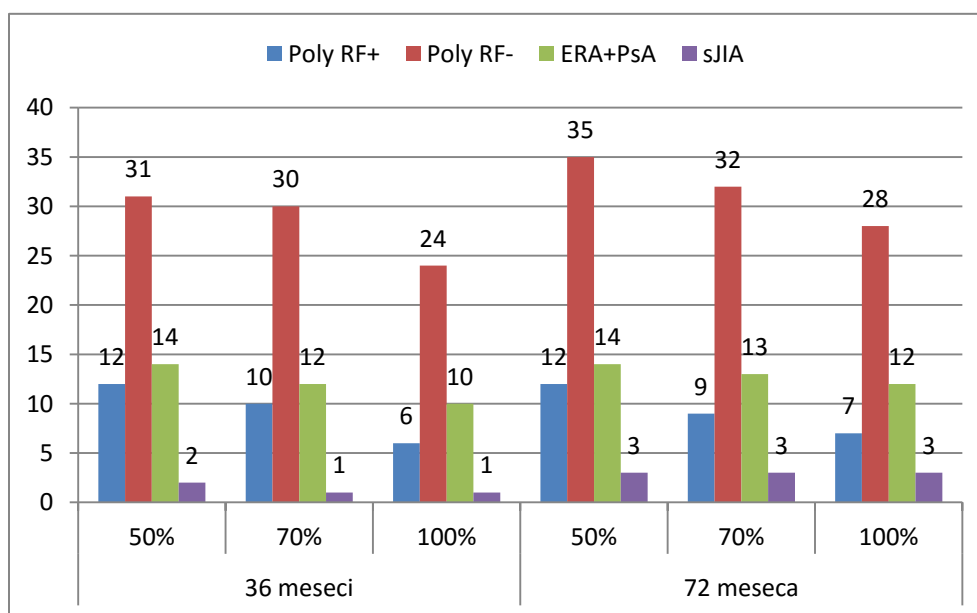
R grupa remisija, RR grupa remisija-relaps, NR- ne remisija, χ² Hi- kvadrat test, ^a vs NR grupa, * -statistička značajnost, †- N (%) - broj bolesnika (%)

Nije bilo statistički značajne razlike u postizanju ACR Pedi 50, 70 i 100 kriterijuma poboljšanja u odnosu na podtipove JIA ($\chi^2=6,320$, $p=0,388$). Kroz vremenski period praćenja kriterijuma poboljšanja u posmatranom periodu u odnosu na JIA podtipove nije zabeležen statistički značajan terapijski odgovor ACR Pedi 50, 70 i 100 (Tabela 44 i Grafik 27).

Tabela 44. ACR Pedi klinički odgovor kroz vreme u odnosu na JIA podtipove

| Vreme praćenja | ACR Pedi | Poly RF+ | Poly RF- | ERA+PsA | sJIA | p ^{χ²} |
|----------------|----------|------------|------------|------------|-------------|----------------------------|
| 36 meseci | 50 | 12 (75,00) | 31 (79,48) | 14 (77,78) | 2 (40,00) † | 0,231 |
| | 70 | 10 (62,50) | 30 (76,92) | 12 (66,67) | 1 (20,00) | 0,073 |
| | 100 | 6 (37,50) | 24 (61,54) | 10 (55,56) | 1 (20,00) | 0,178 |
| 72 meseca | 50 | 12 (75,00) | 35 (69,23) | 14 (72,22) | 3 (60,00) | 0,263 |
| | 70 | 9 (68,75) | 32 (61,54) | 13 (66,67) | 3 (60,00) | 0,227 |
| | 100 | 7 (43,75) | 28 (43,59) | 12 (55,56) | 3 (60,00) | 0,265 |

Poly RF+: poliartikularni RF+ podtip JIA, Poly RF-: oligo JIA i poliartikularni RF- podtip JIA, ERA+PsA: ERA podtip i psorijazni JIA, sJIA grupa: sistemski oblik JIA, χ^2 -Hi- kvadrat test, †- N (%) - broj bolesnika (%)



Poly RF+: poliartikularni RF+ podtip JIA, Poly RF-: oligo JIA i poliartikularni RF- podtip JIA, ERA+PsA: ERA podtip i psorijazni JIA, sJIA grupa: sistemski oblik JIA

Grafik 27. Klinički odgovor kroz vreme u odnosu na JIA podtipove, nakon 72 meseca

Statistički značajna razlika je postojala između prisutnih genotipova za TNF- α -308 polimorfizam sa mogućnošću postizanju ACR Pedi 50 ($p=0,005$) i 70 ($p=0,014$) kriterijuma poboljšanja nakon 36 meseci primene biološke terapije. Detaljna statistička analiza je ukazala da su bolesnici sa prisutnim homozigotnim GG genotipom statistički češće postizali poboljšanje ACR Pedi 50 u odnosu na one sa homozigotnim AA genotipom ($p=0,004$), kao i

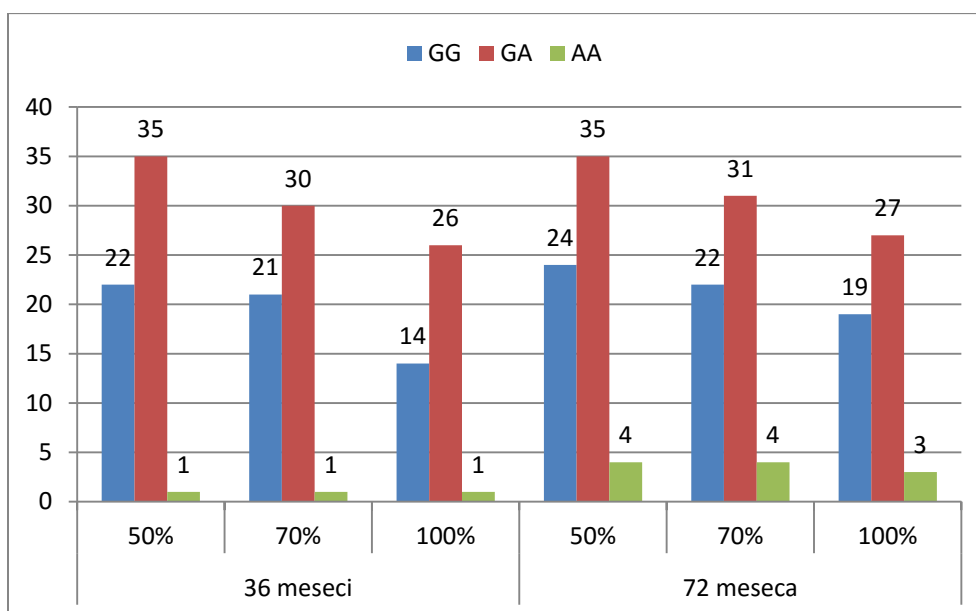
heterozigotni bolesnici GA genotipa u odnosu na homozigotni AA polimorfizam ($p=0,026$). Zabeleženo je statistički značajno prisustvo ACR Pedi 70 kriterijuma poboljšanja između nosioca homozigotnog GG genotipa u odnosu na AA genotip ($p=0,011$). (Tabela 45, Grafik 28).

Statistički značajna razlika u terapijskom odgovoru ACR Pedi 100 postojala je između prisutnih genotipova za FokI VDR polimorfizam ($p=0,013$) i to homozigotnog FF u odnosu na ff genotip ($p=0,006$), kao i heterozigotnog Ff u odnosu na homozigotni ff genotip ($p=0,036$). U ostalim vremenskim intervalima nije postojala statistički značajna razlika u učestalosti ACR Pedi 50 i 70 kriterijuma poboljšanja u odnosu na prisutne FokI VDR polimorfizme (Tabela 45, Grafik 29).

Tabela 45. Klinički odgovor kroz vreme u odnosu TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizam

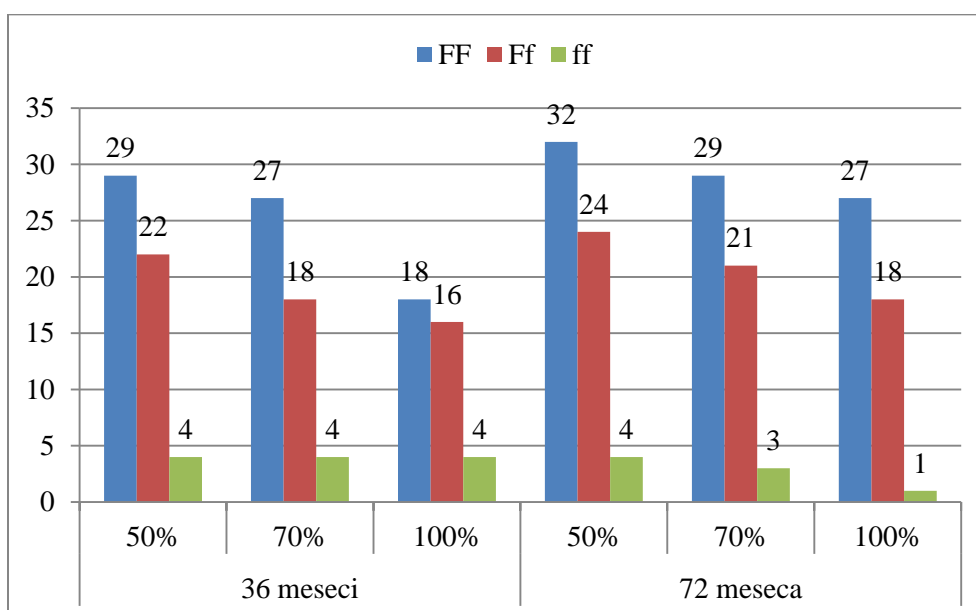
| Vreme praćenja | ACR Pedi | GG N=25 | GA N=47 | AA N=5 | p^{χ^2} |
|------------------|----------|-------------------------|-------------------------|-------------|--------------|
| 36 meseci | 50 | 22 (88,00) ^a | 35 (74,46) ^a | 1 (20,00) † | 0,005* |
| | 70 | 21 (84,00) ^a | 30 (63,83) | 1 (20,00) | 0,014* |
| | 100 | 14 (56,00) | 26 (55,32) | 1 (20,00) | 0,305 |
| 72 meseca | 50 | 24 (96,00) | 35 (74,47) | 4 (80,00) | 0,078 |
| | 70 | 22 (88,00) | 31 (65,95) | 4 (80,00) | 0,121 |
| | 100 | 19 (76,00) | 27 (57,44) | 3 (60,00) | 0,292 |
| | | FF N=37 | Ff N=29 | ff N=7 | |
| 36 meseci | 50 | 29 (86,47) | 22 (82,75) | 4 (57,10) | 0,488 |
| | 70 | 27 (78,38) | 18 (72,40) | 4 (57,10) | 0,542 |
| | 100 | 18 (48,60) | 16 (55,20) | 4 (57,10) | 0,836 |
| 72 meseca | 50 | 32 (86,47) | 24 (82,75) | 4 (57,14) | 0,176 |
| | 70 | 29 (78,38) | 21 (72,40) | 3 (42,85) | 0,154 |
| | 100 | 27 (72,97) ^b | 18 (62,07) ^b | 1 (14,28) | 0,013* |

GG- homozigotni GG genotip, GA- heterozigotni GA genotip, AA- homozigotni AA genotip, FF- homozigotni FF genotip, Ff- heterozigotni Ff genotip, ff- homozigotni ff genotip, χ^2 – Hi- kvadrat test, ^a vs AA genotip, ^b vs ff genotip, †- N (%) - broj bolesnika (%), * - statistička značajnost



GG- homozigotni GG genotip, GA- heterozigotni GA genotip, AA- homozigotni AA genotip

Grafik 28. Klinički odgovor kroz vreme u odnosu na TNF- α -308 polimorfizam, nakon 72 meseca



FF- homozigotni FF genotip, Ff- heterozigotni Ff genotip, ff- homozigotni ff genotip

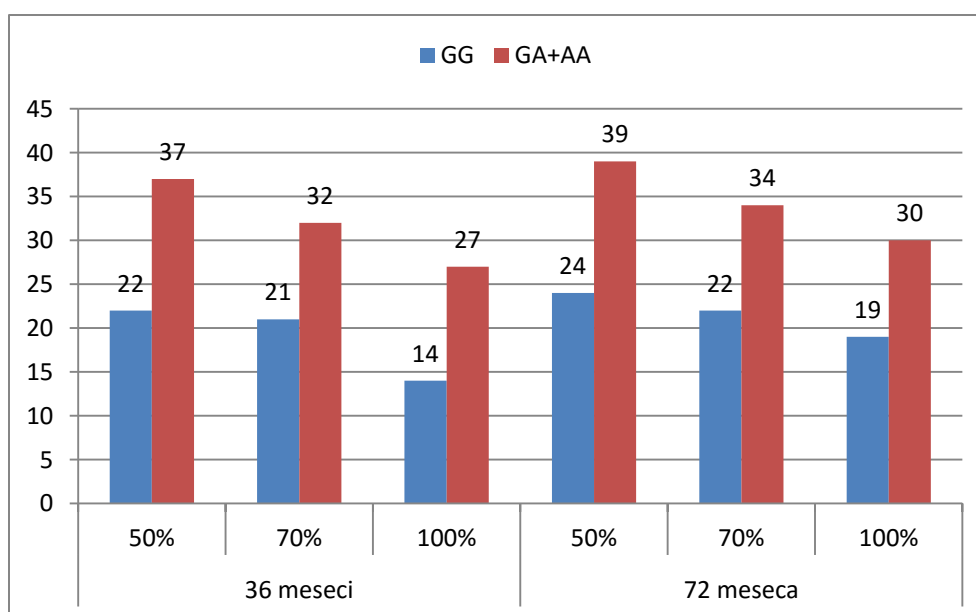
Grafik 29. Klinički odgovor kroz vreme u odnosu na FokI VDR polimorfizam, nakon 72 meseca

Na kraju observacionog perioda statistički značajno bolji ACR Pedi 50 terapijski odgovor postizali su bolesnici sa G alelom u odnosu na bolesnike sa prisutnim A alelom ($p=0,028$) za TNF- α -308 polimorfizam. U ostalim vremenskim intervalima nije bilo statistički značajne razlike u postizanju ACR Pedi 50, 70 i 100 kriterijuma poboljšanja u odnosu na ispitivane genske alele (Tabela 46, Grafik 30).

Tabela 46. Klinički odgovor kroz vreme u odnosu na genske alele za TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizam

| Vreme praćenja | ACR Pedi | GG N=25 | GA+AA N=52 | P ² |
|----------------|----------|------------|---------------|----------------|
| 36 meseci | 50 | 22 (88,00) | 37 (71,15) † | 0,178 |
| | 70 | 21 (84,00) | 32 (61,50) | 0,084 |
| | 100 | 14 (56,00) | 27 (51,90) | 0,927 |
| 72 meseca | 50 | 24 (96,00) | 39 (75,00) | 0,028* |
| | 70 | 22 (88,00) | 34 (65,40) | 0,069 |
| | 100 | 19 (76,00) | 30 (57,70) | 0,189 |
| | | FF N=37 | Ff+ff N=36 | |
| 36 meseci | 50 | 29 (78,38) | 26 (72,22) | 0,735 |
| | 70 | 27 (72,97) | 23 (63,89) | 0,559 |
| | 100 | 18 (48,65) | 20 (55,56) | 0,721 |
| 72 meseca | 50 | 32 (86,49) | 28 (77,78) | 0,505 |
| | 70 | 29 (78,38) | 24 (66,67) | 0,390 |
| | 100 | 27 (72,97) | 19 (52,78) | 0,122 |

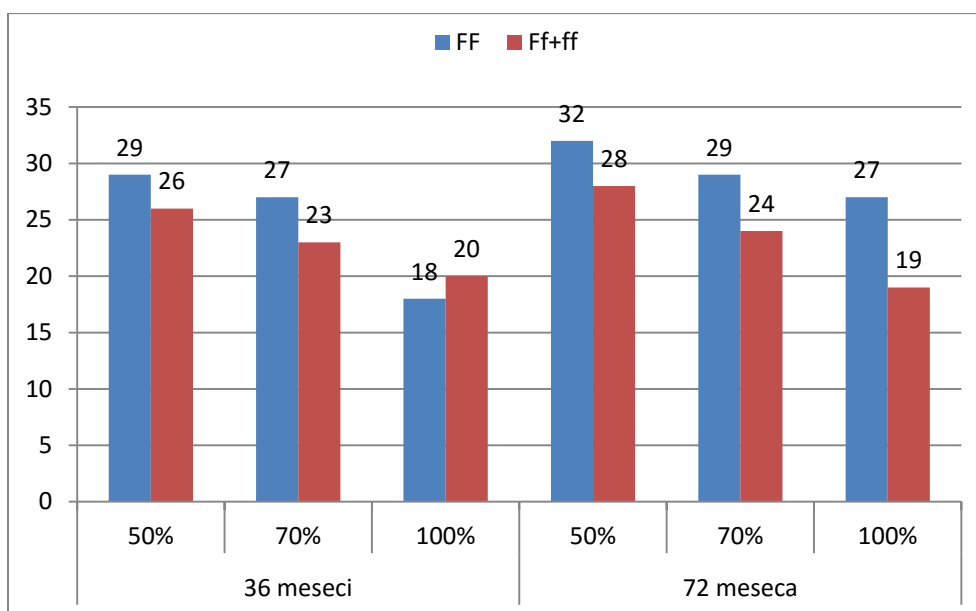
GG- homozigotni GG genotip (G alel), GA+AA- heterozigotni GA genotip i homozigotni AA genotip (A alel), FF- homozigotni FF genotip (F alel), Ff+ff- heterozigotni Ff i ff homozigotni ff genotip (f alel), χ^2 - Hi kvadrat test, †- N (%) - broj bolesnika (%), *statistička značajnost



GG- homozigotni GG genotip (G alel), GA+AA- heterozigotni GA genotip i homozigotni AA genotip (A alel)

Grafik 30. Klinički odgovor kroz vreme u odnosu na prisutne genske alele za TNF- α -308 polimorfizam, nakon 72 meseca

Detaljnijom statističkom obradom nije nađena statistički značajna povezanost prisustva genskih alela za FokI VDR polimorfizam sa mogućnošću postizanja ACR Pedi 50, 70 i 100 terapijskog odgovora nakon 72 meseca primene biološke terapije (Tabela 46, Grafik 31).



