

Dominika Kaminiarczyk-Pyzałka

**Czynniki prozapalne (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  i IL-6)  
w młodzieńczym idiopatycznym zapaleniu stawów**

**Rozprawa doktorska**

Promotor: Prof. dr hab. n. med. Marek Niedziela

Klinika Endokrynologii i Reumatologii Dziecięcej

II Katedra Pediatrii

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Poznań 2013

*Projekt finansowany był z badań statutowych Kliniki (UM 502-01-1104118-06037), grantu promotorskiego MNiSW (N N407 454037) oraz grantu promotorskiego (UM 501-02-01104118-06037-50481).*

Składam serdeczne podziękowania

*Prof. dr hab. n. med. Markowi Niedzieli*

*za pomoc, cierpliwość i cenne wskazówki przy pisaniu pracy*

*Dr Iwonie Klimeckiej*

*za wyrozumiałość i wsparcie*

Dedykuję

*Rodzicom, Bratu, Mężowi i Synkowi*

## SPIS TREŚCI

SPIS TREŚCI	3
OBJAŚNIENIA SKRÓTÓW	5
SPIS TABEL	9
SPIS RYCIN	11
I WSTĘP	13
1. Młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów – ogólna charakterystyka choroby.	13
2. Rys historyczny	15
3. Epidemiologia	18
4. Etiologia	20
4.1 Czynniki genetyczne	20
4.2 Czynniki środowiskowe	21
5. Patogeneza choroby	22
5.1 Cytokiny	25
5.1.1 Czynniki martwicy nowotworów	25
5.1.2 Interleukina 1 $\beta$	27
5.1.3 Interleukina 6	29
5.2 Procesy destrukcyjne w stawach	31
6. Klasyfikacja MIZS	32
6.1 Zapalenie stawów o początku uogólnionym	34
6.2 Zapalenie stawów z zajęciem niewielu stawów	35
6.3 Zapalenie wielostawowe seronegatywne (RF-)	36
6.4 Zapalenie wielostawowe seropoztywne (RF+)	37
6.5 Łuszczycowe zapalenie stawów	37
6.6 Zapalenie stawów z towarzyszącym zapaleniem przyczepów ścięgien	38
6.7 Niezróznicowane zapalenie stawów	39
7. Diagnostyka	39
8. Leczenie	40
9. Monitorowanie aktywności choroby	46
II ZAŁOŻENIA PRACY	47

III CELE PRACY	48
IV PACJENCI I METODY	49
V WYNIKI	56
1. Charakterystyka badanych grup.	56
2. Grupa I - pacjenci ze świeżo rozpoznanym MIZS dotychczas nieleczeni.	61
3. Grupa II – pacjenci z MIZS zakwalifikowani do leczenia etanercepsem.	78
VI DYSKUSJA	102
VII WNIOSKI	122
VIII STRESZCZENIE	123
IX SUMMARY	126
X PIŚMIENNICTWO	129

## OBJAŚNIENIA SKRÓTÓW

ACR	American College of Rheumatology
ACTH	hormon adrenokortykotropowy (ang. adrenocorticotropic hormone)
ANA	przeciwciała przeciwjądrowe (ang. antinuclear antibodies)
anty-CCP	przeciwciała przeciwko cyklicznemu cytrulinowanemu peptydowi (ang. anti-cyclic citrullinated protein antibodies)
APRIL	ligand indukujący proliferację (ang. a proliferation inducing ligand)
ARA	Amerykańskie Towarzystwo Reumatologiczne (ang. American Rheumatism Association)
BAFF	czynnik aktywujący limfocyty B (ang. B-cell activating factor)
BLys	czynnik stymulujący limfocyty B (ang. B Lymphocyte Stimulator)
CATK	katepsyna K (ang. cathepsin K)
CHAQ	kwestionariusz oceny stanu funkcjonalnego w MIZS (ang. Childhood Health Assessment Questionnaire)
CMV	wirus cytomegalii (ang. Cytomegalovirus)
CNTF	rzęskowy czynnik neurotropowy (ang. ciliary neurotrophic factor)
CRP	białko C-reaktywne (ang. C-reactive protein)
DAMPs	wzorce molekularne związane z uszkodzeniem tkanek (ang. damage associated molecular pattern molecules)
EBV	wirus Epsteina-Barr (ang. Epstein-Barr Virus)
EDTA-K	wersenian potasu
ELISA	test immunoenzymatyczny (ang. enzyme-linked immunosorbent assay)
EULAR	Europejska Liga do Walki z Reumatyzmem (ang. European League Against Rheumatism)
Fc	fragment krystalizujący (ang. fragment crystallizable)
GKS	glikokortykosteroidy
GM-CSF	czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (ang. granulocyte-macrophage colony-stimulating factor)
HGB	hemoglobina
HLA	antygeny ludzkich leukocytów (ang. human leukocyte antigen)
HSP	białko szoku termicznego (ang. heat shock protein)
Ht	hematokryt
IAS	iniekcje dostawowe steroidów (ang. intraarticular steroids)

IFN- $\beta$	interferon $\beta$
IFN- $\gamma$	interferon $\gamma$
IgG	immunoglobulina G
ILAR	Międzynarodowa Liga Stowarzyszeń Reumatologicznych (ang. International League of Associations for Rheumatology )
IL-1 $\beta$	interleukina 1 $\beta$
IL-1Ra	antagonista receptora dla interleukiny 1 (ang. IL-1 receptor antagonist)
IL-2	interleukina 2
IL-6	interleukina 6
IL-6R	receptor interleukiny 6 (ang. interleukin-6 receptor)
IL-10	interleukina 10
IL-12	interleukina 12
IL-15	interleukina 15
IL-17	interleukina 17
IL-18	interleukina 18
IL-21	interleukina 21
IL-23	interleukina 23
IQR	rozstęp kwartyłowy (ang. interquartile range)
IVIG	dożylny preparat gammaglobulin (ang. intravenous immunoglobulin)
KT	tomografia komputerowa
LIF	czynnik hamujący białaczkę (ang. leukemia inhibiting factor)
LPS	lipopolisacharyd ścian bakteryjnych
LMPCh	leki modyfikujące przebieg choroby
M-CSF	czynnik stymulujący tworzenie kolonii makrofagów (ang. macrophage colony-stimulating factor)
MHC	główny układ zgodności tkankowej (ang. major histocompatibility complex)
mIL-6R	błonowy receptor interleukiny 6 (ang. membrane interleukin-6 receptor)
MIZS	młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów
MPZS	młodzieńcze przewlekłe zapalenie stawów
MRZS	młodzieńcze reumatoidalne zapalenie stawów
MMPs	metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej (ang. matrix metalloproteinases)

MMP-3	metaloproteinaza macierzy zewnątrzkomórkowej-3 (ang. matrix metalloproteinase-3)
MR	rezonans magnetyczny (ang. magnetic resonance)
MTX	metotreksat
NFZ	Narodowy Fundusz Zdrowia
NLPZ	niesterydowe leki przeciwzapalne
OB	odczyn Biernackiego
OBL	osteoblast
OC	osteoklast
OPG	osteoprotegeryna
PAMPs	wzorce molekularne związane z patogenami (ang. pathogen associated molecular patterns)
PLT	płytki krwi
PPAR $\gamma$	receptor aktywowany proliferatorami peroksysomów typu gamma (ang. peroxisome proliferator-activated receptor gamma)
PRINTO	Pediatric Rheumatology International Trials Organisation
PRR	receptory rozpoznające wzorce (ang. pattern recognition receptor)
RANKL	ligand aktywatora receptora jądrowego czynnika $\kappa$ B (ang. receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand)
RBC	krwinki czerwone (ang. red blood cells)
RF	czynnik reumatoidalny (ang. rheumatoid factor)
ROS	reaktywne formy tlenu (ang. reactive oxygen species)
RTG	rentgenografia
RZS	reumatoidalne zapalenie stawów
SAA	osoczowe białko amyloidu A (ang. serum amyloid A)
sIL-6R	rozpuszczalny receptor interleukiny 6 (ang. soluble interleukin-6 receptor)
sTNFR	rozpuszczalny receptor dla czynnika martwicy nowotworów (ang. soluble tumor necrosis factor receptor)
USG	ultrasonografia
TACE	enzym konwertujący TNF- $\alpha$ (ang. TNF-alpha converting enzyme)
TCR	receptor limfocytów T (ang. T-cell receptor)
TGF $\beta$	transformujący czynnik wzrostu $\beta$ (ang. transforming growth factor $\beta$ )
TIMP	tkankowy inhibitor metaloproteinaz (ang. tissue inhibitor of metalloproteinases)

TLR	receptory Toll-podobne (ang. Toll-like receptors)
TNF- $\alpha$	czynnik martwicy nowotworu $\alpha$ (ang. tumor necrosis factor $\alpha$ )
TNFR	receptor dla czynnika martwicy nowotworów (ang. tumor necrosis factor receptor)
TRAP	winianooporna kwaśna fosfataza (ang. tartrate resistant alkaline phosphatase)
VAS	skala wizualno-analogowa (ang. Visual Analogue Scale)
VEGF	czynnik wzrostu śródbłonka naczyniowego (ang. vascular endothelial growth factor)
WBC	białe krwinki (ang. white blood cells)



## SPIS TABEL

Tabela 1. Lista wykluczeń.	13
Tabela 2. Typy kliniczne MIZS.	14
Tabela 3. Dane dotyczące zachorowalności i chorobowości MIZS.	19
Tabela 4. Allele HLA związane z występowaniem różnych podtypów MIZS (w modyfikacji własnej).	20
Tabela 5. Geny nie-HLA związane z podatnością na MIZS (w modyfikacji własnej).	21
Tabela 6. Klasyfikacja MIZS według poprawionych w 2001r. kryteriów ILAR.	33
Tabela 7. Strategie terapeutyczne w MIZS	43
Tabela 8. Granica wykrywalności i precyzja metody oznaczanych cytokin.	51
Tabela 9. Wartości referencyjne morfologii krwi.	52
Tabela 10. Porównanie grupy badanej i grupy kontrolnej.	56
Tabela 11. Rodzinne występowanie chorób reumatycznych grupy badanej.	59
Tabela 12. Odstępy czasowe pomiędzy badaniami kontrolnymi i liczba pacjentów, którzy się im poddali.	61
Tabela 13. Charakterystyka grupy I - pacjenci ze świeżo rozpoznanym MIZS dotychczas nieleczeni.	62
Tabela 14. Charakterystyka pacjentów z najcięższą postacią biochemiczną w grupie I.	65
Tabela 15. Porównanie stężeń cytokin prozapalnych w grupie I w czasie 0 w zależności od obecności dodatkowych czynników klinicznych.	67
Tabela 16. Grupa I – wyniki uzyskane w badaniach kontrolnym (parametry laboratoryjne, stężenie cytokin prozapalnych, wskaźniki aktywności choroby i niepełnosprawności).	69
Tabela 17. Porównanie stężeń cytokin prozapalnych w grupie I w czasie 1 i 2 w zależności od obecności przeciwciał przeciwwądrowych.	76
Tabela 18. Porównanie stężeń cytokin prozapalnych w grupie I w fazie aktywnej i nieaktywnej choroby.	76
Tabela 19. Charakterystyka grupy II - pacjenci, którzy zostali zakwalifikowani do leczenia etanerceptem.	79
Tabela 20. Charakterystyka podgrup nieliczno- i wielostawowej w grupie II w czasie 0.	79

Tabela 21. Charakterystyka pacjentów najcięższą postacią biochemiczną w grupie II.	81
Tabela 22. Porównanie stężeń cytokin prozapalnych w grupie II w czasie 0 w zależności od obecności przeciwciał przeciwjądrowych.	83
Tabela 23. Grupa II – wyniki uzyskane w pierwszym i drugim badaniu kontrolnym.	86
Tabela 24. Charakterystyka podgrup nieliczno- i wielostawowej w grupie II w pierwszym badaniu kontrolnym.	87
Tabela 25. Charakterystyka podgrup nieliczno- i wielostawowej w grupie II w drugim badaniu kontrolnym.	87
Tabela 26. Porównanie stężeń cytokin prozapalnych w grupie II w czasie 1 i 2 w zależności od obecności przeciwciał przeciwjądrowych.	100
Tabela 27. Porównanie stężeń cytokin prozapalnych w grupie II w fazie aktywnej i nieaktywnej choroby.	101

## SPIS RYCIŃ

Rycina 1. Uproszczony schemat patogenezы MIZS (w modyfikacji własnej).	23
Rycina 2. Patogeneza postaci nielicznostawowej / wielostawowej oraz systemowej MIZS.	24
Rycina 3. Niektóre właściwości biologiczne czynnika martwicy nowotworów.	27
Rycina 4. Właściwości biologiczne interleukiny 1.	28
Rycina 5. Właściwości biologiczne interleukiny 6.	30
Rycina 6. Destrukcja chrząstki i kości stawowej w MIZS. Rycina w modyfikacji własnej.	32
Rycina 7. Budowa etanerceptu.	44
Rycina 8. Trójwymiarowa struktura etanerceptu.	45
Rycina 9. Liczba dziewcząt i chłopców w grupach badanych i grupie kontrolnej.	56
Rycina 10. Liczba pacjentów z poszczególnymi postaciami choroby w badanych grupach.	57
Rycina 11. Stawy z aktywnym procesem zapalnym na początku badania.	57
Rycina 12. Obecność przeciwciał przeciwjądrowych w badanych grupach.	58
Rycina 13. Liczba pacjentów w badanych grupach z obciążonym wywiadem rodzinnym.	58
Rycina 14. Porównanie wieku zachorowania w obu grupach poddanych analizie.	59
Rycina 15. Porównanie wieku zachorowania w zależności od płci: bez podziału na grupy (A), w grupie I (B) i w grupie II (C).	60
Rycina 16. Czas od wystąpienia objawów do rozpoznania choroby.	61
Rycina 17. Porównanie wieku (A), wartości OB (B) i stężenia CRP (C) w grupie badanej w zależności od obecności niedokrwistości u obserwowanych pacjentów.	63
Rycina 18. Porównanie stężenia TNF- $\alpha$ (A) i IL-6 (B) między grupą I i grupą kontrolną w chwili włączenia do badania.	66
Rycina 19. Porównanie wartości OB w zależności od czasu, w grupie I.	70
Rycina 20. Porównanie wartości OB pomiędzy grupą I i grupą kontrolną w czasie 1.	70
Rycina 21. Grupa I – porównanie stężeń TNF- $\alpha$ w zależności od czasu.	74

Rycina 22. Grupa I – porównanie stężeń IL-1 $\beta$ w zależności od czasu.	74
Rycina 23. Grupa I – porównanie stężeń IL-6 w zależności od czasu.	75
Rycina 24. Porównanie stężeń TNF- $\alpha$ pomiędzy grupą I i grupą kontrolną w czasie 2.	75
Rycina 25. Grupa I - odpowiedź na leczenie konwencjonalne w pierwszym i drugim badaniu kontrolnym.	77
Rycina 26. Porównanie stężenia TNF- $\alpha$ (A) i IL-6 (B) między grupą II i grupą kontrolną w chwili włączenia do badania.	83
Rycina 27. Porównanie wartości OB w zależności od czasu w grupie II.	88
Rycina 28. Porównanie stężenia CRP w zależności od czasu w grupie II.	89
Rycina 29. Porównanie stężenia WBC w zależności od czasu w grupie II.	91
Rycina 30. Grupa II – porównanie stężeń TNF- $\alpha$ w zależności od czasu.	98
Rycina 31. Grupa II – porównanie stężeń IL-1 $\beta$ w zależności od czasu.	98
Rycina 32. Grupa II – porównanie stężeń IL-6 w zależności od czasu.	99
Rycina 33. Porównanie stężeń TNF- $\alpha$ pomiędzy grupą II i grupą kontrolną w czasie 1 (A) i w czasie 2 (B).	99
Rycina 34. Grupa II - odpowiedź na leczenie biologiczne w pierwszym i drugim badaniu kontrolnym.	102

## I WSTĘP

### 1. Młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów – ogólna charakterystyka choroby.

Młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów (MIZS) jest chorobą autoimmunologiczną i najczęstszą przewlekłą artropatią zapalną wieku rozwojowego, najbardziej okaleczającą narząd ruchu u dzieci.

Według kryteriów przyjętych przez ILAR (International League of Associations for Rheumatology) pojęcie MIZS jest wspólne dla zapalenia stawów rozpoczynającego się przed 16. rokiem życia i trwającego przynajmniej 6 tygodni. Przy ustalaniu rozpoznania należy wykluczyć inne jednostki chorobowe, które przebiegają z zapaleniem stawów lub artropatią. Są one zawarte w tzw. liście wykluczeń (**Tabela 1**) (1). Pomocne są również wyniki badań laboratoryjnych: przyspieszony OB, podwyższone stężenie CRP, C3 i/lub C4, leukocytoza, nadpłytkowość, niedokrwistość, obecność przeciwciał przeciwjądrowych (ANA) oraz czynnika reumatoidalnego (RF).

**Tabela 1.** Lista wykluczeń.

Infekcyjne zapalenie stawów	<ul style="list-style-type: none"><li>▪ bakteryjne (w tym gruźlicze)</li><li>▪ wirusowe</li><li>▪ grzybicze</li><li>▪ wywołane przez <i>Mycoplasma pneumoniae</i></li><li>▪ wywołane przez <i>Borrelia burgdorferi</i></li></ul>
Reaktywne zapalenie stawów	
Alergiczne i toksyczne zapalenia stawów	<ul style="list-style-type: none"><li>▪ reakcje poszczepienne</li><li>▪ reakcje polekowe</li><li>▪ reakcje pokarmowe</li></ul>
Artropatie występujące przy chorobach nowotworowych	<ul style="list-style-type: none"><li>▪ białaczki</li><li>▪ chłoniaki</li><li>▪ guzy lite</li></ul>
Artropatie towarzyszące chorobom krwi	<ul style="list-style-type: none"><li>▪ hemofilia</li><li>▪ niedokrwistość hemolityczna</li></ul>
Zapalenie stawów w przebiegu innych chorób układowych tkanki łącznej	
Artropatie w przebiegu chorób metabolicznych oraz niezapalnych chorób tkanki łącznej	
Artropatie towarzyszące chorobom o podłożu immunologicznym, a nie zaliczanym do układowych chorób zapalnych tkanki łącznej	<ul style="list-style-type: none"><li>▪ sarkoidoza</li><li>▪ rodzinna gorączka śródziemnomorska</li></ul>
Fibromialgia i gościec psychogeny	

Na podstawie objawów klinicznych występujących w pierwszych 6 miesiącach choroby wyróżnia się 7 podtypów MIZS (**Tabela 2**). Każdy z nich charakteryzuje się odmiennym obrazem klinicznym, rokowaniem i najprawdopodobniej etiopatogenezą (2).

**Tabela 2.** Typy kliniczne MIZS.

1. Zapalenie stawów o początku uogólnionym
2. Zapalenie stawów z zajęciem niewielu stawów: <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ przetrwałe</li> <li>▪ rozszerzające się</li> </ul>
3. Zapalenie stawów o początku wielostawowym seropoztywne
4. Zapalenie stawów o początku wielostawowym seronegatywne
5. Łuszczycowe zapalenie stawów
6. Zapalenie stawów z zapaleniem przyczepów ścięgien
7. Inne zapalenia stawów: <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ niespełniające kryteriów żadnego z ww. rozpoznań</li> <li>▪ mające cechy więcej niż jednego z ww. rozpoznań</li> </ul>

Niezależnie od postaci cechą charakterystyczną MIZS jest zajęcie stawów procesem zapalnym, co klinicznie objawia się obrzękiem, bolesnością i ograniczeniem ruchomości. W MIZS proces zapalny prowadzi do znacznego zniszczenia struktur stawowych, dochodzi do zwężenia szpar stawowych, nadżerek na powierzchniach stawowych, zahamowania wzrostu kości, osteoporozy okołostawowej czy zrośnięcia się ze sobą powierzchni stawowych (ankylozy). U wielu pacjentów proces zapalny przybiera formę procesu miejscowego - przy objawach klinicznych zajęcia jednego, dwóch stawów występuje brak podwyższenia lub mierne podwyższenie wykładników laboratoryjnych zapalenia. Istnieje jednak grupa pacjentów, u których od początku obserwuje się uogólnienie i bardzo agresywny przebieg procesu chorobowego. Ponadto MIZS niesie ze sobą ryzyko objęcia procesem zapalnym błony naczyniowej oka (zwłaszcza w postaci nielicznostawowej) oraz występowania zaburzeń rozwojowych (niskorosłość, asymetryczne zaburzenia wzrastania kośćca, niedorozwój żuchwy, które prowadzą do trwałego kalectwa (1).

## 2. Rys historyczny

Przyjmuje się, że pierwszą wzmianką o młodzieńczym idiopatycznym zapaleniu stawów jest opis szczątków dziecka pochowanego między 900 a 1050r. n.e. w Andach peruwiańskich. Przez kolejne ponad czterysta lat trudno doszukiwać się w źródłach naukowych czy sztuce chociażby wzmianki o wystąpieniu zmian stawowych u dzieci. Dopiero „Portret młodzieńca” z 1483r. autorstwa Botticellego dostarcza niezbitego dowodu wielowiekowej historii choroby, której współcześni reumatolodzy dziecięcy poświęcają najwięcej uwagi. Na obrazie doskonale widoczne są obrzęki stawów międzypaliczkowych bliższych i śródczno-palcowych dłoni sportretowanego chłopca (3). Według prof. Eugeniusza Kucharza kierownika Kliniki Chorób Wewnętrznych i Reumatologii Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach również obraz „Śpiący kupidyn” Caravaggio przedstawia dziecko z MIZS (4).

Pierwsza wzmianka o dzieciach ze „sztywnością stawów” pochodzi z około 1545r. z książki „The boke of chylidren” Thomasa Phaera. W rozprawie tej, uznawanej za pierwszy w zachodnim świecie podręcznik do pediatrii, opisał on m.in. pozytywne efekty stosowania ciepła i kąpieli ziołowych, czyli hydroterapii na zmiany stawowe u dzieci (5).

Pierwszy i przez to najczęściej cytowany opis pacjenta z MIZS należy do Victora Cornila i pochodzi z 1854r.. Jego praca przedstawia cztery przypadki, w tym dziecko z przewlekłym zniekształcającym zapaleniem wielostawowym, zmianami w nerkach i cechami zapalenia osierdzia oraz ujawnionymi w badaniu sekcyjnym cechami osteoporozy i zmianami nadżerkowymi stawów (3). Należy przyjąć, że według aktualnej nam nomenklatury jest to najprawdopodobniej opis postaci uogólnionej MIZS powikłanej amyloidozą. Jednak współcześni Cornilowi lekarze i badacze nie widzieli różnic między zapaleniem stawów u dzieci i dorosłych. Alfred Barring Garrod (1819-1907), który w 1859r. jako pierwszy użył określenia „reumatoidalne zapalenie stawów” (RZS), stwierdził na podstawie przypadku pacjenta z początkiem choroby przed 3 rokiem życia, że „RZS może występować w każdym wieku” (1876r.) (3; 6; 7). Zapoczątkowało to pojawienie się wielu opisów przypadków RZS o początku w wieku młodzieńczym. Jedną z ciekawszych i dokładniejszych prac, popartą 112 pozycjami piśmiennictwa autorów francuskich, angielskich i amerykańskich, jest opis pacjenta, który zachorował w wieku 2,5 lat.

Autor doniesienia – brazylijczyk Carlos Arthur Moncorvo Filho (1871-1944) doczekał się nawet przetłumaczenia i opublikowania pracy w języku francuskim w Paryżu w 1880r. (3). O krok dalej poszedł Diamantberger, publikując w kolejnej dekadzie (również w Paryżu) rozprawę naukową dotyczącą zapaleń stawów u dzieci. Jego monografia zawierała opis 38 przypadków choroby (w tym trzech dotyczących jego pacjentów), które posłużyły do zaprezentowania trzech odrębnych typów choroby i zwróciły uwagę na możliwość wystąpienia zmian w narządach wewnętrznych i narządzie wzroku w przebiegu choroby. Diamantberger dość szczegółowo opisywał zaburzenia rozwojowe wynikające z toczącego się długotrwanie stanu zapalnego w obrębie stawów, m.in. niedobór wzrostu i „cofnięcie żuchwy” (retrognatię) (3; 6; 8; 9). Jego publikacja, mimo iż wzbudziła zainteresowanie dużego grona odbiorców francuskojęzycznych, nie zyskała takiej popularności jak przedstawiona 5 lat później, uważana za pionierski - precyzyjny i pewny opis młodzieńczego idiopatycznego zapalenia stawów praca doktorska autorstwa Georga Frederica Stilla (10). Jako pierwszy miał on możliwość obcowania z dużą, jak na owe czasy, bo liczącą 22 dzieci grupą młodocianych pacjentów z różnymi postaciami zapalenia stawów, ponieważ pracował w jedynym wówczas szpitalu dziecięcym w Londynie – Hospital for Sick Children na Great Ormond Street. Still podjął się próby zdefiniowania choroby – według niego młodzieńczym zapaleniem stawów było przewlekłe postępujące powiększenie stawów z towarzyszącym uogólnionym powiększeniem gruczołów i śledziony, które rozpoczęło się u dziecka przed pojawieniem się stałych zębów. W grupie jego pacjentów u 10 dzieci choroba rozwinęła się przed 6 rokiem życia, z czego u ośmiorga obserwowano ją już w pierwszych trzech latach życia. Rozprawa G.F. Stilla opublikowana w 1897r. była unikatowa również z innych powodów. Jako pierwszy odróżnił dziecięcą postać choroby od RZS dorosłych, opisał ostry i przewlekły przebieg oraz podjął się próby klasyfikacji opisanych przypadków na grupy. Obserwacje zawarte w jego pracy i osobistych notatkach dowodzą współistnienia ciężkiego zapalenia wielostawowego z poważnymi objawami narządowymi (gorączka hektyczna, powiększenie wątroby, śledziony i węzłów chłonnych, wysypki polimorficzne), co w dzisiejszej nomenklaturze odpowiada MIZS o początku uogólnionym (do niedawna jeszcze określanemu mianem choroby Still'a) (3; 9; 11; 12).

Ciekawym jest, że George F. Still poza swoją pracą doktorską nie wrócił do zagadnień związanych z młodzieńczym zapaleniem stawów. Nigdy jednak



nie stracił zainteresowania dla chorób wieku dziecięcego – został pierwszym akademickim profesorem pediatrii w King's College w Londynie (12). Niestety podjętej przez niego jako młodego lekarza trudnej tematyce nie poświęcano wiele uwagi aż do lat powojennych. Wyjątek stanowili: Ohm, który w 1910 r. opisał współistniejące z przewlekłym zapaleniem stawów u dzieci zapalenie błony naczyniowej oczu ze „zmętnieniem” taśmowatym oraz H. Wissler (a później G. Fanconi), który w 1943 r. opisał postać przewlekłego zapalenia stawów u dzieci, o obrazie klinicznym podobnym do zespołu Stilla, ale ze słabo wyrażonymi objawami stawowymi, natomiast ze znacznie nasilonymi wysypkami skórными – *subsepsis allergica* (tzw. zespół Wisslera-Fanconiego) (13; 14; 15). Pozostałych lekarzy w pierwszych dekadach XX wieku zdecydowanie bardziej interesowało rozwiązanie problemu występujących znacznie częściej i powodujących więcej zgonów, gorączki reumatycznej czy gruźlicy. Postęp na tym polu dokonał się w stosunkowo krótkim okresie (klasyfikacja paciorkowców, odkrycie penicyliny, szczepionka przeciw gruźlicy, pasteryzacja mleka, swoiste leczenie przeciwgruźlicze) i pozwolił na znaczne ograniczenie liczby zachorowań. Głównie dzięki temu i wprowadzeniu w 1948r. glikokortykosteroidów do leczenia chorób reumatycznych nastąpił powrót do badań nad MIZS. Najbardziej znamienym dowodem na to jest fakt, że w 1956r., w szpitalu Kanadyjskiego Czerwonego Krzyża w Taplow, na oddziale utworzonym zaraz po wojnie specjalnie dla dzieci z reumatyzmem, zamiast pacjentów z gorączką reumatyczną znaleźli się chorzy z przewlekłymi zapaleniami stawów (3). Uznaje się, że tamtejszy zespół pod kierownictwem prof. Erica Bywatersa zapoczątkował wyodrębnienie się reumatologii dziecięcej jako dyscypliny klinicznej i miał znaczący wpływ na jej rozwój przez kolejne lata (16).

W tym miejscu należy wspomnieć o doktor Barbarze Ansell, która wraz z prof. E. Bywatersem, w 1959r. dokonała klasyfikacji młodzieńczych zapaleń stawów na typy w zależności od początku choroby, udowadniając, że różnią się one ze względu na dominujące objawy, przebieg kliniczny i rokowanie (6; 16). Podział dokonany przez dr Ansell został zaadoptowany w 1977r. przez EULAR (European League Against Rheumatism) a w 1979r. przez ACR (American College of Rheumatology), a wcześniej ARA (American Rheumatism Association). Niestety klasyfikacje towarzystw amerykańskiego i europejskiego nie były identyczne, co spowodowało brak jednoznaczności w nomenklaturze, z którym zmagano się aż do roku 1997, kiedy na Światowym Kongresie Reumatologicznym ILAR

w Durbanie przyjęto jednolitą definicję młodzieńczego idiopatycznego zapalenia stawów (1; 6). W 2001r. w Edmonton zrewidowano kryteria rozpoznania choroby i opracowano obowiązujący do tej pory podział na podtypy MIZS (2).