FF- homozigotni FF genotip (F alel), Ff+ff- heterozigotni Ff i homozigotni ff genotip (f alel)

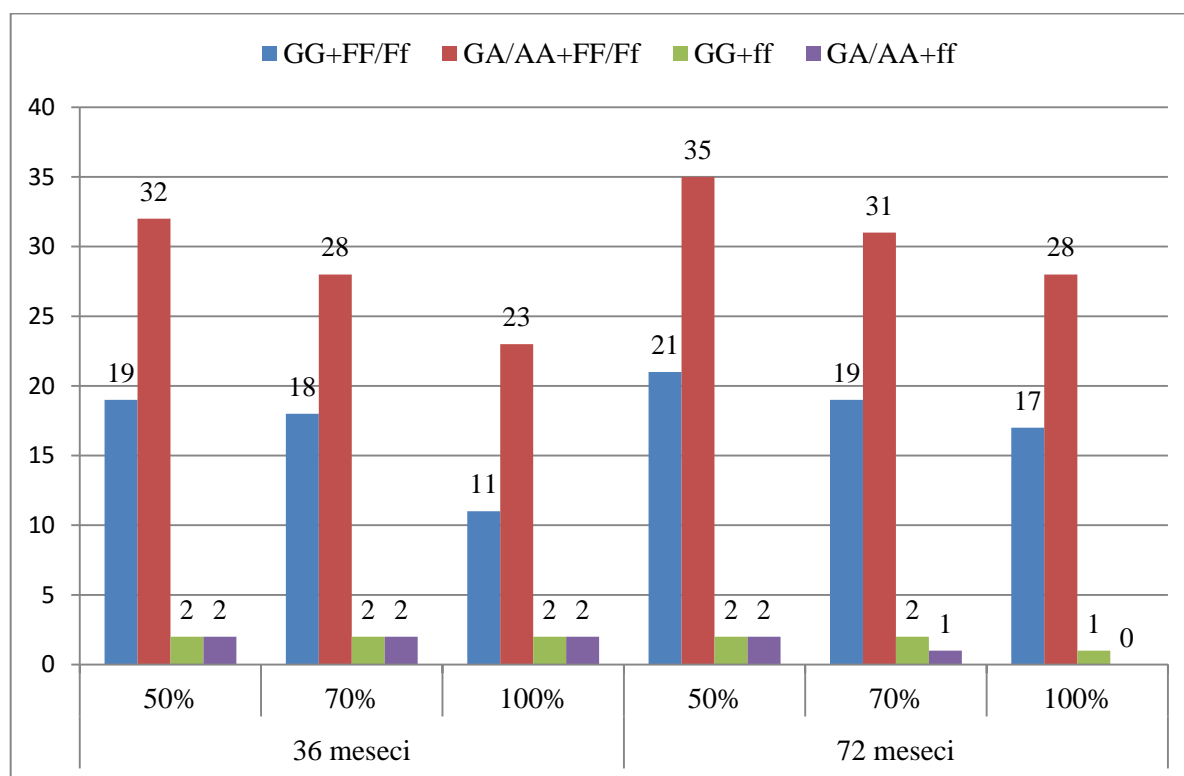
Grafik 31. Klinički odgovor kroz vreme u odnosu na prisutne genske alele za FokI VDR polimorfizam, nakon 72 meseca

Statistički značajna razlika u terapijskom odgovoru ACR Pedi 50,70 i 100 postojala je između prisutnih udruženih kombinacija genotipova za TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizam nakon 72 meseca lečenja biološkom terapijom ($p=0,025$, $p=0,019$, odnosno $p=0,014$). Detaljna statistička analiza ukazala je da su nakon 72 meseca bolesnici sa prisutnom kombinacijom udruženih genotipova GG/FF+ff statistički značajno češće postigli ACR Pedi 50 kriterijume poboljšanja u odnosu na bolesnike sa prisutnom GA/AA+ff kombinacijom genotipova ($p=0,013$). I ACR Pedi 70 kriterijume poboljšanja su bolesnici sa GG+Ff/ff kombinacijom genotipova statistički značajno češće postigli u odnosu na bolesnike sa GA/AA+ff udruženim genotipovima ($p=0,019$). Na kraju observacionog perioda statistički značajno češće su bolesnici sa udruženom kombinacijom GG+Ff/ff genotipova postigli ACR Pedi 100 kriterijum u odnosu na bolesnike sa kombinacijom genotipova GA/AA+ff (0,00%) ($p=0,003$), kao i oni sa udruženom kombinacijom GA/AA+FF/Ff genotipova u odnosu na bolesnike sa kombinacijom genotipova GA/AA+ff ($p=0,011$) za TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizam (Tabela 47, Grafik 32).

Tabela 47. Klinički odgovor kroz vreme u odnosu na udružene kombinacije TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizama

| Vreme praćenja | ACR Pedi | GG+Ff/ff | GA/AA+FF/Ff | GG+ff | GA/AA+ff | χ^2 | p |
|----------------|----------|------------------------|-------------------------|---------|-----------|----------|--------|
| 36 meseci | 50 | 19 (86,40) | 32(72,70) † | 2 (100) | 2 (40,0) | 5,62 | 0,132 |
| | 70 | 18(81,80) | 28(63,60) | 2 (100) | 2 (40,00) | 5,09 | 0,165 |
| | 100 | 11(50,00) | 23(52,20) | 2 (100) | 2(40,00) | 2,17 | 0,537 |
| 72 meseca | 50 | 21(95,45) ^a | 35 (79,60) | 2 (100) | 2 (40,00) | 9,37 | 0,025* |
| | 70 | 19(86,40) ^a | 31(70,40) | 2 (100) | 1 (20,00) | 9,91 | 0,019* |
| | 100 | 17(77,30) ^a | 28 (63,60) ^a | 1 (50) | 0 (0,00) | 10,59 | 0,014* |

GG+Ff/ff, GA/AA+FF/Ff, GG+ff, GA/AA+ff - udružene kombinacije genotipova za TNF i VDR polimorfizam, χ^2 – Hi kvadrat test, †- N (%) - broj bolesnika (%), ^a vs GA/AA+ff, *statistička značajnost



GG+Ff/ff, GA/AA+FF/Ff, GG+ff, GA/AA+ff - udružene kombinacije genotipova za TNF i VDR polimorfizam

Grafik 32. Klinički odgovor kroz vreme u odnosu na udružene kombinacije TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizama

VI DISKUSIJA

Primena bioloških lekova promenila je ishod i prognozu JIA bolesnika, kao i kvalitet života ne samo ovih bolesnika, već i njihovih porodica. Međutim i pored izuzetne kliničke efikasnosti primenjivanih bioloških lekova kod progresivnih formi JIA primećeno je da terapijski odgovor nije podjednak kod svih bolesnika. Naime, postoji grupa bolesnika koja ne postiže adekvatan terapijski odgovor i kod kojih je bolest aktivna uprkos najsavremenijim principima lečenja. Mnogobrojni istraživači ukazivali su na značaj prisustva različitog polimorfizma u promotoru gena za TNF- α (133, 134) i različitog terapijskog odgovora, ali pravi razlog još uvek nije utvrđen. Naše istraživanje bilo je usmereno i na ispitivanje polimorfizma za vitamin D receptor (VDR), obzirom na jasne činjenice koje dokazuju njegovu imunomodulatornu ulogu (135) i da je njegov deficit povezan sa nastankom autoimunosti (136). To je pokrenulo ideju za naše istraživanje u cilju identifikacije potencijalnih genetskih biomarkera koji će imati prediktivni značaj za nastanak, tok i ishod dugoročnog lečenja JIA bolesnika.

Najvažniji proinflamatorni citokin u nastanku JIA jeste TNF- α , obzirom da dovodi do prolongirane inflamacije i destrukcije zglobova usled produkcije mnogobrojnih citokina (IL-1, IL-6 i IL-8) i oslobađanja proteolitičkih enzima (137, 138). Koliki je značaj proinflamatornog citokina TNF- α u etiopatogenezi nastanka RA i JIA svedoče mnogobrojne studije koje su dokazale postojanje povišenog nivoa TNF- α kako u serumu, tako i u sinovijalnoj tečnosti (32, 34, 139-141). Potvrdu učešća ovog multifunkcionalnog citokina u nastanku bolesti možemo naći i u dokazanoj efikasnosti anti TNF biološke terapije koja je u mnogome promenila ishod lečenja ovih bolesnika u poslednjih desetak godina (47, 99, 142).

Polimorfizam u položaju -308 u promotoru gena za TNF- α najčešće je proučavan polimorfizam gena za ovaj molekul. Mnogi autori su dokazali da genetske varijacije, zapravo zamena guanina adeninom u promotoru gena za TNF- α u položaju -308 (G \rightarrow A, -308 A) utiče na povećanu transkripcionu aktivnost i dovodi do povećane produkcije TNF- α uslovljavajući nastanak RA i JIA i težu formu bolesti (39, 40, 134, 143, 144). Nasuprot ovome drugi autori smatraju da ne postoji povezanost ovog polimorfizma i stvaranja TNF- α , te tako i nastanka RA i JIA (145-147). Dosadašnji autori su se uglavnom bavili distribucijom pojedinačnih alela i genotipova TNF- α -308 polimorfizma između obolelih od RA i kontrolne grupe zdravih osoba. Nešto manji broj studija jeste objavljen kod pacijenata sa JIA, a objavljeni rezultati istraživanja jesu oprečni. Naime, rezultati nekih istraživača ukazuju da je

prisustvo A alela češće udruženo sa nastankom RA i JIA (36), dok drugi nisu našli povezanost ovog alela i nastanka bolesti (148). Date i saradnici (37) nisu našli značajnu razliku u učestalosti A alela poređenjem JIA i zdrave dece što je u skladu sa istraživanjem nemačke, španske, turske, češke, italijanske i srpske grupe autora (46, 48, 149-151). Nasuprot tome meksička grupa autora je dokazala češću udruženost A alela sa povećanim rizikom za nastanak JIA (44). Slični rezultati dobijeni su analizom pacijenata sa RA kod latinoamerikanaca (150). Neki od autora su se bavili i proučavanjem distribucije genotipova za TNF- α -308 polimorfizam kod različitih JIA podtipova, te su dokazali češću udruženost heterozigotnog genotipa GA za TNF- α -308 polimorfizam sa pojedinim podtipovima JIA (152, 153). Rezultati našeg istraživanja su pokazali da je najzastupljeniji u celokupnoj ispitivanoj grupi bolesnika i među svim podtipovima JIA bio heterozigoti GA polimorfizam. Međutim utvrdili smo da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji genotipova za TNF- α -308 polimorfizam između različitih podtipova JIA, što je u skladu sa rezultatima istraživanja Ozen i sar. (46) koji su takođe ukazali da nema razlike u distribuciji genotipova među različitim podtipovima bolesti. Nasuprot ovome rezultati Modesto i sar. (48) ukazuju na češću udruženost A alela kod pacijenata sa sistemskim podtipom JIA, dok su Zeggini i sar. (152) ovaj alel češće našli zastupljen kod oligoartikularnog JIA. Meta analiza Lee i Songa je potvrdila da prisustvo heterozigotnog GA genotipa za TNF- α -308 polimorfizam predstavlja faktor rizika za pojavu RA kod latinoamerkanaca, ali ne i kod Evropljana (148, 154). Rezultati ovih istraživanja potvrđuju da je etnička pripadnost populacije jedan od bitnih faktora genetske ekspresije bolesti (155). Osim toga populacione analize su pokazale da različita distribucija A alela postoji i kod zdravih osoba između različitih etničkih grupa (133, 156, 157). Dosadašnje studije o značaju i uticaju TNF- α -308 polimorfizma u nastanku RA i JIA i njihovom uticaju na tok i ishod bolesti daju oprečne rezultate, što može biti posledica kompleksnog patogenetskog procesa nastanka JIA i učešća različitih genetskih faktora i faktora okoline. Poseban značaj svakako pripada pojedinačnoj genetskoj varijabilnosti koja uslovljava individualni terapijski odgovor i predstavlja glavno područje proučavanja mnogih istraživača. Zbog velikog broja kontradiktornih rezultata o povezanosti TNF- α -308 polimorfizma sa JIA svakako je neophodno sprovesti populacionu analizu koja bi uključila veći broj JIA pacijenata. Naše istraživanje je, koliko je nama poznato, prvo ove vrste koje se bavilo ispitivanjem uticaja prisustva genetskog polimorfizma TNF- α -308 na dugoročni ishod bolesti JIA bolesnika i mogućnost postizanja remisije.

Obzirom da TNF- α ima pivotalnu ulogu u procesu inflamacije, predstavlja idealno terapeutsko mesto delovanja (158). Inhibitori TNF- α blokiraju cirkulišući TNF- α tokom etiopatogenetskog procesa, onemogućavajući njegovo vezivanje za odgovarajuće receptore na

ćelijskim membranama, a samim tim i delovanje proinflamatornih citokina i pokretanje upalnog procesa. Blokada TNF aktivnosti se može postići upotrebom monoklonskih antitela i upotrebom solubilnih TNF receptora (96, 159). Ovi agensi predstavljaju revolucionarno otkriće i omogućili su nastanak nove ere biološke terapije koja je kod nas dostupna već čitavu deceniju i koja je svakako promenila prognozu i kvalitet života ovih bolesnika. I pored izuzetne kliničke efikasnosti primene biološke terapije kod progresivnih formi JIA (160), primećeno je da terapijska efikasnost nije podjednaka kod svih pacijenata. Naime, postoji i grupa pacijenata sa lošim terapijskim odgovorom, to je grupa tzv. non respondera (161, 162). Još uvek se ne zna pravi razlog različitog terapijskog odgovora, ali su istraživači ukazivali na značaj nivoa TNF- α u cirkulaciji i prisutnog polimorfizma u promotoru gena za TNF- α (39, 163, 164). Zbog toga je bitno pronaći specifične kliničke i genetske biomarkere koji bi mogli imati prediktivni značaj u proceni terapijskog odgovora (165, 166). Mnogobrojne studije su urađene upravo sa ciljem utvrđivanja potencijalnih biomarkera koji bi nam mogli ukazati na terapijski odgovor i efikasnost biološke terapije, međutim dobijeni su kontradiktorni rezultati. Od šest meta analiza koje su objavili Lee i sar. (167), samo dve su ukazale na povezanost TNF- α -308 polimorfizma i terapijskog odgovora na anti TNF terapiju kod RA, ukazujući da nosioci A alela imaju lošiji klinički odgovor u poređenju sa nosiocima G alela. Guis i sar. (168) ukazali su da pacijenti sa RA i prisutnim homozigotnim GG genotipom postižu bolji terapijski odgovor u odnosu na one sa heterozigotnim GA genotipom i to 6 meseci i godinu dana nakon primene biološke terapije, što je u skladu sa rezultatima istraživanja srpske i japanske grupe autora (22, 169). Takođe su Maxwell sa sar. (170) pokazali da nosioci homozigotnog AA genotipa imaju lošiji terapijski odgovor na primenjenu terapiju etanerceptom u poređenju sa homozigotnim GG genotipom. Nasuprot ovome Marotte sa sar. (140) i Ongaro sa sar. (171) pokazali su da ne postoji uticaj prisutnog TNF- α -308 polimorfizma na terapijski odgovor nakon primenjene biološke terapije, s tim što su rezultati Marotta i sar.(140) dokazali da je nivo bioraspoloživog TNF- α u cirkulaciji viši kod nosioca homozigotnog AA ili heterozigotnog GA genotipa nego onih sa homozigotnim GG genotipom. Seitz i sar. (172) su dokazali da bolesnici sa homozigotnim GG genotipom pokazuju bolji terapijski odgovor u odnosu na nosioce homozigotnog AA i heterozigotnog GA genotipa kod pacijenata sa RA, psorijaznim artritismom i ankilozirajućim spondilitisom (AS). Nasuprot ovome bugarska grupa autora je pokazala bolji terapijski odgovor na TNF- α inhibitore kod pacijenata obolelih od RA i AS sa prisustvom A alela nego G alela, ali bez statističke značajnosti (173). Slične rezultate su pokazala i malobrojna istraživanja kod JIA. Prva studija koja je pokušala da ukaže na uticaj TNF- α polimorfizma na terapijski odgovor na etanercept u JIA jeste studija Schmellinga i

Horneffa (47) koji su dokazali da bolesnici sa homozigotnim GG genotipom u većem procentu postižu ACR Pedi 30 odgovor nakon 3 do 6 meseci primene etanercepta, posebno kod RF-negativnog poliartritisa. Rezultati njihovog istraživanja su u skladu sa našim rezultatima koji su pokazali da postoji statistički značajna razlika u učestalosti ACR Pedi 50 poboljšanja, ali tek nakon 36 meseci primene biološke terapije i to kod bolesnika sa homozigotnim GG i heterozigotnim GA genotipom u statistički značajno većem procentu u odnosu na nosioce AA genotipa. Međutim, naši rezultati nisu pokazali da postoji statistička značajnost u postizanju ACR Pedi 50, 70 i 100 kriterijuma poboljšanja između različitih JIA podtipova. Statistička značajnost postojala je i u učestalosti ACR Pedi 70 kriterijuma poboljšanja nakon 36 meseci lečenja biološkim lekovima, i to statistički značajno u većem procentu kod pacijenata sa GG genotipom u odnosu na AA homozigotni genotip. I na kraju perioda praćenja postizanje ACR Pedi 50, 70 i 100 kriterijuma poboljšanja je bilo prisutno u većem procentu kod nosioca homozigotnog GG genotipa u odnosu na GA i AA genotipove, ali bez statističke značajnosti. Do sličnih rezultata su došli Bašić i sar. (151) i dokazali da su nakon godinu dana lečenja etanerceptom, bolesnici sa poliartritisom i prisutnim homozigotim GG genotipom u statistički značajno većem procentu postigli ACR Pedi 70 odgovor u odnosu na one sa AA i GA genotipovima. Kod poređenja u odnosu na alelnu distribuciju G alela u odnosu na A alel naši rezultati su ukazali da tek nakon 72 meseca postoji statistički značajna razlika u učestalosti poboljšanja ACR Pedi 50, i to bolesnici sa G alelom su statistički značajno češće postizali ACR Pedi 50 terapijski odgovor u odnosu na nosioce A alela. U istom periodu ACR Pedi 70 i 100 poboljšanje je bilo prisutno u većem procentu kod nosioca G alela u odnosu na A alel, ali bez statističke značajnosti. Na slične rezultate su ukazali Ozen i sar. (46) koji su pokazali da je prisustvo A alela povezano sa lošijim terapijskim odgovorom kod JIA u turskoj populaciji dece, dok nasuprot tome nisu našli statistički značajnu razliku u terapijskom odgovoru na etanercept kod češke populacije dece. Takođe ni Cimaz i sar. (25) nisu ukazali na povezanost TNF- α -308 polimorfizma sa terapijskim odgovorom na anti TNF lekove. Do istih rezultata su došli Scardapane i sar. (150) i dokazali da je prisustvo AA genotipa loš prediktivni faktor za terapijsku odgovor na biološku terapiju. Naši rezultati jesu u skladu sa većinom dosada objavljenih rezultata i ukazuju da je najverovatnije razlog lošijeg terapijskog odgovora kod pacijenata sa prisutnim AA genotipom upravo već dokazana činjenica da usled povećane ekspresije gena za TNF- α kod ovih pacijenata, dolazi do povećane transkripcione aktivnosti i veće produkcije TNF- α , te TNF inhibitori sporije neutrališe efekte ovog citokina usled njegove povećane koncentracije u cirkulaciji (39, 164). Takođe, kao mogući razlog lošeg terapijskog odgovora kod nosioca A alela navodi se eventualno postojanje određenog disekvibriruma u odnosu na

HLA gene, jer se danas zna da aleli ovih gena utiču na produkciju TNF- α (36) i moguće je očekivati genske varijacije i različitu gensku ekspresiju (174).

Vitamin D pripada grupi steroidnih hormona, čija aktivna forma svoju biološku funkciju ostvaruje delujući preko vitamin D receptora i svoj efekat ostvaruje tako što indukuje ekspresiju gena koji učestvuju u regulaciji metabolizma kalcijuma i koštanog metabolizma, kao i ekspresiju preko 2000 drugih gena koji učestvuju u kompleksnim mehanizmima ćelijske proliferacije, diferencijacije i imunskog odgovora (53, 175). Svoj biološki efekat kalcitriol ostvaruje nakon vezivanja za vitamin D receptor (VDR) prezentovan na ćelijskoj membrani, koji moduliše genetsku transkripciju. Nakon vezivanja kalcitriola za VDR dolazi do konformacionih promena uled čega se stvara heterodimer sa retinoidnim X receptorom (RXR). Nastali kompleks se vezuje za specifične regione genoma (VDRE) uz pomoć koaktivatora i bazalnih transkripcionih faktora (TFIIB) i reguliše transkripciju nekoliko različitih ćelijskih gena (55-57). Aktivnost receptora je dozno zavisna i samo visoke koncentracije D hormona mogu ostvariti genske efekte i delovati imunomodulatorno (176, 177). Ćelije imunog sistema (B i T limfociti, antigen prezentujuće ćelije) izuzev što sintetišu vitamin D, omogućavaju i njegovu autokrinu funkciju preko vitamin D receptora koji se nalaze eksprimirani na njihovoj površini. Svoje imunološke efekte ostvaruje inhibirajući B ćelijsku proliferaciju i diferencijaciju i sintezu imunoglobulina (178). On svoje imunomodulatorno dejstvo ostvaruje putem inhibicije proinflamacije suprimirajući T ćelijsku proliferaciju (179, 180) i oslobađanje Th1 citokinskog profila (IL2, INF γ i TNF- α), dok istovremeno potencira antiinflamatorni efekat i preusmerava imuni odgovor u pravcu Th2 i oslobađa citokine: IL4, IL5 i IL10 (135, 181). Takođe dovodi do povećane aktivnosti Treg ćelija i inhibira produkciju Th17 citokina, što dovodi do oslobađanja antiinflamatornih citokina (IL10) (182). Inhibitorni efekat na oslobađanje proinflamatornih citokina ostvaruje i na nivou monocita i dendritičnih ćelija (54).

Danas postoje jasni dokazi da je vitamin D deficijencija udružena sa povećanim rizikom za razvoj autoimunosti (multiple skleroze, insulin zavisnog diabetes mellitusa, inflamatornih bolesti creva, sistemskog erimatemskog lupusa, reumatoidnog artritisa, psorijaze) (57, 136, 183), a in vivo i in vitro studije su ukazale da suplementacija vitaminom D može prevenirati njihov nastanak (184). Individualna varijabilnost u odgovoru na suplementaciju vitaminom D je izrazito bitna i ne zavisi samo od demografskih faktora i fakora okoline, već je uslovljena i genetskim faktorima (185). Genetska varijabilnost se odnosi na polimorfizam gena za VDR receptor i do sada je objavljeno nekoliko studija koje dovode u vezu ovaj polimorfizam sa rizikom nastanka RA i JIA (52, 186). Dosadašnja istraživanja su potvrdila da postoji inverzan

odnos unosa vitamina D i rizika oboljevanja od reumatoidnog artritisa (RA) (61), kao i postojanje negativne korelacije nivoa (1,25-[OH]₂D) sa aktivnošću bolesti i težinom kliničke slike (187). Od nekoliko polimorfizama za VDR receptor najviše je proučavan FokI, koji usled prisustva dva inicijaciona mesta translacije uslovljava nastanak dva strukturno različita VDR proteina: duži f-VDR i kraći F-VDR, koji imaju i drugačiji funkcionalni efekat na ćelije imunog sistema (188). In vitro istraživanja su dokazala da F (kraći protein) ima veću transkripcionu aktivnost u odnosu na f (duži protein) i utiče na povećan rizik nastanka bolesti (66). Klinički značaj identifikacije VDR polimorfizma jeste u dokazivanju potencijalnog genetskog biomarkera koji će ukazivati na povećan rizik nastanka RA i JIA i omogućiti nam eventualnu procenu toka i težine kliničke slike obolelih. Do danas nisu poznati podaci o distribuciji VDR polimorfizma i njihove korelacije sa rizikom nastanka JIA, težinom kliničke slike i ishoda bolesti kod ove dece. Dosadašnja istraživanja kod obolelih sa RA postoje i ukazuju na kontradiktorne rezultate. Rezultati Maalaja i sar. (69) kao i drugih autora (188, 189) dokazali su veću učestalost F-VDR alela i FF genotipa FokI polimorfizma među obolelima od reumatoidnog artritisa (RA) u poređenju sa kontrolnom grupom zdravih. Slične rezultate su objavili Karray sa sar. (190) i dokazali veću distribuciju F-VDR alela FokI polimorfizma među obolelima od RA u odnosu na kontrolnu grupu zdravih. Do istih rezultata je došla i koreanska grupa autora (189). Nasuprot ovome nemačka i egipatska grupa autora nije pronašla značajnu razliku distribucije genotipova između obolelih od RA i kontrolne grupe zdravih (186, 191). Ranganathan je u svojoj studiji ukazao na značaj povezanosti F alela FokI polimorfizma sa ranom pojavom simptoma RA (61). Prošlogodišnja meta analiza koju su objavili tunžani potvrdila je da je prisustvo F alela FokI VDR polimorfizma faktor rizika za nastanak RA (192). Takođe je i meta analiza Songa (193) potvrdila povezanost F alela VDR FokI polimorfizma sa povećanim rizikom oboljevanja od RA kod Evropljana, ali i povišen nivo vitamina D kod pacijenata sa ff genotipom u odnosu na FF genotip. Naša studija je proučavala distribuciju pojedinačnih genotipova i alelnu distribuciju F u odnosu na f alel u ispitivanoj grupi bolesnika i između podtipova JIA ispitivane grupe. Prema našem saznanju naši rezultati su prvi koji se odnose na distribuciju FokI polimorfizama gena za VDR kod JIA bolesnika i različitih JIA podtipova. Rezultati našeg istraživanja su pokazali da je najzastupljeniji u celokupnoj ispitivanoj grupi bolesnika bio homozigoti FF genotip FokI VDR polimorfizma, ali smo utvrdili da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji genotipova za FokI VDR polimorfizam kako u celoj ispitivanoj grupi bolesnika, tako niti između različitih podtipova JIA.

Kontradiktorni rezultati istraživanja koji su do sada objavljeni se mogu objasniti multifaktorijalnim poreklom autoimunih bolesti koje u zavisnosti od prisutnih genetskih

determinanti uslovljavaju genetsku varijabilnost polimorfizama za VDR. Svakako da značajan uticaj imaju i faktori okoline uslovljeni različitom geografskom distribucijom i varijabilnom ekspozicijom periodu sunčanih intervala neophodnih za sintezu vitamina D (194). Ne treba zanemariti i značaj različite etničke pripadnosti, jer kako su populacione analize pokazale i među zdravim osobama postoji različita distribucija FokI polimorfizama za VDR (195). Mogućnost definisanja genetskih biomarkera bi imalo kliničku implementaciju u detekciji osoba koje su u riziku da obole, ali ovo sigurno zahteva analizu koja bi uključila veći broj JIA bolesnika.

Ideja o mogućem uticaju prisustva FokI VDR polimorfizma na terapijski odgovor kod JIA pacijenata proistekla je iz rezultata dosadašnjih istraživanja koja su ukazivala da nivo vitamina D kod obolelih od RA, SLE, isulin zavisnog diabetes mellitusa ima inverzan odnos sa aktivnošću bolesti (187, 196-199). Za sada postoje jasni dokazi da JIA pacijenti imaju niži nivo vitamina D u odnosu na kontrolnu grupu zdravih (200). Pelaho i sar. (201) su prvi proučavali uticaj nivoa vitamina D u serumu sa aktivnošću bolesti kod JIA pacijenata koristeći JADAS 27, ali postojanje korelacije nisu našli, kao niti između nivoa vitamina D i pojedinačnih komponenti JADASA 27. Za razliku od njih, Stagi i sar. (202) su pokazali da je nivo vitamina D niži kod JIA pacijenata sa aktivnom bolešću i čestim relapsima u odnosu na pacijente kod kojih bolest nije aktivna. Ukoliko bi se dokazala inverzna korelacija aktivnosti bolesti sa nivom vitamina D, onda bi vitamin D mogao predstavljati idealno terapijsko sredstvo. Dve Langeove studije (203, 204) dokazale su da je nivo vitamina D niži u bolesnika sa ankilizirajućim spondilitisom i da postoji inverzan odnos sa aktivnošću bolesti. Cutolo (205) je takođe dokazao inverznu korelaciju između nivoa vitamina D i DAS-a 28 kao i statistički značajno negativnu korelaciju nivoa vitamina D u serumu i indeks aktivnosti bolesti sistemskog eritemskog lupusa (SLEDAI). Portugalska grupa autora (206) dokazala je uticaj heterozgotnog Ff genotipa za FokI VDR polimorfizam na dugotrajni ishod obolelih od SLE i povećan rizik nastanak nefropatije, kao i ozbiljnog kumulativnog oštećenja organa. Do sličnih rezultata je došla i poljska grupa autora (207) koja je ukazala na veću učestalost homozigotnog FF i heterozigotnog Ff genotipa kod bolesnika sa kliničkim manifestacijama SLE i bubrežnim zahvatom. Obzirom na ove činjenice i još uvek nedovoljno istraženo područje kod obolelih od JIA, mi smo analizirali moguć uticaj genotipova FokI polimorfizma za VDR na kriterijume poboljšanja i terapijski odgovor kod naših JIA bolesnika koji su na terapiji TNF- α inhibitorima. Prema našim saznanjima prve rezultate o ovome je objavila naša grupa autora.

Naši rezultati su pokazali da tek nakon 72 meseca primene biološke terapije postoji statistički značajno poboljšanje ACR Pedi 100 terapijskog odgovora u odnosu na prisutne

genotipove za FokI VDR polimorfizam. Bolesnici sa prisutnim homozigotim FF i heterozigotnim Ff genotipom su statistički značajno u većem većem procentu postigli ACR Pedi 100 kriterijume poboljšanja u odnosu na nosioce homozigotnog ff genotipa. Statistički značajna razlika u ACR Pedi 50, 70 i 100 terapijskom odgovoru nije postojala između prisutnih F i f alela. Naši rezultati jesu u skladu sa dosada jedinim objavljenim rezultatima koje smo već prikazali, i ukazuju da je lošiji terapijski odgovor prisutan kod JIA bolesnika sa prisutnim f alelom (208). Interesantno je da je prisustvo ff genotipa udruženo sa višim nivoima vitamina D (209) a da je u našem istraživanju upravo ff genotip bio negativni prediktivni faktor. Ova činjenica može ukazati da prisustvo određenog Fok I VDR genotipa može direktno ostvarivati modulatornu ulogu, nezavisno od samog D hormona. Poznajući genetsku varijabilnost polimorfizama za VDR, različitu gensku ekspresiju, kao i postojanje određenog disekvibrjuma u odnosu na HLA-DRB1 gena važnih za nastanak nekoliko autoimunosti, mogu se donekle objasniti rezultati našeg istraživanja (192). Takođe treba imati na umu da FokI polimorfizam VDR gena može uticati na transkripcionu aktivnost gena uključenih u patofiziološki proces nastanka autoimunosti. Naime niže vrednosti vitamina D još u najranijem detinjstvu mogu dovesti do slabije ekspresije gena HLA-DRB1 utičući negativno na proces selekcije u timusu i favorizovati nastanak autoimunih bolesti (206). Svakako ne treba zanemariti i značajan uticaj faktora okoline i etničke pripadnosti. Poznajući ove činjenice nameće se potreba definisanja prediktivnih genetskih biomarkera, što svakako zahteva analizu koja bi uključila veći broj JIA pacijenata sa različitih geografskih područja. Dok ne dođemo do definitivne potvrde rezultata na većem uzorku JIA bolesnika, sigurno je da je suplementacija vitaminom D kod obolelih od JIA neophodna, što su potvrdili Vojinović i Cimaz (52) i dali preporuke dnevnog unosa doze vitamina D kod pedijatrijskih reumatoloških bolesnika.

Rezultati našeg istraživanja su prvi koji se odnose na dugoročni uticaj bilo pojedinačnih ili udruženih kombinovnih genotipova za TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizam na mogućnost postizanja remisije kod JIA pacijenata. Prisustvo određenih genotipova i genskih alela za TNF- α -308 polimorfizam nije imalo statistički značajan uticaj na mogućnost postizanja remisije kako u ispitivanoj grupi bolesnika, tako i između različitih JIA podtipova nakon 24 meseca i na kraju perioda praćenja ovih bolesnika. Do istih rezultata je došla i poljska grupa autora i pokazala da TNF- α -308 polimorfizam gena nije uticao na postizanje remisije ili minimalne aktivnosti bolesti, ali kod RA bolesnika (210).

Statistički značajna razlika nije postojala niti u distribuciji genotipova i genskih alela za FokI VDR polimorfizam u odnosu na mogućnost postizanja remisije i između različitih JIA podtipova nakon 24 meseca primene biološke terapije. Međutim nakon 24 meseca primene

biološke terapije bolesnici sa prisutnim F alelom su češće postizali remisiju u odnosu na bolesnike sa f alelom, ali bez statističke značajnosti. Na kraju opservacionog perioda statistički značajna razlika učestalosti genotipova FokI VDR polimorfizma gena postojala je između bolesnika koji su postigli remisiju i ostali u stabilnoj remisiji do kraja perioda praćenja u odnosu na bolesnike koji nikada nisu uspjeli da postignu remisiju, dok između ostalih grupa bolesnika statistički značajna razlika nije postojala. Naši rezultati su pokazali da su bolesnici koji nikada nisu postigli remisiju statistički značajno češće imali zastupljenost homozigotnog ff polimorfizma u poređenju sa bolesnicima koji su postigli stabilnu remisiju. Heterozigotni Ff polimorfizam je statistički značajno češće bio prisutan u grupi bolesnika sa stabilnom remisijom u odnosu na grupu bolesnika koja nikada nije postigla remisiju. Analiza pojedinačnih kliničkih varijabli grupe koja je postigla stabilnu remisiju pokazala je da su bolesnici sa homozigotnim ff genotipom statistički značajno duže bili na terapiji metotreksatom u odnosu na heterozigotni Ff genotip, dok su bolesnici sa homozigotnim FF genotipom statistički značajno duže bili na terapiji kortikosteroidima u odnosu na heterozigotni Ff genotip. U grupi bolesnika koji nisu postigli remisiju, kod onih sa homozigotnim ff genotipom bolest je statistički značajno trajala pre početka primene biološke terapije u odnosu na bolesnike sa FF i Ff genotipom. Ovi rezultati su pokazali da prisustvo ff genotipa utiče na kliničku prezentaciju teže forme bolesti i na nemogućnost postizanja remisije na kraju posmatranog perioda što je skladu sa rezultatima koje smo već prikazali (208.). Uticaj pojedinačnih ili kombinovanih genotipova za FokI VDR polimorfizam na mogućnost postizanja remisije u odnosu na različite podtipove JIA nije utvrđen. Rezultati istraživanja drugih autora o uticaju genotipova za FokI VDR polimorfizam na postizanje remisije kod RA i JIA pacijenata još uvek ne postoje.