W ciągu ostatnich trzydziestu lat obserwuje się stale wzrastające zainteresowanie coraz częściej występującymi chorobami autoimmunologicznymi, w tym schorzeniami reumatologicznymi. Ma to swoje odzwierciedlenie w postępie, jaki dokonał się w diagnostyce, leczeniu i rehabilitacji pacjentów z chorobami reumatycznymi. Za kamienie milowe reumatologii należy uznać wprowadzenie do leczenia RZS i MIZS leków immunosupresyjnych (głównie metotreksatu) i biologicznych leków antycytokinowych, które w znacznym stopniu pozwalają opanować postęp choroby. Trzeba żywić nadzieję, że dzięki prowadzonym stale badaniom cały czas będziemy obserwowali zmiany na lepsze, np. zastąpienie dotychczasowej terapii (glikokortykosteroidy, leki immunosupresyjne i antycytokinowe) leczeniem przyczynowym, a współczesny obraz pacjenta chorującego na MIZS przejdzie do historii (1; 6).

### **3. Epidemiologia**

Częstość występowania MIZS jest bardzo zróżnicowana. Wynika to między innymi z wieloczynnikowej etiologii choroby i jej heterogennego charakteru oraz braku specyficznych testów diagnostycznych, które pozwalałyby na postawienie rozpoznania w doskonalszy sposób niż obecnie, czyli nie tylko opierając się na kryterium wieku, czasie trwania objawów zapalenia stawów oraz wykluczeniu innych stanów chorobowych przebiegających z artropatią. Istotne znaczenie ma również sposób projektowania oraz metodyka przeprowadzanych badań epidemiologicznych. Większość opublikowanych dotychczas badań dotyczących częstości występowania MIZS była prowadzona w grupach dzieci, które zgłosiły się do lekarza z powodu objawów ze strony układu mięśniowo-szkieletowego, a nie wśród populacji ogólnej (17).

Według P. J. Manners i C. Bower, które w 2002r. opublikowały wyniki prowadzonego przez siebie przeglądu systematycznego danych epidemiologicznych dotyczących MIZS, częstość występowania choroby na świecie waha się od 0,07 do 4,01 na 1000 dzieci, a roczna zapadalność wynosi od 0,008 do 0,226 na 1000 dzieci (17). Nowsze dane dotyczące epidemiologii MIZS w krajach wysoko

rozwinętych mówią o zachorowalności rzędu 2-20 przypadków na 100000 dzieci na rok i chorobowości w granicach 16-150 przypadków na 100000 dzieci rocznie (18). Zestawienie danych dotyczących zachorowalności i chorobowości MIZS, które uzyskano w badaniach prowadzonych w ciągu ostatnich dwudziestu lat przedstawiono w **Tabeli 3**.

**Tabela 3.** Dane dotyczące zachorowalności i chorobowości MIZS.

Kraj	Zachorowalność/100000	Chorobowość/100000	Kryteria rozpoznania	Rok
Wielka Brytania	10,0	brak danych	EULAR	1996 (19)
USA	11,7	86,1	ACR	1996 (20)
Costa Rica	6,8	31,4	EULAR	1998 (21)
Niemcy	6,6	14,8	EULAR	2001 (22)
Finlandia	21,0	brak danych	ILAR	2003 (23)
Czechy	13,0	140,0	ILAR	2003 (24)
Szwecja	14,0	brak danych	ILAR	2003 (23)
Izrael	8,8	brak danych	ACR	2003 (25)
Kanada	4,7	35,0	ACR	2005 (26)
Francja	3,2	19,8	ILAR	2006 (27)
Estonia	21,7	83,7	ILAR	2007 (28; 29)
Norwegia	14,0	brak danych	ILAR	2008 (30)
Hiszpania Katalonia	6,9	39,7	ILAR	2010 (31)

Główne podtypy choroby różnią się między sobą częstością występowania w zależności od płci oraz wieku, w którym pojawiły się pierwsze objawy (18). Postacie o początku nieliczno- i wielostawowym występują 2-3 razy częściej u dziewcząt. Natomiast podtyp choroby o początku systemowym dotyczy w równym stopniu zarówno dziewcząt, jak i chłopców (32). Ten podtyp choroby może wystąpić w każdym wieku – od okresu niemowlęcego do dorosłego. (32) W dwóch pozostałych podtypach obserwuje się większą zapadalność w określonym dla każdego z nich wieku. W postaci nielicznostawowej szczyt zachorowań przypada

między 2 a 4 rokiem życia, natomiast w podtypie wielostawowym między 1 a 4, a następnie między 6 a 12 rokiem życia (postać seropozytywna) (18).

W Polsce brak jest dokładnych badań epidemiologicznych na temat częstości występowania MIZS. Szacuje się, że zapadalność na MIZS w Polsce kształtuje się na poziomie 6-7 zachorowań na 100 000 dzieci (33; 34; 35).

## 4. Etiologia choroby

Etiologia choroby nadal pozostaje nie w pełni wyjaśniona. Najprawdopodobniej nałożenie się czynników genetycznych (obecność określonych antygenów HLA, mutacje w genach kodujących cytokiny, cząsteczki adhezyjne lub białka przekazujące sygnał) oraz środowiskowych doprowadza do przełamania autotolerancji i rozwoju zaburzeń immunologiczno-biochemicznych prowadzących do jawnej klinicznie postaci choroby. Taką patogenezę choroby potwierdzają wyniki badań prowadzonych w ciągu ostatnich 6 lat. Dostarczają one również dowodów na to, że systemowa postać MIZS jest odrębną jednostką chorobową o autozapalnym charakterze (36; 37).

### 4.1. Czynniki genetyczne

Uważa się, że ryzyko rozwoju MIZS jest najbardziej związane z obecnością określonych czynników genetycznych (38; 39; 40; 41), wśród których wymienia się udział genów związanych z układem zgodności tkankowej HLA (**Tabela 4**).

**Tabela 4.** Allele HLA związane z występowaniem różnych podtypów MIZS (w modyfikacji własnej) (38; 39).

Postać choroby	Antygeny HLA związane z ryzykiem rozwoju MIZS	Antygeny ochronne
Systemowa (38; 42)	DRB1*04, DRB1*11, DQA1*05	
Nielicznostawowa (38; 39; 43)	A2, DRB1*11, DPB1*0201, DRB1*08, DQA1*04, DQB1*04	DRB1*04, DRB1*07, DQA1*03
Nielicznostawowa (przetrwała) (39; 44)	DRB1*13,	DRB1*04
Nielicznostawowa (rozszerzająca się) (39; 44)	DRB1*01,	DRB1*04
Wielostawowa (RF+) (38; 44; 45)	DRB1*04, DQA1*03, DQB1*03	DQA1*02
Wielostawowa (RF-) (38; 44; 45)	A2, DRB1*08, DQA1*04, DPB1*03	DRB1*04, DRB1*07
Zapalenie stawów z zapaleniem przyczepów ścięgien. (38; 43)	B27, DRB1*01, DQA1*0101, DQB1*05	
Łuszczycowe zapalenie stawów (38; 45)	DRB1*01, DQA1*0101	DRB1*04, DQA1*03

W wielu doniesieniach wykazano wpływ polimorfizmu genów niezwiązanych z układem HLA, a kodujących m.in. cytokiny, receptory komórkowe limfocytów, cząsteczki kostymulujące i białka sygnałowe indukujące lub hamujące reakcje immunologiczne wpływające na podatność na choroby o podłożu autoimmunologicznym, w tym MIZS (46). W **Tabeli 5** przedstawiono zarówno te, dla których znaleziono potwierdzenie w niezależnych badaniach oraz te, które opisano w pojedynczych doniesieniach.

**Tabela 5.** Geny nie-HLA związane z podatnością na MIZS (w modyfikacji własnej) (38; 39; 41).

Gen	Produkt genu	Postać choroby
<i>TNFA</i> (47; 48; 49)	TNF- $\alpha$	nielicznostawowa wielostawowa
<i>MIF</i> (50; 51; 52)	czynnik hamujący migrację makrofagów	wszystkie
<i>SLC11A1</i> (53; 54)	białko błonowe z ekspresją w lizosomach makrofagów i monocytów	nielicznostawowa wielostawowa
<i>PTPN22</i> (55; 56; 57; 58)	fosfataza tyrozynowa specyficzna dla limfocytów	nielicznostawowa wielostawowa
<i>WISP3</i> (59)	czynnik wzrostu tkanki łącznej	nielicznostawowa rozszerzająca się wielostawowa
<i>VTCN1</i> (58)	białko kostymulujące B7H4	
<i>IL2RA</i> (41; 60)	łańcuch $\alpha$ funkcjonalnego receptora dla IL-2 o dużym powinowactwie	nielicznostawowa przetrwała
<i>STAT4</i> (41; 61)	czynnik transkrypcyjny STAT4	wielostawowa
<i>TNFAIP3</i> (41; 61)	białko 3 indukowane przez TNF- $\alpha$	nieliczno stawowa
<i>TRAF1/C5</i> (41; 62; 63)	czynnik 1 związany z receptorem TNF	wielostawowa
<i>IL6</i> (64)	IL-6	systemowa
rodzina genów dla IL-1 (65; 66; 67; 68): - <i>IL1A</i> , - <i>IL1B</i> - <i>IL1RN</i> - <i>IL1R2</i>	IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , antagonista rec. dla IL-1 receptor dla IL-1, typ 2	nielicznostawowa, systemowa wszystkie nielicznostawowa, systemowa systemowa
<i>IL10</i> (69)	IL-10	systemowa
<i>IL18</i> (70)	IL-18	nielicznostawowa
<i>CCR5<math>\Delta</math>32</i> (71)	receptor dla chemokin	wszystkie

#### 4.2. Czynniki środowiskowe

Nieliczne wyniki badań potwierdzają wpływ czynników środowiskowych na rozwój i przebieg MIZS. W ciągu ostatnich 20 lat przeprowadzono ich stosunkowo

niewiele, a uzyskane wyniki najczęściej nie zostały powtórzone lub potwierdzone w niezależnych badaniach populacyjnych (72).

Do dotychczas zidentyfikowanych czynników środowiskowych mających wpływ na rozwój MIZS u dzieci zalicza się:

- czynniki infekcyjne (parwowirus B19, wirus grypy A, EBV, CMV, wirus Coxackie, *Mycoplasma pneumoniae*, paciorkowce grupy A) (72; 73; 74; 75; 76; 77; 78)
- okołoporodowe (ekspozycja na nikotynę podczas życia płodowego, poród >42 tygodnia ciąży) (79; 80)
- szczepienia (żywa atenuowana szczepionka przeciw różyczce) (81)
- stres (82; 83)

## 5. Patogeneza choroby

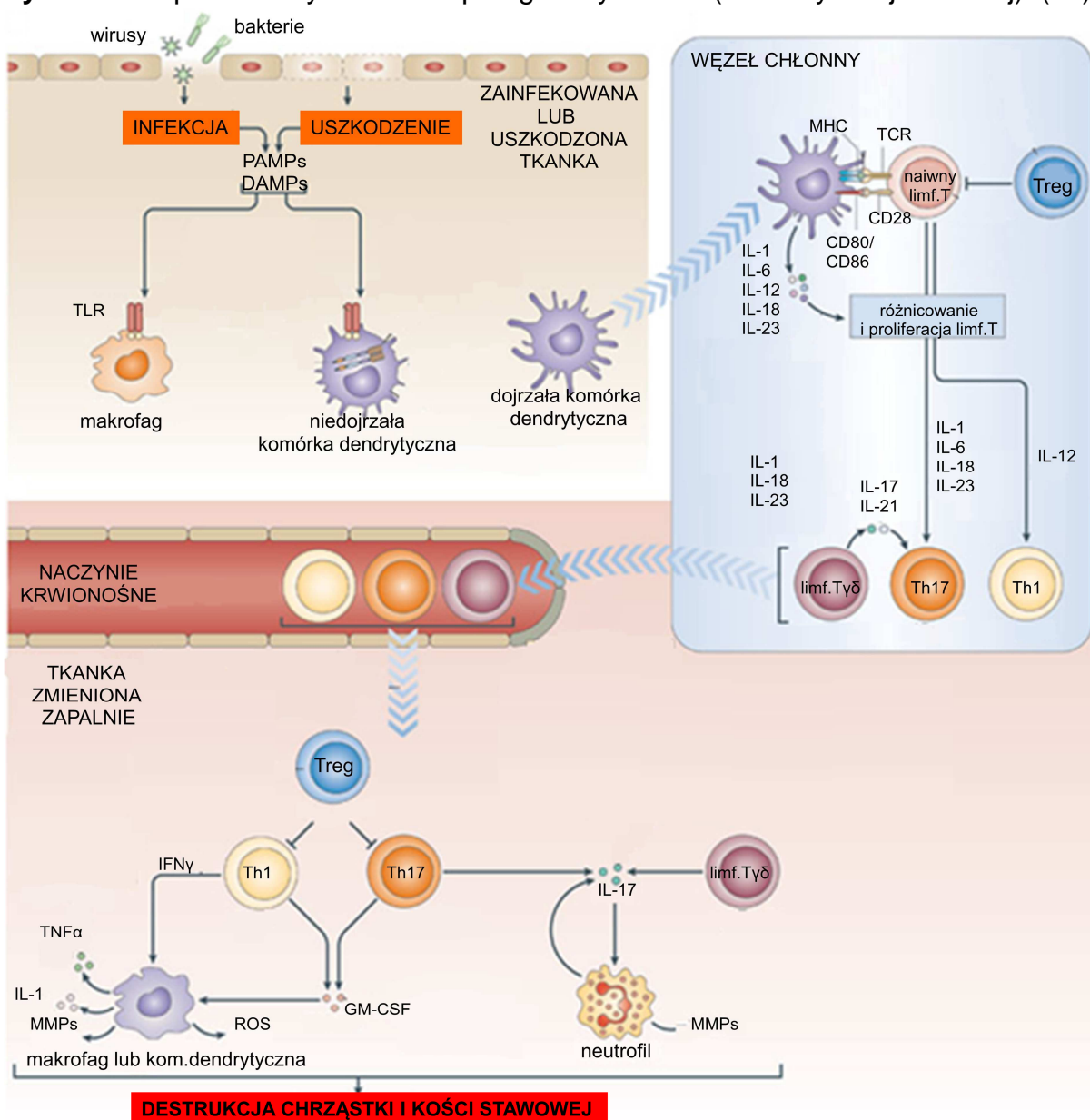
Po zadziałaniu czynników środowiskowych u dzieci z genetycznie uwarunkowaną podatnością dochodzi do aktywacji układu immunologicznego i rozwoju procesu zapalnego w stawach (postać wielostawowa i nielicznostawowa) lub uogólnionego (postać systemowa).

W odpowiedzi na zadziałanie czynnika wyzwalającego (najczęściej antygeny bakterii lub wirusów) uruchamiane są mechanizmy wrodzonej odpowiedzi immunologicznej (**Rycina 1**). Komórki tego układu rozpoznają charakterystyczne struktury patogenów (PAMPs) lub uszkodzonych własnych tkanek (DAMPs), m.in. agrekan, fibrylina, MMP3, białka szoku termicznego czy rodzinę białek S100 (36; 39). Antygeny te są rozpoznawane przy pomocy receptorów PRR, głównie receptorów aktywujących komórki z rodzin TLR, które pełnią szczególną rolę w indukowaniu i ukierunkowywaniu nabytej odpowiedzi immunologicznej. Ponadto PAMPs i DAMPs są rozpoznawane przez przeciwciała naturalne, co powoduje aktywację układu dopełniacza drogą klasyczną (84).

Aktywowane komórki związane z odpornością wrodzoną wytwarzają chemokiny, cytokiny, biorą udział w odpowiedzi zapalnej, a niektóre (komórki dendrytyczne, monocyty/makrofagi) prezentują antygeny limfocytom T, inicjując odpowiedź nabytą. Z kolei limfocyty podtrzymują lub wygaszają czynność komórek zapalnych, odpowiednio przez wytwarzane cytokiny (np. IFN- $\gamma$ , IL-17) lub aktywność supresyjną regulatorowych limfocytów T (Treg) (85).

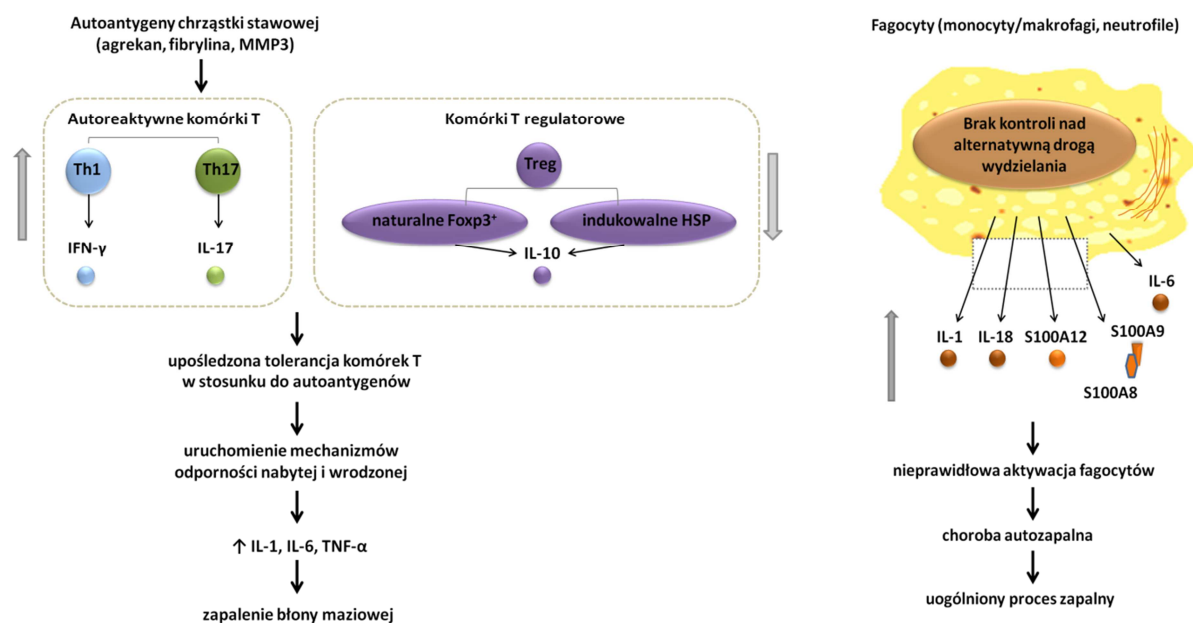
Komórki odporności wrodzonej naciekające błonę maziową otrzymują liczne sygnały, dostarczane m.in. przez składniki dopełniacza, cytokiny, ligandy PRR, bezpośredni kontakt z komórkami aktywowanymi i mikrocząsteczkami, wskutek czego komórki te są utrzymywane w stanie ciągłej aktywacji i w sposób przewlekły wytwarzają różne czynniki prozapalne i enzymy degradujące tkankę łączną. Złożone oddziaływania pomiędzy komórkami odporności wrodzonej i nabytej tworzą „błędne koło” napędzające odpowiedź zapalno-destrukcyjną (86). Taki stan prowadzi do stopniowego i nieodwracalnego zniszczenia struktur stawowych.

**Rycina 1.** Uproszczony schemat patogenezy MIZS (w modyfikacji własnej) (87).



Badania prowadzone w ostatnich latach wykazały znaczące różnice kliniczno-laboratoryjne i immunologiczne pomiędzy postaciami MIZS, co wskazuje, na odrębną patogenezę podtypów choroby (**Rycina 2**) (36; 37; 39; 88; 89).

**Rycina 2.** Patogeneza postaci nielicznostawowej / wielostawowej oraz systemowej MIZS (36).



Postacie o początku nieliczno- i wielostawowym są typowymi przedstawicielami chorób autoimmunologicznych. Dominują w nich nieprawidłowości nabytej odpowiedzi immunologicznej. Autoantygeny chrząstki stawowej aktywują autoreaktywne limfocyty T, w tym Th1 i Th17, produkujące prozapalne IFN-γ i IL-17. Z drugiej strony hamowane są komórki T regulatorowe o działaniu supresyjnym. Nierównowaga między autoreaktywnymi komórkami Th1/Th17 a komórkami T regulatorowymi prowadzi do załamania się tolerancji w stosunku do autoantygenów i w konsekwencji do uruchomienia mechanizmów nabytej odpowiedzi immunologicznej. Wynikiem tych interakcji jest indukcja wydzielania czynników prozapalnych (TNF-α, IL-1, IL-6) i rozwój miejscowego stanu zapalnego (36; 89).

W postaci systemowej MIZS dominują zaburzenia wrodzonej odpowiedzi immunologicznej, w tym nadmierna aktywacja genów związanych z interleukiną 6, receptorami Toll-podobnymi/IL-1R i ze szlakiem przekazywania sygnału z udziałem receptorów aktywowanych proliferatorami peroksosomów typu gamma (PPARγ). Zahamowana jest ekspresja genów komórek NK, limfocytów T oraz procesów biologicznych związanych z układem zgodności tkankowej, w tym prezentacji



antygenów (90). Brak kontroli nad alternatywną drogą wydzielania wewnątrzkomórkowego prowadzi do nadmiernej aktywacji makrofagów, monocytów i neutrofilii, które uwalniają w niekontrolowany sposób białka prozapalne (IL-1, IL-6, IL-18, białko S100) wywołując uogólnioną reakcję zapalną (36; 88). Dodatkowo u chorych na postać systemową MIZS rzadko stwierdza się autoreaktywne limfocyty (90). W związku z powyższymi ten typ choroby zalicza się do chorób autozapalnych.

## **5.1. Cytokiny**

Cytokiny to białka o małym ciężarze cząsteczkowym wydzielane głównie przez komórki układu odpornościowego (limfocyty, monocyty, makrofagi), regulujące różnorodne procesy biologiczne, jak proliferacja, różnicowanie, chemotaksja komórek, czy synteza innych białek. Cytokiny mogą działać na te same komórki, które je wydzielają (działanie autokrynne), na komórki znajdujące się w pobliżu, ale innego typu (działanie parakrynne), a nawet na komórki innych narządów (działanie endokrynne). Większość cytokin wykazuje działanie plejotropowe. W warunkach *in vivo* cytokiny funkcjonują w sieci wzajemnych oddziaływań, charakteryzujących się redundancją, antagonizmem lub synergizmem. Ich wpływ na odpowiedź immunologiczno-zapalną jest wypadkową tych oddziaływań. Obecnie znanych jest ponad 200 cytokin (84).

Badania przeprowadzone w ciągu ostatnich kilkunastu lat potwierdzają kluczową rolę cytokin prozapalnych w rozwoju i podtrzymywaniu procesu chorobowego w MIZS (TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IL-15, IL-18, GM-CSF) (39; 84; 91; 92; 93; 94). Ponadto istnieje swoista hierarchia cytokin pozapalnych - na szczycie uruchamianej kaskady czynników prozapalnych znajduje się czynnik martwicy nowotworów (TNF- $\alpha$ ) (92; 95). Podwyższone stężenia cytokin prozapalnych wykryto zarówno w surowicy krwi, w płynie stawowym jak i błonie maziowej dzieci z MIZS. Udokumentowanie ilościowej dominacji określonych cytokin w MIZS stało się podstawą wprowadzenia do leczenia biologicznych leków antycytokinowych (96; 97).

### **5.1.1. Czynniki martwicy nowotworów**

Do nadrodziny TNF należy ponad 20 cząsteczek, spośród których udział w patogenezie chorób reumatycznych mają: czynniki podtrzymujące

przeżycie limfocytów B (BLyS/BAFF, APRIL), receptory śmierci (Fas/CD95), cząsteczki biorące udział w destrukcji kości (RANKL) oraz TNF- $\alpha$  i limfotoksyny (84).

TNF- $\alpha$  jest homotrimerem wytwarzanym początkowo jako integralne białko błonowe typu II, które pod wpływem działania metaloproteinazy TACE uwalniane jest do środowiska jako forma rozpuszczalna. Jest on wytwarzany przez wiele rodzajów komórek, m.in. makrofagi, monocyty, limfocyty T i B, fibroblasty i neutrofile. Najsilniejszym bodźcem do wytwarzania TNF- $\alpha$  jest lipopolisacharyd ścian bakteryjnych (LPS). Wydzielanie tej cytokiny wzmagają się również w obecności IFN $\gamma$  (98). Działanie TNF- $\alpha$  zachodzi za pośrednictwem dwóch rodzajów receptorów:

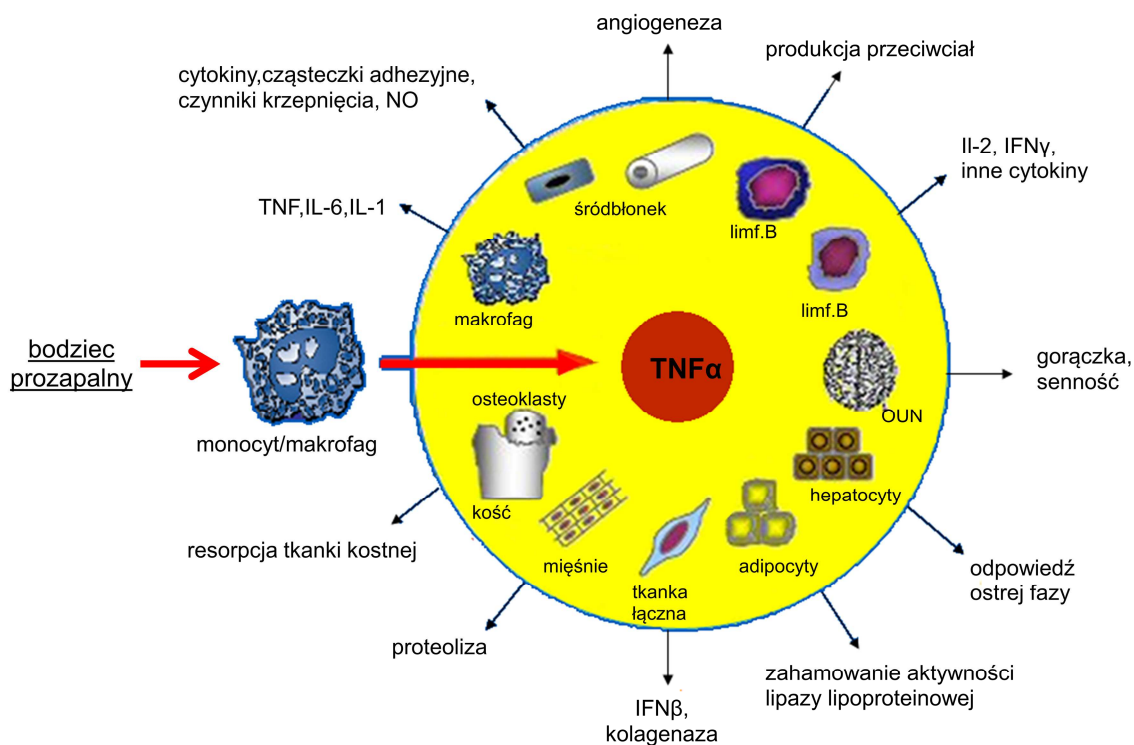
- TNFR1 (CD120 $\alpha$ , p55, p60) – jest charakterystyczny dla większości komórek zawierających jądro; ma podobne powinowactwo zarówno do formy błonowej, jak wydzielniczej TNF- $\alpha$ ;
- TNFR2 (CD120 $\beta$ , p75, p80) – występuje na fibroblastach, komórkach śródbłonna, makrofagach i tymocytach; jest pobudzany przede wszystkim przez formę błonową TNF- $\alpha$ ;

Oba rodzaje receptorów mogą być rozkładane przez TACE i tworzyć tzw. rozpuszczalne formy (sTNFR1, sTNFR2), które są naturalnymi inhibitorami TNF- $\alpha$ . W surowicy krwi stężenie sTNFR1 jest zwykle mniejsze niż sTNFR2 (99).

TNF- $\alpha$  jest cytokiną o działaniu plejotropowym (**Rycina 3**), uczestniczącą w niemal wszystkich zjawiskach składających się na odpowiedź zapalną (inicjuje syntezę chemokin, wzmagają ekspresję cząsteczek adhezyjnych, promuje dojrzewanie komórek dendrytycznych, indukuje produkcję mediatorów zapalenia i innych cytokin prozapalnych (84). Dowiedziono, że TNF- $\alpha$  pobudza syntezę kolagenaz w fibroblastach błony maziowej i chondrocytach chrząstki stawowej oraz aktywuje osteoklasty, prowadząc do uszkodzenia chrząstki stawowej, przerostu maziówki, resorpcji kości i powstawania w nich nadżerek oraz nasila angiogenezę. Ponadto aktywuje monocyty i makrofagi, wzmagając ich cytotoksyczność i pobudzając do produkcji cytokin, chemokin i czynników wzrostu. Jest odpowiedzialny za stymulowanie proliferacji limfocytów T, proliferacji i różnicowania limfocytów B oraz uwalnianie przez nie cytokin pozapalnych. W podwzgórzu TNF- $\alpha$  pobudza syntezę prostaglandyny E i IL-1, co jest przyczyną występowania stanów gorączkowych. Ponadto nasila się

procesy kataboliczne, m.in. w tkance mięśniowej i tłuszczowej, co skutkuje brakiem przyrostu lub spadkiem masy ciała (96; 97; 98).

**Rycina 3.** Niektóre właściwości biologiczne czynnika martwicy nowotworu (98).



### 5.1.2. Interleukina 1β

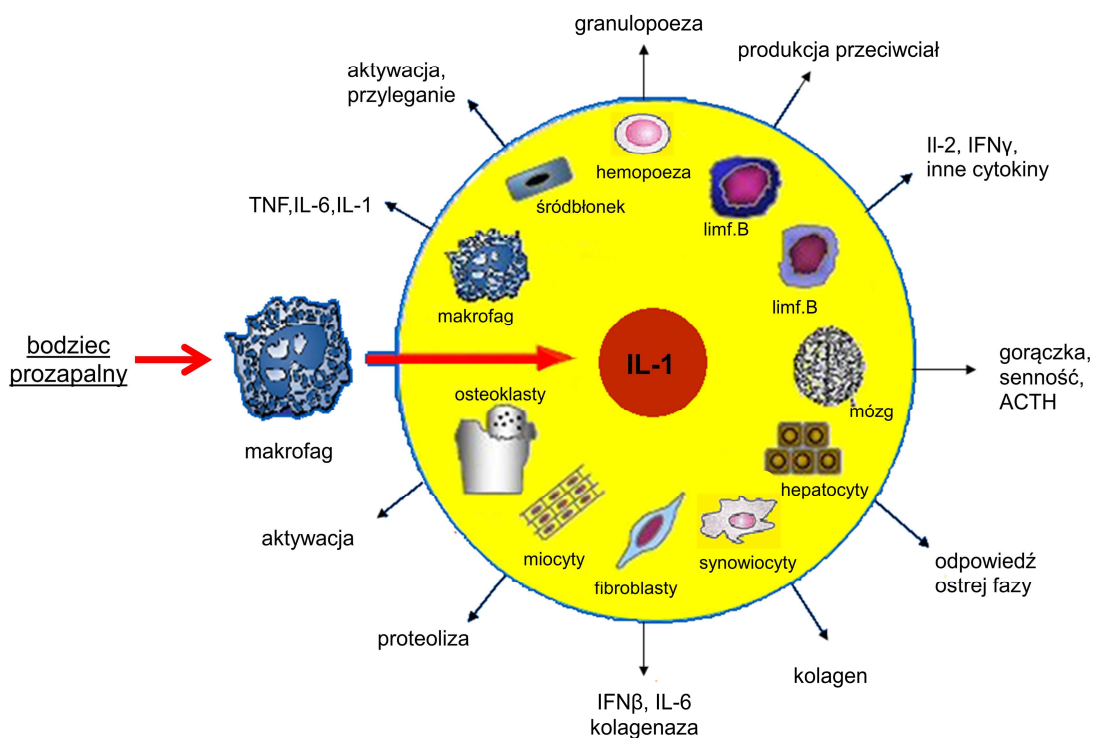
Rodzinę IL-1 tworzy 11 cytokin, spośród których rolę w patogenezie MIZS przypisuje się IL-1β i IL-18. Inny przedstawiciel tej grupy – antagonistą receptora dla IL-1 – wykazuje działanie protekcyjne (85).

IL-1β występuje w formie rozpuszczalnej. Jest wydzielana głównie przez monocyty i makrofagi. Innym ważnym źródłem tej cytokiny są komórki spoza układu immunologicznego, które uczestniczą w odpowiedzi miejscowej (keratynocyty, chondrocyty, komórki Langerhansa, komórki śródbłonna, gleju i mezangium). Głównym czynnikiem indukującym wydzielanie IL-1β jest LPS, a nie mniej ważnym, TNF-α. IL-1β jest produkowana jako propeptyd, a następnie przy pomocy proteazy jest przekształcana w aktywne białko i wydzielana pozakomórkowo. Istnieją dwa typy receptorów dla IL-1:

- IL-1RI, którego pobudzenie wywołuje transdukcję sygnału i działanie zależne od rodzaju komórki podlegającej aktywacji
- IL-1RII – receptor „wabik”, nie przewodzi sygnału.

Cytokina ta oddziałuje na prawie wszystkie typy komórek (**Rycina 4**). W etiopatogenezie i podtrzymywaniu objawów chorobowych główną rolę odgrywa jej zdolność do aktywacji i nasilania chemotaksji makrofagów, neutrofilów i komórek dendrytycznych, stymulowania proliferacji fibroblastów i synowocytów oraz wydzielania przez nie cytokin i kolagenaz, a także aktywowania osteoblastów. Ponadto ułatwia rozwój reakcji zapalnej poprzez wzmaganie uwalniania histaminy przez bazofile, degranulację eozynofiliów oraz wytwarzanie prostaglandyn, a także zwiększenie przepuszczalności śródbłonna (98). Najnowsze badania wskazują, że IL-1 $\beta$  jest cytokiną działającą homeostatycznie na tkankę kostną – podczas przetrwałego zapalenia działa prodestrukcyjnie, zwiększając wytwarzanie i aktywność osteoklastów, ale w warunkach fizjologicznych może zapobiegać niszczeniu tkanki kostnej, hamując wczesne etapy osteoklastogenezy (100). Mimo że IL-1 $\beta$  posiada również zdolność uruchamiania naturalnych mechanizmów immunosupresyjnych (oddziałując na podwzgórze wzmaga wydzielanie kortykoliberyny, co pobudza syntezę ACTH i w efekcie glikokortykosteroidów), to znacznie częściej wpływ jej podwyższonych stężeń na ośrodkowy układ nerwowy ujawnia się w postaci stanów gorączkowych i senności (98; 96; 97).

**Rycina 4.** Właściwości biologiczne interleukiny 1 (98).



### 5.1.3. Interleukina 6

IL-6 należy do rodziny cytokin wykorzystujących receptory zbudowane z dwóch podjednostek: wspólnego dla całej rodziny białka gp130, które przekazuje komórce sygnał aktywacyjny oraz łańcucha  $\alpha$ , wiążącego swoiście daną cytokinę. Oprócz IL-6 tę grupę cytokin tworzą: IL-11, podjednostka p28 interleukiny 27, czynnik hamujący białaczkę (LIF), onkostatyna M, rzęskowy czynnik neurotropowy (CNTF), kardiotropina 1 i neurotrofina 1.

Interleukina 6 jest produkowana przede wszystkim przez monocyty i makrofagi, ale także fibroblasty, chondrocyty, komórki śródbłonka, keratynocyty, limfocyty T i B. Głównym czynnikiem indukującym jej wytwarzanie jest IL-1 oraz interferony i TNF- $\alpha$  (98).

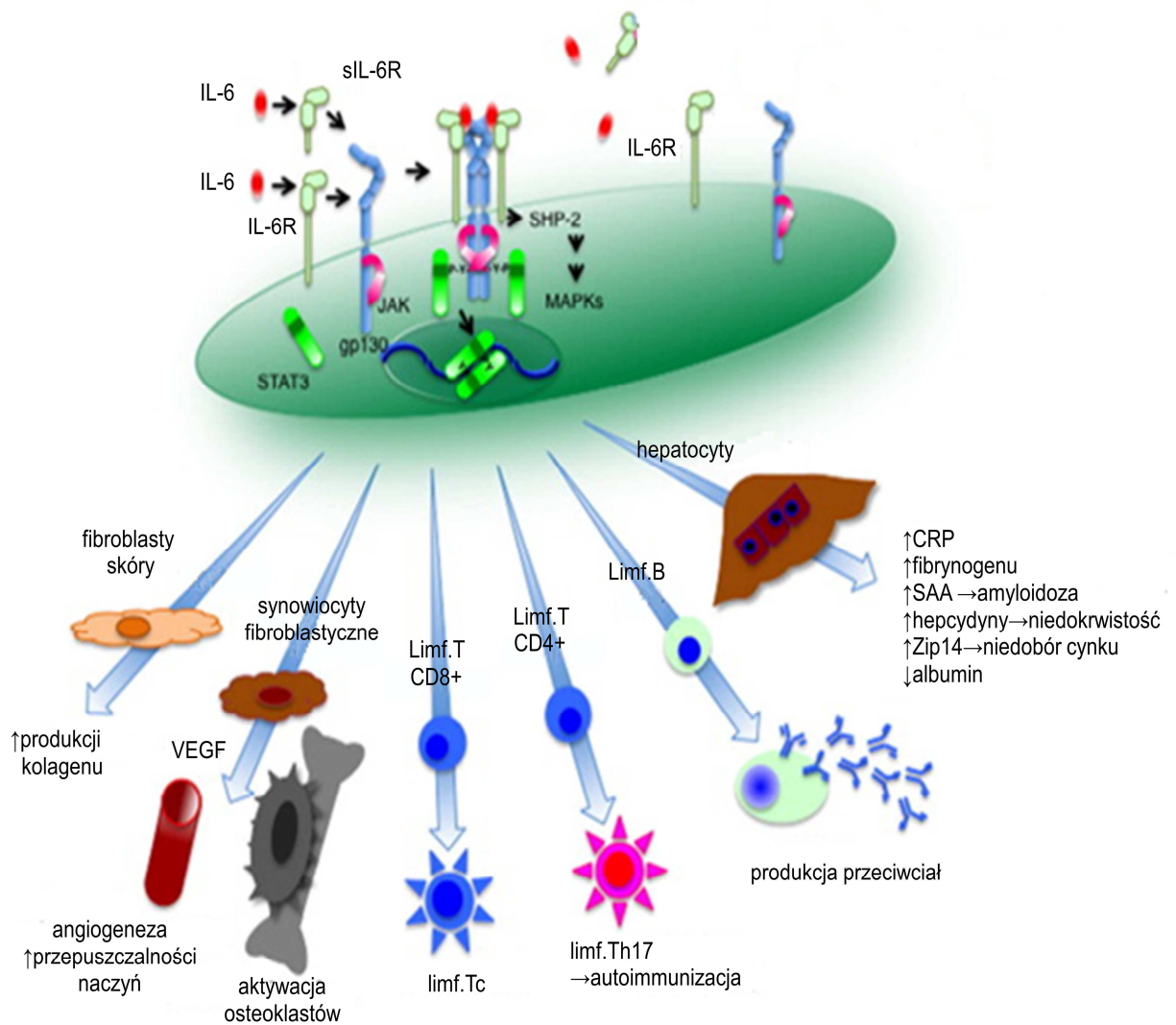
Istnieją dwie formy receptora IL-6:

- błonowa
- rozpuszczalna.

Komórki mające błonową formę IL-6R (mIL-6R) wiążą samą IL-6 i mogą bezpośrednio na nią odpowiadać, ponieważ po utworzeniu kompleksu mIL-6R/IL-6 z błonową formą gp130 sygnał jest przekazywany do wnętrza komórki, która związała tę cytokinę. Rozpuszczalny receptor, odmiennie niż w przypadku innych cytokin, nie neutralizuje IL-6, a kompleksy IL-6/sIL-6R aktywują komórki w taki sam sposób, jak sama IL-6. W takiej sytuacji obecne na powierzchni komórek cząsteczki gp130 wiążą kompleksy IL-6/sIL-6R i przekazują sygnał aktywacyjny, pomimo braku mIL-6R (101).

Aktywność prozapalna tej cytokiny polega na pobudzaniu hepatocytów do produkcji białek ostrej fazy i nasilaniu chemotaksji leukocytów, ponadto w mechanizmie podobnym do działania IL-1 $\beta$  powoduje ona wzrost ciepłoty ciała i występowanie stanów gorączkowych. Dodatkowo interleukina 6 aktywuje komórki śródbłonka, wzmacnia produkcję metaloproteinaz i aktywuje osteoklasty. Jednocześnie cytokina ta w niektórych sytuacjach ma zdolność do hamowania produkcji IL-1 i TNF- $\alpha$  oraz do indukowania syntezy IL-1Ra (**Rycina 5**) (98; 97; 102).

**Rycina 5.** Właściwości biologiczne interleukiny 6 (103).



Wysokie stężenia TNF- $\alpha$  i IL-6 w surowicy krwi stwierdzano głównie w postaciach nieliczno- i wielostawowej, przy czym były one wyższe w postaci wielostawowej (104; 105; 106). U dzieci z postacią wielostawową MIZS opisywano również obniżenie stężenia rozpuszczalnego receptora dla TNF- $\alpha$  i obniżenie wskaźnika sTNFR/TNF $\alpha$  (105). Wyniki badań prowadzonych w ostatnich latach ujawniły szczególną rolę IL-1 $\beta$  w patogenezie postaci systemowej MIZS. Udowodniono, że aktywowane monocyty pobrane od pacjentów z postacią układową wydzielają znacząco wyższe ilości IL-1 $\beta$  w porównaniu do grupy kontrolnej. Zastosowanie rekombinowanego antagonisty receptora IL-1 u tych pacjentów skutkowało ustąpieniem objawów stawowych, normalizacją temperatury ciała i OB oraz poziomu hemoglobiny, leukocytów, płytek krwi po średnio 2 miesiącach leczenia (107). Yokota i wsp. dowiedli, że stężenie IL-6 w surowicy pacjentów z systemową postacią MIZS koreluje z aktywnością choroby oraz ilością zajętych

stawów, a zastosowanie terapii inhibitorem IL-6 (tocilizumabem) w znaczącym stopniu zmniejsza aktywność choroby i poprawia jakość życia dzieci z systemową postacią MIZS (102). Z kolei Prahalad i wsp. w 2008r. dowiedli, że stężenia sCD154, IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  w surowicy krwi mierzone przy pomocy cystometrii przepływowej były znacząco wyższe u wszystkich pacjentów z MIZS (niezależnie od postaci choroby) w porównaniu z grupą kontrolną dzieci zdrowych (108).

Obok wymienionych cytokin istotną rolę w patogenezie młodzieńczego idiopatycznego zapalenia stawów przypisuje się także:

- Interleukinie 17, która ma właściwości prodestrukcyjne – stymuluje produkcję cytokin prozapalnych i metaloproteaz przez komórki nabłonka, śródbłonka i fibroblasty (109); nasila osteoklastogenezę (110);
- Interleukinie 18, której podwyższone stężenia stwierdza się w systemowej postaci MIZS (94).

## **5.2. Procesy destrukcyjne w stawach**

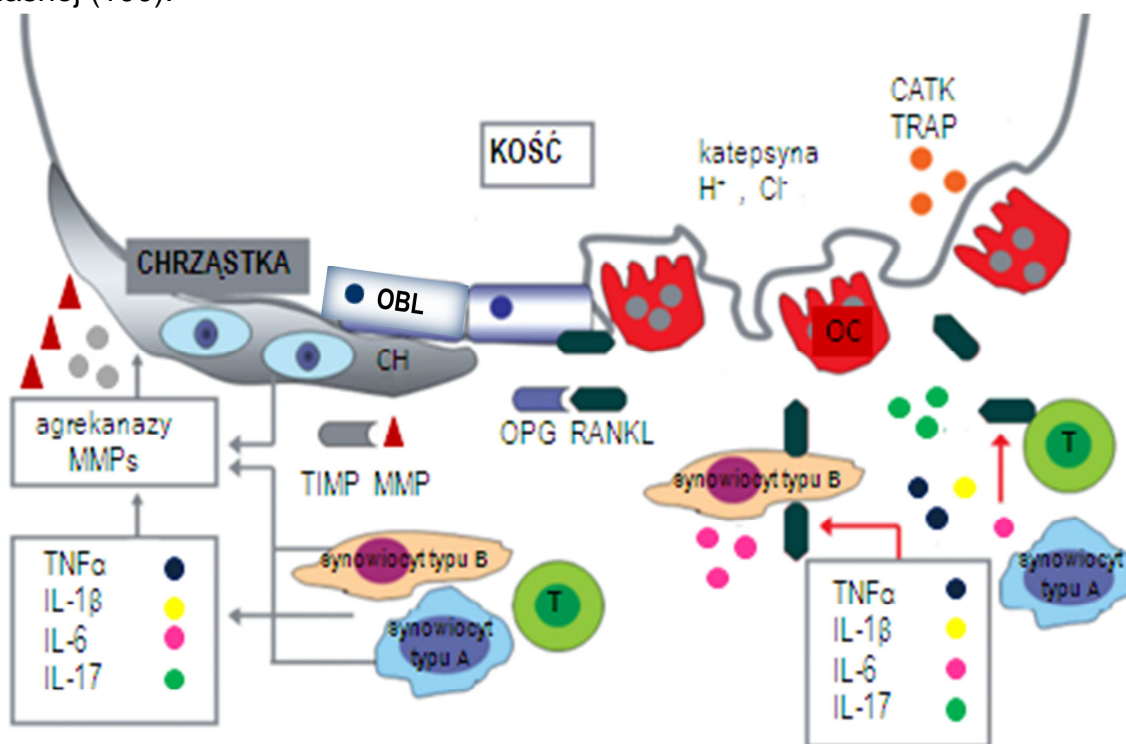
W MIZS, podobnie jak w RZS, destrukcja struktur stawowych ma charakter postępujący i nieodwracalny.

W wyniku procesu zapalnego toczącego się w obrębie stawu dochodzi do infiltracji błony maziowej przez limfocyty, makrofagi, komórki plazmatyczne oraz do proliferacji fibroblastów. Prowadzi to do przerostu błony maziowej, martwicy włóknikowej z wytworzeniem łuszczyki pokrywającej chrząstkę stawową i do jej zniszczenia. Konsekwencją tych zmian jest zwężenie szpar stawowych, pojawienie się nadżerek na strukturach kostnych, zahamowanie wzrostu kości oraz osteoporoza okołostawowa (111).

Cytokiny prozapalne indukują wydzielanie przez synowioocyty i chondrocyty (CH) enzymów degradujących chrząstkę: agrekanaz (IL-1, TGF $\beta$ ) i metaloproteinaz (TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-17). Ze względu na ich ilościową przewagę nad uruchamianymi jednocześnie mechanizmami naprawczymi (m.in. stymulowaną przez IL-6 i TGF $\beta$  syntezę tkankowego inhibitora metaloproteinaz) promowane są procesy destrukcyjne. Za erozję kości odpowiedzialne są osteoklasty różnicujące się z monocytów pod wpływem M-CSF i RANKL. RANKL jest wytwarzany przez aktywowane limfocyty T i synowioocyty pod wpływem IL-1, TNF- $\alpha$  oraz IL-17. Aktywuje osteoklasty (OC) przez swoisty receptor powierzchniowy RANK. Naturalnym inhibitorem RANKL jest

osteoprotegeryna (OPG). W młodzieńczym idiopatycznym zapaleniu stawów jej stężenia są obniżone. Osteoklasty demineralizują kość, wydzielając jony zakwaszające środowisko oraz degradują macierz kostną za pośrednictwem enzymów litycznych (kolagenaza CATK, kwaśna fosfataza TRAP) (**Rycina 6**) (84; 100; 112).

**Rycina 6.** Destrukcja chrząstki i kości stawowej w MIZS. Rycina w modyfikacji własnej (100).



## 6. Klasyfikacja MIZS

Obecnie obowiązuje klasyfikacja ILAR zaproponowana w 1997r. w Durbanie, a następnie zmodyfikowana w 2001r. w Edmonton. Podstawą tej klasyfikacji młodzieńczego idiopatycznego zapalenia stawów są objawy kliniczne występujące w pierwszych 6 miesiącach choroby (liczba zajętych stawów, objawy pozastawowe, obecność czynnika reumatoidalnego). Precyzyjne rozróżnienie poszczególnych podtypów jest możliwe także dzięki określeniu dokładnych kryteriów wykluczenia dla każdego z nich (**Tabela 6**).

**Tabela 6.** Klasyfikacja MIZS według poprawionych w 2001r. kryteriów ILAR (2; 91).



Postać choroby	Definicja
Zapalenie stawów o początku uogólnionym	Gorączka trwająca co najmniej 2 tygodnie (codziennie przez przynajmniej 3 dni) oraz zapalenie $\geq 1$ stawu oraz co najmniej jeden z objawów: <ul style="list-style-type: none"> <li>• zwienne polimorficzne bladoróżowe nieswędzące wysypki (zwykle towarzyszące gorączce)</li> <li>• uogólnione powiększenie węzłów chłonnych,</li> <li>• powiększenie wątroby i/lub śledziony</li> <li>• zapalenie błon surowiczych</li> <li>• kryteria wykluczenia: a, b, c, d</li> </ul>
Zapalenie stawów z zajęciem niewielu stawów	Zapalenie $\leq 4$ stawów w pierwszych 6 miesiącach choroby, a następnie: <ul style="list-style-type: none"> <li>• zapalenie <math>\leq 4</math> stawów – postać przetrwała</li> <li>• zapalenie <math>&gt; 4</math> stawów – postać rozszerzająca się</li> <li>• kryteria wykluczenia: a, b, c, d, e</li> </ul>
Zapalenie wielostawowe seronegatywne (RF-)	Zapalenie $\geq 5$ stawów w pierwszych 6 miesiącach choroby <ul style="list-style-type: none"> <li>• kryteria wykluczenia: a, b, c, d, e</li> </ul>
Zapalenie wielostawowe seropozytywne (RF+)	Zapalenie $\geq 5$ stawów w pierwszych 6 miesiącach choroby oraz RF dodatni co najmniej dwukrotnie w badaniach wykonanych w przeciągu 3 miesięcy <ul style="list-style-type: none"> <li>• kryteria wykluczenia: a, b, c, e</li> </ul>
Łuszczycowe zapalenie stawów	Zapalenie stawów i łuszczyca lub zapalenie stawów oraz co najmniej 2 z następujących objawów: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>dactylitis</i></li> <li>• zmiany łuszczycowe na paznokciach – objaw naporstka</li> <li>• łuszczyca u krewnego I stopnia</li> <li>• kryteria wykluczenia: b, c, d, e</li> </ul>
Zapalenie stawów z zapaleniem przyczepów ścięgien	Zapalenie stawów i zapalenie przyczepów ścięgien lub zapalenie stawów, albo zapalenie przyczepów ścięgien i co najmniej 2 z następujących: <ul style="list-style-type: none"> <li>• bolesność stawów krzyżowo-biodrowych lub ból okolicy lędźwiowo-krzyżowej (aktualnie lub w wywiadzie)</li> <li>• obecność antygenu HLA-B27</li> <li>• początek zapalenia stawów u chłopców <math>&gt;6</math> r.ż.</li> <li>• ostre zapalenie błony naczyniowej oka</li> <li>• zeszywniające zapalenie stawów kręgosłupa, zapalenie stawów z zapaleniem przyczepów ścięgien, zapalenie stawów krzyżowo-biodrowych z zapalną chorobą jelit lub ostre zapalenie naczyń u krewnego I stopnia</li> <li>• kryteria wykluczenie: a, d, e</li> </ul>
Nieźródnicowane zapalenie stawów	Zapalenie stawów, które nie spełnia kryteriów żadnej postaci lub spełnia kryteria $\geq 2$ z powyższych podgrup

- a - łuszczyca lub dodatni wywiad w kierunku łuszczycy u krewnego I stopnia
- b - zapalenie stawów u pacjenta płci męskiej HLA-B27+, które rozpoczęło się po 6 r.ż.
- c - zeszywniające zapalenie stawów kręgosłupa, zapalenie stawów z zapaleniem przyczepów ścięgien, zapalenie stawów krzyżowo-biodrowych z zapalną chorobą jelit lub ostre zapalenie naczyń u krewnego I stopnia
- d - obecność czynnika reumatoidalnego (RF) klasy IgM stwierdzona co najmniej dwukrotnie w odstępie 3 miesięcy
- e - obecność postaci układowej MIZS

### 6.1. Zapalenie stawów o początku uogólnionym

Zapalenie stawów o początku uogólnionym dotyczy 10-20% pacjentów z MIZS (113; 91). Charakteryzuje się ono obecnością heptycznej gorączki trwającej co najmniej 2 tygodnie, zapaleniem  $\geq 1$  stawu oraz objawami wymienionymi w **Tabeli 6**. W tej postaci MIZS najczęściej obserwuje się zmiany w narządach wewnętrznych:

- zapalenie osierdzia i/lub mięśnia sercowego,
- śródmiąższowe zapalenie płuc,
- upośledzenie wydzielania soku żołądkowego,
- zaburzenia funkcji detoksykacyjnej wątroby (113).

W badaniach laboratoryjnych stwierdza się:

- znaczną leukocytozę,
- nadpłytkowość,
- znacznego stopnia niedokrwistość mikrocytarną,
- znaczne podwyższenie wskaźników ostrej fazy (OB, CRP).

MIZS o początku uogólnionym należy różnicować z:

- chorobami infekcyjnymi (w tym z posocznicą),
- chorobami nowotworowymi (białaczki, chłoniaki, *neuroblastoma*, guzy lite),
- innymi układowymi chorobami tkanki łącznej (toczeń rumieniowaty układowy, zapalenie skórno-mięśniowe),
- gorączką reumatyczną,
- różnymi postaciami zapaleń naczyń krwionośnych (m.in. zespołem skórno--śluzówkowo-węzłowym),
- odczynami stawowymi w przebiegu niedoborów immunologicznych,
- rodzinną gorączką śródziemnomorską (91; 114).

Do czynników, które decydują o złym rokowaniu w tej postaci choroby należą: wczesny wiek zachorowania (<6r.ż.), objawy układowe utrzymujące się >6 miesięcy oraz czas trwania choroby >5 lat (91).

Następstwami i powikłaniami młodzieńczego idiopatycznego zapalenia stawów o początku uogólnionym są:

- nawracające infekcje,
- wysokie ryzyko rozwoju amyloidozy,

- zaburzenia rozwojowe (ze szczególnym uwzględnieniem zmian w stawach skroniowo-żuchwowych i biodrowych, niskorosłość),
- kalectwo spowodowane uszkodzeniem narządu ruchu,
- zespół aktywacji makrofaga,
- powikłania leczenia glikokortykosteroidami (m.in. osteoporoza),
- ryzyko śmierci (114).

## **6.2. Zapalenie stawów z zajęciem niewielu stawów (postać nielicznostawowa)**

Postać nielicznostawowa MIZS występuje najczęściej i dotyczy około 50-60% pacjentów. Proces zapalny obejmuje od 1 do 4 stawów. U około 80% pacjentów zajęte są stawy kolanowe (115). W zależności od ilości stawów zajętych po pierwszych 6 miesiącach trwania choroby wyróżnia się dwa podtypy postaci nielicznostawowej:

- przetrwałą – proces zapalny dotyczy  $\leq 4$  stawów,
- rozszerzającą się – zapaleniem objętych jest  $\geq 5$  stawów.

U pacjentów z tym typem MIZS nie obserwuje się cech uogólnienia procesu zapalnego. Wskaźniki zapalne są prawidłowe lub nieznacznie podwyższone. U około 30% pacjentów z tą postacią choroby rozwija się zapalenie błony naczyniowej oka. Szczególnie narażone na wystąpienie tego powikłania są małe dziewczynki z zapaleniem jednego stawu i obecnością przeciwciał przeciwjądrowych (91).

Młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów o początku z zajęciem niewielu stawów należy różnicować z:

- infekcyjnymi zapaleniami stawów (w tym z gruźlicą),
- odczynowymi zapaleniami stawów,
- seronegatywnymi spondyloartropatiami,
- procesami rozrostowymi (białaczki, guzy lite) (91; 114),
- urazem,
- artropatiami towarzyszącymi chorobom krwi (hemofilia),
- sarkoidozą,
- zmianami stawowymi w przebiegu niedoborów immunologicznych (116).

Następtwami i powikłaniami postaci skapostawowej MIZS jest ryzyko niepełnosprawności spowodowanej uszkodzeniem narządu ruchu (m.in. wydłużenie kończyny z powodu przyspieszenia wzrostu kości przez proces zapalny) oraz ryzyko

kalectwa z powodu utrwalonych zmian w narządzie wzroku (zrosty tylne, zaćma, pasmowate zwyrodnienie rogówki, częściowa lub całkowita ślepotą) (1).

### **6.3. Zapalenie wielostawowe seronegatywne (RF-)**

Ten podtyp choroby występuje u 15-25% pacjentów z MIZS (91; 113). Charakteryzuje się zajęciem co najmniej 5 stawów oraz nieobecnością czynnika reumatoidalnego. Dolegliwościom stawowym najczęściej towarzyszą stany podgorączkowe i sztywność poranna. W badaniach laboratoryjnych wskaźniki stanu zapalnego mogą być miernie lub znacznie podwyższone. Wyróżnia się dwa podtypy tej postaci MIZS (37):

- podtyp podobny do nielicznostawowej postaci MIZS:
  - szczyt zachorowań między 2 a 4 r.ż.,
  - początkowo asymetryczne zapalenie >5 stawów,
  - często obecne przeciwciała przeciwjądrowe,
  - podwyższone ryzyko wystąpienia zapalenia błony naczyniowej oka,
- podtyp podobny do seronegatywnego zapalenia wielostawowego / RZS u dorosłych:
  - szczyt zachorowań między 6 a 12 r. ż.,
  - symetryczne zapalenie dużych i małych stawów,
  - nieobecne przeciwciała przeciwjądrowe.

Postać wielostawową seronegatywną młodzieńczego idiopatycznego zapalenia stawów należy różnicować z:

- odczynowymi zapaleniami stawów,
- alergicznymi i toksycznymi zapaleniami stawów,
- seronegatywnymi spondyloartropatiami (młodzieńcze zeszywniające zapalenie stawów kręgosłupa, łuszcycowe zapalenie stawów, zapalenia stawów w przebiegu chorób immunologicznych przewodu pokarmowego) (91; 1),
- mukopolisacharydozami,
- sarkoidozą (111).

Następstwa i powikłania tego typu MIZS to m.in. zaburzenia rozwojowe (ze szczególnym uwzględnieniem zmian w stawach skroniowo-żuchwowych i biodrowych, niskorosłość), kalectwo spowodowane uszkodzeniem narządu ruchu oraz ryzyko rozwoju amyloidozy.