Analiza udruženih kombinovanih genotipova za TNF i VDR polimorfizam pokazala je da bolesnici sa prisutnom GA/AA+Ff/ff kombinacijom genotipova češće postižu remisiju u odnosu na one sa GA/AA+ff kombinacijom genotipova nakon 24 meseca, ali bez statističke značajnosti. Statistički značajan uticaj na mogućnost postizanja remisije u odnosu na prisutne kombinacije udruženih genotipova za TNF i VDR polimorfizam postojao je na kraju opservacionog perioda. Remisiju nikada nisu postigli bolesnici sa kombinacijom GA/AA+ff na kraju perioda praćenja. Prema našim saznanjima rezultati našeg istraživanja su prvi koji se odnose na uticaj bilo pojedinačnih ili udruženih kombinovanih genotipova za TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizam kao potencijalnih genetskih biomarkera na mogućnost postizanja remisije kod JIA pacijenata.

Da bi utvrdili mogućnost identifikacije prediktivnih genetskih biomarkera koji utiču na mogućnost postizanja remisije kod naših bolesnika urađena je logistička regresiona analiza u tački preseka 24 i 72 meseca, kao i tokom čitavog šestogodišnjeg perioda praćenja. Testiranjem genetskih parametara nijedan od pojedinačnih ili udruženih genotipova za TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizama se nije izdvojio kao statistički značajan nezavisni faktor rizika za postizanje remisije u trenutku posmatranja na 24 i 72 meseca. Međutim, posmatranjem pojedinačnih i udruženih kombinovanih genotipova za TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizam kao prediktivnih faktora rizika na mogućnost odnosno nemogućnost postizanja remisije u bilo kom trenutku tokom celokupnog šestogodišnjeg perioda posmatranja došli smo do statistički značajnih rezultata. Naime, bolesnici sa AA genotipom za TNF- α -308 polimorfizam i ff genotipom za FokI VDR polimorfizam imaju višestruko manju verovatnoću da postignu remisiju i predstavljaju loš prediktivni faktor na mogućnost postizanja remisije u bilo kom trenutku posmatranja u poređenju sa nosiocima GG genotipa za TNF- α -308 polimorfizam i FF genotipa za FokI VDR polimorfizam. Naši rezultati su takođe pokazali da nosioci GA/AA+ff udruženih genotipova za TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizam predstavljaju loš prediktivni faktor na mogućnost postizanja remisije u odnosu na one sa GG+Ff/ff kombinacijom genotipova. Takođe je bitno istaći da su bolesnici sa GG+FF/ff i GG+FF/Ff kombinacijom genotipova u statistički značajnom procentu postigli bolji terapijski odgovor u poređenju sa prisutnom GA/AA+ff kombinacijom genotipova. Veoma je bitno istaći da do danas u literaturi ne postoje rezultati sličnih istraživanja kod JIA niti kod RA.

Postizanje remisije ili klinički inaktivne bolesti jeste osnovni terapijski cilj svakog pedijatrijskog reumatologa. Terapijski odgovor na lekove je individualan kod svakog pojedinca i uslovljen je različitim kliničkim, genetskim i drugim varijablama. Obzirom da su skorašnje studije ukazale da čak 42% JIA bolesnika ima aktivnu bolest i u adultnom periodu (211) i ozbiljne fizičke i funkcionalne posledice bolesti (212) javila se potreba da se definišu prediktivni biomarkeri koji bi imali prognostički značaj i koji bi nam bili od pomoći u proceni postizanja terapijskog odgovora i mogućnosti postizanja remisije. Ukoliko bi poznavali prognostičke kliničke ili genetske biomarkere u trenutku postavljanja dijagnoze, mogli bi individualizovati terapiju i započeti lečenje adekvatnim terapeutima. Istovremeno bismo bili u mogućnosti da pružimo pravu informaciju bolesnicima i njihovim porodicama o očekivanom kliničkom toku i ishodu bolesti.

Analizom naših bolesnika koji su bili u mogućnosti da postignu remisiju pokušali smo da identifikujemo pojedinačne kliničke varijable značajne za postizanje remisije. Između 43 bolesnika (55,10%) koji su postigli remisiju i 35 onih koji nisu postigli remisiju (44,90%)

nakon 24 meseca primene biološke terapije nismo utvrdili statistički značajnu razliku između demografskih i kliničkih varijabli, iako su nakon 12 meseci i 24 meseca svi ACR Pedi 50, 70 i 100 kriterijumi poboljšanja statistički značajno češće bili prisutni kod bolesnika koji su nakon 24 meseca primene biološke terapije postigli remisiju. Statistička značajnost nije postojala niti između JIA podtipova u odnosu na mogućnost postizanja remisije nakon ovog perioda.

Analizom pojedinačnih varijabli nakon 72 meseca utvrđeno je da 35 bolesnika (44,90%) koji su postigli stabilnu remisiju (R grupa) i 25 bolesnika (32,10%) koji su postigli remisiju, ali su se zbog relapsa bolesti vratili na biološku terapiju (RR grupa) imaju statistički značajno kraći prvi kurs biološke terapije u odnosu na 18 bolesnika (23,10%) koji nikada nisu postigli remisiju (NR grupa). Dužina postignute remisije je statistički značajno bila duža kod bolesnika koji su postigli stabilnu remisiju (R grupa) u odnosu na bolesnike koji su postigli remisiju, ali su se zbog relapsa bolesti vratili na biološku terapiju (RR grupa). Dužina drugog kursa biološke terapije je statistički značajno bila kraća kod bolesnika RR grupe u odnosu na NR grupu. Ovi rezultati jesu u skladu sa postignutim ACR Pedi 50, 70 i 100 kriterijumima poboljšanja između ove tri grupe bolesnika na kraju observaionog perioda. Naime, bolesnici R i RR grupe su nakon 36 meseci statistički značajno u većem procentu postigli ACR Pedi 50 i 70 kriterijume poboljšanja u odnosu na NR grupu, dok su ACR Pedi 100 poboljšanje statistički značajnije postigli bolesnici R grupe u odnosu na NR grupu. R grupa bolesnika postigla je i ACR Pedi 50, 70 i 100 kriterijume poboljšanja u statistički značajno većem procentu u odnosu na NR grupu. Međutim, statistička značajnost nije postojala između preostalih posmatranih demografskih i kliničkih varijabli na mogućnost postizanja remisije na kraju perioda praćenja, kao niti između različitih JIA podtipova.

Da bi utvrdili da li postoje prediktivni klinički biomarkeri koji utiču na postizanje remisije i kliničkog poboljšanja kod ovih bolesnika urađena je logistička regresiona analiza nakon 24 i 72 meseca, koja je pokazala da je jedini statistički značajan nezavistan faktor koji utiče na postizanja remisije zapravo primenjena doza steroida nakon 24 meseca. Ostali proćavani klinički parametri nisu ukazali na postojanje pozitivnog prediktivnog uticaja na mogućnost postizanja remisije. Naime pokazali smo da primena manjih doza steroida tokom lećenja povećava verovatnoću da bolesnici postignu remisiju nakon 24 meseca čak za 33%. Do sličnih rezultata došla je i britanska grupa autora (213) koja je dokazala da je postizanje minimale aktivnosti bolesti moguće već očekivati godinu dana nakon lećenja etanerceptom kod onih JIA bolesnika koji nisu zahtevali primenu kortikosteroidne terapije, ali i kod kojih je bolest trajala kraće pre početka lećenja. Međutim, naši rezultati nisu dokazali uticaj prethodnog trajanja bolesti na postizanje remisije. Nemačka grupa autora (214) je takođe

ukazala na povoljan terapijski ishod kod bolesnika koji ne zahtevaju primenu kortikosteroida na samom početku lečenja, ali i da mlađi uzrast, niže vrednosti CHAQ-a i vrednosti SE imaju povoljan uticaj na postizanje dobrog terapijskog odgovora. I kod adultnih pacijenata obolelih od RA na anti TNF terapiji, Pomirleanu i sar. (215) su pokazali da niske vrednosti kortikosteroida imaju pozitivan prediktivni uticaj na postizanje remisije ili minimalne aktivnosti bolesti. Nasuprot rezultatima našeg istraživanja da JIA podtipovi ne predstavljaju statistički značajan parametar ishoda lečenja, Adib i sar. (216) su pokazali da bolji ishod lečenja imaju bolesnici sa oligoartritisom, nego poliartritisom i sistemskim JIA. Ista grupa autora je potvrdila da ženski pol nepovoljno utiče na prognozu bolesti, na šta su ukazali i Papsdorf i Horneff (217), za razliku od naših rezultata koji su pokazali da pol pacijenata nema uticaja na postizanje remisije. Quartier sa sar. (100) ukazao je da sistemski podtip JIA ima loš terapijski odgovor na etanercept, što ima svoje etiopatogenetsko objašnjenje. Na osnovu sistematskog pregleda literature holandska grupa autora (218) je pokušala da definiše rane prediktore prognoze JIA, ali su zaključili da su neophodne prospektivne longitudinalne studije koje će koristiti standardizovane upitnike za procenu različitih kliničkih parametara, ali isto tako i genetskih i imunoloških varijabli koje su od uticaja na kranji ishod lečenja. Wallace i sar. (219) su utvrdili da pozitivni prediktori postizanja klinički inaktivne bolesti jesu kraće trajanje bolesti pre početka terapije i agresivniji terapijski pristup. Još nekoliko autora se bavilo proćavanjem kliničkih faktora dobre prognoze kod JIA pacijenata lećenih biološkim lekovima (214, 220, 221). Rezultati ovih istraživanja su ukazali da je inicijalno niža aktivnost bolesti dobar prognostićki pokazatelj, kao i kraće trajanje bolesti pre početka lećenja, mlađi uzrast i niže vrednosti CHAQ-a. Papsdorf i Horneff (217) su takođe pokazali da kraće trajanje bolesti, niže vrednosti HAQa i manji broj zglobova sa aktivnim artritisom na početku lećenja etanerceptom imaju pozitivan uticaj na postizanje remisije. Flato i sar. (222) su došli do sličnih rezultata i istakli da veliki broj artritisom zahvaćenih zglobova i dugotrajno povišene vrednosti SE imaju uticaj na dugotrajno trajanje aktivnosti bolesti. Nasuprot rezultatima ovih autora naše istraživanje je pokazalo da niti CHAQ, niti dužina trajanja bolesti pre početka bolesti, kao ni broj artritisom zahvaćenih zglobova i vrednosti SE imaju ikakav uticaj na postizanje remisije. Danas se zna da što ranije uvođenje metotreksata nakon postavljanja dijagnoze utiče povoljno na terapijski ishod kod JIA bolesnika (223) i da u kombinaciji sa etanerceptom ima dokazano bolju terapijsku efikasnost (217). Međutim, nijedna pedijatrijska studija nije dokazala da metotreksat predstavlja dobar prediktivni faktor za postizanje remisije kada se primenjuje u kombinaciji sa etanerceptom, što je u skladu sa našim rezultatima istraživanja. Za razliku od JIA, kod RA pacijenata postoje dokazi da (213)

metotreksat predstavlja pozitivan prediktivni faktor postizanja remisije i ostvaruje povoljan uticaj sinergističkim efektima sa etanerceptom, ali i delujući na imunogenost smanjenjem postojećih antitela na biološke lekove (224). Izuzev pozitivnog prediktivnog uticaja primene metotreksata sa biološkim lekovima, mnogobrojne studije kod RA su ukazale da pozitivan prediktivan faktor na klinički tok i terapijski ishod ima još i muški pol, mlađa životna dob, kraće trajanje bolesti, niža aktivnost bolesti (DAS 28), kao i niže vrednosti HAQ upitnika koji oslikava kvalitet života pacijenata (225, 226).

Naših jedanaest bolesnika koji su imali uveitis kao ozbiljnu ekstraartikularnu manifestaciju JIA praćeni su tokom 24 meseca primene biološke terapije. Dobro je poznato da ANA pozitivne devojčice mlađe od 7 godina sa dijagnozom oligo i proširenog oligo artritisa jesu u većem riziku da razviju uveitis (74, 84, 227-229), kao i dečaci stariji od 6 godina sa dijagnozom artritisa sa entezitisom (230), što su naši podaci i potvrdili. I genetska predispozicija za nastanak uveitisa je dokazana u našoj grupi pacijenata. Poznati genetski faktori rizika, kao što su prisustvo HLAB27 i HLAB51 haplotipa za nastanak uveitisa su bili zastupljeni i kod većine naših bolesnika (230). Obzirom da standardne terapijske mere često nisu dovoljne da zaustave aktivnost bolesti (73, 227, 231) i spreče nastanak ozbiljnih strukturalnih oštećenja oka i gubitka vida (80, 227, 232), veoma je bitna činjenica da je uvođenje anti TNF lekova promenilo dugotrajni ishod ovih bolesnika (228, 230, 233-236). Etanercept je bio prvi dostupan biološki lek koji se pokazao efikasnim u lečenju JIA pacijenata sa uveitisom, ali neke od studija su ukazale da primena etanercepta može indukovati pojavu de novo uveitisa ili čak njegov relaps (104). Etanercept je takođe pokazao manju efikasnost u poređenju sa primenom infliksimaba koji nije registrovan za primenu kod dece (103, 236). U skladu sa najnovijim terapijskim algoritmima (75, 228), rezultatima istraživanja Simoninija i sar. (111, 113) koji su ukazali na superiornu efikasnost adalimumaba u poređenju sa infliksimabom, kao i Tappeinera i sar. (237) koji su ukazali da je efikasnost adalimumaba bolja ukoliko se koristi kao prvi biološki lek u biološki naivnih pacijenata, implementirali smo kliničku praksu da prvi primenjivani anti TNF lek bude adalimumab. Tokom dvogodišnjeg praćenja kombinovana terapija adalimumabom i metotreksatom pokazala je veliku terapijsku efikasnost ne samo na smirivanje upalnog procesa zglobova, već i na refraktarne slučajeve upale oka, bez pojave novih relapsa bolesti i pogoršanja nalaza na oku. Do sličnih rezultata su došli Simonini i sar. (113), kao i mnogobrojni drugi autori (4, 109, 112, 230, 234, 238, 239). Naši rezultati jesu i u skladu sa rezultatima registra nemačke grupe autora (240). Primena adalimumaba dovela je i do redukovanja i potpune obustave primenjivanih kortikosteroida kod svih bolesnika i na taj način sprečila nastanak dugotrajnih neželjenih efekata kortikosteroidne terapije, što su dokazali i drugi autori (241, 242). Tokom

primene ove terapije ozbiljni neželjeni efekti nisu zabeleženi, a u toku je SYCAMORE trajal koji se bavi prikupljanjem podataka o efikasnosti i bezbednosti primene adalimumaba i metotreksata kod ovih bolesnika (81).

Na osnovu različitih rezultata istraživanja može se zaključiti da demografske i kliničke varijable svakako nisu jedine od značaja za predikciju postizanja remisije, već tu učestvuje više kompleksnih varijabli uključujući farmakokinetiku, imunogenetiku i različite genetske varijable koje zahtevaju istovremenu analizu i potvrdu na većem uzorku JIA pacijenata.

Mnogobojna istraživanja pokazala su da postizanje remisije nije uslovljeno samo demografskim, kliničkim i laboratorijskim parametrima već i drugim genetskim i epigenetskim faktorima (243). Poslednjih godina dosta studija je usmereno na ispitivanje imunogenosti bioloških lekova. Rezultati dosadašnjih istraživanja kod RA su pokazala da postojanje antitela na biološki lek koji se primenjuje utiče na nivo samog leka u krvi što svakako ima uticaja na terapijski odgovor kod pacijenata (224, 244, 245). Postojanje antitela na adalimumab i lošiji ishod lečenja usled nižeg nivoa leka u serumu je dokazano i kod JIA pacijenata (246) i već je ušlo u najnovije terapijske algoritme lečenja udruženosti JIA i uveitisa (75). Zbog toga određivanje nivoa leka u serumu i antitela na lek mogu predstavljati moguće prediktivne faktore na ishod lečenja ovih bolesnika, ali zahtevaju potvrdu kroz kliničke studije na većem broju JIA bolesnika. Takođe, razlika u postizanju terapijskog odgovora može biti i nivo citokina u cirkulaciji pre započinjanja terapije TNF inhibitorima, kao i postojanje određenih genotipova polimorfizma gena za TNF- α -308, koji svakako da utiču na nivo cirkulišućeg TNF- α . Dosadašnja istraživanja pokazala su kontradiktorne rezultate. Dok jedni autori sugerišu pozitivan efekat prisustva GG genotipa (151) odnosno loš uticaj prisustva AA genotipa (46) za polimorfizam TNF- α -308 gena na klinički tok i postizanje remisije, drugi autori negiraju bilo kakvu povezanost (25).