#### **6.4. Zapalenie wielostawowe seropoztywne (RF+)**

Postać seropoztywna MIZS o początku wielostawowym występuje u około 5% pacjentów. Charakteryzuje się zajęciem co najmniej 5 stawów oraz obecnością czynnika reumatoidalnego, stwierdzonego co najmniej dwukrotnie w ciągu minimum 3 miesięcy. Obraz kliniczny tej postaci MIZS najbardziej przypomina reumatoidalne zapalenie stawów u dorosłych (37). Najczęściej zajęte są symetrycznie drobne stawy dłoni i stóp. Może dojść do zajęcia stawów skroniowo-żuchwowych oraz odcinka szyjnego kręgosłupa. Jest to jedyna postać MIZS, w której stwierdzono obecność przeciwciał przeciw cyklicznemu cytrulinowanemu peptydowi (117).

Diagnostyka różnicowa oraz powikłania są takie jak w postaci seronegatywnej zapalenia wielostawowego.

#### **6.5. Łuszczycowe zapalenie stawów**

Najczęściej stan zapalny dotyczy dużych stawów obwodowych, które zajęte są asymetrycznie. U większości pacjentów zapalenie stawów o wiele lat wyprzedza pojawienie się typowych dla łuszczycy zmian skórnych. W takim przypadku rozpoznanie tej postaci MIZS mogą potwierdzić towarzyszące zmianom zapalnym w stawach: *dactylitis* (zapalenie palców), zmiany łuszczycowe na paznokciach (objaw naparstka) lub łuszczycy u krewnego I stopnia (2; 91; 114). Wskaźniki laboratoryjne ostrego procesu zapalnego są zmienne w zależności od aktywności choroby (115).

W rozpoznaniu różnicowym należy uwzględnić:

- grzybicę,
- twardzinę,
- inne postaci MIZS (115).

W niektórych przypadkach (głównie u chłopców) po stosunkowo łagodnym początku przebieg choroby staje się bardzo gwałtowny. Powikłania, które mogą wystąpić to:

- kalectwo spowodowane uszkodzeniem narządu ruchu,
- erythrodermia,
- amyloidoza (114),
- zapalenie aorty,
- zapalenie śródmiąższowe płuc,
- zapalenie kości (115).

## 6.6. Zapalenie stawów z towarzyszącym zapaleniem przyczepów ścięgien

Dotyczy około 10-15% pacjentów z MIZS. Jest to jedyna postać choroby, która częściej występuje u chłopców. Podstawą rozpoznania jest współwystępowanie zapalenia stawów i zapalenie przyczepów ścięgien. W przypadku izolowanego zapalenia stawów lub zapalenia przyczepów ścięgien diagnozę potwierdzają poniższe objawy (co najmniej 2):

- bolesność stawów krzyżowo-biodrowych lub zapalny ból okolicy lędźwiowo-krzyżowej (aktualnie lub w wywiadzie),
- obecność antygeny zgodności tkankowej HLA-B27 (występuje u 30-40% pacjentów z tą postacią (37)),
- początek choroby u chłopców > 6 r.ż.,
- ostre zapalenie błony naczyniowej oka (z bólem i zaczerwienieniem),
- występowanie w rodzinie (krewni I stopnia): zeszywniającego zapalenia stawów kręgosłupa, zapalenia stawów z zapaleniem przyczepów ścięgien, zapalenia stawów krzyżowo-biodrowych z zapalną chorobą jelit lub ostrego zapalenia naczyniówki (2).

Zapalenie stawów w tej postaci dotyczy głównie stawów kończyn dolnych. Typową lokalizacją zmian zapalnych w tej postaci choroby jest przyczep ścięgna Achillesa do guza kości piętowej lub rozciągno podeszwowe. Niekiedy obserwuje się zapalenie stawu mostkowo-obojczykowego lub śródstopno-paliczkowego I (91). Wskaźniki laboratoryjne ostrego procesu zapalnego zależą od aktywności choroby.

Tę postać choroby należy różnicować z:

- jałową martwicą kości,
- dyskopatią,
- nowotworem (115).

Tej postaci choroby towarzyszy ryzyko wystąpienia kalectwa z powodu utrwalonych zmian w narządzie wzroku, rozwoju zeszywniającego zapalenia stawów kręgosłupa lub rozwoju spondyloartropatii (91; 113). Powikłaniem choroby może być zapalenie aorty z rozwojem wady zastawki mitralnej i amyloidoza (115).

## 6.7. Niezróznicowane zapalenie stawów

Ta kategoria została wyodrębniona dla grupy pacjentów z MIZS, którzy nie spełniają kryteriów rozpoznania żadnej z wymienionych wcześniej postaci lub spełniają kryteria  $\geq 2$  z powyższych podgrup.

## 7. Diagnostyka

Do tej pory nie zidentyfikowano w pełni swoistego markera dla MIZS. W celu ustalenia rozpoznania wykonuje się badania oceniające aktywność procesu zapalnego, obecność i zaawansowanie ewentualnych zmian narządowych, obecność markerów immunologicznych (przeciwciała przeciwjądrowe, RF, anty-CCP) oraz miejscowe zaawansowanie choroby (RTG lub USG zajętych stawów) (91). Ponadto zgodnie z obowiązującą definicją choroby warunkiem koniecznym postawienia diagnozy jest wykluczenie innych przyczyn obserwowanych objawów. W tym celu niezbędne jest wykonanie badań mikrobiologicznych krwi, moczu, kału i płynu stawowego oraz poszukiwanie serologicznych markerów zakażeń. Dla wykluczenia procesu rozrostowego wykonuje się biopsję szpiku kostnego z oceną mielogramu i immunofenotypu lub pobranie węzła chłonного do badania histopatologicznego. Istotne jest różnicowanie z układowymi chorobami tkanki łącznej, dlatego oznacza się obecność przeciwciał przeciwjądrowych i ich swoistość, aktywność enzymów mięśniowych oraz odporność humoralną i komórkową. Wykonywane we wszystkich postaciach choroby badanie USG zajętych stawów informuje nas o przeroście i przekrwieniu błony maziowej, obecności nadmiernej ilości płynu stawowego oraz o wyglądzie struktur stawowych. Badanie ultrasonograficzne jest szczególnie przydatne we wczesnym okresie choroby, ponieważ zmiany radiologiczne w stawach u dzieci pojawiają się później niż u dorosłych z RZS. Najwcześniej w badaniach radiologicznych można zaobserwować osteoporozę okołostawową czy nawarstwienia okostnowe. Stosunkowo późno pojawiają się geody i nadżerki, a po kilku latach trwania choroby – zmiany zwyrodnieniowe (91; 116). Przy obecności wysięków w stawach konieczna jest kompleksowa ocena płynu stawowego, a w niektórych przypadkach biopsja błony maziowej. Badania potwierdzające zmiany narządowe nie odbiegają od tych wykonywanych u dorosłych. Oprócz badań podstawowych obejmują one:

- stężenia immunoglobulin G, M, A,

- USG narządów wewnętrznych, biopsja narządowa, KT, MR - w zależności od wskazań klinicznych,
- konsultacje innych specjalistów - w zależności od wskazań klinicznych,
- ocenę proteinurii dobowej i selektywności białkomoczu stwierdzanego badaniem rutynowym, ocenę wydolności nerek oraz biopsję dziąsła, śluzówki odbytu lub tkanki tłuszczowej podskórnej - przy podejrzeniu amyloidozy,
- badanie echokardiograficzne - przy objawach klinicznych zajęcia serca
- regularne badanie okulistyczne,
- ocenę densytometryczną gęstości mineralnej kości - przy przewlekłej glikokortykosteroidoterapii (113; 114).

## 8. Leczenie

Leczenie dziecka chorego na MIZS musi być kompleksowe i wieloletnie. Powinno uwzględniać współpracę różnych specjalistów: reumatologa dziecięcego, radiologa, ortopedy, okulisty, rehabilitanta, endokrynologa i psychologa. Ze względu na dużą różnorodność przebiegu choroby plan postępowania terapeutycznego dostosowuje się indywidualnie do potrzeb pacjenta. Według aktualnie obowiązujących wytycznych strategia postępowania musi uwzględniać postać choroby, aktualną aktywność procesu zapalnego, rozległość i charakter zmian w narządzie ruchu oraz ewentualne zajęcie narządów wewnętrznych lub narządu wzroku.

Celem leczenia jest zmniejszenie aktywności zapalnej, zachowanie fizycznej i psychicznej sprawności dziecka oraz zapobieganie odległym następstwom choroby (91). Leczenie obejmuje:

- farmakoterapię,
- leczenie chirurgiczne (synowektomia artroskopowa, tenosynowektomia, tenotomia, kapsulotomia, zabiegi korekcyjno-rekonstrukcyjne),
- leczenie usprawniające (kinezyterapia, fizykoterapia, terapia zajęciowa),
- psychoterapię.

Leczenie farmakologiczne obejmuje:

- leczenie ogólne:
  - leki modyfikujące objawy choroby (NLPZ oraz glikokortykosteroidy),
  - leki modyfikujące przebieg choroby (LMPCh),



- leki biologiczne
- leczenie miejscowe:
  - wstrzyknięcia dostawowe i okołostawowe (glikokortykosteroidy o przedłużonym działaniu),
  - synowektomia (chemiczna, izotopowa) (118).

We wczesnym okresie choroby, gdy rozpoznanie nie jest jeszcze ustalone, stosuje się niesterydowe leki przeciwzapalne. NLPZ stosuje się także jako leki objawowe przy zmniejszaniu dawki glikokortykosteroidów.

W przypadku chorych z objawami uogólnienia lub przy dużej aktywności procesu zapalnego (stany gorączkowe, duże dolegliwości bólowe, nasilone cechy zapalenia stawów) oraz u pacjentów z umiarkowanym zapaleniem stawów, któremu towarzyszy postępujące zapalenie błony naczyniowej oka, stosuje się ogólne leczenie glikokortykosteroidami. GKS stosuje się w skojarzeniu z lekami modyfikującymi przebieg choroby. Glikokortykosteroidy na początku choroby stosuje się najczęściej dożylnie (metyloprednizolon w dawce 1-3 mg/kg m.c./dobę) w dawkach podzielonych, stopniowo zmniejszając dawki i kontynuując leczenie preparatem doustnym (prednizon, metyloprednizolon). Doustna dawka nie przekracza 1 mg/kg m.c./dobę i jest stopniowo redukowana w zależności od reakcji pacjenta na leczenie. U dzieci z postacią układową MIZS, z burzliwym przebiegiem, stosuje się również dożylnie tzw. „pulsy” metyloprednizolonu (20–30 mg/kg m.c./dobę, maksymalnie 1000 mg/dawkę) przez 3–6 dni.

Leki modyfikujące przebieg choroby, jako podstawowe leki w leczeniu MIZS powinny być zastosowane jak najwcześniej. Obecnie jako 1-rzutowy LMPCh stosuje się metotreksat (MTX). Jest on antymetabolitem hamującym reduktazę dihydrofolianową oraz inne enzymy, przez co zmniejsza produkcję nukleotydów purynowych i tymidylanu niezbędnych do syntezy DNA i podziałów komórek (119). Podaje się go doustnie lub podskórną jeden raz w tygodniu w dawce 10–20 mg/m<sup>2</sup> pow. ciała (maks. 25 mg/m<sup>2</sup> pow. ciała). Lek ten zmniejsza objawy kliniczne choroby i opóźnia postęp zmian radiologicznych, a czas odpowiedzi na leczenie wynosi 4-8 tygodni. Skuteczność i długotrwałe bezpieczeństwo stosowania MTX potwierdzono w wielu wiarygodnych badaniach (119). W celu zminimalizowania ryzyka nawrotu choroby leczenie metotreksatem należy kontynuować przez co najmniej 6-12 miesięcy od chwili osiągnięcia remisji. Mimo braku wiarygodnych danych naukowych w trakcie terapii MTX zaleca się

przyjmowanie kwasu foliowego w celu zmniejszenia dolegliwości ze strony przewodu pokarmowego (119).

Innymi LMPCh stosowanymi w MIZS są:

- cyklosporyna A (CsA) (2,5-5 mg/kg m.c. w dwóch dawkach podzielonych) – w skojarzeniu z metotreksatem w postaci sytemowej lub wielostawowej; w zapaleniu błony naczyniowej oka o dużej aktywności,
- sulfasalazyna (SSA) (20–30 mg/kg m.c./dobę) - we wczesnych postaciach MIZS przy umiarkowanej aktywności choroby lub w skojarzeniu z metotreksatem w aktywnej postaci wielostawowej,
- azatioprynę (AZT) (1–2 mg/kg m.c./dobę) – obecnie stosowana rzadko,
- hydroksychlorochina/chlorochina (6 mg/4mg na kg m.c./dobę) - stosuje się przy niewielkiej aktywności choroby lub w okresie remisji
- cyklofosamid – przy powikłaniu zapaleniem naczyń
- chlorambucil – (2–4 mg/dobę [lub 0,12 mg/kg m.c./dobę]) przy podejrzeniu lub histopatologicznym potwierdzeniu amyloidozy (33; 91; 114).

Wymienione leki (LMPCh, NLPZ i glikokortykosteroidy) są skuteczne w działaniu przeciwzapalnym oraz hamują destrukcję stawów (LMPCh), ale nie jest to leczenie przyczynowe.

W przypadku nieskuteczności leczenia standardowego stosuje się tzw. leki biologiczne. Działają one na cytokiny lub regulują funkcję limfocytów T lub B. W przypadku MIZS podstawą terapii biologicznej są leki blokujące działanie TNF- $\alpha$ , czyli nadrzędnej cytokiny prozapalnej odpowiedzialnej za inicjację i podtrzymywanie procesu zapalnego oraz za powstawanie większości zmian patologicznych w stawach, tkankach stawowych i skórze pacjentów z MIZS. Leki biologiczne, mimo że nie likwidują przyczyny choroby, to jednak działają na początkowe fazy kaskady procesu zapalnego. W związku z tym wydaje się, że ten rodzaj terapii mógłby być skuteczny we wczesnym etapie choroby. Leki antycytokinowe mogą być stosowane w monoterapii lub w połączeniu z dotychczas podawanymi lekami (33). Strategie terapeutyczne stosowane w MIZS przedstawiono w **Tabeli 7**.

**Tabela 7.** Strategie terapeutyczne w MIZS (115).

Postać choroby	leki pierwszego rzutu	ciężki lub nawrotowy przebieg
nielicznostawowa przetrwała	IAS +/- NLPZ, można powtarzać IAS 4 razy w roku	MTX, możliwa konieczność anti-TNF przy czynnikach złej prognozy
nielicznostawowa rozszerzająca się	jak w wielostawowej	
wielostawowa	MTX, +/- IAS, +/- NLPZ	anti-TNF, możliwa konieczność zastosowania innego LMPCh (SSA, CsA, AZT), +/- IAS, +/- prednizon
układowa z dominującymi objawami narządowymi	anti-IL-1*, anti-IL-6, MTX, prednizon, IVIG, CsA	CsA, talidomid*, przeszczep komórek macierzystych szpiku
układowa z dominującymi objawami stawowymi	postępowanie jak w postaci wielo- lub nielicznostawowej w zależności od liczby zajętych stawów	analogicznie jak w przypadku postaci wielostawowej
z towarzyszącym <i>enthesitis</i>	IAS i NLPZ	MTX lub SSA, możliwa konieczność anti-TNF
łuszczycowe zapalenie stawów	MTX, NLPZ, IAS	anti-TNF
wszystkie	chlorochina lub hydroksychlorochina – możliwość zastosowania w monoterapii lub w leczeniu skojarzonym	
wszystkie	przeszczep komórek macierzystych szpiku – w każdej postaci choroby przy braku skuteczności skojarzonego leczenia, w sytuacji zagrożenia życia	
w przypadku obecności czynników złej prognozy należy rozważyć intensyfikację leczenia we wczesnym okresie choroby		

IAS – iniekcje dostawowe steroidów, IVIG – preparat gammaglobulin i.v.,

\* Lek niezarejestrowany w Polsce

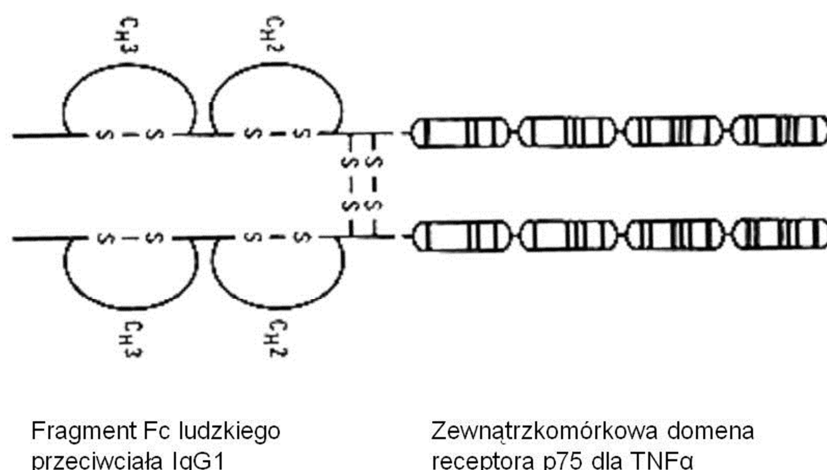
W Polsce obecnie są zarejestrowane dwa leki blokujące działanie TNF- $\alpha$ : etanercept i adalimumab. Leczenie tymi lekami odbywa się w ramach programu terapeutycznego finansowanego przez NFZ. W Polsce etanercept jest zarejestrowany do leczenia pacjentów od 2 roku życia, natomiast NFZ refunduje go dopiero u chorych > 4 roku życia. Z kolei adalimumab jest zarejestrowany w Polsce do leczenia pacjentów od 4 roku życia, a NFZ finansuje leczenie nim u dzieci od 13 roku życia. Do programu kwalifikuje się pacjentów z MIZS, którzy muszą spełniać wszystkie poniższe kryteria:

- co najmniej 5 obrzękniętych stawów i co najmniej 3 stawy o ograniczonej ruchomości, z towarzyszącym bólem, tkliwością lub obiema tymi cechami,
- niepowodzenie w terapii co najmniej dwoma tradycyjnymi lekami modyfikującymi przebieg choroby przez okres co najmniej 3 miesięcy każdym, (w tym terapii maksymalnymi dawkami metotreksatu),

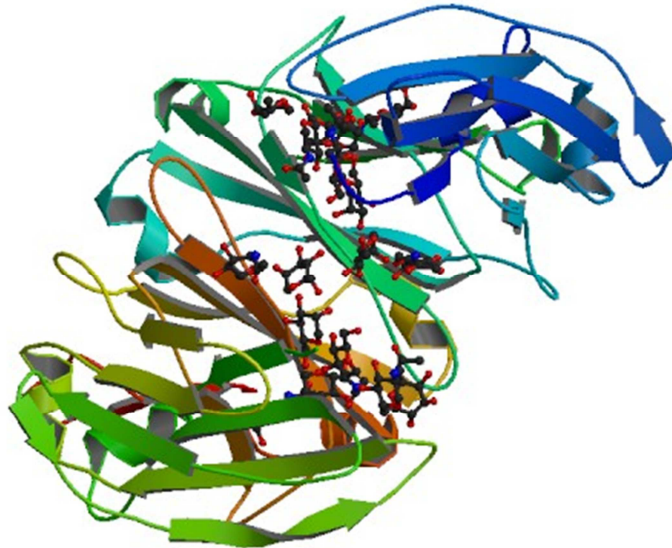
- agresywny przebieg choroby,
- aktywne zapalenie błony naczyniowej oka,
- postać uogólniona choroby,
- postać nielicznostawowa rozszerzającą się i przetrwała ponad 6 miesięcy mimo leczenia metotreksatem,
- w innych uzasadnionych przypadkach po uzyskaniu zgody Zespołu Koordynacyjnego do Spraw Leczenia Biologicznego w Chorobach Reumatycznych (120).

**ETANERCEPT** jest to rozpuszczalne białko fuzyjne, dimer chimerycznego białka wyprodukowanego metodą inżynierii genetycznej poprzez połączenie zewnątrzkomórkowego liganda wiążącego domenę receptora-2 ludzkiego czynnika martwicy nowotworów (TNFR2/p75) z domeną Fc ludzkiej IgG1 (**Rycina 7**, **Rycina 8**). Lek blokuje dwa z trzech miejsc wiążących na cząsteczce TNF- $\alpha$ , przez co uniemożliwia jego wiązanie się z receptorami związanymi z błoną komórkową. Etanercept może także modulować odpowiedzi biologiczne kontrolowane przez inne cząsteczki (np. cytokiny, cząsteczki adhezyjne lub proteiny). Jego skuteczność i bezpieczeństwo potwierdzono w wielu badaniach (121; 122; 123; 124; 125; 126). Etanercept podaje się podskórnie w dawce 0,4 mg/kg m.c. (maks.25 mg) dwa razy w tygodniu (120).

**Rycina 7.** Budowa etanerceptu (127).



**Rycina 8.** Trójwymiarowa struktura etanerceptu (128).



**ADALIMUMAB** jest w pełni humanizowanym monoklonalnym przeciwciałem wiążącym rozpuszczalną podjednostkę i fragment błonowy prekursora TNF- $\alpha$ . Adalimumab wpływa również na odpowiedź biologiczną wywołowaną lub regulowaną przez TNF- $\alpha$ , w tym zmiany stężenia cząsteczek adhezji międzykomórkowej odpowiedzialnych za migrację leukocytów (ELAM-1, VCAM-1 ICAM-1). U chorych na RZS po leczeniu adalimumabem występuje szybkie zmniejszenie stężenia czynników ostrej fazy zapalenia (białko C-reaktywne, OB), cytokin (IL-6) oraz metaloproteinaz macierzy (MMP-1, MMP-3). Zwykle występuje również poprawa parametrów hematologicznych przewlekłego procesu zapalnego (120). Zalecana dawka adalimumabu dla pacjentów z wielostawowym młodzieńczym idiopatycznym zapaleniem stawów w wieku od 4 do 12 lat wynosi 24 mg/m<sup>2</sup> powierzchni ciała, do maksymalnej pojedynczej dawki 40 mg adalimumabu podawanego co drugi tydzień we wstrzyknięciu podskórnym (129).

W kwietniu 2011r. ukazały się nowe rekomendacje ACR leczenia MIZS. W Polsce trwają prace nad zaadaptowaniem ich do stosowania u pacjentów z MIZS. Nowe rekomendacje zmieniają sposób podejścia do leczenia choroby, uzależniając go od aktywności choroby i wskaźników złej prognozy. W oparciu o te kryteria zaproponowano algorytm leczenia oraz w zależności od odpowiedzi pacjenta na leczenie modyfikujące przebieg choroby wskazania do zastosowania leków biologicznych. Ten sposób postępowania umożliwia intensyfikację leczenia, w tym również zastosowanie leczenia biologicznego, niezależnie od typu początku MIZS. Anakinra, która jest wymieniana w rekomendacjach ACR, w Polsce nie jest zarejestrowana dla dzieci. (130)

**ANAKINRA** to rekombinowany, nieglikozylowany homolog antagonisty ludzkiego receptora IL-1, który hamuje działanie IL-1 poprzez kompetycyjne wiązanie się z jej receptorem. Doniesienia nad zastosowaniem anakinry pochodzą z wielu ośrodków, ale doświadczenie z tym lekiem opiera się dotychczas na nielicznych grupach pacjentów. Wielu autorów opisuje pozytywny wpływ leku w MIZS o początku uogólnionym (ustąpienie objawów ogólnych i/lub zapalenia stawów, zmniejszenie aktywności choroby według wskaźnika ACR Pediatric 30 lub 50, zmniejszenie dawki stosowanych glikokortykosteroidów) (107; 131; 132; 133).

**TOCILIZUMAB** to rekombinowane humanizowane przeciwciało monoklonalne hamujące biologiczne działanie IL-6, które wiąże się swoiście zarówno z błonowym, jak i rozpuszczalnym receptorem IL-6. Tocilizumab jest wskazany w leczeniu aktywnego MIZS o początku uogólnionym u pacjentów w wieku co najmniej 2 lat, u których stwierdzono niewystarczającą odpowiedź na leczenie niesteroidowymi lekami przeciwzapalnymi i kortykosteroidami systemowymi. Lek może być podawany w monoterapii (w przypadku nietolerancji MTX oraz u pacjentów, u których leczenie MTX nie jest wskazane) lub w skojarzeniu z MTX. Dużą skuteczność leku w terapii postaci układowej MIZS udowodniono w wielu badaniach. (134; 135; 136; 137)

## 9. Monitorowanie aktywności choroby

Na pełne monitorowanie aktywności MIZS składa się:

- monitorowanie stanu zdrowia dziecka (ból, sprawność czynnościowa) – kwestionariusz CHAQ,
- ocena uszkodzenia stawowego i pozastawowego – wskaźnik JADI-A i JADI-E,
- monitorowanie stopnia uszkodzenia w stawach – punktacja Poznańskiego w RTG,
- monitorowanie uszkodzenia w tkankach około- i pozastawowych – USG, MRI, badanie okulistyczne,
- monitorowanie aktywności choroby – wskaźniki Gianniniego, JADAS-71, JADAS-27, JADAS-10,
- monitorowanie parametrów rozwoju fizycznego oraz gęstości mineralnej kości – tabelaryczne normy percentylowe i densytometria (115; 138).

## II ZAŁOŻENIA PRACY

Młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów jest najczęstszą przewlekłą artropatią wieku rozwojowego. Ze względu na różnorodny przebieg i obraz kliniczny choroby wyróżnia się 7 podtypów MIZS. Niezależnie od postaci choroby cechą charakterystyczną jest objęcie procesem zapalnym stawów, który to proces klinicznie objawia się obrzękiem, bolesnością i ograniczeniem ruchomości. Obraz choroby jest niejednorodny, przebiega z okresami zaostrzeń i remisji. Na skutek trwającego procesu zapalnego dochodzi do zniszczenia struktur stawowych, a w przypadkach agresywnego przebiegu może dojść do zahamowania wzrostu, zajęcia narządów wewnętrznych, zapalenia przedniego odcinka błony naczyniowej oka. Pacjenci wymagają długotrwałego leczenia lekami modyfikującymi przebieg choroby. W części przypadków leczenie to jest niewystarczające, trudno uzyskać remisję lub jest to remisja krótkotrwała.

W patogenetycznym łańcuchu immunologiczno-zapalnym główną rolę odgrywają makrofagi, komórki dendrytyczne oraz limfocyty T. Konsekwencją ich przedłużonej aktywacji jest zaburzenie równowagi między stężeniami czynników prozapalnych i przeciwzapalnych, co warunkuje przewlekłość procesu zapalnego. Liczne badania potwierdzają obecność podwyższonych wartości TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  i IL-6 w surowicy oraz płynie stawowym chorych na MIZS. Te wyniki stały się podstawą wprowadzenia do leczenia biologicznych leków antycytokinowych. Obecnie w terapii MIZS w Polsce stosuje się inhibitory TNF- $\alpha$  (etanercept, adalimumab). Początkowo leczenie etanerceptem stosowane było tylko u dzieci z najcięższymi postaciami MIZS. Obecnie jest ono dostępne dla szerszej grupy pacjentów, m.in. dla tych, u których nie obserwuje się poprawy podczas terapii lekami modyfikującymi przebieg choroby. Pomimo coraz szerszego zastosowania terapii antycytokinowej w leczeniu MIZS, wymaga ona dalszej wnikliwej obserwacji ze względu na ryzyko wystąpienia objawów ubocznych.

Ocena stężenia TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  i IL-6 w surowicy i w płynie stawowym pozwala na wcześniejsze wykrycie aktywnego procesu zapalnego w przypadku, gdy inne badania laboratoryjne nie odbiegają znacząco od normy. Dzięki temu możliwe jest wcześniejsze rozpoznanie MIZS i ocena przebiegu choroby. Ponadto, u części pacjentów umożliwi to podjęcie decyzji o wcześniejszym rozpoczęciu leczenia biologicznego, wcześniej aniżeli przewiduje to dotychczasowy schemat. W efekcie ww. postępowania leczniczego można zapobiec nieodwracalnym skutkom toczącego

się procesu zapalnego i ograniczyć konieczność przedłużonego stosowania sterydoterapii systemowej.

### **III CELE PRACY**

1. Wyselekcjonowanie z grupy dzieci z MIZS znajdujących się pod opieką Kliniki Endokrynologii i Reumatologii Dziecięcej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu tych chorych, u których w czasie trwania badania postawiono rozpoznanie MIZS i wdrożono standardowe leczenie choroby (grupa I) oraz tych pacjentów z MIZS, u których mimo wcześniejszego leczenia standardowego nie udało się uzyskać remisji i zakwalifikowano ich do terapii etanerceptem (grupa II).
2. Ocena kliniczna (wywiad, wskaźniki aktywności choroby, ocena stanu funkcjonalnego, leczenie, wskaźniki poprawy klinicznej), biochemiczna (wskaźniki stanu zapalnego, morfologia krwi, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6) obu grup pacjentów (I i II) w okresie 12 miesięcy w odstępach sześciomiesięcznych (0-6-12).
3. Określenie korelacji stężeń TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 w surowicy krwi ze wskaźnikami stanu zapalnego i wskaźnikami aktywności choroby w obu grupach badanych.
4. Określenie korelacji stężeń badanych cytokin prozapalnych w surowicy krwi.
5. Monitorowanie stężeń TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 po wdrożeniu leczenia w obu grupach badanych.
6. Ocena wartości diagnostycznej czynników (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6) w przebiegu młodzieńczego idiopatycznego zapalenia stawów.

### **IV PACJENCI I METODY**



1. Klinika Endokrynologii i Reumatologii Dziecięcej oraz Poradnia Reumatologiczna, działające w strukturze Szpitala Klinicznego im. Karola Jonschera Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu prowadzą diagnostykę i leczenie dzieci z młodzieńczym idiopatycznym zapaleniem stawów. Obie jednostki obejmują opieką reumatologiczną większość dzieci z województw wielkopolskiego i lubuskiego. W okresie prowadzenia badań ww. jednostki jako jedyne na tym obszarze Polski prowadziły terapię MIZS lekami antycytokinowymi. Pacjenci zdiagnozowani i leczeni w obu jednostkach posiadają dokumentację, która jest źródłem informacji o parametrach morfologii krwi, o wynikach badań biochemicznych oraz obrazowych.

2. Głównym kryterium włączenia do badania było rozpoznanie MIZS na podstawie obowiązujących kryteriów ILAR. Z projektu wykluczono pacjentów, u których na podstawie wywiadu czy badania przedmiotowego powstały podejrzenia co do obecności innej, towarzyszącej MIZS choroby, która mogłaby wpływać na stężenie cytokin prozapalnych (choroby infekcyjne, autoimmunologiczne, alergiczne).

3. Z grupy 104 dzieci z młodzieńczym idiopatycznym zapaleniem stawów znajdujących się pod opieką Kliniki Endokrynologii i Reumatologii Dziecięcej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu w okresie 03.2007 – 02.2009 wyselekcjonowano 43 pacjentów - tych chorych, u których w trakcie trwania badania postawiono rozpoznanie MIZS („nowe zachorowania”) i wdrożono standardowe leczenie choroby (grupa I, n=24) oraz tych pacjentów z MIZS, u których mimo leczenia standardowego nie udało się uzyskać remisji i wdrożono następowo terapię etanerceptem (grupa II, n=19). Dodatkowymi warunkami włączenia do jednej z badanych grup były: obecność na co najmniej jednej wizycie kontrolnej oraz kontynuacja jednego rodzaju leczenia przez cały okres trwania badania (standardowe vs biologiczne). O sposobie leczenia decydowali lekarze specjaliści w dziedzinie pediatrii i reumatologii dziecięcej pracujący w Klinice. Do badania włączono również grupę kontrolną dzieci zdrowych (n=18). W grupie tej znalazły się:

- dzieci przyjęte do Kliniki w celu wykonania badań diagnostycznych w kierunku zaburzeń endokrynologicznych, u których wykluczono obecność nieprawidłowości hormonalnych (n=10),
- pacjenci przyjęci do Kliniki w ramach ostrego dyżuru z powodu infekcji (po jej wyleczeniu)(n=4),

- zdrowe dzieci pracowników Kliniki (n=4).

Kwalifikacja do grupy kontrolnej polegała na szczegółowej analizie wywiadu chorobowego, wywiadu rodzinnego i badania przedmiotowego oraz parametrów laboratoryjnych (OB, CRP, morfologia krwi obwodowej).

4. Dokonano szczegółowej oceny: wywiadu chorobowego, stanu przedmiotowego, wskaźników aktywności choroby, stanu funkcjonalnego oraz oznaczenia OB, CRP, morfologii krwi, obecności przeciwciał przeciwjądrowych, stężeń TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  i IL6 w surowicy krwi pacjentów z obu grup i grupy kontrolnej w momencie włączenia do badania.

5. W obu grupach wykonano badania kontrolne (odpowiednio po 6 i 12 miesiącach) obejmujące: ocenę wywiadu chorobowego, stanu przedmiotowego, wskaźników aktywności choroby, stanu funkcjonalnego, wskaźników poprawy klinicznej oraz oznaczenia OB, CRP, morfologii krwi i stężeń TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  i IL6 w surowicy krwi.

6. Projekt badania uzyskał pozytywną opinię Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (Uchwała nr 396/07 Komisji Bioetycznej z dnia 12.04.2007r). Przed włączeniem do badania każdemu pacjentowi i/lub rodzicowi/opiekunowi prawnemu przedstawiano informacje na temat badania i udzielono wszelkich wyjaśnień. Od każdego pacjenta i jego rodzica lub opiekuna prawnego uzyskano świadomą zgodę na udział w badaniu w formie pisemnej, tzn. udzieloną na odpowiednim formularzu (w wersji zaprojektowanej osobno dla dziecka-pacjenta i rodzica/opiekuna prawnego). Krew do badań była pobierana w trakcie rutynowej oceny stanu zdrowia pacjenta wynikającej z procesu diagnostyczno-leczniczego.

7. Badanie stężenia cytokin prozapalnych

- a) Do badań stężenia cytokin prozapalnych wykorzystano krew żylną pobraną z żyły łokciowej. Po oddzieleniu skrzepu materiał poddano wirowaniu przez 20 minut (w 1000xg) z chłodzeniem, rozdzielono, podzielono na części i przechowywano w temperaturze – 20°C do czasu oznaczania.
- b) Stężenie IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  w surowicy krwi oznaczano metodą ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), używając komercyjnych zestawów

firmy Bender MedSystems (Vienna, Austria) zgodnie z instrukcją producenta. Pomiar absorbancji wykonano czytnikiem płytek ELISA, przy długości fali 450 nm względem 620 nm. jako referencyjnej. Test poddano ewaluacji przy użyciu krzywej 4 PL (**Tabela 8**).

**Tabela 8.** Granica wykrywalności i precyzja metody oznaczanych cytokin.

Cytokina	Limit detekcji	Precyzja wewnątrz serii	Precyzja między seriami
TNF- $\alpha$	5,0 pg/ml	CV 8,1%	CV 7,7%
IL-1 $\beta$	0,32 pg/ml	CV 8,6%	CV 5,1%
IL-6	0,92 pg/ml	CV 5,2%	CV 3,4%

Badania wykonano w Pracowni Endokrynologii Molekularnej Kliniki Endokrynologii i Reumatologii Dziecięcej UM w Poznaniu (mgr farmacji H. Mikoś).

#### 8. Pozostałe badania laboratoryjne

a) Stężenie białka C-reaktywnego oznaczano w surowicy krwi metodą immunturbidymetryczną przy pomocy analizatora biochemicznego KONELAB firmy bioMerieux.

Wartości referencyjne: do 0,5 mg/dl.

b) Odczyn Biernackiego oznaczano w krwi pełnej manualną metodą grawimetryczną (krew pobrana do probówki zawierającej 109 mmol/l cytrynianu sodu w stosunku: 1 część objętościowa cytrynianu / 4 części objętościowe krwi).

Wartości referencyjne: 1-10 mm/h.

c) Obecność czynnika reumatoidalnego oznaczano w surowicy krwi metodą lateksową (test jakościowy, wynik dodatni - widoczna makroskopowo aglutynacja).

Wartości referencyjne: wynik ujemny.

d) Parametry morfologii krwi i stężenie hemoglobiny oznaczano w pełnej krwi żyłnej lub krwi włośniczkowej (krew pobrana do probówki z EDTA-K) przy pomocy automatycznego analizatora hematologicznego SYSMEX XT 2000i.

Wartości referencyjne przedstawiono w **Tabeli 9**.

**Tabela 9.** Wartości referencyjne morfologii krwi.

Parametr	Wiek	Zakres referencyjny
Krwinki białe (WBC) [G/l]	7 dni ÷ 12 m.ż. 2 ÷ 6 r.ż. 6 ÷ 12 r.ż. > 12 r.ż.	4,0 ÷ 20,0 4,5 ÷ 13,0 4,0 ÷ 12,0 4,0 ÷ 10,0
Krwinki czerwone(RBC) [T/l]	9 m.ż. ÷ 2 r.ż. 2 ÷ 6 r.ż. 6 ÷ 12 r.ż. > 12 r.ż. dziewczynki > 12 r.ż. chłopcy	4,2 ÷ 5,5 4,3 ÷ 5,5 4,5 ÷ 5,5 4,0 ÷ 5,0 4,5 ÷ 5,5
Hemoglobina (Hb) [g/dl]	9 m.ż. ÷ 2 r.ż. 2 ÷ 6 r.ż. 6 ÷ 12 r.ż. > 12 r.ż. dziewczynki > 12 r.ż. chłopcy	11,0 ÷ 14,0 10,9 ÷ 14,2 12,0 ÷ 15,5 12,0 ÷ 16,0 14,0 ÷ 18,0
Hematokryt (Ht) [%]	9 m.ż. ÷ 2 r.ż. 2 ÷ 6 r.ż. 6 ÷ 12 r.ż. > 12 r.ż. dziewczynki > 12 r.ż. chłopcy	34,0 ÷ 40,0 34,0 ÷ 41,0 37,0 ÷ 43,0 37,0 ÷ 47,0 40,0 ÷ 54,0
Płytki krwi (PLT) [G/l]		150 ÷ 400

Powyższe badania wykonywano w Centralnym Laboratorium Szpitala Klinicznego im. K. Jonschera UM w Poznaniu.

- e) Przeciwciała przeciwjądrowe oznaczano metodą immunofluorescencji pośredniej używając komercyjnych zestawów firmy EUROIMMUN (w Pracowni Diagnostyki Reumatologicznej Ortopedyczno-Rehabilitacyjnego Szpitala Klinicznego w Poznaniu oraz w Zakładzie Immunologii Klinicznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu). Wynik dodatni - miano ANA  $\geq$  1:160; wynik ujemny - miano ANA < 1:160.

#### 9. Ocena aktywności choroby i stanu funkcjonalnego

- a) całkowita ocena aktywności choroby przez lekarza, mierzona na 10-centymetrowej wizualnej skali analogowej (VAS), gdzie 0=stan nieaktywny, a 10=maksymalna aktywność,
- b) całkowita ocena dobrego samopoczucia pacjenta dokonana przez rodzica lub chore dziecko, mierzona na 10-centymetrowej wizualnej skali analogowej (VAS), gdzie 0=stan nieaktywny, a 10=maksymalna aktywność,
- c) liczba stawów z czynnym zapaleniem, w których stwierdza się obrzęk; jeśli nie jest on obecny liczy się dodatkowo stawy z ograniczeniem ruchomości i wzmożonym uciepleniem/ bólem lub tkliwością,
- d) liczba stawów z ograniczeniem ruchomości,

- e) CHAQ (Childhood Health Assessment Questionnaire) – kwestionariusz oceny stanu funkcjonalnego w MIZS. Kwestionariusz zawiera dwa wskaźniki – niesprawności i dyskomfortu. Wskaźnik niesprawności składa się z 30 pytań, zebranych w 8 kategoriach, dostosowanych dla dzieci w różnym wieku. Na każde pytanie istnieją cztery warianty odpowiedzi (liczone w skali od 0 do 3). Wskaźnik niesprawności obliczany jest jako średnia z ośmiu najwyższych ocen z każdej kategorii pytań. Dyskomfort określa się na podstawie nasilenia bólu, mierzonego na 100 milimetrowej wizualnej skali analogowej. Ponadto na skali VAS pacjent/rodzic podaje nasilenie zapalenia stawów.

Kwestionariusz ten może być używany u dzieci w każdym wieku. Znalazł również zastosowanie we wstępnych kryteriach odpowiedzi na leczenie (139).

#### 10. Kryteria choroby nieaktywnej

Zmodyfikowane kryteria choroby nieaktywnej przedstawiło w 2011r. ACR (140). Dotyczą one wybranych typów MIZS: o początku nielicznostawowym, o początku wielostawowym z obecnym lub nieobecnym RF, o początku układowym. Do kryteriów choroby nieaktywnej klinicznie należą:

- a) brak aktywnego zapalenia stawów,
- b) brak gorączki, wysypki, zapalenia błon surowicznych, powiększenia śledziony lub uogólnionego powiększenia węzłów chłonnych przypisanego MIZS,
- c) brak aktywnego zapalenia błony naczyniowej oka – tj. obecność < 1 komórki w obszarze o rozmiarze 1 mm w 1-milimetrowej wiązce lampy szczelinowej,
- d) OB lub CRP w granicach normy dla danego laboratorium, z wyłączeniem podwyższonych wartości wynikających z innych przyczyn niż MIZS,
- e) całkowita ocena aktywności choroby przez lekarza – wynik najlepszy z możliwych na stosowanej skali,
- f) czas trwania sztywności porannej poniżej 15 minut.

Kryteria dla choroby nieaktywnej zostały wykorzystane w zdefiniowaniu pojęcia remisji klinicznej:

- a) kliniczna remisja, gdy chory pobiera leki – kryteria dla nieaktywnej choroby muszą być spełnione przez okres minimum kolejnych 6 miesięcy podczas brania leków przez chorego,

- b) kliniczna remisja osiągnięta, gdy chory nie pobiera żadnych leków – kryteria dla choroby nieaktywnej muszą być spełnione przez okres minimum kolejnych 12 miesięcy, gdy chory nie pobiera żadnych leków związanych z zapaleniem stawów i zapaleniem błony naczyniowej oka.

## 11. Kryteria poprawy

Najczęściej używanym wskaźnikiem dla oceny poprawy stanu klinicznego w MIZS są kryteria opracowane przez Gianniniego i wsp., określone jako ACR Pediatric 30 (141). Poprawę u chorych z MIZS można wykazać, gdy wystąpi przynajmniej 30% polepszenia w 3 z 6 określonych parametrów, a w przypadku pozostałych wskaźników nie może dojść do pogorszenia o 30% w więcej niż jednym. Zaproponowane parametry to:

- a) liczba stawów z czynnym zapaleniem,
- b) liczba stawów z ograniczeniem ruchomości,
- c) ocena aktywności choroby dokonana przez lekarza na 10-centymetrowej skali VAS,
- d) ocena ogólnego samopoczucia dokonana przez rodzica lub chore dziecko na 10-centymetrowej skali VAS,
- e) CHAQ
- f) OB.

Polska wersja językowa została zaadaptowana z oryginalnej przez A. M. Romicką, G. Gutowską-Grzegorzczuk, E. Musiej-Nowakowską i E. Wyszyską w 2001 roku, we współpracy z *Pediatric Rheumatology International Trials Organisation* (PRINTO) (142).

## 12. Analiza statystyczna

W ramach statystyki opisowej dla cech ilościowych obliczono wartości średnie, odchylenia standardowe, pomiary minimalne i maksymalne oraz mediany. Sprawdzono zgodność badanych parametrów z rozkładem normalnym testem Shapiro-Wilka. Ponieważ nie potwierdzono zgodności z rozkładem normalnym, w większości analiz użyto testów nieparametrycznych. W przypadku porównań dwóch grup w układzie zmiennych niepowiązanych do porównań użyto nieparametrycznego testu Manna-Whitney'a, natomiast w przypadku porównań większej liczby grup testu nieparametrycznego Kruskala-Wallisa z opcją

wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna. Jako graniczny poziom istotności przyjęto wartość  $\alpha = 0.05$ . W przypadku porównań dwóch grup w układzie zmiennych powiązanych do porównań użyto nieparametrycznego testu Wilcoxon. Dla porównania wielu grup w układzie zmiennych powiązanych zastosowano test nieparametryczny Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna. Do analizy korelacji zmiennych wykorzystano współczynnik korelacji rangowej Spearmana badający istotność związków monotonicznych.

Obliczenia wykonano przy pomocy pakietu statystycznego STATISTICA PL.(StatSoft, Inc. (2011). STATISTICA (data analysis software system), wersja 10. Obliczenia wykonano w Zakładzie Informatyki i Statystyki Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu (prof. dr hab. J. Moczko).

## V WYNIKI

### 1. Charakterystyka badanych grup

Do badania włączono 43 pacjentów rasy kaukaskiej z młodzieńczym idiopatycznym zapaleniem stawów rozpoznanym na podstawie kryteriów ILAR. Pacjentów przydzielono do jednej z dwóch grup:

- grupa I – pacjenci ze świeżo rozpoznanym MIZS dotychczas nieleczeni (n=24),
- grupa II - pacjenci, którzy zostali zakwalifikowani do leczenia etanerceptem ze względu na brak uzyskania poprawy w trakcie leczenia lekami I rzutu (n=19).

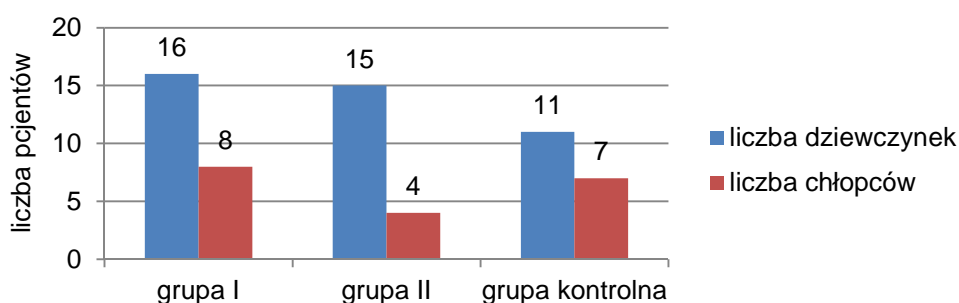
Do badania włączono również grupę kontrolną dzieci zdrowych (n=18), która pod względem wieku, wzrostu, masy i powierzchni ciała nie różniła się istotnie statystycznie od grupy badanej (**Tabela 10**).

**Tabela 10.** Porównanie grupy badanej i grupy kontrolnej (wartości przedstawiają mediany i rozstępy kwartylowe(IQR)).

	Grupa I (n=24)	Grupa II (n=19)	Grupa kontrolna (n=18)	ANOVA rang Kruskala-Wallis
wiek [lata]	8,00 (4,96-13,30)	10,83 (6,83-13,08)	12,54 (6,43-15,83)	p=0,2065
wzrost [cm]	130,0 (106,0-159,0)	126,0 (112,4-148,0)	152,0 (118-167,0)	p=0,1227
masa ciała [kg]	23,75 (16,5-46,5)	23,6 (20,0-47,0)	44,0 (23,0-50,0)	p=0,1089
powierzchnia ciała [m <sup>2</sup> ]	0,94 (0,70-1,45)	0,92 (0,81-1,46)	1,40 (0,90-1,53)	p=0,1104

W całym badaniu uczestniczyło 19 (31,2%) chłopców i 42 (68,8%) dziewczynki. Wśród pacjentów z MIZS było 31 dziewczynek (72,1%) i 12 chłopców (27,9%). Stosunek płci żeńskiej do męskiej w obu grupach badanych wynosił 2,6:1 (w grupie I – 2:1; w grupie II – 3,75:1). Liczbę chłopców i dziewcząt w poszczególnych grupach przedstawia **Rycina 9**.

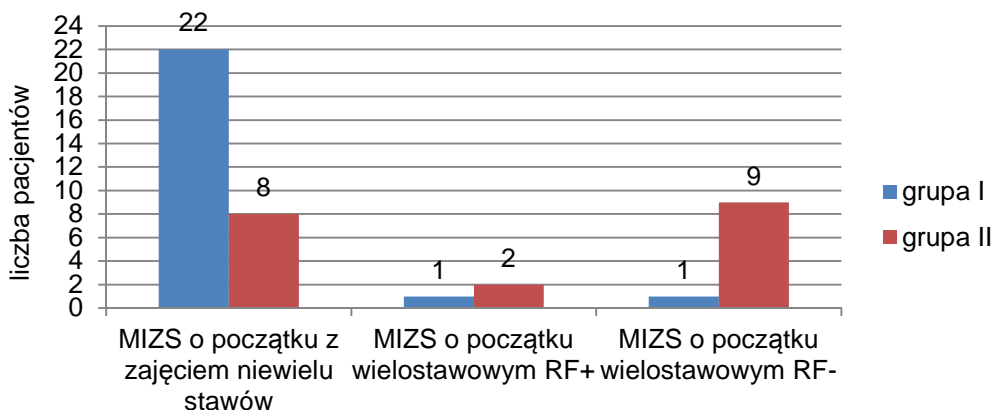
**Rycina 9.** Liczba dziewcząt i chłopców w grupach badanych i w grupie kontrolnej.





Grupy badane nie były jednorodne pod względem dominującej postaci choroby (**Rycina 10**). W grupie I przeważali pacjenci z MIZS o początku nielicznostawowym, a w grupie II – wielostawowym. Inne postaci choroby nie występowały w żadnej z analizowanych grup. Wśród dzieci z MIZS o początku nielicznostawowym tylko jeden pacjent prezentował postać rozszerzającą się.

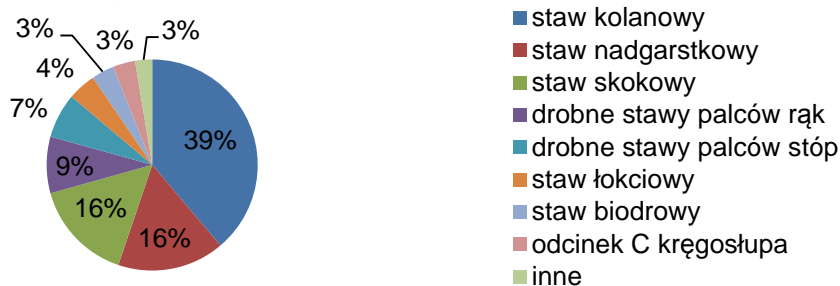
**Rycina 10.** Liczba pacjentów z poszczególnymi postaciami choroby w badanych grupach.



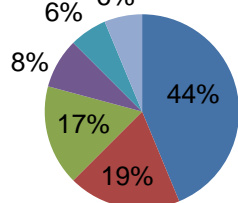
Najczęściej zajętymi stawami w momencie włączenia do badania niezależnie od podziału na grupy (grupa I i II) były odpowiednio: staw kolanowy (39%), staw skokowy (16%), staw nadgarstkowy (16%) oraz drobne stawy rąk (9%) – **Rycina 11**.

**Rycina 11.** Stawy z aktywnym procesem zapalnym na początku badania.

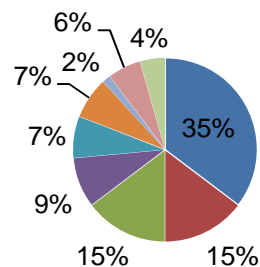
*MIZS - bez podziału na grupy*



*grupa I*



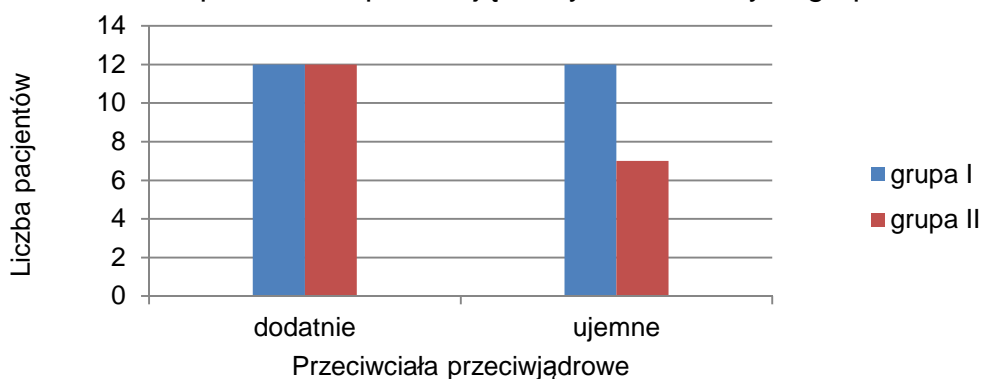
*grupa II*



U 4 dzieci w momencie włączenia do badania współistniało zapalenie błony naczyniowej oka (grupa I – 1, grupa II – 3). Dodatkowo u jednej dziewczynki z grupy II zapalenie błony naczyniowej oka rozwinęło się po zakończeniu badania najprawdopodobniej jako powikłanie leczenia etanerceptem.

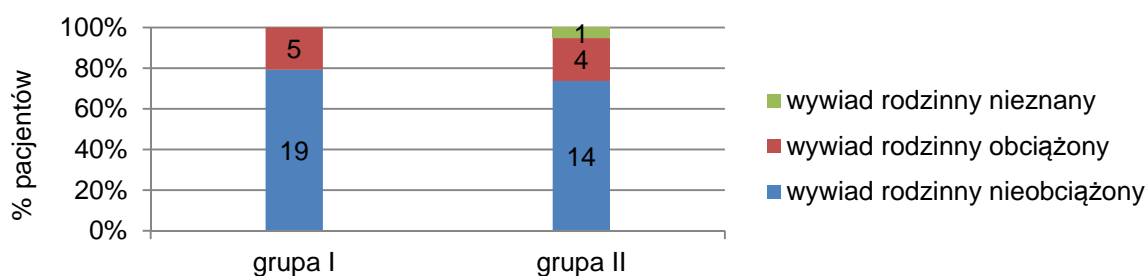
W obu badanych grupach oceniono obecność przeciwciał przeciwjądrowych w momencie włączenia do badania, tzn. w grupie I w chwili rozpoznania choroby, a w grupie II w trakcie kwalifikacji do leczenia etanerceptem. Ze względów niezależnych od autora u większości pacjentów test na obecność ANA wykonano tylko jeden raz w czasie trwania badania. W obu grupach badanych po 12 dzieci miało dodatnie przeciwciała przeciwjądrowe (**Rycina 12**). W grupie ze świeżo zdiagnozowanym MIZS stanowiło to 50,0%, a w grupie pacjentów kwalifikowanych do leczenia biologicznego ten odsetek był wyższy (63,2%).

**Rycina 12.** Obecność przeciwciał przeciwjądrowych w badanych grupach.



9 dzieci (21,0%) wśród pacjentów biorących udział w badaniu miało obciążony wywiad rodzinny dotyczący obecności chorób reumatycznych u krewnych I lub II stopnia (**Rycina 13, Tabela 11**). U jednej z dziewczynek nie udało się ustalić ryzyka rodzinnego dotyczącego występowania chorób układowych tkanki łącznej (dziecko adoptowane).

**Rycina 13.** Liczba pacjentów w badanych grupach z obciążonym wywiadem rodzinnym.

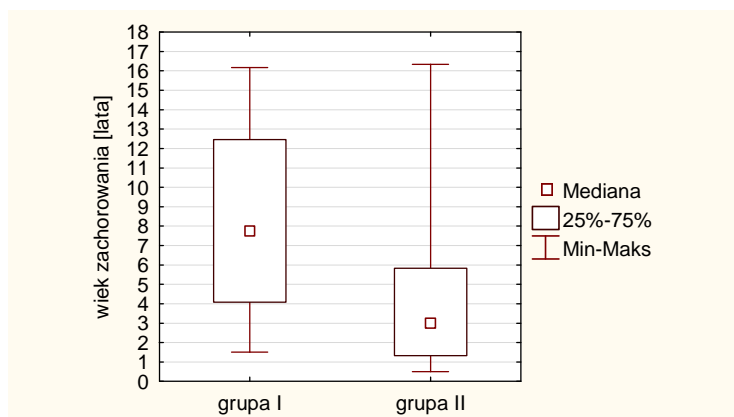


**Tabela 11.** Rodzinne występowanie chorób reumatycznych grupy badanej.

Rodzaj choroby	Liczba pacjentów z wywiadem rodzinnym obciążonym w kierunku danej choroby
Łuszczycowe zapalenie stawów	3
Zeszywniające zapalenie stawów kręgosłupa	3
Młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów	2
Choroba Behceta	1

Średni wiek w momencie zachorowania pacjentów włączonych do badania (grupa I i II) wynosił  $6,70 \pm 5,09$  roku (mediana 5,50 roku). Dzieci z grupy I chorowały w starszym wieku (mediana 7,75 roku; IQR 4,09-12,46) w porównaniu do pacjentów z grupy II (mediana 3,00 lata; IQR 1,33-5,83). Wykazano, że wiek zachorowania dzieci zakwalifikowanych do leczenia biologicznego był statystycznie istotnie niższy (test Manna-Whitneya,  $p=0,020$ ) – **Rycina 14**.

**Rycina 14.** Porównanie wieku zachorowania w obu grupach poddanych analizie.

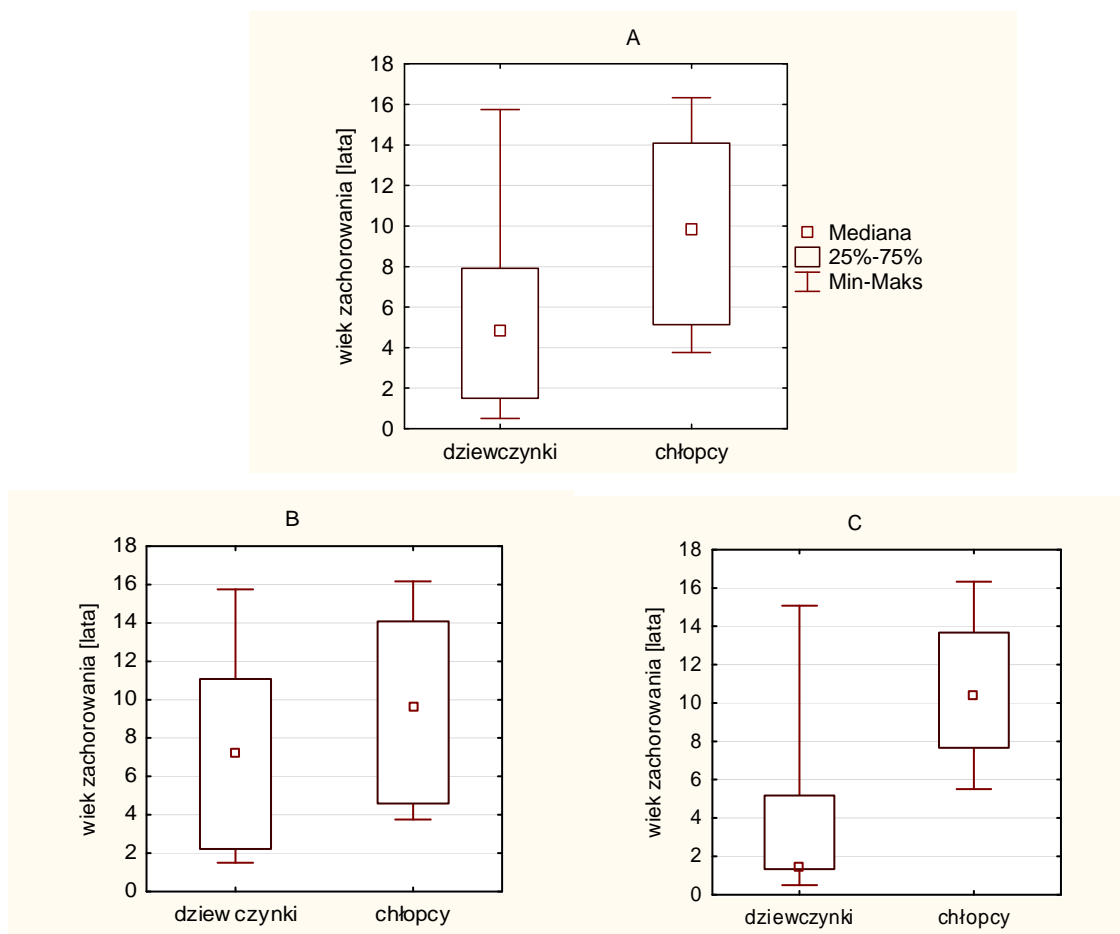


Wśród wszystkich dzieci włączonych do badania choroba wystąpiła wcześniej u dziewcząt (mediana 4,83 lat; IQR) niż u chłopców ( $9,94 \pm 4,61$  lat; mediana 9,83 lat). Wykazano, że wiek zachorowania dziewcząt był statystycznie istotnie niższy (test Manna-Whitneya,  $p=0,011$ ) – **Rycina 15**.