Rezultati našeg istraživanja jesu prvi koji su se bavili dugoročnim šestogodišnjim praćenjem toka bolesti i terapijskog ishoda JIA bolesnika lečenih biološkom terapijom u odnosu na prisutne pojedinačne ili udružene genotipove za TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizam i mogućnost postizanja remisije. Dosadašnje studije su uglavnom proučavale uticaj prisustva pojedinačnih genotipova za TNF- α -308 polimorfizam sa mogućnošću postizanja adekvatnog terapijskog odgovora tokom jednogodišnjeg praćenja, dok istraživanja o udruženom prisustvu genotipova za TNF i VDR polimorfizam na postizanje remisije nedostaju. Do sada niko nije ispitivao uticaj genotipova za FokI VDR polimorfizam na mogućnost postizanja remisije kod JIA bolesnika.

Bez obzira na neke od kliničkih i genetskih parametara koji ukazuju na povoljan terapijski odgovor kod nekih bolesnika remisija još uvek predstavlja teško dostižan cilj. Glavni problem je što remisija zavisi od više varijabli poput farmakokinetike leka, aktivnosti bolesti i patofiziološkog procesa nastanka bolesti, a svaki od ovih pojedinačnih parametara je pod uticajem više različitih varijabli. Zbog toga su specifičiji biomarkeri neophodni, te su zbog toga mnogobrojna istraživanja usmerena na aktuelne epigenetske studije i otkrivanje biomarkera intrasignalnih ćelijskih procesa. Skorašnji rezultati istraživanja su ukazali na značaj proinflamatornih proteina S 100 (kalprotektina) i S100A12 koji su izuzetno senzitivni parametri za utvrđivanje aktivnosti bolesti kod JIA pacijenata (247) i imaju dokazanu izuzetnu korelaciju sa vizualnom analognom skalom lekara i brojem zahvaćenih zglobova artritismom (248, 249). Rothmund i sar. (250) ukazali su na veliki značaj ovih biomarkera inflamacije kao mogućih prediktora relapsa JIA kod bolesnika koji su u kliničkoj remisiji bez lekova, što svakako može imati primenu u kliničkoj praksi i pomoći u individualizaciji terapijskog pristupa.

Utvrđivanje idealnog biomarkera koji bi nam mogao ukazati na tok bolesti kod JIA bolesnika i mogućnost postizanja remisije bi doprineo u izboru adekvatnih terapijskih opcija već u trenutku postavljanja dijagnoze, što bi svakako optimalizovalo dužinu lečenja i smanjilo nepotrebne toksične efekte leka ukoliko bismo znali da bolesnici nemaju povoljan terapijski odgovor. S druge strane ovakav pristup doveo bi i do smanjenja troškova lečenja. Zbog toga su dalja istraživanja više nego neophodna kod većeg broja JIA bolesnika i zahtevaju istovremenu procenu multivarijabilnih parametara koji su od uticaja na terapijski odgovor i mogućnost postizanja remisije.

VII ZAKLJUČAK

1. Bolesnici sa juvenilnim idiopatskim artritismom (JIA) najčešće su nosioci GA genotipa polimorfizma TNF- α -308 gena za faktor nekroze tumora (TNF) i FF genotipa polimorfizma FokI VDR gena za vitamin D receptor (VDR), ali bez statističke značajnosti.
2. Kod bolesnika sa juvenilnim idiopatskim artritismom postoji statistički značajno veća učestalost G alela TNF- α -308 polimorfizma gena za faktor nekroze tumora (TNF) i F alela FokI VDR polimorfizma gena za vitamin D receptor (VDR).
3. Ne postoji statistički značajna udruženost alela i genotipova polimorfizama gena za TNF- α -308 i FokI VDR sa različitim podtipovima juvenilnog idiopatskog artritisa.
4. Prisustvo pojedinih genotipova FokI VDR polimorfizma gena za vitamin D receptor (VDR) statistički značajno je udruženo sa mogućnošću postizanja poboljšanja bolesti i remisije nakon dugoročnog (72 meseca) praćenja.
5. Prisustvo homozigotnog ff genotipa za FokI VDR polimorfizam, kod bolesnika sa juvenilnim idiopatskim artritismom (JIA), je nepovoljan prediktivni faktor za težinu bolesti i mogućnost postizanja dobrog terapijskog odgovora.
6. Homozigotni ff genotip za FokI VDR polimorfizam statistički je značajno češće prisutan kod bolesnika sa juvenilnim idiopatskim artritismom (JIA) koji ne mogu da postignu remisiju bolesti ni nakon dugoročne primene biološke terapije u odnosu na bolesnike koji uspevaju da postignu remisiju bolesti.
7. Nosioci homozigotnog ff genotipa za FokI VDR polimorfizam imaju težu kliničku prezentaciju bolesti sa statistički značajno dužim trajanjem bolesti pre uvođenja biološke terapije i zahtevaju statistički značajno duže lečenje metotreksatom.
8. Oboleli od JIA koji su nosioci homozigotnog FF i heterozigotnog Ff genotipa za FokI VDR polimorfizam gena za vitamin D receptor (VDR) statistički značajno češće postižu nižu aktivnost bolesti i bolji klinički odgovor u odnosu na nosioce homozigotnog ff genotipa nakon dugoročnog (72 meseca) praćenja.

9. Prisustvo pojedinih genotipova TNF- α -308 polimorfizma gena za faktor nekroze tumora (TNF) ima samo delimičnog uticaja na mogućnost postizanja poboljšanja bolesti i remisije u juvenilnom idiopatskom artritisu (JIA).
10. Nosioци homozigotnog GG genotipa polimorfizma TNF- α -308 gena za faktor nekroze tumora (TNF) su nakon 36 meseci primene biološke terapije statistički češće postizali nižu aktivnost bolesti i povoljniji klinički odgovor u odnosu na pacijente sa AA ili GA genotipom.
11. U kratkoročnom praćenju (36 meseci) prisustvo A alela u genotipu TNF- α -308 gena za faktor nekroze tumora (TNF) je negativni prediktivni faktor za postizanje povoljnog kliničkog odgovora kod bolesnika sa juvenilnom idiopatskom artritisu (JIA) koji se leče biološkom terapijom.
12. Prisustvo pojedinačnog homozigotnog AA genotipa za TNF- α -308 polimorfizma i homozigotnog ff genotipa za FokI VDR polimorfizam predstavlja negativan prediktivni genetski faktor za postizanje remisije kod JIA bolesnika tokom dugoročnog (72 meseca) praćenja.
13. Nosioци udruženih GG+FF/ff i GG+FF/Ff kombinacija genotipova za TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizam statistički češće su postizali nižu aktivnost bolesti i povoljniji klinički odgovor u odnosu na pacijente sa GA/AA+ff kombinacijom genotipova na kraju perioda praćenja.
14. Udruženo prisustvo GA/AA+ff kombinacija genotipova za TNF- α -308 i FokI VDR polimorfizam predstavlja negativan prediktivni genetski faktor za postizanje remisije kod JIA bolesnika tokom dugoročnog (72 meseca) praćenja.

VIII LITERATURA

1. Petty RE, Southwood TR, Manners P, Baum J, Glass DN, Goldenberg J, et al. International League of Associations for Rheumatology classification of juvenile idiopathic arthritis: second revision, Edmonton, 2001. *J Rheumatol* 2004;31(2):390-2.
2. Fink CW. Proposal for the development of classification criteria for idiopathic arthritides of childhood. *J Rheumatol* 1995;22(8):1566-9.
3. Beukelman T, Patkar NM, Saag KG, Tolleson-Rinehart S, Cron RQ, DeWitt EM, et al. 2011 American College of Rheumatology recommendations for the treatment of juvenile idiopathic arthritis: initiation and safety monitoring of therapeutic agents for the treatment of arthritis and systemic features. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2011;63(4):465-82.
4. La Torre F, Cattalini M, Teruzzi B, Meini A, Moramarco F, Iannone F. Efficacy of adalimumab in young children with juvenile idiopathic arthritis and chronic uveitis: a case series. *BMC Res Notes* 2014;7:316. doi:10.1186/1756-0500-7-316.
5. Wallace CA, Ruperto N, Giannini E. Preliminary criteria for clinical remission for select categories of juvenile idiopathic arthritis. *J Rheumatol* 2004;31(11):2290-4.
6. Petty RE, Southwood TR, Baum J, Bhattay E, Glass DN, Manners P, et al. Revision of the proposed classification criteria for juvenile idiopathic arthritis: Durban, 1997. *J Rheumatol* 1998;25(10):1991-4.
7. Choy EH, Panayi GS. Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis. *N Engl J Med* 2001;344(12):907-16.
8. Prahalad S. Genetics of juvenile idiopathic arthritis: an update. *Curr Opin Rheumatol* 2004;16(5):588-94.
9. Oen K, Schroeder M, Jacobson K, Anderson S, Wood S, Cheang M, et al. Juvenile rheumatoid arthritis in a Canadian First Nations (aboriginal) population: onset subtypes and HLA associations. *J Rheumatol* 1998;25(4):783-90.
10. Prahalad S, O'Brien E, Fraser AM, Kerber RA, Mineau GP, Pratt D, et al. Familial aggregation of juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum* 2004;50(12):4022-7.
11. Rigante D, Bosco A, Esposito S. The Etiology of Juvenile Idiopathic Arthritis. *Clin Rev Allergy Immunol* 2015;49(2):253-61.

12. Hollenbach JA, Thompson SD, Bugawan TL, Ryan M, Sudman M, Marion M, et al. Juvenile idiopathic arthritis and HLA class I and class II interactions and age-at-onset effects. *Arthritis Rheum* 2010;62(6):1781-91.
13. Ombrello MJ, Remmers EF, Tachmazidou I, Grom A, Foell D, Haas JP, et al. HLA-DRB1*11 and variants of the MHC class II locus are strong risk factors for systemic juvenile idiopathic arthritis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015;112(52):15970-5.
14. Hersh AO, Prahalad S. Immunogenetics of juvenile idiopathic arthritis: A comprehensive review. *J Autoimmun* 2015; 64:113-24.
15. Prakken B, Albani S, Martini A. Juvenile idiopathic arthritis. *Lancet* 2011;377(9783): 2138-49.
16. Barnes MG, Grom AA, Thompson SD, Griffin TA, Luyrink LK, Colbert RA, et al. Biologic similarities based on age at onset in oligoarticular and polyarticular subtypes of juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum* 2010;62(11):3249-58.
17. Vojinović J. Juvenilni idiopatski artritis:klinička heterogenost. *Acta rheum Belgrad* 2015;42(2):33-36.
18. Lin YT, Wang CT, Gershwin ME, Chiang BL. The pathogenesis of oligoarticular/polyarticular vs systemic juvenile idiopathic arthritis. *Autoimmun Rev* 2011;10(8):482-9.
19. Martini A. Systemic juvenile idiopathic arthritis. *Autoimmun Rev* 2012;12(1):56-9.
20. Nirmala N, Grom A, Gram H. Biomarkers in systemic juvenile idiopathic arthritis: a comparison with biomarkers in cryopyrin-associated periodic syndromes. *Curr Opin Rheumatol* 2014;26(5):543-52.
21. Borchers AT, Selmi C, Cheema G, Keen CL, Shoenfeld Y, Gershwin ME. Juvenile idiopathic arthritis. *Autoimmun Rev* 2006;5(4):279-98.
22. Stojanovic S, Jevtovic-Stoimenov T, Stankovic A, Pavlovic D, Nekovic J, Stamenkovic B, et al. Association of TNF-alpha polymorphism (-308 A/G) with high activity of rheumatoid arthritis and therapy response to Etanercept. *Srp Arh Celok Lek* 2011;139(11-12):784-9.
23. Woo P. Cytokines and juvenile idiopathic arthritis. *Curr Rheumatol Rep* 2002;4(6): 452-7.
24. de Jager W, Hoppenreijns EP, Wulffraat NM, Wedderburn LR, Kuis W, Prakken BJ. Blood and synovial fluid cytokine signatures in patients with juvenile idiopathic arthritis: a cross-sectional study. *Ann Rheum Dis* 2007;66(5):589-98.

25. Cimaz R, Cazalis MA, Reynaud C, Gerloni V, Zulian F, Biggioggero M, et al. IL1 and TNF gene polymorphisms in patients with juvenile idiopathic arthritis treated with TNF inhibitors. *Ann Rheum Dis* 2007;66(7):900-4.
26. Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, Green S, Fiore N, Williamson B. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1975;72(9):3666-70.
27. Idriss HT, Naismith JH. TNF alpha and the TNF receptor superfamily: structure-function relationship(s). *Microsc Res Tech* 2000;50(3):184-95.
28. Tang P, Hung MC, Klostergaard J. Human pro-tumor necrosis factor is a homotrimer. *Biochemistry* 1996;35(25):8216-25.
29. Wajant H, Pfizenmaier K, Scheurich P. Tumor necrosis factor signaling. *Cell Death Differ* 2003;10(1):45-65.
30. Scardapane A, Breda L, Lucantoni M, Chiarelli F. TNF-alpha polymorphisms in juvenile idiopathic arthritis: which potential clinical implications? *Int J Rheumatol* 2012;2012:756291. doi:10.1155/2012/756291.
31. Yilmaz M, Kendirli SG, Altintas D, Bingol G, Antmen B. Cytokine levels in serum of patients with juvenile rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* 2001;20(1):30-5.
32. Kutukculer N, Caglayan S, Aydogdu F. Study of pro-inflammatory (TNF-alpha, IL-1alpha, IL-6) and T-cell-derived (IL-2, IL-4) cytokines in plasma and synovial fluid of patients with juvenile chronic arthritis: correlations with clinical and laboratory parameters. *Clin Rheumatol* 1998;17(4):288-92.
33. De Benedetti F, Pignatti P, Gerloni V, Massa M, Sartirana P, Caporali R, et al. Differences in synovial fluid cytokine levels between juvenile and adult rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1997;24(7):1403-9.
34. Lepore L, Pennesi M, Saletta S, Perticarari S, Presani G, Prodan M. Study of IL-2, IL-6, TNF alpha, IFN gamma and beta in the serum and synovial fluid of patients with juvenile chronic arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 1994;12(5):561-5.
35. Nedwin GE, Naylor SL, Sakaguchi AY, Smith D, Jarrett-Nedwin J, Pennica D, et al. Human lymphotoxin and tumor necrosis factor genes: structure, homology and chromosomal localization. *Nucleic Acids Res* 1985;13(17):6361-73.

36. Nemeč P, Pavkova-Goldbergova M, Stouracova M, Vasku A, Souček M, Gatterova J. Polymorphism in the tumor necrosis factor-alpha gene promoter is associated with severity of rheumatoid arthritis in the Czech population. *Clin Rheumatol* 2008;27(1): 59-65.
37. Date Y, Seki N, Kamizono S, Higuchi T, Hirata T, Miyata K, et al. Identification of a genetic risk factor for systemic juvenile rheumatoid arthritis in the 5'-flanking region of the TNFalpha gene and HLA genes. *Arthritis Rheum* 1999;42(12):2577-82.
38. Hajeer AH, Hutchinson IV. TNF-alpha gene polymorphism: clinical and biological implications. *Microsc Res Tech* 2000;50(3):216-28.
39. Wilson AG, Symons JA, McDowell TL, McDevitt HO, Duff GW. Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha promoter on transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94(7):3195-9.
40. Louis E, Franchimont D, Piron A, Gevaert Y, Schaaf-Lafontaine N, Roland S, et al. Tumour necrosis factor (TNF) gene polymorphism influences TNF-alpha production in lipopolysaccharide (LPS)-stimulated whole blood cell culture in healthy humans. *Clin Exp Immunol* 1998;113(3):401-6.
41. Bouma G, Crusius JB, Oudkerk Pool M, Kolkman JJ, von Blomberg BM, Kostense PJ, et al. Secretion of tumour necrosis factor alpha and lymphotoxin alpha in relation to polymorphisms in the TNF genes and HLA-DR alleles. Relevance for inflammatory bowel disease. *Scand J Immunol* 1996;43(4):456-63.
42. Lee YH, Harley JB, Nath SK. Meta-analysis of TNF-alpha promoter -308 A/G polymorphism and SLE susceptibility. *Eur J Hum Genet* 2006;14(3):364-71.
43. Komata T, Tsuchiya N, Matsushita M, Hagiwara K, Tokunaga K. Association of tumor necrosis factor receptor 2 (TNFR2) polymorphism with susceptibility to systemic lupus erythematosus. *Tissue Antigens* 1999;53(6):527-33.
44. Jimenez-Morales S, Velazquez-Cruz R, Ramirez-Bello J, Bonilla-Gonzalez E, Romero-Hidalgo S, Escamilla-Guerrero G, et al. Tumor necrosis factor-alpha is a common genetic risk factor for asthma, juvenile rheumatoid arthritis, and systemic lupus erythematosus in a Mexican pediatric population. *Hum Immunol* 2009;70(4):251-6.
45. Mamyrova G, O'Hanlon TP, Sillers L, Malley K, James-Newton L, Parks CG, et al. Cytokine gene polymorphisms as risk and severity factors for juvenile dermatomyositis. *Arthritis Rheum* 2008;58(12):3941-50.