W grupie I wiek dziewcząt (mediana 7,21 lat; IQR 2,21-11,09) i chłopców (mediana 9,67 lat; IQR 4,59-14,09) w momencie zachorowania nie różnił się istotnie statystycznie (test Manna-Whitneya,  $p=0,375$ ) – **Rycina 15**.

Wykazano, że wiek zachorowania dziewcząt (mediana 1,50 rok; IQR 1,33-5,17) z grupy II był statystycznie istotnie niższy niż chłopców (mediana 10,42 lat; IQR 7,67-13,67) (test Manna-Whitneya,  $p=0,014$ ) – **Rycina 15**.

**Rycina 15.** Porównanie wieku zachorowania w zależności od płci: bez podziału na grupy (A), w grupie I (B) i w grupie II (C).



Wykazano, że w analizowanym materiale wiek zachorowania dzieci z postacią nielicznostawową (mediana 5,00 lat; IQR 1,67-9,83) i wielostawową MIZS (mediana 5,75 lat; IQR 1,5-11,0) nie różnił się istotnie statystycznie (test Manna-Whitneya,  $p=0,701$ ).

W obu badanych grupach pacjenci byli dwukrotnie poddani badaniom kontrolnym. Okres czasu jaki upłynął pomiędzy włączeniem do projektu (czas 0) a pierwszą wizytą kontrolną (czas 1) oraz między pierwszą a drugą wizytą (czas 2), a także liczbę pacjentów, u których wykonano badania kontrolne przedstawiono w Tabeli 12.

**Tabela 12.** Odstępy czasowe pomiędzy badaniami kontrolnymi (wartości przedstawiają wartości średnie i odchylenia standardowe) i liczba pacjentów, którzy się im poddali.

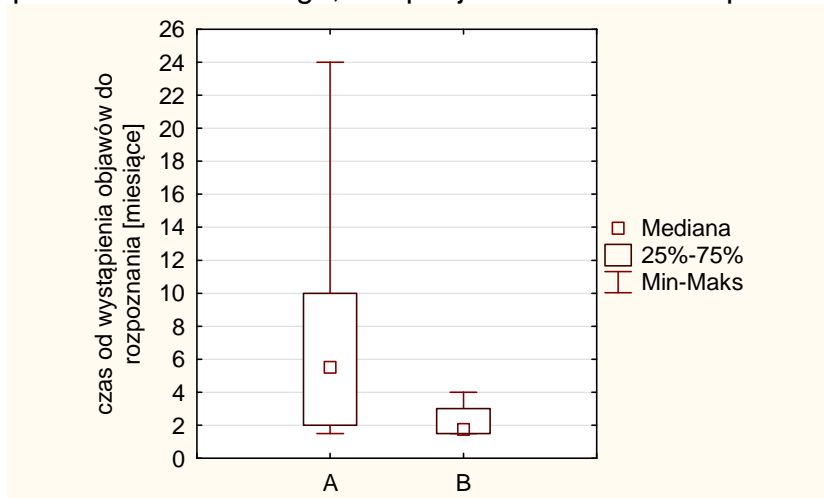
	Grupa I (n=24)	Grupa II (n=19)
Okres pomiędzy włączeniem do badania a pierwszą wizytą kontrolną [miesiące]	6,18 ± 1,17	6,26 ± 1,62
Liczba pacjentów, którzy zgłosili się na pierwszą wizytę kontrolną	19	19
Okres pomiędzy pierwszą a drugą wizytą kontrolną [miesiące]	6,35 ± 1,94	5,95 ± 1,89
Liczba pacjentów, którzy zgłosili się na drugą wizytę kontrolną	20	19

## 2. Grupa I - pacjenci ze świeżo rozpoznany MIZS dotychczas nieleczeni.

W badanej grupie czas od wystąpienia objawów do postawienia rozpoznania MIZS i włączenia leczenia wynosił średnio  $4,65 \pm 5,55$  miesiąca (mediana= 2,50 miesiąca). Po wystąpieniu objawów 14 dzieci (58,3%) w pierwszej kolejności zostało skierowanych do lekarza reumatologa, a 10 (41,7%) najpierw diagnozował lekarz rodzinny, ortopeda lub chirurg. W przypadku pacjentów konsultowanych przez reumatologa mediana czasu między wystąpieniem objawów a rozpoznaniem choroby wynosiła 1,75 miesiąca (IQR 1,50-3,00). Dzieci z drugiej podgrupy zostały zdiagnozowane po 5,5 miesiącach (IQR 2,00-10,00).

*Stwierdzono istotną statystycznie różnicę w czasie jaki upłynął od wystąpienia objawów do rozpoznania choroby w zależności od tego jakiej specjalności lekarz konsultował pacjenta jako pierwszy (test Manna-Whitneya,  $p=0,013$ ) – Rycina 16.*

**Rycina 16.** Czas od wystąpienia objawów do rozpoznania choroby (A – pacjenci konsultowani przez nie-reumatologa, B – pacjenci konsultowani przez reumatologa).



W chwili włączenia do badania dokonano analizy parametrów laboratoryjnych i stężeń cytokin prozapalnych grupy I i grupy kontrolnej oraz wartości wskaźników aktywności choroby i stanu funkcjonalnego nowo zdiagnozowanych pacjentów (Tabela 13).

**Tabela 13.** Charakterystyka grupy I - pacjenci ze świeżo rozpoznany MIZS dotychczas nieleczeni (parametry laboratoryjne, stężenie cytokin prozapalnych, wskaźniki aktywności choroby i wskaźnik niepełnosprawności).

Czas 0	Grupa I (n=24)		Grupa kontrolna (n=18)	
	Mediana	IQR	Mediana	IQR
OB [mm/h]	47,5	29,0-69,0	6,5	5,0-9,0
CRP [mg/dl]	1,13	0,41-3,06	0,38	0,33-0,41
WBC [G/l]	8,78	7,04-9,87	6,23	5,09-7,28
RBC [T/l]	4,54	4,23-4,76	4,67	4,39-4,76
HGB [g/dl]	12,40	11,75-12,85	13,30	12,2-13,9
PLT [G/l]	352,50	297,00-493,00	272,00	226,00-312,00
TNF- $\alpha$ [pg/ml]	10,03	2,16-16,88	0,00	0,00-0,12
IL-1 $\beta$ [pg/ml]	1,46	1,10-1,80	1,58	1,56-1,60
IL-6 [pg/ml]	6,02	1,74-18,18	1,90	1,28-2,04
całkowita ocena aktywności choroby przez lekarza [cm]	4,0	3,0-5,0		
całkowita ocena dobrego samopoczucia pacjenta [cm]	4,0	3,0-4,5		
liczba stawów z czynnym zapaleniem	2,0	1,0-3,0		
liczba stawów z ograniczeniem ruchomości	2,0	1,0-3,0		
ocena funkcji wg CHAQ	0,375	0,250-0,625		

W momencie rozpoznania choroby aż u 91,7% pacjentów z grupy I wartość OB była podwyższona (versus 5,6% w grupie kontrolnej). Wykazano *znamienną różnicę pomiędzy wartością OB w grupie I i w grupie kontrolnej (test Kruskala-Wallisa z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p < 0,001$ ).*

U 66,7% dzieci ze świeżo rozpoznany MIZS stwierdzono podwyższone stężenie CRP (grupa kontrolna – 0,0%).

*Wykazano znamienną różnicę między stężeniem CRP w grupie I i w grupie kontrolnej (test Kruskala-Wallisa z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p < 0,001$ ).*

Grupę badaną podzielono na poszczególne przedziały wiekowe (9 m.ż.÷2 r.ż., 2÷6 r.ż., 6÷12 r.ż., >12 r.ż.), aby stwierdzić u jakiego odsetka pacjentów wartości poszczególnych składowych morfologii krwi obwodowej odbiegały od wartości referencyjnych laboratorium.

Tylko u dwójga dzieci stężenie białych krwinek znajdowało się powyżej normy. Średnia liczba WBC u pacjentów ze świeżo rozpoznaną chorobą była wyższa niż w grupie kontrolnej (**Tabela 13**).

Stwierdzono istotną statystycznie różnicę stężeń krwinek białych pomiędzy grupą I i grupą kontrolną (test Kruskala-Wallisa z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p < 0,001$ ).

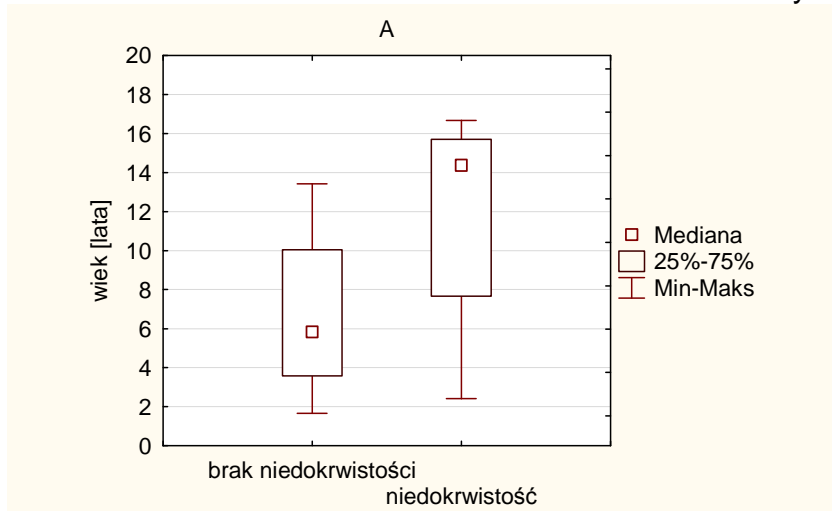
Średnia liczba krwinek czerwonych w obu grupach była podobna (**Tabela 13**). Jedynie u czworga pacjentów w grupie badanej stwierdzano obniżone stężenie RBC.

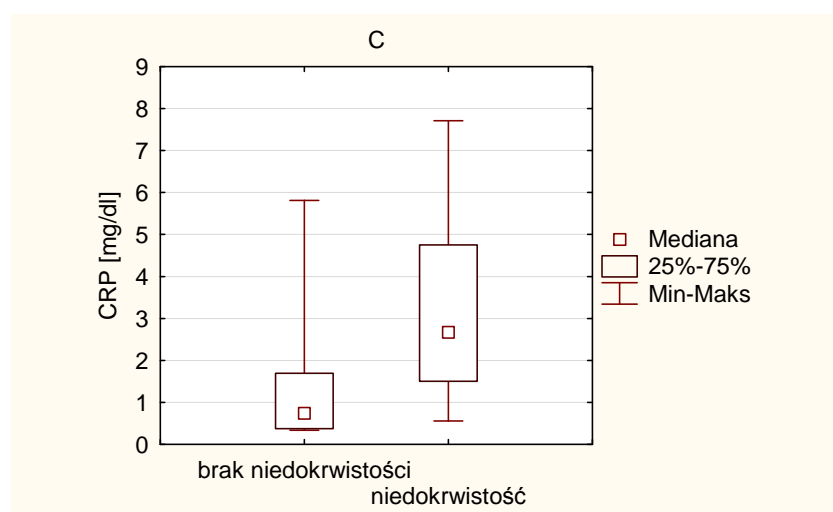
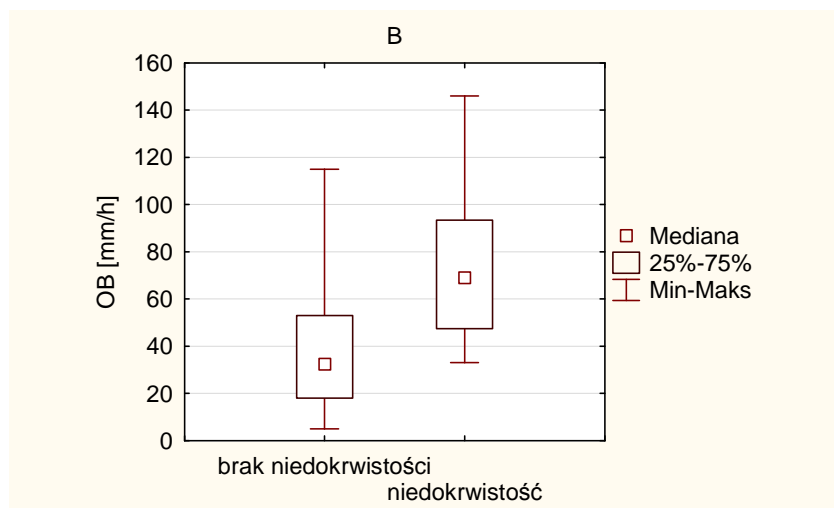
Nie wykazano znamiennej różnicy pomiędzy stężeniem czerwonych krwinek w grupie I i w grupie kontrolnej (test Kruskala-Wallisa z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p = 0,801$ ).

U ośmiorga dzieci z grupy badanej występowała niedokrwistość. Pacjenci z niedokrwistością byli starsi od pozostałych w grupie (test Manna-Whitneya,  $p = 0,020$ ) i prezentowali wyższe średnie wartości OB (test Manna-Whitneya,  $p = 0,020$ ) oraz CRP (test Manna-Whitneya,  $p = 0,040$ ) – **Rycina 17**.

Stwierdzono istotną statystycznie różnicę stężeń hemoglobiny pomiędzy grupą I i grupą kontrolną (test Kruskala-Wallisa z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p = 0,039$ ).

**Rycina 17.** Porównanie wieku (A), wartości OB (B) i stężenia CRP (C) w grupie badanej w zależności od obecności niedokrwistości u obserwowanych pacjentów.





U 9 pacjentów z grupy badanej obserwowano występowanie nadpłytkowości.

Wykazano *znamienną różnicę między stężeniem płytek krwi (test Kruskala-Wallisa z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p < 0,001$ ) w grupie I i w grupie kontrolnej.*

Tylko u trojga pacjentów obserwowano występowanie nieprawidłowych stężeń więcej niż jednego parametru morfologii krwi (niedokrwistość, leukocytoza i nadpłytkowość – pacjent 1; leukocytoza i nadpłytkowość – pacjent 2; niedokrwistość i nadpłytkowość – pacjent 3). Były to dzieci z najwyższymi wartościami odczynów zapalnych i najwyższymi stężeniami co najmniej jednej z badanych cytokin (Tabela 14).



**Tabela 14.** Charakterystyka pacjentów z najcięższą postacią biochemiczną w grupie I (na czerwono zaznaczono wartości najbardziej odbiegające od normy, na zielono – drugie w kolejności, na niebiesko – trzecie w kolejności)

	Pacjent 1	Pacjent 2	Pacjent 3
postać choroby	skapostawowa	skapostawowa	skapostawowa
wiek	15,42 lat	13,17 lat	8,08 lat
płeć	żeńską	żeńską	żeńską
zapalenie błony naczyniowej oka	nie	nie	nie
ANA	ujemne	dodatnie (1:160)	ujemne
WBC [G/l]	<b>14,70</b>	<b>12,80</b>	8,40
Hb [g/dl]	11,70	12,50	<b>8,90</b>
PLT [G/l]	542	505	<b>688</b>
OB [mm/h]	<b>146</b>	<b>115</b>	<b>105</b>
CRP [mg/dl]	<b>6,36</b>	<b>5,81</b>	<b>7,71</b>
TNF- $\alpha$ [pg/ml]	11,036	<b>39,447</b>	0,000
IL-1 $\beta$ [pg/ml]	0,931	1,855	2,286
IL-6 [pg/ml]	<b>29,686</b>	18,637	<b>53,828</b>

W grupie I aktywność choroby w ocenie subiektywnej (całkowita ocena aktywności choroby przez lekarza, całkowita ocena dobrego samopoczucia pacjenta) oraz w oparciu o parametry stawowe była niska (liczba stawów z czynnym stanem zapalnym, liczba stawów z ograniczeniem ruchomości), a stopień niesprawności ustalony na podstawie kwestionariusza CHAQ zgodnie z interpretacją Dempstera i wsp. określono jako „łagodny” (143). W badanej grupie średnia liczba stawów z aktywnym procesem zapalnym odpowiadała średniej liczbie stawów z ograniczeniem ruchomości. Nie obserwowano różnic pomiędzy średnimi ocenami aktywności choroby przez lekarza i rodzica/pacjenta (**Tabela 13**).

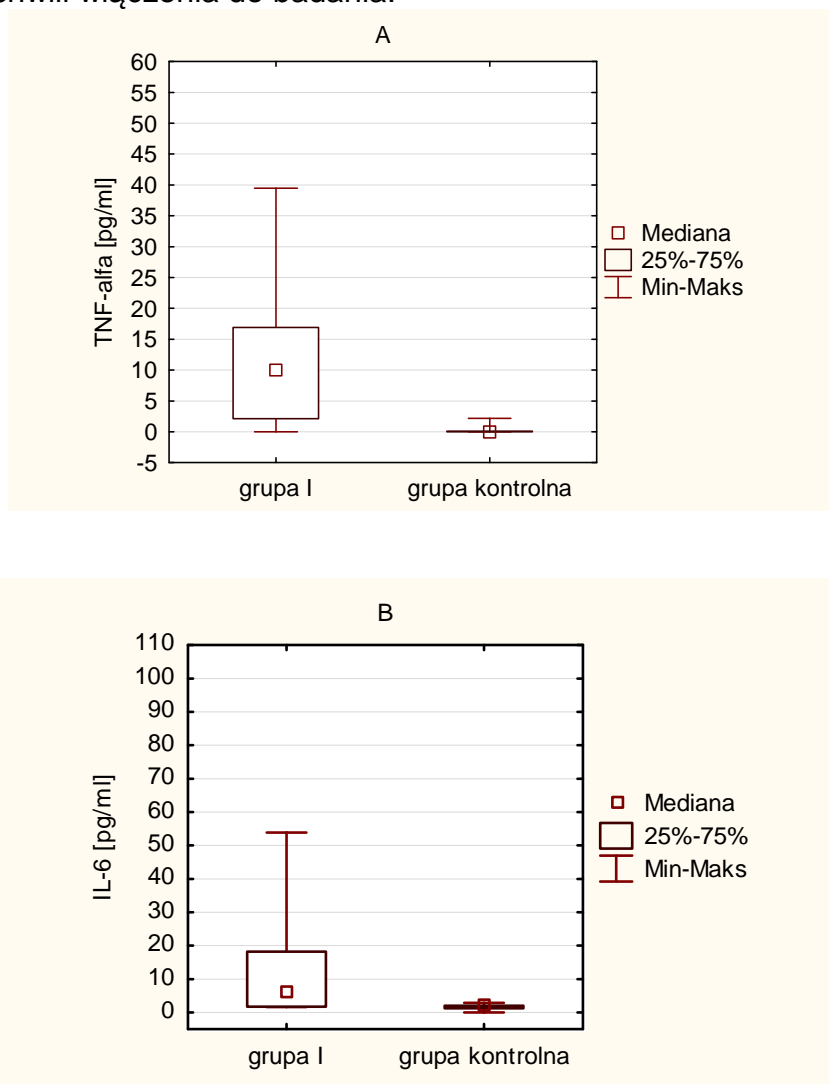
Pomiary stężeń TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  i IL-6 pozwoliły na określenie profilu cytokin dla poszczególnych pacjentów, jak i całej grupy badanej. W grupie I w porównaniu z grupą kontrolną stwierdzono znamienne wyższe stężenia dwóch z trzech badanych cytokin prozapalnych (**Tabela 13**). Stężenia IL-1 $\beta$  w surowicy krwi u pacjentów ze świeżo rozpoznaną chorobą były bardzo zbliżone do stężeń u dzieci z grupy kontrolnej.

*Nie wykazano różnicy istotnej statystycznie dla IL-1 $\beta$  (test Kruskala-Wallisa z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,842$ ).*

*Istotne statystycznie różnice wykazano dla TNF- $\alpha$  (test Kruskala-Wallisa z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p<0,001$ ) i IL-6 (test*

Kruskala-Wallis z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,002$ )  
– Rycina 18.

**Rycina 18.** Porównanie stężenia TNF- $\alpha$  (A) i IL-6 (B) między grupą I i grupą kontrolną w chwili włączenia do badania.



W obrębie grupy I dokonano dodatkowo analizy stężeń cytokin prozapalnych w zależności od następujących czynników: do lekarza jakiej specjalności pacjent trafił w pierwszej kolejności (reumatolog vs nie-reumatolog), jaki czas upłynął od wystąpienia objawów do rozpoznania (<8 tygodni vs >8 tygodni), czy u pacjenta stwierdzano obecność ANA (w mianie  $\geq 1:160$ ) w chwili rozpoznania choroby. Wyniki przeprowadzonych analiz przedstawia **Tabela 15**. Tylko w odniesieniu do IL-1 $\beta$  wykazano różnicę istotną statystycznie.

*Wyższe stężenie IL-1 $\beta$  stwierdzono u dzieci z dodatnim mianem przeciwciał przeciwdądrowych (test Manna-Whitneya,  $p=0,015$ ).*

**Tabela 15.** Porównanie stężeń cytokin prozapalnych w grupie I w czasie 0 w zależności od obecności dodatkowych czynników klinicznych (wartości przedstawiają mediany i rozstępy kwartylowe; n – liczebność grupy)

	Grupa I		Test Manna-Whitneya
	ANA dodatnie (n=12)	ANA ujemne (n=12)	
TNF- $\alpha$ [pg/ml]	12,96 (3,10-21,69)	5,99 (2,16-13,20)	p=0,260 <b>p=0,015</b> p=1,000
IL-1 $\beta$ [pg/ml]	1,75 (1,39-2,17)	1,21 (0,93-1,46)	
IL-6 [pg/ml]	9,56 (1,83-17,60)	3,57 (1,74-19,00)	
	reumatolog (n=14)	nie-reumatolog (n=10)	p=0,747417 p=0,464215 p=0,976644
TNF- $\alpha$ [pg/ml]	11,86 (0,00-18,23)	6,23 (2,16-12,99)	
IL-1 $\beta$ [pg/ml]	1,53 (1,22-1,86)	1,33 (0,96-1,73)	
IL-6 [pg/ml]	3,57 (1,60-18,67)	9,56 (1,89-16,52)	
	czas rozpoznania < 8 tygodni (n=12)	czas rozpoznania > 8 tygodni (n=12)	p=0,885234 p=0,260237 p=0,174854
TNF- $\alpha$ [pg/ml]	10,03 (1,97-16,80)	9,60 (2,16-17,20)	
IL-1 $\beta$ [pg/ml]	1,31 (0,97-1,72)	1,56 (1,23-2,13)	
IL-6 [pg/ml]	14,24 (2,12-21,54)	3,31 (1,60-11,77)	

W grupie I w momencie rozpoznania choroby nie wykazano korelacji pomiędzy stężeniami badanych cytokin prozapalnych w surowicy krwi (korelacja porządku rang Spearmana,  $p > 0,05$ ).

W grupie kontrolnej stwierdzono dodatnią zależność pomiędzy stężeniem TNF- $\alpha$  i IL-1 $\beta$  (korelacja porządku rang Spearmana,  $p < 0,05$ ,  $r_s = 0,51$ ).

Dodatkowo, dla ustalenia przydatności diagnostycznej wybranych cytokin, zbadano zależność pomiędzy ich stężeniem w surowicy krwi a parametrami morfologii krwi i wskaźnikami aktywności choroby.

Nie wykazano zależności pomiędzy stężeniem TNF- $\alpha$  a którymkolwiek z badanych parametrów (korelacja porządku rang Spearmana,  $p > 0,05$ ).

Stwierdzono dodatnią zależność pomiędzy stężeniem IL-1 $\beta$  i liczbą płytek krwi (korelacja porządku rang Spearmana,  $p < 0,05$ ,  $r_s = 0,52$ ).

Stężenie IL-6 korelowało z największą liczbą zmiennych: OB ( $r_s = 0,55$ ), CRP ( $r_s = 0,67$ ), całkowita ocena aktywności choroby przez lekarza ( $r_s = 0,47$ ), liczba stawów z czynnym stanem zapalnym ( $r_s = 0,46$ ), liczba stawów z ograniczeniem ruchomości ( $r_s = 0,46$ ) (korelacja porządku rang Spearmana,  $p < 0,05$ ).

Wszyscy pacjenci rozpoczęli leczenie lekami modyfikującymi przebieg choroby dopiero po włączeniu do grupy badanej. 22 pacjentów otrzymywało MTX w monoterapii, w dawce początkowej, której mediana wynosiła 10,04 mg/m<sup>2</sup>/tydz. (IQR 9,14-13,40). U dwojga dzieci zastosowano sulfasalazynę

w monoterapii (w dawkach 38,46 mg/kg i 26,32 mg/kg). Dodatkowo 16 pacjentów wymagało leczenia metyloprednizolonem w początkowej dawce 0,55 mg/kg/tydz. (IQR 0,43-0,66), którą stopniowo zredukowano do dawki podtrzymującej lub całkowicie w średnim czasie  $2,06 \pm 0,85$  miesiąca.

W badanej grupie mediana stosowanej dawki metotreksatu po 6 miesiącach wynosiła 10,00 (IQR 8,60-12,30) mg/m<sup>2</sup>/tydz., a po 12 miesiącach 9,29 mg/m<sup>2</sup>/tydz. (IQR 8,50-10,60).

*Nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy między dawkami metotreksatu stosowanymi w okresie od włączenia do badania do pierwszej kontroli (test Wilcoxon,  $p=0,056$ ) oraz dawkami stosowanymi pomiędzy pierwszym i drugim badaniem kontrolnym (test Wilcoxon,  $p=0,133$ ).*

*Wykazano natomiast różnicę na poziomie istotności statystycznej pomiędzy początkową dawką metotreksatu, a tą stosowaną po 12 miesiącach (test Wilcoxon,  $p=0,028$ ).*

W chwili włączenia do badania 16 pacjentów wymagało zastosowania metyloprednizolonu (dożylnie lub doustnie). Dodatkowo 8 pacjentom podano dostawowo preparat octanu metyloprednizolonu. Okres stopniowej redukcji dawek GKS do dawki podtrzymującej lub całkowitego odstawienia wynosił średnio  $2,06 \pm 0,85$  miesiąca. W czasie 1 (pierwsze badanie kontrolne) 13 pacjentów otrzymywało GKS doustnie w dawce, której mediana wynosiła 0,09 mg/kg/24h (IQR 0,08-0,15) (10 – kontynuowało sterydoterapię, 3 wymagało rozpoczęcia leczenia pomiędzy czasem 0 i 1). 11 pacjentów kontynuowało leczenie metyloprednizolonem w średniej dawce 0,08 mg/kg/24h (IQR 0,06-0,15) aż do drugiego badania kontrolnego. Podczas obu wizyt kontrolnych 3 pacjentom podano preparat octanu metyloprednizolonu dostawowo.

*Wykazano, że wstępnie zastosowane dawki GKS w momencie rozpoznania choroby były znacząco wyższe niż w czasie pierwszego (test Wilcoxon,  $p=0,003$ ) oraz drugiego badania kontrolnego (test Wilcoxon,  $p<0,001$ ).*

*Nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy pomiędzy dawkami GKS stosowanymi w czasie 1 i 2 (test Wilcoxon,  $p=0,767$ ).*

Dwóch pacjentów w czasie trwania badania wymagało modyfikacji leczenia w zakresie zmiany stosowanego leku modyfikującego. U pierwszego z dzieci dołączono do metotreksatu i metyloprednizolonu preparat cyklosporyny A. Natomiast u drugiego z pacjentów zastąpiono preparat sulfasalazyny cyklosporyną A.

W grupie I u 19 pacjentów, którzy zgłosili się do Kliniki wykonano po średnio  $6,18 \pm 1,17$  miesiąca badania kontrolne. W kolejnej wizycie kontrolnej uczestniczyło 20 pacjentów. Druga ewaluacja odbyła się po średnio  $6,35 \pm 1,94$  miesiąca od pierwszej. Oba badania kontrolne obejmowały ocenę parametrów laboratoryjnych, stężeń cytokin prozapalnych oraz wartości wskaźników aktywności choroby i stanu funkcjonalnego (**Tabela 16**) w porównaniu z ich wartościami wyjściowymi. W odniesieniu do wskaźników stanu zapalnego oraz parametrów morfologii krwi i stężeń cytokin dokonano również porównań z grupą kontrolną. Dodatkowo podczas obu wizyt oceniano aktywność choroby według Wallace i poprawę stanu klinicznego w oparciu o kryteria Gianniniego.

**Tabela 16.** Grupa I – wyniki uzyskane w pierwszym i drugim badaniu kontrolnym (parametry laboratoryjne, stężenie cytokin prozapalnych, wskaźniki aktywności choroby i wskaźnik niepełnosprawności).

	Grupa I (n=19) – czas 1		Grupa I (n=20) – czas 2	
	Mediana	IQR	Mediana	
OB [mm/h]	12,0	7,0-32,0	8,5	6,0-17,5
CRP [mg/dl]	0,42	0,38-0,50	0,39	0,34-0,60
WBC [G/l]	7,21	6,81-9,99	7,61	6,16-9,23
RBC [T/l]	4,50	4,13-4,92	4,54	4,27-4,66
HGB [g/dl]	12,80	11,90-14,10	12,85	12,40-13,40
PLT [G/l]	352,50	271,00-415,00	313,00	269,00-394,50
TNF- $\alpha$ [pg/ml]	0,00	0,00-9,26	2,16	0,00-16,37
IL-1 $\beta$ [pg/ml]	1,59	0,60-2,02	0,93	0,34-1,90
IL-6 [pg/ml]	1,56	1,10-3,90	1,41	0,88-2,51
całkowita ocena aktywności choroby przez lekarza [cm]	1,0	1,0-2,0	1,0	1,0-2,0
całkowita ocena dobrego samopoczucia pacjenta [cm]	1,0	1,0-2,0	1,0	0,0-2,0
liczba stawów z czynnym zapaleniem	0,5	0,5-1,0	0,0	0,0-1,0
liczba stawów z ograniczeniem ruchomości	0,5	0,5-1,0	0,0	0,0-1,0
ocena stanu funkcjonalnego według CHAQ	0,125	0,000-0,250	0,000	0,000-0,188

W pierwszym badaniu kontrolnym nadal u znacznego odsetka (58,0%) pacjentów z grupy I wartość OB była podwyższona. Podwyższoną wartość OB obserwowano u 40,0% pacjentów podczas drugiej wizyty kontrolnej.

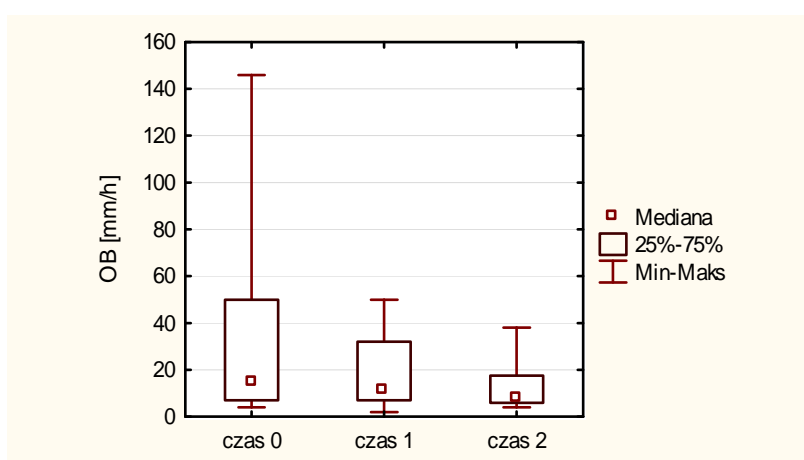
*W analizowanej grupie pacjentów stwierdzono istotną statystycznie różnicę na poziomie istotności 0.05 pomiędzy wartością OB w momencie włączenia do badania i w czasie 1 oraz w momencie włączenia do badania i w czasie 2 (ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,*

$p < 0,001$ ), przy czym OB w obu badaniach kontrolnych nie różniło się istotnie statystycznie (**Rycina 19**).

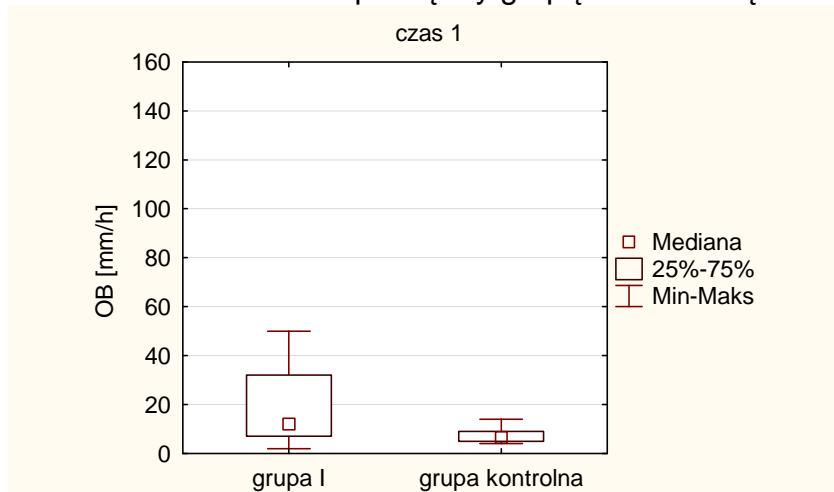
W odniesieniu do grupy kontrolnej wykazano natomiast znamiennej różnicę pomiędzy wartością OB w grupie I w czasie 1 (test Kruskala-Wallis z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p = 0,009$ ) – **Rycina 20**.

Nie wykazano istotnej statystycznie różnicy między wartością OB w grupie I i w grupie kontrolnej w czasie 2 (test Kruskala-Wallis z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p = 0,158$ ).

**Rycina 19.** Porównanie wartości OB w zależności od czasu, w grupie I.



**Rycina 20.** Porównanie wartości OB pomiędzy grupą I i kontrolną w czasie 1.



U około 20,0% dzieci grupy I stwierdzono podwyższone stężenie białka CRP podczas pierwszej i drugiej wizyty kontrolnej.

Nie stwierdzono różnicy na poziomie istotności 0.05 pomiędzy stężeniami CRP w momencie włączenia do badania i w czasie 1 oraz w momencie włączenia

do badania i w czasie 2, a także w obu badaniach kontrolnych (ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,060$ ).

Nie wykazano istotnej statystycznie różnicy pomiędzy stężeniem CRP w grupie I i w grupie kontrolnej w czasie 1 (test Kruskala-Wallisa z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,088$ ) oraz w czasie 2 (test Kruskala-Wallisa z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,552$ ).

W badanej grupie, w czasie 1, tylko u czworga dzieci występowało stężenie krwinek białych przekraczające normę. U wszystkich tych pacjentów obserwowano utrzymujące się podwyższone wartości wskaźników stanu zapalnego, z którego to powodu kontynuowano u nich sterydoterapię w średniej dawce podtrzymującej 0,15 mg/kg/24h. W drugim badaniu kontrolnym stężenie krwinek białych u wszystkich dzieci znajdowało się w zakresie wartości referencyjnych.

Nie obserwowano różnicy istotnej statystycznie pomiędzy stężeniami WBC w grupie I w momencie włączenia do badania i w czasie 1 oraz w momencie włączenia do badania i w czasie 2, a także w obu badaniach kontrolnych (ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,076$ ).

Nie stwierdzono różnicy istotnej statystycznie stężeń WBC w grupie I i w grupie kontrolnej w czasie 1 (test Kruskala-Wallisa z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,091$ ) oraz w czasie 2 (test Kruskala-Wallisa z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,057$ ).

W pierwszym badaniu kontrolnym tylko u trojga pacjentów rozpoznano niedokrwistość. Jednym z nich był pacjent nr 3 (**Tabela 14**), u którego nadal obserwowano podwyższone wartości wskaźników stanu zapalnego (OB 50 mm/h, CRP 1,47 mg/dl), nadpłytkowość (458 G/l) i jedno z najwyższych stężeń IL-6 w surowicy krwi (25,048 pg/ml). Niedokrwistość występowała również u trójki dzieci w drugim badaniu kontrolnym.

Nie obserwowano różnicy istotnej statystycznie pomiędzy stężeniami RBC w grupie I w momencie włączenia do badania i w czasie 1 oraz w momencie włączenia do badania i w czasie 2, a także w obu badaniach kontrolnych (ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,420$ ).

Nie wykazano znamiennej różnicy pomiędzy stężeniem RBC w grupie I i w grupie kontrolnej w czasie 1 (test Kruskala-Wallisa z opcją wielokrotnych

porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,907$ ) i w czasie 2 (test Kruskala-Wallisa z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,945$ ).

Nie obserwowano różnicy istotnej statystycznie pomiędzy stężeniami hemoglobiny w grupie I w momencie włączenia do badania i w czasie 1 oraz w momencie włączenia do badania i w czasie 2, a także w obu badaniach kontrolnych (ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,081$ ).

Nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy stężeń hemoglobiny pomiędzy grupą I i grupą kontrolną w czasie 1 (test Kruskala-Wallisa z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,736$ ) oraz w czasie 2 (test Kruskala-Wallisa z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,449$ ).

W obu badaniach kontrolnych nadpłytkowość występowała u pięciorga pacjentów.

W analizowanej grupie pacjentów stwierdzono istotną statystycznie różnicę na poziomie istotności 0.05 pomiędzy stężeniem płytek krwi w momencie włączenia do badania i w czasie 2 (ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,017$ ), przy czym nie wykazano takiej różnicy dla czasu 0 i 1 oraz czasu 1 i 2.

Nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy stężeń płytek krwi pomiędzy grupą I i grupą kontrolną w czasie 1 (test Kruskala-Wallisa z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,094$ ) oraz w czasie 2 (test Kruskala-Wallisa z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,166$ ).

W badanej grupie dzieci aktywność choroby oceniono w pierwszym i drugim badaniu kontrolnym jako niską. Wartości poszczególnych parametrów aktywności choroby przedstawia **Tabela 16**. W pierwszym badaniu kontrolnym 6 pacjentów spełniało kryteria Wallace dla choroby nieaktywnej klinicznie, a w drugim – 11.

Wskaźnik niepełnosprawności wg CHAQ w pierwszym i drugim badaniu kontrolnym poprawił się o ponad 0,13 w stosunku do jego wartości w momencie rozpoznania choroby (**Tabela 13, Tabela 16**), co wg Dempstera (143) interpretuje się jako klinicznie znaczącą poprawę. Jego średnia wartość u pacjentów z grupy I w czasie 1 odpowiadała łagodnemu stopniowi niepełnosprawności, a w czasie 2 – pełnej sprawności.

W analizowanej grupie pacjentów stwierdzono istotną statystycznie różnicę pomiędzy całkowitą oceną aktywności choroby przez lekarza w momencie włączenia



do badania i w czasie 1 oraz w momencie włączenia do badania i w czasie 2 (ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p < 0,001$ ).

Wykazano istotną statystycznie różnicę pomiędzy całkowitą oceną dobrego samopoczucia pacjenta dokonaną przez rodzica lub chore dziecko w momencie włączenia do badania i w czasie 1 oraz w momencie włączenia do badania i w czasie 2 (ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p < 0,001$ ).

Stwierdzono istotną statystycznie różnicę pomiędzy liczbą stawów z czynnym zapaleniem w momencie włączenia do badania i w czasie 1 oraz w momencie włączenia do badania i w czasie 2 (ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p < 0,001$ ).

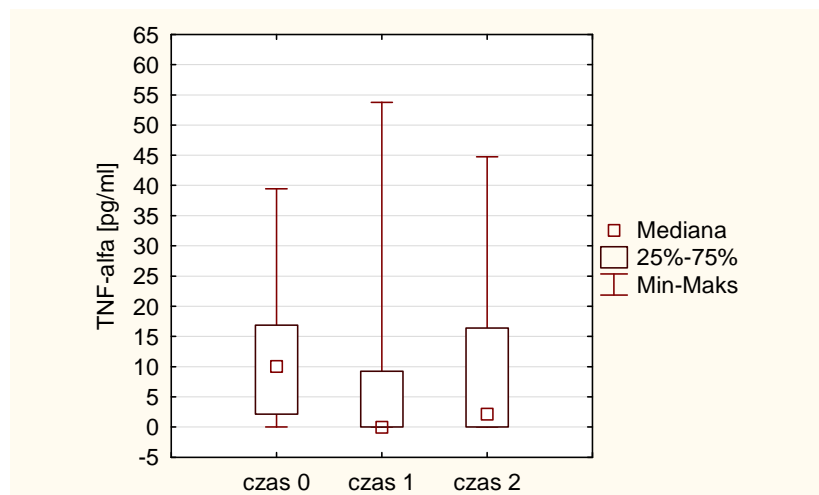
Wykazano istotną statystycznie różnicę pomiędzy liczbą stawów z ograniczeniem ruchomości w momencie włączenia do badania i w czasie 1 oraz w momencie włączenia do badania i w czasie 2 (ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p < 0,001$ ).

W analizowanej grupie pacjentów stwierdzono istotną statystycznie różnicę pomiędzy wskaźnikiem niepełnosprawności wg CHAQ w momencie włączenia do badania i w czasie 1 oraz w momencie włączenia do badania i w czasie 2 (ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p < 0,001$ ).

W badanej grupie podczas terapii monitorowano przede wszystkim stężenia cytokin prozapalnych w surowicy krwi. Kontrolne badania wykazały duże różnice ich stężeń pomiędzy poszczególnymi pacjentami (przy zachowaniu indywidualnego wyjściowego profilu cytokin prozapalnych), jednak zmiany ich średnich stężeń w czasie były niewielkie.

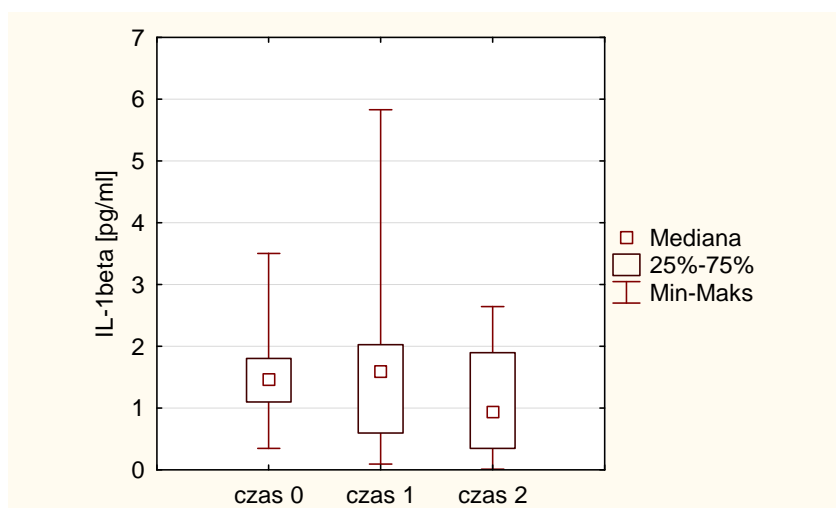
Nie obserwowano różnicy istotnej statystycznie pomiędzy stężeniami TNF- $\alpha$  w grupie I w momencie włączenia do badania i w czasie 1 oraz w momencie włączenia do badania i w czasie 2, a także w obu badaniach kontrolnych (ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p = 0,070$ ) – **Rycina 21.**

**Rycina 21.** Grupa I – porównanie stężeń TNF- $\alpha$  w zależności od czasu.



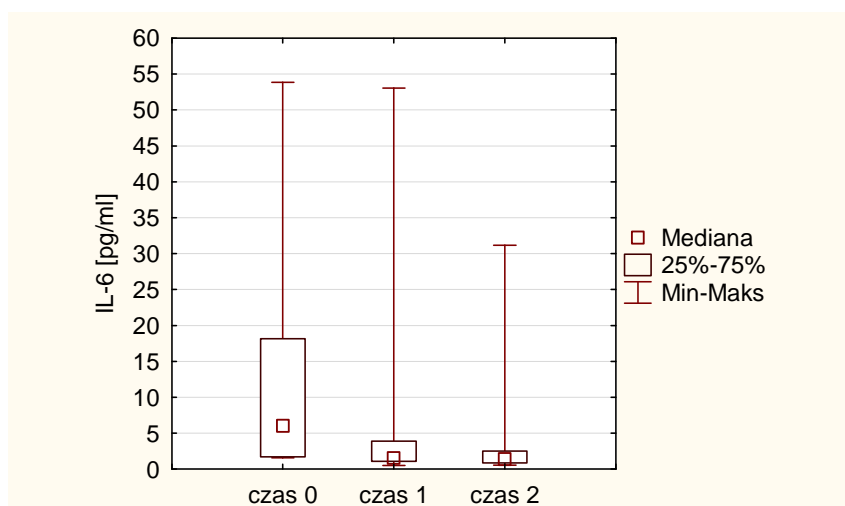
Nie stwierdzano statystycznie istotnej różnicy pomiędzy stężeniami IL-1 $\beta$  w grupie I w momencie włączenia do badania i w czasie 1 oraz w momencie włączenia do badania i w czasie 2, a także w obu badaniach kontrolnych (ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,607$ ) – **Rycina 22**.

**Rycina 22.** Grupa I – porównanie stężeń IL-1 $\beta$  w zależności od czasu.



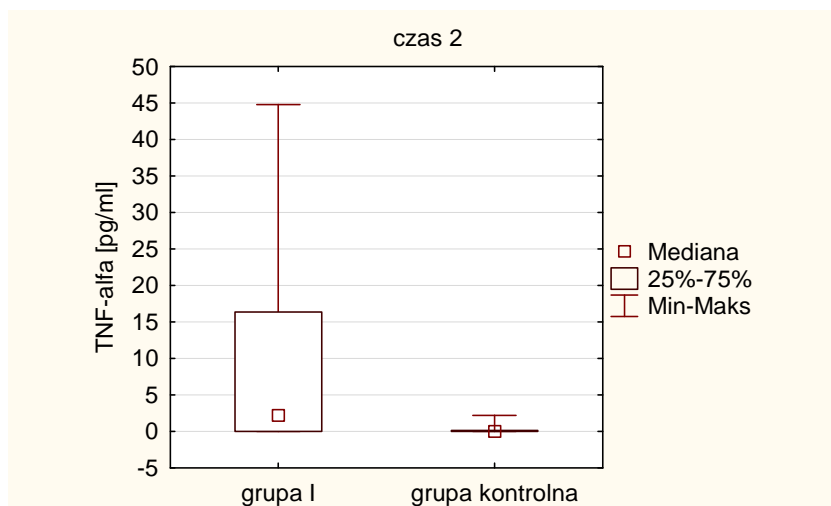
W analizowanej grupie pacjentów stwierdzono istotną statystycznie różnicę na poziomie istotności 0.05 pomiędzy stężeniem IL-6 w momencie włączenia do badania i w czasie 2 (ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,017$ ), przy czym nie wykazano takiej różnicy dla czasu 0 i 1 oraz czasu 1 i 2 – **Rycina 23**.

**Rycina 23.** Grupa I – porównanie stężeń IL-6 w zależności od czasu.



W odniesieniu do grupy kontrolnej stężenie TNF- $\alpha$  w czasie 2 było istotnie wyższe (test Manna-Whitneya,  $p=0,015$ ) – **Rycina 24**. Dla pozostałych badanych cytokin w grupie I różnice stężeń były nieistotne statystycznie: w czasie 1 (TNF- $\alpha$  – test Manna-Whitneya,  $p=0,224$ ; IL-1 $\beta$  – test Manna-Whitneya,  $p=0,965$ ; IL-6 – test Manna-Whitneya,  $p=0,891$ ) oraz w czasie 2 (IL-1 $\beta$  – test Manna-Whitneya,  $p=0,132$ ; IL-6 – test Manna-Whitneya,  $p=0,492$ ).

**Rycina 24.** Porównanie stężeń TNF- $\alpha$  pomiędzy grupą I i grupą kontrolną w czasie 2.



Dodatkowo przeanalizowano stężenia cytokin prozapalnych w obu badaniach kontrolnych w zależności od obecności ANA (w mianie  $\geq 1:160$ ).

Nie stwierdzano statystycznie istotnej różnicy pomiędzy stężeniami cytokin prozapalnych u pacjentów z dodatnimi ANA w porównaniu z dziećmi z mianem ANA  $< 1:160$  w obu badaniach kontrolnych (**Tabela 17**).

**Tabela 17.** Porównanie stężeń cytokin prozapalnych w grupie I w czasie 1 i 2 w zależności od obecności przeciwciał przeciwjądrowych (wartości przedstawiają mediany i rozstępy kwartyłowe; n – liczebność grupy)

Grupa I			Test Manna-Whitneya
Czas 1	ANA dodatnie (n=8)	ANA ujemne (n=11)	
TNF- $\alpha$ [pg/ml]	0,19 (0,00-9,26)	0,00 (0,00-3,93)	p=0,620
IL-1 $\beta$ [pg/ml]	1,69 (0,76-2,23)	1,43 (0,60-1,91)	p=0,710
IL-6 [pg/ml]	1,57 (0,86-4,81)	1,56 (1,10-3,34)	p=0,901
Czas 2	ANA dodatnie (n=10)	ANA ujemne (n=10)	
TNF- $\alpha$ [pg/ml]	1,08 (0,00-5,71)	4,82 (0,00-23,47)	p=0,520
IL-1 $\beta$ [pg/ml]	0,95 (0,60-1,60)	0,93 (0,34-2,19)	p=0,791
IL-6 [pg/ml]	1,55 (0,88-2,22)	1,16 (0,88-9,54)	p=0,967

Oceniono także stężenia TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  i IL-6 pomiędzy pacjentami w aktywnej fazie MIZS, a tymi którzy spełniali kryteria choroby nieaktywnej – **Tabela 18**.

**Tabela 18.** Porównanie stężeń cytokin prozapalnych w grupie I w fazie aktywnej i nieaktywnej choroby (wartości przedstawiają mediany i rozstępy kwartyłowe; n – liczebność grupy)

Grupa I		
	Faza aktywna (n=46)	Faza nieaktywna (n=17)
TNF- $\alpha$ [pg/ml]	3,93 (0,0-15,37)	2,16 (0,00-9,26)
IL-1 $\beta$ [pg/ml]	1,46 (0,93-1,86)	0,76 (0,34-1,79)
IL-6 [pg/ml]	2,57 (1,56-11,46)	1,05 (0,88-1,65)

*Porównując stężenia cytokin prozapalnych w surowicy pomiędzy pacjentami z chorobą klinicznie nieaktywną i aktywną (niezależnie od czasu pobrania) stwierdzono statystycznie istotnie wyższe stężenia IL-6 u pacjentów w fazie aktywnej choroby (test Manna-Whitneya,  $p=0,001$ ). Nie wykazano takiej różnicy dla TNF- $\alpha$  i IL-1 $\beta$  (TNF- $\alpha$  - test Manna-Whitneya,  $p=0,786$ ; IL-1 $\beta$  – test Manna-Whitneya,  $p=0,173$ ).*

W analizowanej grupie, w trakcie pierwszego i drugiego badania kontrolnego, dokonano oceny korelacji pomiędzy stężeniami cytokin prozapalnych a parametrami laboratoryjnymi i wskaźnikami aktywności choroby oraz stanu funkcjonalnego.

*Nie wykazano zależności pomiędzy stężeniem TNF- $\alpha$  w surowicy krwi a którymkolwiek z badanych parametrów zarówno w pierwszym, jak i w drugim badaniu kontrolnym (korelacja porządku rang Spearmana,  $p>0,05$ ).*

Nie stwierdzano korelacji pomiędzy stężeniem IL-1 $\beta$  a żadnym z analizowanych parametrów w obu badaniach kontrolnych (korelacja porządku rang Spearmana,  $p>0,05$ ).

Stężenie IL-6 w czasie 1 korelowało z: CRP ( $r_s=0,52$ ), WBC ( $r_s=0,67$ ), liczba płytek krwi ( $r_s=0,56$ ) (korelacja porządku rang Spearmana,  $p<0,05$ ).

Korelacje z największą liczbą zmiennych stwierdzano dla IL-6 w drugim badaniu kontrolnym: CRP ( $r_s=0,52$ ), WBC ( $r_s=0,45$ ), całkowita ocena aktywności choroby przez lekarza ( $r_s=0,46$ ), liczba stawów z czynnym stanem zapalnym ( $r_s=0,45$ ), liczba stawów z ograniczeniem ruchomości ( $r_s=0,53$ ) (korelacja porządku rang Spearmana,  $p<0,05$ ).

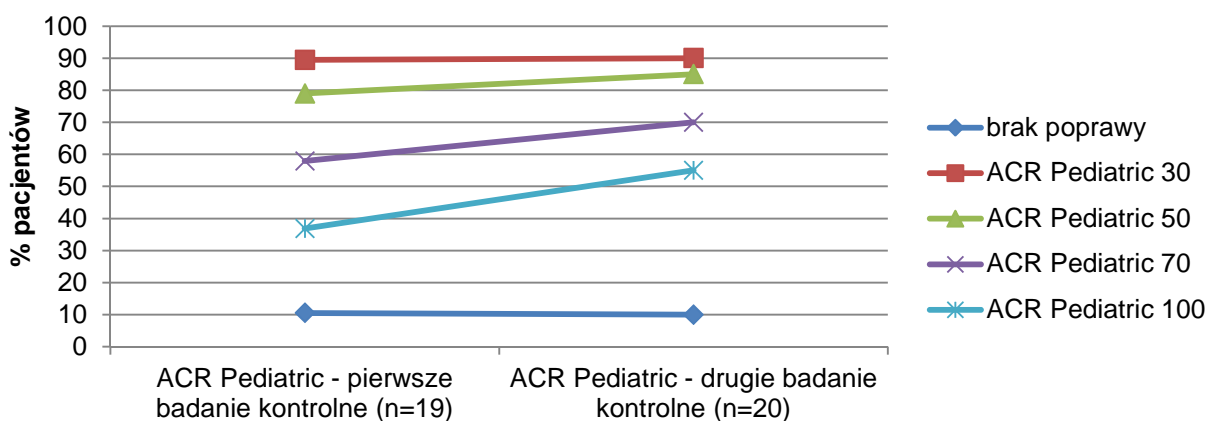
Nie wykazano korelacji pomiędzy stężeniami badanych cytokin prozapalnych ani dla czasu 1, ani dla czasu 2 (korelacja porządku rang Spearmana,  $p>0,05$ ).

W grupie I, po pierwszym półroczu leczenia, w badaniu nadal uczestniczyło 19 dzieci z czego poprawę ACR Pediatric 30 obserwowano u 89,5% pacjentów. ACR Pediatric 50 stwierdzono u 79,0% dzieci, ACR Pediatric 70 u 57,9% pacjentów, a poprawę o 100% stwierdzano u 36,84% badanych. 10,5% pacjentów nie osiągnęło poprawy po leczeniu (**Rycina 25**).

W kolejnym badaniu kontrolnym przeprowadzonym u 20 pacjentów po około 1 roku terapii brak odpowiedzi na leczenie stwierdzano u 10% dzieci. Poprawę ACR Pediatric 30 osiągnęło 90% badanych, ACR Pediatric 50 – 85% dzieci, a ACR Pediatric 70 stwierdzano u 70% pacjentów. Odsetek chorych, którzy całkowicie odpowiedzieli na leczenie wynosił 55% (**Rycina 25**).

Większość pacjentów, którzy spełniali kryteria nieaktywnej klinicznie choroby osiągnęła poprawę ACR Pediatric 100 lub 70. Wyjątek stanowił jeden pacjent, u którego w momencie włączenia do badania choroba miała na tyle niewielką aktywność, że nawet dobra odpowiedź na leczenie (normalizacja stężenia CRP) według kryteriów Gianniniego była interpretowana jako brak poprawy klinicznej.

**Rycina 25.** Grupa I - odpowiedź na leczenie konwencjonalne w pierwszym i drugim badaniu kontrolnym.



### 3. Grupa II – pacjenci zakwalifikowani do leczenia etanerceptem

W badanej grupie czas od wystąpienia objawów do postawienia rozpoznania młodzieńczego idiopatycznego zapalenia stawów i włączenia leczenia modyfikującego przebieg choroby wynosił średnio  $5,53 \pm 13,28$  miesiąca (mediana=2,00 miesiące). Diagnozę postawiono w wieku średnio  $8,47 \pm 4,95$  lat. Dzieci z postacią nielicznostawową MIZS chorowały w młodszym wieku (mediana 1,5 roku, IQR 1,21-4,09) w porównaniu do pacjentów o wielostawowym początku choroby (mediana 5,5 roku; IQR 1,50-11,00). Jednak prawdopodobnie ze względu na zbyt małą liczebność grup nie wykazano statystycznie istotnej różnicy w wieku zachorowania pomiędzy dziećmi z obu podgrup (test Manna-Whitneya;  $p=0,115$ ).

W momencie włączenia do badania wszyscy pacjenci byli w trakcie terapii LMPCh (przed rozpoczęciem leczenia biologicznego). 10 pacjentów otrzymywało metotreksat w monoterapii w średniej dawce  $10,68 \pm 2,37$  mg/m<sup>2</sup>/tydz.. Siedmiu dzieci otrzymywało MTX (w średniej dawce  $11,34 \pm 4,27$  mg/kg/tydz.) w skojarzeniu z cyklosporyną A (w średniej dawce  $2,76 \pm 0,78$  mg/kg/24h). U dwojga pacjentów stosowano cyklosporynę A w monoterapii (w dawkach 2,6 mg/kg i 2,5 mg/kg). Dodatkowo 15 pacjentów wymagało sterydoterapii w średniej dawce  $0,13 \pm 0,13$  mg/kg/24h, a u 13 podano dostawowo preparat octanu metyloprednizolonu.