46. Ozen S, Alikasifoglu M, Bakkaloglu A, Duzova A, Jarosova K, Nemcova D, et al. Tumour necrosis factor alpha G-->A -238 and G-->A -308 polymorphisms in juvenile idiopathic arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2002;41(2):223-7.
47. Schmeling H, Horneff G. Tumour necrosis factor alpha promoter polymorphisms and etanercept therapy in juvenile idiopathic arthritis. *Rheumatol Int* 2007;27(4):383-6.
48. Modesto C, Patino-Garcia A, Sotillo-Pineiro E, Merino J, Garcia-Consuegra J, Merino R, et al. TNF-alpha promoter gene polymorphisms in Spanish children with persistent oligoarticular and systemic-onset juvenile idiopathic arthritis. *Scand J Rheumatol* 2005;34(6):451-4.
49. Chen R, Fang M, Cai Q, Duan S, Lv K, Cheng N, et al. Tumor necrosis factor alpha -308 polymorphism is associated with rheumatoid arthritis in Han population of Eastern China. *Rheumatol Int* 2007;28(2):121-6.
50. Rodriguez-Carreon AA, Zuniga J, Hernandez-Pacheco G, Rodriguez-Perez JM, Perez-Hernandez N, Montes de Oca JV, et al. Tumor necrosis factor-alpha -308 promoter polymorphism contributes independently to HLA alleles in the severity of rheumatoid arthritis in Mexicans. *J Autoimmun* 2005;24(1):63-8.
51. Danis VA, Millington M, Hyland V, Lawford R, Huang Q, Grennan D. Increased frequency of the uncommon allele of a tumour necrosis factor alpha gene polymorphism in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Dis Markers* 1995;12(2):127-33.
52. Vojinovic J, Cimaz R. Vitamin D-update for the pediatric rheumatologists. *Pediatr Rheumatol Online J* 2015;13:18. doi:10.1186/s12969-015-0017-9.
53. Whitfield GK, Remus LS, Jurutka PW, Zitzer H, Oza AK, Dang HT, et al. Functionally relevant polymorphisms in the human nuclear vitamin D receptor gene. *Mol Cell Endocrinol* 2001;177(1-2):145-59.
54. Aranow C. Vitamin D and the immune system. *J Investig Med* 2011;59(6):881-6.
55. Swapna N, Vamsi UM, Usha G, Padma T. Risk conferred by FokI polymorphism of vitamin D receptor (VDR) gene for essential hypertension. *Indian J Hum Genet* 2011;17(3):201-6.
56. Margolis RN, Christakos S. The nuclear receptor superfamily of steroid hormones and vitamin D gene regulation. An update. *Ann N Y Acad Sci* 2010;1192:208-14.

57. Yang CY, Leung PS, Adamopoulos IE, Gershwin ME. The implication of vitamin D and autoimmunity: a comprehensive review. *Clin Rev Allergy Immunol* 2013;45(2): 217-26.
58. Heikkinen S, Vaisanen S, Pehkonen P, Seuter S, Benes V, Carlberg C. Nuclear hormone 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 elicits a genome-wide shift in the locations of VDR chromatin occupancy. *Nucleic Acids Res* 2011;39(21): 9181-93.
59. Cantorna MT, Mahon BD. D-hormone and the immune system. *J Rheumatol Suppl* 2005;76:11-20.
60. Wobke TK, Sorg BL, Steinhilber D. Vitamin D in inflammatory diseases. *Front Physiol* 2014;5:244. doi:10.3389/fphys.2014.00244.
61. Ranganathan P. Genetics of bone loss in rheumatoid arthritis--role of vitamin D receptor polymorphisms. *Rheumatology (Oxford)* 2009;48(4):342-6.
62. Oelzner P, Muller A, Deschner F, Huller M, Abendroth K, Hein G, et al. Relationship between disease activity and serum levels of vitamin D metabolites and PTH in rheumatoid arthritis. *Calcif Tissue Int* 1998;62(3):193-8.
63. Scharla SH, Schacht E, Lempert UG. Alfacalcidol versus plain vitamin D in inflammation induced bone loss. *J Rheumatol Suppl* 2005;76:26-32.
64. Xiong J, He Z, Zeng X, Zhang Y, Hu Z. Association of vitamin D receptor gene polymorphisms with systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. *Clin Exp Rheumatol* 2014;32(2):174-81.
65. Colombini A, Brayda-Bruno M, Lombardi G, Croiset SJ, Vrech V, Maione V, et al. FokI polymorphism in the vitamin D receptor gene (VDR) and its association with lumbar spine pathologies in the Italian population: a case-control study. *PLoS One* 2014;9(5):e97027. doi:10.1371/journal.pone.0097027.
66. Monticielo OA, Teixeira Tde M, Chies JA, Brenol JC, Xavier RM. Vitamin D and polymorphisms of VDR gene in patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol* 2012;31(10):1411-21.
67. Mao S, Huang S. Association between vitamin D receptor gene BsmI, FokI, ApaI and TaqI polymorphisms and the risk of systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. *Rheumatol Int* 2014;34(3):381-8.
68. Tizaoui K, Kaabachi W, Hamzaoui A, Hamzaoui K. Contribution of VDR polymorphisms to type 1 diabetes susceptibility: Systematic review of case-control studies and meta-analysis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2014;143:240-9.

69. Maalej A, Petit-Teixeira E, Michou L, Rebai A, Cornelis F, Ayadi H. Association study of VDR gene with rheumatoid arthritis in the French population. *Genes Immun* 2005;6(8):707-11.
70. Ravelli A, Martini A. Juvenile idiopathic arthritis. *Lancet* 2007;369(9563):767-78.
71. Hugle B, Hinze C, Lainka E, Fischer N, Haas JP. Development of positive antinuclear antibodies and rheumatoid factor in systemic juvenile idiopathic arthritis points toward an autoimmune phenotype later in the disease course. *Pediatr Rheumatol Online J* 2014;12:28. doi:10.1186/1546-0096-12-28.
72. Ravelli A, Minoia F, Davi S, Horne A, Bovis F, Pistorio A, et al. 2016 Classification criteria for macrophage activation syndrome complicating systemic juvenile idiopathic arthritis: a european league against rheumatism/american college of rheumatology/paediatric rheumatology international trials organisation collaborative initiative. *Arthritis Rheumatol* 2016;68(3):566-576.
73. Rosenberg KD, Feuer WJ, Davis JL. Ocular complications of pediatric uveitis. *Ophthalmology* 2004;111(12):2299-306.
74. Saurenmann RK, Levin AV, Feldman BM, Rose JB, Laxer RM, Schneider R, et al. Prevalence, risk factors, and outcome of uveitis in juvenile idiopathic arthritis: a long-term followup study. *Arthritis Rheum* 2007;56(2):647-57.
75. Bou R, Adan A, Borrás F, Bravo B, Calvo I, De Inocencio J, et al. Clinical management algorithm of uveitis associated with juvenile idiopathic arthritis: interdisciplinary panel consensus. *Rheumatol Int* 2015;35(5):777-85.
76. van Rossum M, van Soesbergen R, de Kort S, ten Cate R, Zwinderman AH, de Jong B, et al. Anti-cyclic citrullinated peptide (anti-CCP) antibodies in children with juvenile idiopathic arthritis. *J Rheumatol* 2003;30(4):825-8.
77. Oberle EJ, Harris JG, Verbsky JW. Polyarticular juvenile idiopathic arthritis - epidemiology and management approaches. *Clin Epidemiol* 2014;6:379-93.
78. Collado P, Gamir ML, Lopez-Robledillo JC, Merino R, Modesto C, Monteagudo I. Detection of synovitis by ultrasonography in clinically inactive juvenile idiopathic arthritis on and off medication. *Clin Exp Rheumatol* 2014;32(4):597-603.
79. Ravelli A, Consolaro A, Schiappapietra B, Martini A. The conundrum of juvenile psoriatic arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2015;33(5 Suppl 93):S40-3.
80. Bou R, Iglesias E, Anton J. Treatment of uveitis associated with juvenile idiopathic arthritis. *Curr Rheumatol Rep* 2014;16(8):437. doi:10.1007/s11926-014-0437-4.

81. Ramanan AV, Dick AD, Benton D, Compeyrot-Lacassagne S, Dawoud D, Hardwick B, et al. A randomised controlled trial of the clinical effectiveness, safety and cost-effectiveness of adalimumab in combination with methotrexate for the treatment of juvenile idiopathic arthritis associated uveitis (SYCAMORE Trial). *Trials* 2014;15:14. doi:10.1186/1745-6215-15-14.
82. Heiligenhaus A, Niewerth M, Ganser G, Heinz C, Minden K. Prevalence and complications of uveitis in juvenile idiopathic arthritis in a population-based nationwide study in Germany: suggested modification of the current screening guidelines. *Rheumatology (Oxford)* 2007;46(6):1015-9.
83. Jabs DA, Nussenblatt RB, Rosenbaum JT. Standardization of uveitis nomenclature for reporting clinical data. Results of the First International Workshop. *Am J Ophthalmol* 2005;140(3):509-16.
84. Heiligenhaus A, Minden K, Foll D, Pleyer U. Uveitis in juvenile idiopathic arthritis. *Dtsch Arztebl Int* 2015;112(6):92-100.
85. Budimir M, *Juvenilni idiopatski artritis*. Ruma: Srpska knjiga; 2002.
86. Gilliam BE, Chauhan AK, Low JM, Moore TL. Measurement of biomarkers in juvenile idiopathic arthritis patients and their significant association with disease severity: a comparative study. *Clin Exp Rheumatol* 2008;26(3):492-7.
87. Tebo AE, Jaskowski T, Davis KW, Whiting A, Clifford B, Zeft A, et al. Profiling anti-citrullinated peptide antibodies in patients with juvenile idiopathic arthritis. *Pediatr Rheumatol Online J* 2012;10(1):29. doi:10.1186/1546-0096-10-29.
88. Gilliam BE, Chauhan AK, Moore TL. Evaluation of anti-citrullinated type II collagen and anti-citrullinated vimentin antibodies in patients with juvenile idiopathic arthritis. *Pediatr Rheumatol Online J* 2013;11(1):31. doi:10.1186/1546-0096-11-31.
89. Saikia B, Rawat A, Vignesh P. Autoantibodies and their judicious use in pediatric rheumatology practice. *Indian J Pediatr* 2016;83(1):53-62.
90. Colebatch-Bourn AN, Edwards CJ, Collado P, D'Agostino MA, Hemke R, Jousse-Joulin S, et al. EULAR-PReS points to consider for the use of imaging in the diagnosis and management of juvenile idiopathic arthritis in clinical practice. *Ann Rheum Dis* 2015;74(11):1946-57.
91. Kasapcopur O, Barut K. Treatment in juvenile rheumatoid arthritis and new treatment options. *Turk Pediatri Ars* 2015;50(1):1-10.

92. Webb K, Wedderburn LR. Advances in the treatment of polyarticular juvenile idiopathic arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2015;27(5):505-10.
93. Vojinović J, Terapija juvenilnog idiopatskog artritisa, In: Zdravković D, editor. *Problemi u pedijatriji*. Beograd: Zavod Za Udžbenike Beograd; 2007. p. 150-156.
94. Beukelman T. Treatment advances in systemic juvenile idiopathic arthritis. *F1000Prime Rep* 2014;6:21. doi:10.12703/P6-21.
95. Foxwell B, Andreakos E, Brennan F, Feldmann M, Smith C, Conron M. Prospects for the development of small molecular weight compounds to replace anti-tumour necrosis factor biological agents. *Ann Rheum Dis* 2003;62(Suppl 2):ii90-3. doi:10.1136/ard.62.suppl_2.ii90.
96. Kalden JR. Emerging role of anti-tumor necrosis factor therapy in rheumatic diseases. *Arthritis Res* 2002;4(Suppl 2):S34-40. doi:10.1186/ar552.
97. Lovell DJ, Giannini EH, Reiff A, Cawksell GD, Silverman ED, Nocton JJ, et al. Etanercept in children with polyarticular juvenile rheumatoid arthritis. *Pediatric Rheumatology Collaborative Study Group*. *N Engl J Med* 2000;342(11):763-9.
98. Lovell DJ, Reiff A, Jones OY, Schneider R, Nocton J, Stein LD, et al. Long-term safety and efficacy of etanercept in children with polyarticular-course juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2006;54(6):1987-94.
99. Lovell DJ, Reiff A, Ilowite NT, Wallace CA, Chon Y, Lin SL, et al. Safety and efficacy of up to eight years of continuous etanercept therapy in patients with juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2008;58(5):1496-504.
100. Quartier P, Taupin P, Bourdeaut F, Lemelle I, Pillet P, Bost M, et al. Efficacy of etanercept for the treatment of juvenile idiopathic arthritis according to the onset type. *Arthritis Rheum* 2003;48(4):1093-101.
101. Horneff G, De Bock F, Foeldvari I, Girschick HJ, Michels H, Moebius D, et al. Safety and efficacy of combination of etanercept and methotrexate compared to treatment with etanercept only in patients with juvenile idiopathic arthritis (JIA): preliminary data from the German JIA Registry. *Ann Rheum Dis* 2009;68(4):519-25.
102. Prince FH, Twilt M, ten Cate R, van Rossum MA, Armbrust W, Hoppenreijns EP, et al. Long-term follow-up on effectiveness and safety of etanercept in juvenile idiopathic arthritis: the Dutch national register. *Ann Rheum Dis* 2009;68(5):635-41.

103. Tynjala P, Lindahl P, Honkanen V, Lahdenne P, Kotaniemi K. Infliximab and etanercept in the treatment of chronic uveitis associated with refractory juvenile idiopathic arthritis. *Ann Rheum Dis* 2007;66(4):548-50.
104. Neri P, Zucchi M, Allegri P, Lettieri M, Mariotti C, Giovannini A. Adalimumab (Humira): a promising monoclonal anti-tumor necrosis factor alpha in ophthalmology. *Int Ophthalmol* 2011;31(2):165-73.
105. Ruperto N, Lovell DJ, Cuttica R, Wilkinson N, Woo P, Espada G, et al. A randomized, placebo-controlled trial of infliximab plus methotrexate for the treatment of polyarticular-course juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2007;56(9):3096-106.
106. Maini RN, Feldmann M. How does infliximab work in rheumatoid arthritis? *Arthritis Res* 2002;4(Suppl 2):S22-8. doi:10.1186/ar549.
107. Gerloni V, Pontikaki I, Gattinara M, Fantini F. Focus on adverse events of tumour necrosis factor alpha blockade in juvenile idiopathic arthritis in an open monocentric long-term prospective study of 163 patients. *Ann Rheum Dis* 2008;67(8):1145-52.
108. Lovell DJ, Ruperto N, Goodman S, Reiff A, Jung L, Jarosova K, et al. Adalimumab with or without methotrexate in juvenile rheumatoid arthritis. *N Engl J Med* 2008;359(8):810-20.
109. Ruperto N, Lovell DJ, Quartier P, Paz E, Rubio-Perez N, Silva CA, et al. Abatacept in children with juvenile idiopathic arthritis: a randomised, double-blind, placebo-controlled withdrawal trial. *Lancet* 2008;372(9636):383-91.
110. Schmeling H, Minden K, Foeldvari I, Ganser G, Hospach T, Horneff G. Efficacy and safety of adalimumab as the first and second biologic agent in juvenile idiopathic arthritis: the German Biologics JIA Registry. *Arthritis Rheumatol* 2014;66(9):2580-9.
111. Simonini G, Taddio A, Cattalini M, Caputo R, De Libero C, Naviglio S, et al. Prevention of flare recurrences in childhood-refractory chronic uveitis: an open-label comparative study of adalimumab versus infliximab. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2011;63(4):612-8.
112. Sen ES, Sharma S, Hinchcliffe A, Dick AD, Ramanan AV. Use of adalimumab in refractory non-infectious childhood chronic uveitis: efficacy in ocular disease--a case cohort interventional study. *Rheumatology (Oxford)* 2012;51(12):2199-203.

113. Simonini G, Taddio A, Cattalini M, Caputo R, de Libero C, Parentin F, et al. Superior efficacy of Adalimumab in treating childhood refractory chronic uveitis when used as first biologic modifier drug: Adalimumab as starting anti-TNF-alpha therapy in childhood chronic uveitis. *Pediatr Rheumatol Online J* 2013;11:16. doi:10.1186/1546-0096-11-16.
114. Yokota S, Imagawa T, Mori M, Miyamae T, Aihara Y, Takei S, et al. Efficacy and safety of tocilizumab in patients with systemic-onset juvenile idiopathic arthritis: a randomised, double-blind, placebo-controlled, withdrawal phase III trial. *Lancet* 2008;371(9617):998-1006.
115. Brunner HI, Ruperto N, Zuber Z, Keane C, Harari O, Kenwright A, et al. Efficacy and safety of tocilizumab in patients with polyarticular-course juvenile idiopathic arthritis: results from a phase 3, randomised, double-blind withdrawal trial. *Ann Rheum Dis* 2015;74(6):1110-7.
116. Weinblatt ME, Kremer J, Cush J, Rigby W, Teng LL, Devenport J, et al. Tocilizumab as monotherapy or in combination with nonbiologic disease-modifying antirheumatic drugs: twenty-four-week results of an open-label, clinical practice study. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2013;65(3):362-71.
117. Giannini EH, Ruperto N, Ravelli A, Lovell DJ, Felson DT, Martini A. Preliminary definition of improvement in juvenile arthritis. *Arthritis Rheum* 1997;40(7):1202-9.
118. Susic G, Ruperto N, Stojanovic R, Gacic D, Pilipovic N, Pasic S, et al. The Serbian version of the Childhood Health Assessment Questionnaire (CHAQ) and the Child Health Questionnaire (CHQ). *Clin Exp Rheumatol* 2001;19(4 Suppl 23):S168-72.
119. Singh G, Athreya BH, Fries JF, Goldsmith DP. Measurement of health status in children with juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1994;37(12):1761-9.
120. Consolaro A, Ruperto N, Bazso A, Pistorio A, Magni-Manzoni S, Filocamo G, et al. Development and validation of a composite disease activity score for juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum* 2009;61(5):658-66.
121. Consolaro A, Giancane G, Schiappapietra B, Davi S, Calandra S, Lanni S, et al. Clinical outcome measures in juvenile idiopathic arthritis. *Pediatr Rheumatol Online J* 2016;14(1):23. doi:10.1186/s12969-016-0085-5.

122. Wallace CA, Ruperto N, Giannini E, Childhood A, Rheumatology Research A, Pediatric Rheumatology International Trials O, et al. Preliminary criteria for clinical remission for select categories of juvenile idiopathic arthritis. *J Rheumatol* 2004;31(11):2290-4.
123. Wallace CA, Giannini EH, Huang B, Itert L, Ruperto N. American College of Rheumatology provisional criteria for defining clinical inactive disease in select categories of juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2011;63(7):929-36.
124. Ravelli A, Martini A. Remission in juvenile idiopathic arthritis. *Clin Exp Rheumatol*, 2006;24(6 Suppl 43):S105-10.
125. Magni-Manzoni S, Ruperto N, Pistorio A, Sala E, Solari N, Palmisani E, et al. Development and validation of a preliminary definition of minimal disease activity in patients with juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum* 2008;59(8):1120-7.
126. Consolaro A, Negro G, Lanni S, Solari N, Martini A, Ravelli A. Toward a treat-to-target approach in the management of juvenile idiopathic arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2012;30(4 Suppl 73):S157-62.
127. Consolaro A, Bracciolini G, Ruperto N, Pistorio A, Magni-Manzoni S, Malattia C, et al. Remission, minimal disease activity, and acceptable symptom state in juvenile idiopathic arthritis: defining criteria based on the juvenile arthritis disease activity score. *Arthritis Rheum* 2012;64(7):2366-74.
128. Fantini F, Gerloni V, Gattinara M, Cimaz R, Arnoldi C, Lupi E. Remission in juvenile chronic arthritis: a cohort study of 683 consecutive cases with a mean 10 year followup. *J Rheumatol* 2003;30(3):579-84.
129. Guzman J, Oen K, Tucker LB, Huber AM, Shiff N, Boire G, et al. The outcomes of juvenile idiopathic arthritis in children managed with contemporary treatments: results from the ReACCh-Out cohort. *Ann Rheum Dis* 2015;74(10):1854-60.
130. Horneff G, Minden K, Foeldvari I, Onken N, Windschall D, Hospach A, et al. Current news from the BIKER register. *Z Rheumatol* 2014;73(10):897-906.
131. Demeter J, Porzsolt F, Ramisch S, Schmidt D, Schmid M, Messer G. Polymorphism of the tumour necrosis factor-alpha and lymphotoxin-alpha genes in chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol* 1997;97(1):107-12.

132. Pani MA, Knapp M, Donner H, Braun J, Baur MP, Usadel KH, et al. Vitamin D receptor allele combinations influence genetic susceptibility to type 1 diabetes in Germans. *Diabetes* 2000;49(3):504-7.
133. Seki N, Kamizono S, Yamada A, Higuchi T, Matsumoto H, Niiya F, et al. Polymorphisms in the 5'-flanking region of tumor necrosis factor-alpha gene in patients with rheumatoid arthritis. *Tissue Antigens* 1999;54(2):194-7.
134. Sallakci N, Akcurin G, Koksoy S, Kardelen F, Uguz A, Coskun M, et al. TNF-alpha G-308A polymorphism is associated with rheumatic fever and correlates with increased TNF-alpha production. *J Autoimmun* 2005;25(2):150-4.
135. Lucas RM, Gorman S, Geldenhuys S, Hart PH. Vitamin D and immunity. *F1000Prime Rep* 2014.6:118. doi:10.12703/P6-118.
136. Lee YH, Choi SJ, Ji JD, Song GG. Vitamin D receptor ApaI, TaqI, BsmI, and FokI polymorphisms and psoriasis susceptibility: a meta-analysis. *Mol Biol Rep* 2012;39(6):6471-8.
137. Butler DM, Maini RN, Feldmann M, Brennan FM. Modulation of proinflammatory cytokine release in rheumatoid synovial membrane cell cultures. Comparison of monoclonal anti TNF-alpha antibody with the interleukin-1 receptor antagonist. *Eur Cytokine Netw* 1995;6(4):225-30.
138. Feldmann M, Brennan FM, Maini RN. Role of cytokines in rheumatoid arthritis. *Annu Rev Immunol* 1996;14:397-440.
139. Mangge H, Kenzian H, Gallistl S, Neuwirth G, Liebmann P, Kaulfersch W, et al. Serum cytokines in juvenile rheumatoid arthritis. Correlation with conventional inflammation parameters and clinical subtypes. *Arthritis Rheum* 1995;38(2):211-20.
140. Marotte H, Arnaud B, Diasparra J, Zrioual S, Miossec P. Association between the level of circulating bioactive tumor necrosis factor alpha and the tumor necrosis factor alpha gene polymorphism at -308 in patients with rheumatoid arthritis treated with a tumor necrosis factor alpha inhibitor. *Arthritis Rheum* 2008;58(5):1258-63.
141. Aguillon JC, Cruzat A, Aravena O, Salazar L, Llanos C, Cuchacovich M. Could single-nucleotide polymorphisms (SNPs) affecting the tumour necrosis factor promoter be considered as part of rheumatoid arthritis evolution? *Immunobiology* 2006;211(1-2):75-84.
142. Kempeni J. Preliminary results of early clinical trials with the fully human anti-TNFalpha monoclonal antibody D2E7. *Ann Rheum Dis* 1999;58(Suppl 1):I70-2.

143. Cuchacovich M, Soto L, Edwardes M, Gutierrez M, Llanos C, Pacheco D, et al. Tumour necrosis factor (TNF)alpha -308 G/G promoter polymorphism and TNFalpha levels correlate with a better response to adalimumab in patients with rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 2006;35(6):435-40.
144. Hussein YM, Mohamed RH, Pasha HF, El-Shahawy EE, Alzahrani SS. Association of tumor necrosis factor alpha and its receptor polymorphisms with rheumatoid arthritis in female patients. *Cell Immunol* 2011;271(1):192-6.
145. Schmitt-Grohe S, Stuber F, Book M, Bargon J, Wagner TO, Naujoks C, et al. TNF-alpha promoter polymorphism in relation to TNF-alpha production and clinical status in cystic fibrosis. *Lung* 2006;184(2):99-104.
146. Galinanes M, James M, Codd V, Baxi A, Hadjinikolaou L. TNF-alpha gene promoter polymorphism at nucleotide -308 and the inflammatory response and oxidative stress induced by cardiac surgery: role of heart failure and medical treatment. *Eur J Cardiothorac Surg* 2008;34(2):332-7.
147. Rezaieyazdi Z, Afshari JT, Sandooghi M, Mohajer F. Tumour necrosis factor a -308 promoter polymorphism in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int* 2007;28(2):189-91.
148. Lee YH, Ji JD, Song GG. Tumor necrosis factor-alpha promoter -308 A/G polymorphism and rheumatoid arthritis susceptibility: a metaanalysis. *J Rheumatol* 2007;34(1):43-9.
149. Milterski B, Drynda S, Boschow G, Klein W, Oppermann J, Kekow J, et al. Complex genetic predisposition in adult and juvenile rheumatoid arthritis. *BMC Genet* 2004;5:2. doi:10.1186/1471-2156-5-2.
150. Scardapane A, Ferrante R, Nozzi M, Savino A, Antonucci I, Dadorante V, et al. TNF-alpha gene polymorphisms and juvenile idiopathic arthritis: Influence on disease outcome and therapeutic response. *Semin Arthritis Rheum* 2015;45(1):35-41.
151. Basic J, Pavlovic D, Jevtovic-Stoimenov T, Vojinovic J, Susic G, Stojanovic I, et al. Etanercept reduces matrix metalloproteinase-9 level in children with polyarticular juvenile idiopathic arthritis and TNF-alpha-308GG genotype. *J Physiol Biochem* 2010;66(2):173-80.
152. Zeggini E, Thomson W, Kwiatkowski D, Richardson A, Ollier W, Donn R. Linkage and association studies of single-nucleotide polymorphism-tagged tumor necrosis factor haplotypes in juvenile oligoarthritis. *Arthritis Rheum* 2002;46(12):3304-11.

153. Schmeling H, Wagner U, Peterson A, Horneff G. Tumor necrosis factor alpha promoter polymorphisms in patients with juvenile idiopathic arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2006;24(1):103-8.
154. Song GG, Bae SC, Kim JH, Lee YH. Association between TNF-alpha promoter -308 A/G polymorphism and rheumatoid arthritis: a meta-analysis. *Rheumatol Int* 2014;34(4):465-71.
155. Mourao AF, Santos MJ, Mendonca S, Oliveira-Ramos F, Salgado M, Estanqueiro P, et al. Genetic predictors of poor prognosis in portuguese patients with juvenile idiopathic arthritis: data from reuma. pt. *J Immunol Res* 2015;2015:706515. doi:10.1155/2015/706515.
156. Brinkman BM, Huizinga TW, Kurban SS, van der Velde EA, Schreuder GM, Hazes JM, et al. Tumour necrosis factor alpha gene polymorphisms in rheumatoid arthritis: association with susceptibility to, or severity of, disease? *Br J Rheumatol* 1997;36(5):516-21.
157. Cvetkovic JT, Wallberg-Jonsson S, Stegmayr B, Rantapaa-Dahlqvist S, Lefvert AK. Susceptibility for and clinical manifestations of rheumatoid arthritis are associated with polymorphisms of the TNF-alpha, IL-1beta, and IL-1Ra genes. *J Rheumatol* 2002;29(2):212-9.
158. Lovell DJ, Giannini EH, Reiff A, Jones OY, Schneider R, Olson JC, et al. Long-term efficacy and safety of etanercept in children with polyarticular-course juvenile rheumatoid arthritis: interim results from an ongoing multicenter, open-label, extended-treatment trial. *Arthritis Rheum* 2003;48(1):218-26.
159. Hayward K, Wallace CA. Recent developments in anti-rheumatic drugs in pediatrics: treatment of juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Res Ther* 2009;11(1):216. doi:10.1186/ar2619.
160. Breda L, Del Torto M, De Sanctis S, Chiarelli F. Biologics in children's autoimmune disorders: efficacy and safety. *Eur J Pediatr* 2011;170(2):157-67.
161. Elahi MM, Asotra K, Matata BM, Mastana SS. Tumor necrosis factor alpha -308 gene locus promoter polymorphism: an analysis of association with health and disease. *Biochim Biophys Acta* 2009;1792(3):163-72.
162. Padyukov L, Lampa J, Heimburger M, Ernestam S, Cederholm T, Lundkvist I, et al. Genetic markers for the efficacy of tumour necrosis factor blocking therapy in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2003;62(6):526-9.

163. Suryaprasad AG, Prindiville T. The biology of TNF blockade. *Autoimmun Rev* 2003; 2(6):346-57.
164. Rooney M, Varsani H, Martin K, Lombard PR, Dayer JM, Woo P. Tumour necrosis factor alpha and its soluble receptors in juvenile chronic arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2000;39(4):432-8.
165. Kooloos WM, Wessels JA, van der Straaten T, Huizinga TW, Guchelaar HJ. Criteria for the selection of single nucleotide polymorphisms in pathway pharmacogenetics: TNF inhibitors as a case study. *Drug Discov Today* 2009;14(17-18):837-44.
166. Vasilopoulos Y, Manolika M, Zafiriou E, Sarafidou T, Bagiatis V, Kruger-Krasagaki S, et al. Pharmacogenetic analysis of TNF, TNFRSF1A, and TNFRSF1B gene polymorphisms and prediction of response to anti-TNF therapy in psoriasis patients in the Greek population. *Mol Diagn Ther* 2012;16(1):29-34.
167. Lee YH, Rho YH, Choi SJ, Ji JD, Song GG. Association of TNF-alpha -308 G/A polymorphism with responsiveness to TNF-alpha-blockers in rheumatoid arthritis: a meta-analysis. *Rheumatol Int* 2006;27(2):157-61.
168. Guis S, Balandraud N, Bouvenot J, Auger I, Toussirot E, Wendling D, et al. Influence of -308 A/G polymorphism in the tumor necrosis factor alpha gene on etanercept treatment in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2007;57(8):1426-30.
169. Zeng Z, Duan Z, Zhang T, Wang S, Li G, Gao J, et al. Association between tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) promoter -308 G/A and response to TNF-alpha blockers in rheumatoid arthritis: a meta-analysis. *Mod Rheumatol* 2013;23(3):489-95.
170. Maxwell JR, Potter C, Hyrich KL, Barton A, Worthington J, Isaacs JD, et al. Association of the tumour necrosis factor-308 variant with differential response to anti-TNF agents in the treatment of rheumatoid arthritis. *Hum Mol Genet* 2008;17(22):3532-8.
171. Ongaro A, De Mattei M, Pellati A, Caruso A, Ferretti S, Masieri FF, et al. Can tumor necrosis factor receptor II gene 676T>G polymorphism predict the response grading to anti-TNFalpha therapy in rheumatoid arthritis? *Rheumatol Int* 2008;28(9):901-8.
172. Seitz M, Wirthmuller U, Moller B, Villiger PM. The -308 tumour necrosis factor-alpha gene polymorphism predicts therapeutic response to TNFalpha-blockers in rheumatoid arthritis and spondyloarthritis patients. *Rheumatology (Oxford)* 2007;46(1):93-6.

173. Manolova I, Ivanova M, Stoilov R, Rashkov R, Stanilova S. Association of single nucleotide polymorphism at position -308 of the tumor necrosis factor- α gene with ankylosing spondylitis and rheumatoid arthritis. *Biotechnol Biotechnol Equip* 2014;28(6):1108-1114.
174. Hajeer AH, Hutchinson IV. Influence of TNF α gene polymorphisms on TNF α production and disease. *Hum Immunol* 2001;62(11):1191-9.
175. Kamen DL, Tangpricha V. Vitamin D and molecular actions on the immune system: modulation of innate and autoimmunity. *J Mol Med (Berl)* 2010;88(5):441-50.
176. Van Belle TL, Gysemans C, Mathieu C. Vitamin D in autoimmune, infectious and allergic diseases: a vital player? *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2011;25(4):617-32.
177. Carlberg C, Campbell MJ. Vitamin D receptor signaling mechanisms: integrated actions of a well-defined transcription factor. *Steroids* 2013;78(2):127-36.
178. Chen S, Sims GP, Chen XX, Gu YY, Chen S, Lipsky PE. Modulatory effects of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on human B cell differentiation. *J Immunol* 2007;179(3):1634-47.
179. Gregori S, Casorati M, Amuchastegui S, Smiroldo S, Davalli AM, Adorini L. Regulatory T cells induced by 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ and mycophenolate mofetil treatment mediate transplantation tolerance. *J Immunol* 2001;167(4):1945-53.
180. Penna G, Amuchastegui S, Giarratana N, Daniel KC, Vulcano M, Sozzani S, et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ selectively modulates tolerogenic properties in myeloid but not plasmacytoid dendritic cells. *J Immunol* 2007;178(1):145-53.
181. Arnson Y, Amital H, Shoenfeld Y. Vitamin D and autoimmunity: new aetiological and therapeutic considerations. *Ann Rheum Dis* 2007;66(9):1137-42.
182. Liu YJ. IPC: professional type 1 interferon-producing cells and plasmacytoid dendritic cell precursors. *Annu Rev Immunol* 2005;23:275-306.
183. Cutolo M. Vitamin D or hormone D deficiency in autoimmune rheumatic diseases, including undifferentiated connective tissue disease. *Arthritis Res Ther* 2008;10(6):123.
184. Kriegel MA, Manson JE, Costenbader KH. Does vitamin D affect risk of developing autoimmune disease?: a systematic review. *Semin Arthritis Rheum* 2011;40(6):512-531e8. doi:10.1016/j.semarthrit.2010.07.009.
185. Waterhouse M, Tran B, Armstrong BK, Baxter C, Ebeling PR, English DR, et al. Environmental, personal, and genetic determinants of response to vitamin D supplementation in older adults. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99(7):E1332-40. doi:10.1210/jc.2013-4101.

186. Mosaad YM, Hammad EM, Fawzy Z, Abdal Aal IA, Youssef HM, ElSaid TO, et al. Vitamin D receptor gene polymorphism as possible risk factor in rheumatoid arthritis and rheumatoid related osteoporosis. *Hum Immunol* 2014;75(5):452-61.
187. Patel S, Farragher T, Berry J, Bunn D, Silman A, Symmons D. Association between serum vitamin D metabolite levels and disease activity in patients with early inflammatory polyarthritis. *Arthritis Rheum* 2007;56(7):2143-9.
188. van Etten E, Verlinden L, Giulietti A, Ramos-Lopez E, Branisteanu DD, Ferreira GB, et al. The vitamin D receptor gene FokI polymorphism: functional impact on the immune system. *Eur J Immunol* 2007;37(2):395-405.
189. Lee YH, Bae SC, Choi SJ, Ji JD, Song GG. Associations between vitamin D receptor polymorphisms and susceptibility to rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. *Mol Biol Rep* 2011;38(6):3643-51.
190. Karray EF, Ben Dhifallah I, Ben Abdelghani K, Ben Ghorbel I, Khanfir M, Houman H, et al. Associations of vitamin D receptor gene polymorphisms FokI and BsmI with susceptibility to rheumatoid arthritis and Behcet's disease in Tunisians. *Joint Bone Spine* 2012;79(2):144-8.
191. Goertz B, Fassbender WJ, Williams JC, Marzeion AM, Bretzel RG, Stracke H, et al. Vitamin D receptor genotypes are not associated with rheumatoid arthritis or biochemical parameters of bone turnover in German RA patients. *Clin Exp Rheumatol* 2003;21(3):333-9.
192. Tizaoui K, Hamzaoui K. Association between VDR polymorphisms and rheumatoid arthritis disease: Systematic review and updated meta-analysis of case-control studies. *Immunobiology* 2015;220(6):807-16.
193. Song GG, Bae SC, Lee YH. Vitamin D receptor FokI, BsmI, and TaqI polymorphisms and susceptibility to rheumatoid arthritis : A meta-analysis. *Z Rheumatol* 2016;75(3):322-9.
194. Cutolo M, Otsa K, Uprus M, Paolino S, Seriolo B. Vitamin D in rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev* 2007;7(1):59-64.
195. Bid HK, Mishra DK, Mittal RD. Vitamin-D receptor (VDR) gene (Fok-I, Taq-I and Apa-I) polymorphisms in healthy individuals from north Indian population. *Asian Pac J Cancer Prev* 2005;6(2):147-52.
196. Kamen DL, Aranow C. The link between vitamin D deficiency and systemic lupus erythematosus. *Curr Rheumatol Rep* 2008;10(4):273-80.

197. Kamen DL, Cooper GS, Bouali H, Shaftman SR, Hollis BW, Gilkeson GS. Vitamin D deficiency in systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev* 2006;5(2):114-7.
198. Merlino LA, Curtis J, Mikuls TR, Cerhan JR, Criswell LA, Saag KG. Vitamin D intake is inversely associated with rheumatoid arthritis: results from the Iowa Women's Health Study. *Arthritis Rheum* 2004;50(1):72-7.
199. Hypponen E, Laara E, Reunanen A, Jarvelin MR, Virtanen SM. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. *Lancet* 2001;358(9292):1500-3.
200. Pelajo CF, Lopez-Benitez JM, Miller LC. 25-hydroxyvitamin D levels and vitamin D deficiency in children with rheumatologic disorders and controls. *J Rheumatol* 2011;38(9):2000-4.
201. Pelajo CF, Lopez-Benitez JM, Kent DM, Price LL, Miller LC, Dawson-Hughes B. 25-hydroxyvitamin D levels and juvenile idiopathic arthritis: is there an association with disease activity? *Rheumatol Int* 2012;32(12):3923-9.
202. Stagi S, Bertini F, Cavalli L, Matucci-Cerinic M, Brandi ML, Falcini F. Determinants of vitamin D levels in children, adolescents, and young adults with juvenile idiopathic arthritis. *J Rheumatol* 2014;41(9):1884-92.
203. Lange U, Jung O, Teichmann J, Neeck G. Relationship between disease activity and serum levels of vitamin D metabolites and parathyroid hormone in ankylosing spondylitis. *Osteoporos Int* 2001;12(12):1031-5.
204. Lange U, Teichmann J, Strunk J, Muller-Ladner U, Schmidt KL. Association of 1.25 vitamin D3 deficiency, disease activity and low bone mass in ankylosing spondylitis. *Osteoporos Int* 2005;16(12):1999-2004.
205. Cutolo M, Otsa K, Paolino S, Yprus M, Veldi T, Seriola B. Vitamin D involvement in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythaematosus. *Ann Rheum Dis* 2009;68(3):446-7.
206. Carvalho C, Marinho A, Leal B, Bettencourt A, Boleixa D, Almeida I, et al. Association between vitamin D receptor (VDR) gene polymorphisms and systemic lupus erythematosus in Portuguese patients. *Lupus* 2015;24(8):846-53.
207. Mostowska A, Lianeri M, Wudarski M, Olesinska M, Jagodzinski PP. Vitamin D receptor gene BsmI, FokI, ApaI and TaqI polymorphisms and the risk of systemic lupus erythematosus. *Mol Biol Rep* 2013;40(2):803-10.
208. Vojinović J JT, Lazarević D, Sušić G. Long term outcome and FokI VDR polymorphism in JIA patients on anti-TNF treatment. *Ann Rheum Dis* 2013;72(Suppl 3):739. doi:10.1136/annrheumdis-2013-eular.2191.

209. Emerah AA, El-Shal AS. Role of vitamin D receptor gene polymorphisms and serum 25-hydroxyvitamin D level in Egyptian female patients with systemic lupus erythematosus. *Mol Biol Rep* 2013;40(11):6151-62.
210. Swierkot J, Bogunia-Kubik K, Nowak B, Bialowas K, Korman L, Gebura K, et al. Analysis of associations between polymorphisms within genes coding for tumour necrosis factor (TNF)-alpha and TNF receptors and responsiveness to TNF-alpha blockers in patients with rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine* 2015;82(2):94-9.
211. Selvaag AM, Aulie HA, Lilleby V, Flato B. Disease progression into adulthood and predictors of long-term active disease in juvenile idiopathic arthritis. *Ann Rheum Dis* 2016;75(1):190-5.
212. Ravelli A. Toward an understanding of the long-term outcome of juvenile idiopathic arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2004;22(3):271-5.
213. Kearsley-Fleet L, Davies R, Lunt M, Southwood TR, Hyrich KL. Factors associated with improvement in disease activity following initiation of etanercept in children and young people with Juvenile Idiopathic Arthritis: results from the British Society for Paediatric and Adolescent Rheumatology Etanercept Cohort Study. *Rheumatology (Oxford)* 2016;55(5):840-7.
214. Geikowski T, Becker I, Horneff G. Predictors of response to etanercept in polyarticular-course juvenile idiopathic arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2014;53(7):1245-9.
215. Pomirleanu C, Ancuta C, Miu S, Chiriac R. A predictive model for remission and low disease activity in patients with established rheumatoid arthritis receiving TNF blockers. *Clin Rheumatol* 2013;32(5):665-70.
216. Adib N, Silman A, Thomson W. Outcome following onset of juvenile idiopathic inflammatory arthritis: II. predictors of outcome in juvenile arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2005;44(8):1002-7.
217. Papsdorf V, Horneff G. Complete control of disease activity and remission induced by treatment with etanercept in juvenile idiopathic arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2011;50(1):214-21.
218. van Dijkhuizen EH, Wulfraat NM. Early predictors of prognosis in juvenile idiopathic arthritis: a systematic literature review. *Ann Rheum Dis* 2015;74(11):1996-2005.

219. Wallace CA, Giannini EH, Spalding SJ, Hashkes PJ, O'Neil KM, Zeff AS, et al. Clinically inactive disease in a cohort of children with new-onset polyarticular juvenile idiopathic arthritis treated with early aggressive therapy: time to achievement, total duration, and predictors. *J Rheumatol* 2014;41(6):1163-70.
220. Otten MH, Prince FH, Armbrust W, ten Cate R, Hoppenreijns EP, Twilt M, et al. Factors associated with treatment response to etanercept in juvenile idiopathic arthritis. *JAMA* 2011;306(21):2340-7.
221. Solari N, Palmisani E, Consolaro A, Pistorio A, Viola S, Buoncompagni A, et al. Factors associated with achievement of inactive disease in children with juvenile idiopathic arthritis treated with etanercept. *J Rheumatol* 2013;40(2):192-200.
222. Flato B, Lien G, Smerdel A, Vinje O, Dale K, Johnston V, et al. Prognostic factors in juvenile rheumatoid arthritis: a case-control study revealing early predictors and outcome after 14.9 years. *J Rheumatol* 2003;30(2):386-93.
223. Albers HM, Wessels JA, van der Straaten RJ, Brinkman DM, Suijlekom-Smit LW, Kamphuis SS, et al. Time to treatment as an important factor for the response to methotrexate in juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum* 2009;61(1):46-51.
224. Garces S, Demengeot J, Benito-Garcia E. The immunogenicity of anti-TNF therapy in immune-mediated inflammatory diseases: a systematic review of the literature with a meta-analysis. *Ann Rheum Dis* 2013;72(12):1947-55.
225. Daien CI, Morel J. Predictive factors of response to biological disease modifying antirheumatic drugs: towards personalized medicine. *Mediators Inflamm* 2014;2014:386148. doi:10.1155/2014/386148.
226. Kristensen LE, Kapetanovic MC, Gulfe A, Soderlin M, Saxne T, Geborek P. Predictors of response to anti-TNF therapy according to ACR and EULAR criteria in patients with established RA: results from the South Swedish Arthritis Treatment Group Register. *Rheumatology (Oxford)* 2008;47(4):495-9.
227. Gregory AC, 2nd, Kempen JH, Daniel E, Kacmaz RO, Foster CS, Jabs DA, et al. Risk factors for loss of visual acuity among patients with uveitis associated with juvenile idiopathic arthritis: the Systemic Immunosuppressive Therapy for Eye Diseases Study. *Ophthalmology* 2013;120(1):186-92.
228. Heiligenhaus A, Michels H, Schumacher C, Kopp I, Neudorf U, Niehues T, et al. Evidence-based, interdisciplinary guidelines for anti-inflammatory treatment of uveitis associated with juvenile idiopathic arthritis. *Rheumatol Int* 2012;32(5):1121-33.

229. Saurenmann RK, Levin AV, Feldman BM, Laxer RM, Schneider R, Silverman ED. Risk factors for development of uveitis differ between girls and boys with juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum* 2010;62(6):1824-8.
230. Kotaniemi K, Saila H, Kautiainen H. Long-term efficacy of adalimumab in the treatment of uveitis associated with juvenile idiopathic arthritis. *Clin Ophthalmol* 2011;5:1425-9.
231. Foeldvari I. Ocular Involvement in Juvenile Idiopathic Arthritis: Classification and Treatment. *Clin Rev Allergy Immunol* 2015;49(3):271-7.
232. Rodriguez-Garcia A. The importance of an ophthalmologic examination in patients with juvenile idiopathic arthritis. *Reumatol Clin* 2015;11(3):133-8.
233. Cordero-Coma M, Sobrin L. Anti-tumor necrosis factor-alpha therapy in uveitis. *Surv Ophthalmol* 2015;60(6):575-89.
234. Tynjala P, Kotaniemi K, Lindahl P, Latva K, Aalto K, Honkanen V, et al. Adalimumab in juvenile idiopathic arthritis-associated chronic anterior uveitis. *Rheumatology (Oxford)* 2008;47(3):339-44.
235. Foeldvari I, Nielsen S, Kummerle-Deschner J, Espada G, Horneff G, Bica B, et al. Tumor necrosis factor-alpha blocker in treatment of juvenile idiopathic arthritis-associated uveitis refractory to second-line agents: results of a multinational survey. *J Rheumatol* 2007;34(5):1146-50.
236. Saurenmann RK, Levin AV, Rose JB, Parker S, Rabinovitch T, Tyrrell PN, et al. Tumour necrosis factor alpha inhibitors in the treatment of childhood uveitis. *Rheumatology (Oxford)* 2006;45(8):982-9.
237. Tappeiner C, Miserocchi E, Bodaghi B, Kotaniemi K, Mackensen F, Gerloni V, et al. Abatacept in the treatment of severe, longstanding, and refractory uveitis associated with juvenile idiopathic arthritis. *J Rheumatol* 2015;42(4):706-11.
238. Vazquez-Cobian LB, Flynn T, Lehman TJ. Adalimumab therapy for childhood uveitis. *J Pediatr* 2006;149(4):572-5.
239. Magli A, Forte R, Navarro P, Russo G, Orlando F, Latanza L, et al. Adalimumab for juvenile idiopathic arthritis-associated uveitis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2013;251(6):1601-6.
240. Foeldvari I, Becker I, Horneff G. Uveitis Events During Adalimumab, Etanercept, and Methotrexate Therapy in Juvenile Idiopathic Arthritis: Data From the Biologics in Pediatric Rheumatology Registry. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2015;67(11):1529-35.

241. Garcia-De-Vicuna C, Diaz-Llopis M, Salom D, Bou R, Diaz-Cascajosa J, Cordero-Coma M, et al. Usefulness of adalimumab in the treatment of refractory uveitis associated with juvenile idiopathic arthritis. *Mediators Inflamm* 2013;2013:560632. doi:10.1155/2013/560632.
242. Lerman MA, Burnham JM, Chang PY, Daniel E, Foster CS, Hennessy S, et al. Response of pediatric uveitis to tumor necrosis factor-alpha inhibitors. *J Rheumatol* 2013;40(8):1394-403.
243. Schmeling H, Horneff G, Benseler SM, Fritzler MJ. Pharmacogenetics: can genes determine treatment efficacy and safety in JIA? *Nat Rev Rheumatol* 2014;10(11):682-90.
244. Bartelds GM, Wijbrandts CA, Nurmohamed MT, Stapel S, Lems WF, Aarden L, et al. Clinical response to adalimumab: relationship to anti-adalimumab antibodies and serum adalimumab concentrations in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2007;66(7):921-6.
245. Jamnitski A, Krieckaert CL, Nurmohamed MT, Hart MH, Dijkmans BA, Aarden L, et al. Patients non-responding to etanercept obtain lower etanercept concentrations compared with responding patients. *Ann Rheum Dis* 2012;71(1):88-91.
246. Skrabl-Baumgartner A, Erwa W, Muntean W, Jahnel J. Anti-adalimumab antibodies in juvenile idiopathic arthritis: frequent association with loss of response. *Scand J Rheumatol* 2015;44(5):359-62.
247. Durland CL, Wedderburn LR. Current developments in the use of biomarkers for juvenile idiopathic arthritis. *Curr Rheumatol Rep* 2014;16(3):406. doi: 10.1007/s11926-013-0406-3.
248. Foell D, Roth J. Proinflammatory S100 proteins in arthritis and autoimmune disease. *Arthritis Rheum* 2004;50(12):3762-71.
249. Moncrieffe H, Ursu S, Holzinger D, Patrick F, Kassoumeri L, Wade A, et al. A subgroup of juvenile idiopathic arthritis patients who respond well to methotrexate are identified by the serum biomarker MRP8/14 protein. *Rheumatology (Oxford)* 2013;52(8):1467-76.
250. Rothmund F, Gerss J, Ruperto N, Dabritz J, Wittkowski H, Frosch M, et al. Validation of relapse risk biomarkers for routine use in patients with juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2014;66(6):949-55.

Biografija autora

Dragana S. Lazarević

Rođena 28. oktobra 1978. god. u Nišu. Osnovnu školu „Duško Radović“ i prirodno-matematički smergimnazije „Stevan Sremac“ završila je u Nišu sa odličnim uspehom. Školske 1997/1998. godine upisuje Medicinski fakultet u Nišu, na kome je diplomirala 2004. godine sa prosečnom ocenom tokom studiranja 9,59. Tokom studija dobitnik je stipendije Kraljevine Norveške. Po završetku studija lekarski staž je obavila na klinikama Medicinskog fakulteta u Nišu, da bi nakon položenog državnog ispita za doktore medicine 2006. godine zasnovala radni odnos na neodređeno vreme na Klinici za dečije interne bolesti, Kliničkog centra Niš. 2009. godine započinje specijalistički staž iz pedijatrije. Iste godine upisuje akademske doktorske studije iz oblasti Kliničke medicine. Specijalistički ispit iz Pedijatrije položila je 21. avgusta 2013. godine na Medicinskom fakultetu u Nišu sa odličnom ocenom.

Tokom rada pokazuje interesovanje iz oblasti dečje reumatologije. Od 2008. godine postaje član evropskog udruženja dečjih reumatologa (PRES). Polaznik je prvog evropskog kursa iz oblasti dečje reumatologije održanog pod pokroviteljstvom evropskog udruženja dečjih reumatologa u Turskoj 2009. godine. Završila je osnovni i intermedijarni kurs muskuloskeletnog ultrazvuka 2010. godine u Beogradu, nakon čega je imala jednomesečni studijski boravak na Institutu za reumatologiju u Beogradu radi ovladavanja tehnikom izvođenja. Učesnik je prvog pedijatrijskog muskuloskeletnog ultrazvuka održanog u Madridu 2011. godine. Dobitnik je stipendije evropskog udruženja reumatologa (EULAR) nakon čega se usavršavala se u trajanju od 6 meseci u refrentnoj ustanovi evropskog udruženja dečjih reumatologa u Institutu Giannina Gaslini u Đenovi.

Svojim autorskim i koautorskim radovima je učestvovala u radu većine domaćih i evropskih pedijatrijskih i reumatoloških kongresa i sastanaka, koji su štampani u odgovarajućim zbornicima. Dobitnik je nagrade Udruženja reumatologa Srbije "Prim dr Zagorka Berović" za najveći naučni doprinos u periodu između dva kongresa 2014. godine.

ИЗЈАВА О АУТОРСТВУ

Изјављујем да је докторска дисертација, под насловом

"Утицај полиморфизма *FokI* гена за витамин Д рецептор и *TNF- α -308* гена за фактор некрозе тумора на тежину и исход болести код деце са јувенилним идиопатским артритисом"

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:

Драгана С. Лазаревић

**ИЗЈАВА О ИСТОВЕТНОСТИ ШТАМПАНОГ И ЕЛЕКТРОНСКОГ
ОБЛИКА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Наслов дисертације:

"Утицај полиморфизма *FokI* гена за витамин Д рецептор и *TNF- α -308* гена
за фактор некрозе тумора на тежину и исход болести код деце са
јувенилним идиопатским артритисом"

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, _____.

Драгана С. Лазаревић

ИЗЈАВА О КОРИШЋЕЊУ

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

"Утицај полиморфизма *FokI* гена за витамин Д рецептор и *TNF- α -308* гена за фактор некрозе тумора на тежину и исход болести код деце са јувенилним идиопатским артритисом"

Дисертацију са свим прилозима предао/ла 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– делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство –без прераде (CC BY-ND)
6. Ауторство –делити под истим условима (CC BY-SA)

У Нишу, _____

Драгана С. Лазаревић