W chwili włączenia do badania dokonano analizy parametrów laboratoryjnych i stężeń cytokin prozapalnych grupy II i grupy kontrolnej oraz wartości wskaźników aktywności choroby i stanu funkcjonalnego pacjentów kwalifikowanych do leczenia etanerceptem (**Tabela 19**). Dodatkowo porównano wartości tych parametrów w zależności od początku MIZS w badanej grupie (**Tabela 20**).

**Tabela 19.** Charakterystyka grupy II - pacjenci, którzy zostali zakwalifikowani do leczenia etanerceptem (parametry laboratoryjne, stężenie cytokin prozapalnych, wskaźniki aktywności choroby i wskaźnik niepełnosprawności)

Czas 0	Grupa II (n=19)		Grupa kontrolna (n=18)	
	Mediana	IQR	Mediana	IQR
OB [mm/h]	34,0	16,0-70,0	6,5	5,0-9,0
CRP [mg/dl]	1,49	0,42-4,20	0,38	0,33-0,41
WBC [G/l]	8,48	6,90-10,80	6,23	5,09-7,28
RBC [T/l]	4,57	4,19-4,92	4,67	4,39-4,76
HGB [g/dl]	12,50	11,8-12,8	13,30	12,2-13,9
PLT [G/l]	372,00	326,00-425,00	272,00	226,00-312,00
TNF- $\alpha$ [pg/ml]	2,16	0,00-10,48	0,00	0,00-0,12
IL1 $\beta$ [pg/ml]	1,64	0,60-2,38	1,58	1,56-1,60
IL6 [pg/ml]	5,12	1,56-10,93	1,90	1,28-2,04
całkowita ocena aktywności choroby przez lekarza [cm]	4,0	3,0-6,0		
całkowita ocena dobrego samopoczucia pacjenta [cm]	4,0	3,0-6,0		
liczba stawów z czynnym zapaleniem	3,0	1,0-5,0		
liczba stawów z ograniczeniem ruchomości	4,0	1,0-7,0		
ocena stanu funkcjonalnego według CHAQ	0,500	0,375-0,875		

**Tabela 20.** Charakterystyka podgrup nieliczno- i wielostawowej w grupie II w czasie 0 (parametry laboratoryjne, stężenie cytokin prozapalnych, wskaźniki aktywności choroby i wskaźnik niepełnosprawności)

Czas 0	Nielicznostawowa (n=8)		Wielostawowa (n=11)	
	Mediana	IQR	Mediana	IQR
OB [mm/h]	17,0	14,5-30,0	42,0	23,0-86,0
CRP [mg/dl]	0,91	0,41-1,97	2,94	1,27-6,15
WBC [G/l]	7,03	6,72-8,27	10,43	7,42-13,89
RBC [T/l]	4,55	4,37-4,76	4,57	3,90-4,97
HGB [g/dl]	12,70	12,40-12,90	12,40	10,70-12,50
PLT [G/l]	360,00	322,00-377,50	410,00	366,00-511,00
TNF- $\alpha$ [pg/ml]	5,967	0,00-50,70	0,000	0,00-7,48
IL1 $\beta$ [pg/ml]	1,494	0,51-2,14	1,642	0,60-2,54
IL6 [pg/ml]	3,231	1,58-6,50	5,861	1,56-37,34
całkowita ocena aktywności choroby przez lekarza [cm]	3,0	3,0-4,5	5,0	4,0-6,0
całkowita ocena dobrego samopoczucia pacjenta [cm]	3,0	3,0-4,0	5,0	4,0-6,0
liczba stawów z czynnym zapaleniem	1,0	1,0-1,0	5,0	3,0-6,0
liczba stawów z ograniczeniem ruchomości	1,0	1,0-1,0	5,0	4,0-14,0
ocena stanu funkcjonalnego według CHAQ	0,375	0,250-0,500	0,825	0,500-1,250

Przed włączeniem do leczenia etanerceptu aż u 89,5% pacjentów wartość OB była podwyższona.

*Wykazano znamiennej różnicę pomiędzy wartością OB w grupie II i w grupie kontrolnej (test Kruskala-Wallisa z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p < 0,001$ ).*

*Istotnie wyższe statystycznie wartości OB występowały u dzieci z postacią wielostawową choroby (test Manna-Whitneya,  $p = 0,023$ ).*

U 73,7% dzieci ze świeżo rozpoznany MIZS stwierdzano podwyższone stężenie CRP.

*Wykazano znamiennej różnicę między stężeniem CRP w grupie II i w grupie kontrolnej (test Kruskala-Wallisa z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p < 0,001$ ).*

*Stężenia CRP w podgrupach o różnym początku choroby nie różniły się istotnie statystycznie (test Manna-Whitneya,  $p = 0,107$ ).*

Grupę badaną podzielono na poszczególne przedziały wiekowe (2÷6 r.ż., 6÷12 r.ż., >12 r.ż.), aby stwierdzić u jakiego odsetka pacjentów wartości poszczególnych składowych morfologii krwi obwodowej odbiegały od wartości referencyjnych laboratorium.

Tylko u czworga dzieci stężenie krwinek białych było podwyższone. Średnia liczba WBC u pacjentów ze świeżo rozpoznany chorobą była wyższa niż w grupie kontrolnej (**Tabela 19**).

*Stwierdzono istotną statystycznie różnicę stężeń krwinek białych pomiędzy grupą II i grupą kontrolną (test Kruskala-Wallisa z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p = 0,002$ ).*

W badanej grupie u pięciorga pacjentów stwierdzono obniżone stężenie krwinek czerwonych.

*Nie wykazano znamiennej różnicy pomiędzy stężeniem RBC w grupie II i w grupie kontrolnej (test Kruskala-Wallisa z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p = 0,801$ ).*

U sześciorga dzieci z grupy badanej występowała niedokrwistość. Wszyscy pacjenci z niedokrwistością prezentowali wielostawową postać choroby.

*Nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy stężeń hemoglobiny pomiędzy grupą II i grupą kontrolną (test Kruskala-Wallisa z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p = 0,147$ ).*



Nadpłytkowość stwierdzono u 7 pacjentów z grupy badanej.

Wykazano znamiennej różnicę między stężeniem płytek krwi (test Kruskala-Wallis z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p < 0,001$ ) w grupie II i grupie kontrolnej.

Stężenia WBC, RBC, Hb i PLT w podgrupach o różnym początku choroby nie różniły się istotnie statystycznie (WBC - test Manna-Whitneya,  $p = 0,052$ ; RBC - test Manna-Whitneya,  $p = 0,967$ ; Hb - test Manna-Whitneya,  $p = 0,091$ ; PLT - test Manna-Whitneya,  $p = 0,052$ ).

U czworga pacjentów z grupy II obserwowano współwystępowanie niedokrwistości, leukocytozy i nadpłytkowości (**Tabela 21**). Jeden pacjent w wynikach laboratoryjnych prezentował niedokrwistość z nadpłytkowością (**Tabela 21**), jeden – izolowaną niedokrwistość i jeden – izolowaną podwyższoną liczbę płytek krwi. Wszystkie wymienione dzieci należały do podgrupy o wielostawowym początku MIZS (**Tabela 21**).

**Tabela 21.** Charakterystyka pacjentów najcięższą postacią biochemiczną w grupie II (na czerwono zaznaczono wartości najbardziej odbiegające od normy, na zielono – drugie w kolejności, na niebiesko – trzecie w kolejności).

	Pacjent 1	Pacjent 2	Pacjent 3	Pacjent 4	Pacjent 5
postać choroby	wielostawowa RF-	wielostawowa RF+	wielostawowa RF-	wielostawowa RF-	wielostawowa RF-
wiek	10,83 lat	15,25 lat	7,42	16,42 lat	6,08 lat
płeć	męska	żeńska	żeńska	męska	żeńska
uveitis	nie	nie	nie	nie	tak
ANA	ujemne	dodatnie	ujemne	dodatnie	dodatnie
WBC [G/l]	15,50	11,98	16,02	13,89	10,43
Hb [g/dl]	10,70	11,80	10,80	10,70	9,8
PLT [G/l]	474	411	511	410	<b>658</b>
OB [mm/h]	<b>125</b>	42	<b>86</b>	<b>123</b>	42
CRP [mg/dl]	<b>14,75</b>	2,22	<b>6,15</b>	<b>18,15</b>	5,93
TNF- $\alpha$ [pg/ml]	0,000	12,210	2,157	0,000	7,484
IL-1 $\beta$ [pg/ml]	0,679	1,880	0,427	1,838	0,344
IL-6 [pg/ml]	<b>37,636</b>	5,120	<b>42,620</b>	<b>98,567</b>	2,913
MTX [mg/m <sup>2</sup> ]	6,8	7,3	9,4	9,1	20,0
GKS [mg/kg]	0,26	0,18	0,13	0,54	0,20
CsA [mg/kg]	2,3	-	-	-	2,0

W grupie II średnia aktywność choroby w ocenie lekarza i pacjenta przed rozpoczęciem leczenia etanerceptem była podobna i wynosiła odpowiednio  $4,3 \pm 2,0$  cm oraz  $4,3 \pm 1,9$  cm. Średnie wartości obu wskaźników były zbliżone również przy uwzględnieniu podziału na podgrupy o różnym początku choroby (nielicznostawowa vs wielostawowa) – **Tabela 20**.

*Nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy w całkowitej ocenie aktywności choroby dokonanej przez lekarza pomiędzy pacjentami z postacią nielicznostawową i wielostawową MIZS (test Manna-Whitneya,  $p=0,052$ ).*

*Nie wykazano statystycznie istotnej różnicy w całkowitej ocenie dobrego samopoczucia pacjenta pomiędzy dziećmi z postacią nielicznostawową i wielostawową MIZS (test Manna-Whitneya,  $p=0,069$ ).*

W grupie II obserwowano, że średnia liczba stawów z aktywnym procesem zapalnym była niższa niż liczba stawów z ograniczeniem ruchomości (**Tabela 19**), przy czym po stratyfikacji na podgrupy o różnym typie początku MIZS stwierdzono, że zależność ta dotyczy tylko pacjentów z postacią wielostawową choroby (**Tabela 20**).

*Wykazano istotną statystycznie różnicę pomiędzy liczbą stawów z czynnym zapaleniem a liczbą stawów z ograniczeniem ruchomości u pacjentów z postacią wielostawową MIZS (test Wilcoxon,  $p=0,018$ ).*

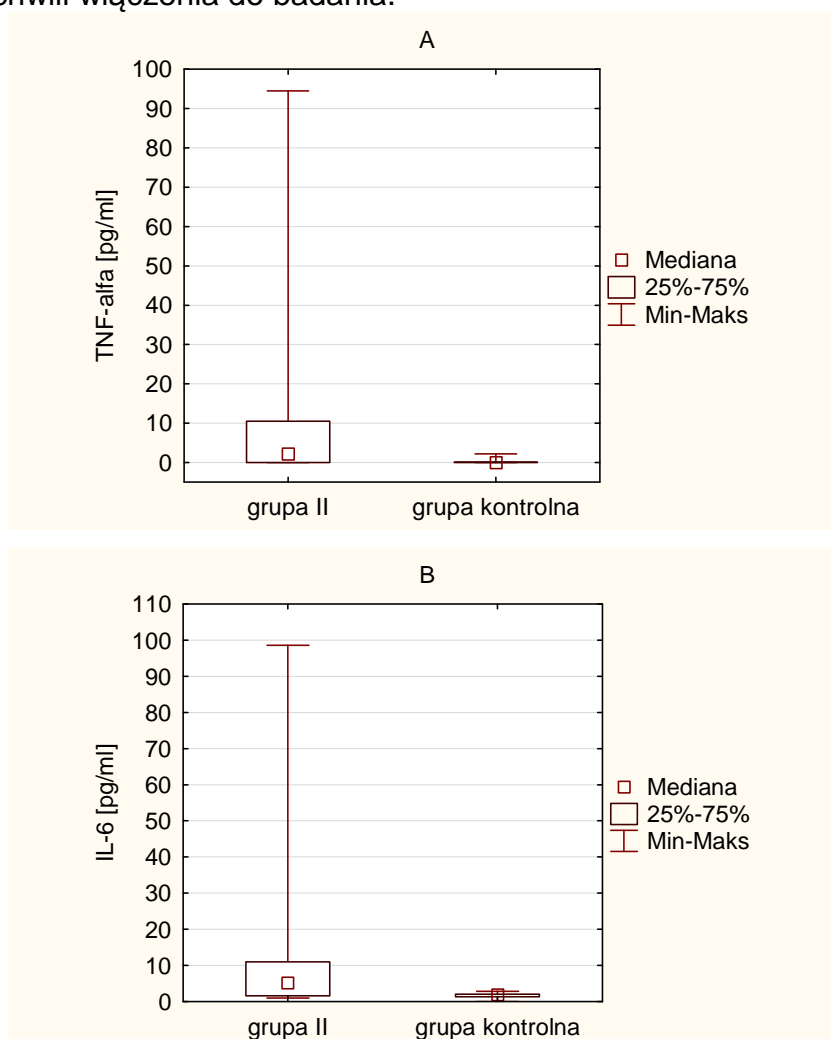
Stopień niepełnosprawności ustalony na podstawie kwestionariusza CHAQ dla całej grupy II oraz dla podgrupy ze nielicznostawową postacią choroby określono jako „łagodny”. Wskaźnik stanu funkcjonalnego dla pacjentów o wielostawowym początku choroby był wyższy i wg Dempstera interpretowany jako „łagodny do umiarkowanego” (143).

Przed włączeniem leczenia biologicznego określono profil cytokin prozapalnych indywidualnie dla każdego pacjenta oraz dla całej grupy badanej. W grupie II w porównaniu z grupą kontrolną stwierdzono znamienne wyższe stężenia tylko IL-6 oraz TNF- $\alpha$ . Mediana stężenia IL-1 $\beta$  w surowicy krwi u pacjentów zakwalifikowanych do leczenia etanerceptem była bardzo zbliżona do mediany u dzieci z grupy kontrolnej (**Tabela 19**).

*Istotne statystycznie różnice wykazano dla TNF- $\alpha$  (test Manna-Whitneya,  $p=0,048$ ) i IL-6 (test Manna-Whitneya,  $p=0,004$ ) – **Rycina 27**.*

*Nie wykazano istotnej statystycznie różnicy stężeń IL-1 $\beta$  pomiędzy grupą II a grupą kontrolną (test Manna-Whitneya,  $p=0,595$ ).*

**Rycina 26.** Porównanie stężenia TNF- $\alpha$  (A) i IL-6 (B) między grupą II i grupą kontrolną w chwili włączenia do badania.



W obrębie grupy II przed włączeniem leczenia anty-TNF $\alpha$  dokonano dodatkowo analizy stężeń cytokin prozapalnych w zależności od typu początku choroby oraz w zależności od obecności ANA (w mianie  $\geq 1:160$ ). Wyniki przeprowadzonych analiz przedstawiono w **Tabeli 20** i **Tabeli 22**.

**Tabela 22.** Porównanie stężeń cytokin prozapalnych w grupie II w czasie 0 w zależności od obecności przeciwciał przeciwjądrowych (wartości przedstawiają mediany i rozstęp kwartylowe; n – liczebność grupy).

	Grupa II		Test Manna-Whitneya
	ANA dodatnie (n=12)	ANA ujemne (n=7)	
TNF- $\alpha$ [pg/ml]	1,97 (0,00-10,11)	2,16 (0,00-10,48)	p=0,899
IL-1 $\beta$ [pg/ml]	1,88 (0,51-2,62)	1,10 (0,60-1,64)	p=0,311
IL-6 [pg/ml]	4,19 (2,24-9,34)	5,86 (1,56-37,64)	p=0,933

Nie wykazano istotnej statystycznie różnicy stężeń cytokin prozapalnych pomiędzy podgrupą o wielostawowym początku choroby a podgrupą z postacią nielicznostawową: TNF- $\alpha$  (test Manna-Whitneya,  $p=0,302$ ), IL-1 $\beta$  (test Manna-Whitneya,  $p=1,000$ ), IL-6 (test Manna-Whitneya,  $p=0,433$ ).

Nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy stężeń cytokin prozapalnych pomiędzy podgrupą z obecnością ANA w mianie  $\geq 1:160$  a podgrupą z ujemnymi ANA: TNF- $\alpha$  (test Manna-Whitneya,  $p=0,302$ ), IL-1 $\beta$  (test Manna-Whitneya,  $p=1,000$ ), IL-6 (test Manna-Whitneya,  $p=0,433$ ).

W grupie II przed włączeniem leczenia biologicznego wykazano ujemną korelację pomiędzy stężeniem TNF- $\alpha$  a IL-1 $\beta$  (korelacja porządku rang Spearmana,  $p<0,05$ ,  $r_s=-0,56$ ). Poza tym nie wykazano korelacji pomiędzy stężeniami badanych cytokin prozapalnych w surowicy krwi (korelacja porządku rang Spearmana,  $p>0,05$ ).

Nie stwierdzono korelacji pomiędzy stężeniami badanych cytokin w zależności od typu początku MIZS (korelacja porządku rang Spearmana,  $p>0,05$ ).

W grupie kontrolnej stwierdzono dodatnią zależność pomiędzy stężeniem TNF- $\alpha$  i IL-1 $\beta$  (korelacja porządku rang Spearmana,  $p<0,05$ ,  $r_s=0,51$ ).

Dodatkowo dla ustalenia przydatności diagnostycznej wybranych cytokin zbadano zależność pomiędzy ich stężeniem w surowicy krwi a parametrami morfologii krwi i wskaźnikami aktywności choroby.

Nie wykazano zależności pomiędzy stężeniem TNF- $\alpha$  a którymkolwiek z badanych parametrów (korelacja porządku rang Spearmana,  $p>0,05$ ).

Stwierdzano dodatnią zależność pomiędzy stężeniem IL 1 $\beta$  i hemoglobiny (korelacja porządku rang Spearmana,  $p<0,05$ ,  $r_s=0,47$ ).

Stężenie IL-6 korelowało z największą liczbą zmiennych: OB ( $r_s=0,73$ ), CRP ( $r_s=0,68$ ), stężenie białych krwinek ( $r_s=0,48$ ), stężenie hemoglobiny ( $r_s=-0,55$ ), całkowita ocena aktywności choroby przez lekarza ( $r_s=0,54$ ), całkowita ocena dobrego samopoczucia pacjenta ( $r_s=0,61$ ) (korelacja porządku rang Spearmana,  $p<0,05$ ).

Wszyscy pacjenci z grupy II rozpoczęli leczenie etanerceptem w dawce początkowej 0,47 mg/kg (IQR 0,42-0,52). W badanej grupie mediana stosowanej dawki etanerceptu po 6 miesiącach wynosiła 0,40 mg/kg (IQR 0,40-0,48), a po 12 miesiącach 0,40 mg/kg (IQR 0,40-0,44).

Stwierdzono istotną statystycznie różnicę między początkowymi dawkami etanerceptu a tymi stosowanymi w okresie pierwszej kontroli (test Wilcoxon,

$p=0,001$ ) oraz między początkowymi dawkami etanerceptu a tymi stosowanymi w czasie drugiej kontroli (test Wilcoxon,  $p=0,002$ ).

Nie wykazano różnicy istotnej statystycznie pomiędzy dawkami etanerceptu stosowanymi pomiędzy pierwszym i drugim badaniem kontrolnym (test Wilcoxon,  $p=0,477$ ).

W momencie rozpoczęcia leczenia biologicznego zmodyfikowano terapię w zakresie stosowanego leku modyfikującego przebieg choroby u ośmiorga dzieci: u dwojga zastąpiono cyklosporynę A metotreksatem, a u sześciorga zakończono leczenie CsA.

W badanej grupie mediana stosowanej dawki metotreksatu po 6 miesiącach wynosiła 11,36 mg/m<sup>2</sup>/tydz. (IQR 10,10-12,82), a po 12 miesiącach 10,97 mg/m<sup>2</sup>/tydz. (IQR 9,20-12,30).

Nie stwierdzono różnicy istotnej statystycznie pomiędzy dawkami metotreksatu stosowanymi w okresie od włączenia do badania do pierwszej kontroli, pomiędzy pierwszym i drugim badaniem kontrolnym oraz pomiędzy początkową dawką metotreksatu, a tą stosowaną po 12 miesiącach (ANOVA Friedmanna z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,191$ ).

9 z 15 pacjentów, którzy otrzymywali GKS przed rozpoczęciem leczenia etanerceptem w czasie pierwszego badania kontrolnego, wymagało kontynuowania sterydoterapii (w dawce 0,09 mg/kg/24h; IQR 0,06-0,14), a w czasie drugiego badania kontrolnego już tylko 6 (w dawce 0,09 mg/kg/24h; IQR 0,07-0,11). Żaden z pozostałych pacjentów z grupy II nie wymagał włączenia terapii GKS po rozpoczęciu leczenia biologicznego. U 2 dzieci podano dostawowo preparat octanu metyloprednizolonu między czasem 0 i 1 lub 1 i 2.

Wykazano, że wstępnie zastosowane dawki glikokortykosteroidów przed włączeniem terapii etanerceptem były znacząco wyższe niż w czasie drugiego badania kontrolnego (ANOVA Friedmanna z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p<0,001$ ).

Najprawdopodobniej ze względu na zbyt małą liczebność grup nie wykazano statystycznie istotnej różnicy pomiędzy wstępną dawką metyloprednizolonu a tą stosowaną w czasie 1. Absolutna różnica pomiędzy

sumami rang w teście post-hoc wg Dunna wynosiła 14,5 (wymagana dla stwierdzenia istotności statystycznej wynosiła 14,756).

W grupie II, po średnim okresie  $6,26 \pm 1,62$  miesiąca wszyscy pacjenci zgłosili się na pierwsze badanie kontrolne (czas 1). Druga wizyta sprawdzająca odbyła się po średnio  $5,96 \pm 1,89$  miesiąca od pierwszej. Oba badania kontrolne obejmowały ocenę parametrów laboratoryjnych, stężeń cytokin prozapalnych oraz wartości wskaźników aktywności choroby i stanu funkcjonalnego (**Tabela 23**) w porównaniu z ich wartościami wyjściowymi. W odniesieniu do wskaźników stanu zapalnego oraz parametrów morfologii krwi i stężeń cytokin dokonano również porównań z grupą kontrolną. Dodatkowo podczas obu wizyt oceniano aktywność choroby według Wallace i poprawę stanu klinicznego w oparciu o kryteria Gianniniego.

**Tabela 23.** Grupa II – wyniki uzyskane w pierwszym i drugim badaniu kontrolnym (parametry laboratoryjne, stężenie cytokin prozapalnych, wskaźniki aktywności choroby i wskaźnik niepełnosprawności).

	Grupa II (n=19) – czas 1		Grupa II (n=19) – czas 2	
	Mediana	IQR	Mediana	IQR
OB [mm/h]	10,0	6,0-15,0	12,0	7,0-18,0
CRP [mg/dl]	0,39	0,36-0,41	0,38	0,35-0,51
WBC [G/l]	7,26	4,94-8,53	7,07	5,35-8,78
RBC [T/l]	4,52	4,23-4,78	4,49	4,14-4,83
HGB [g/dl]	12,90	12,30-13,70	12,60	11,80-14,20
PLT [G/l]	326,00	292,00-379,00	299,00	251,00-394,00
TNF- $\alpha$ [pg/ml]	437,785	361,98-605,90	350,08	279,17-600,56
IL-1 $\beta$ [pg/ml]	1,748	0,76-2,04	1,55	1,55-3,02
IL-6 [pg/ml]	1,560	0,99-2,10	1,56	0,72-2,86
całkowita ocena aktywności choroby przez lekarza [cm]	2,0	1,0-2,0	1,0	0,0-2,0
całkowita ocena dobrego samopoczucia pacjenta [cm]	1,0	1,0-2,0	1,0	0,0-2,0
liczba stawów z czynnym zapaleniem	0,0	0,0-0,0	0,0	0,0-1,0
liczba stawów z ograniczeniem ruchomości	0,0	0,0-1,0	0,0	0,0-1,0
ocena stanu funkcjonalnego według CHAQ	0,125	0,000-0,250	0,125	0,000-0,125

**Tabela 24.** Charakterystyka podgrup nieliczno- i wielostawowej w grupie II w pierwszym badaniu kontrolnym (parametry laboratoryjne, stężenie cytokin prozapalnych, wskaźniki aktywności choroby i wskaźnik niepełnosprawności)

Czas 1	Nielicznostawowa (n=8)		Wielostawowa (n=11)	
	Mediana	IQR	Mediana	IQR
OB [mm/h]	12,5	7,0-16,0	10,0	6,0-15,0
CRP [mg/dl]	0,39	0,36-0,42	0,39	0,35-0,41
WBC [G/l]	5,76	4,16-7,00	8,16	5,51-9,74
RBC [T/l]	4,45	4,23-4,69	4,52	4,23-4,90
HGB [g/dl]	12,95	12,50-13,70	12,90	12,30-13,70
PLT [G/l]	327,50	243,00-386,50	326,00	296,00-374,00
TNF- $\alpha$ [pg/ml]	603,98	497,78-805,95	398,463	321,79-575,72
IL-1 $\beta$ [pg/ml]	1,81	0,60-2,22	1,740	0,76-1,94
IL-6 [pg/ml]	1,36	0,83-1,56	1,560	1,05-2,40
całkowita ocena aktywności choroby przez lekarza [cm]	1,0	0,0-2,0	2,0	1,0-2,0
całkowita ocena dobrego samopoczucia pacjenta [cm]	0,5	0,0-2,0	1,0	0,0-2,0
liczba stawów z czynnym zapaleniem	0,0	0,0-0,0	0,0	0,0-0,0
liczba stawów z ograniczeniem ruchomości	0,0	0,0-1,0	0,0	0,0-4,0
ocena stanu funkcjonalnego według CHAQ	0,125	0,000-0,188	0,125	0,000-0,375

**Tabela 25.** Charakterystyka podgrup nieliczno- i wielostawowej w grupie II w drugim badaniu kontrolnym (parametry laboratoryjne, stężenie cytokin prozapalnych, wskaźniki aktywności choroby i wskaźnik niepełnosprawności)

Czas 2	Nielicznostawowa (n=8)		Wielostawowa (n=11)	
	Mediana	IQR	Mediana	IQR
OB [mm/h]	11,0	7,0-15,0	12,0	6,0-23,0
CRP [mg/dl]	0,37	0,35-0,46	0,41	0,35-0,57
WBC [G/l]	6,20	4,83-7,92	8,00	5,79-8,78
RBC [T/l]	4,47	4,14-4,61	4,64	4,14-4,87
HGB [g/dl]	12,70	12,20-13,55	12,40	11,70-14,20
PLT [G/l]	282,00	245,00-323,00	310,00	267,00-417,00
TNF- $\alpha$ [pg/ml]	530,183	391,54-715,11	324,314	257,86-391,04
IL-1 $\beta$ [pg/ml]	1,876	0,84-2,39	0,986	0,43-1,84
IL-6 [pg/ml]	1,560	0,80-2,48	0,991	0,57-3,55
całkowita ocena aktywności choroby przez lekarza [cm]	0,5	0,0-1,5	1,0	1,0-2,0
całkowita ocena dobrego samopoczucia pacjenta [cm]	0,0	0,0-2,0	1,0	0,0-2,0
liczba stawów z czynnym zapaleniem	0,0	0,0-0,0	0,0	0,0-1,0
liczba stawów z ograniczeniem ruchomości	0,0	0,0-0,0	0,0	0,0-2,0
ocena stanu funkcjonalnego według CHAQ	0,063	0,000-0,125	0,125	0,000-0,375

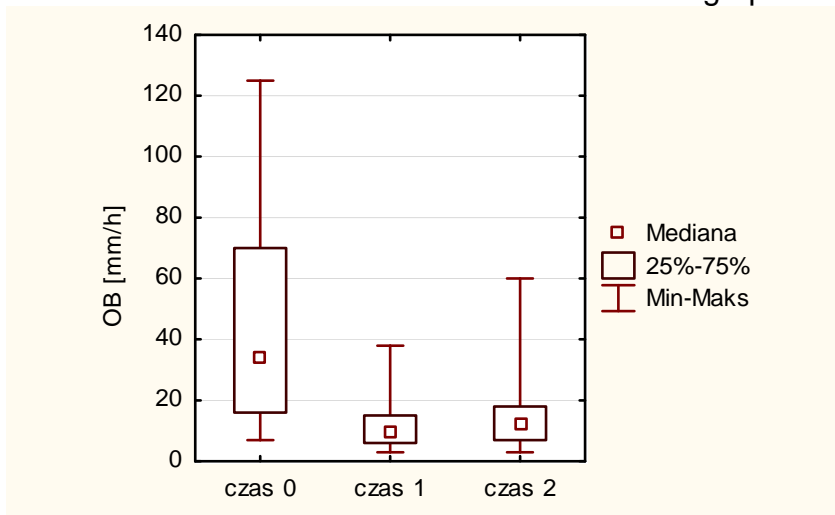
W pierwszym badaniu kontrolnym nadal u znacznego odsetka (47,4%) pacjentów z grupy II wartość OB była podwyższona. Podwyższoną wartość OB obserwowano u 63,2% pacjentów podczas drugiej wizyty kontrolnej. Wyższe wartości OB obserwowano u pacjentów z postacią wielostawową MIZS.

W analizowanej grupie pacjentów stwierdzono istotną statystycznie różnicę na poziomie istotności 0.05 pomiędzy wartością OB w momencie włączenia do badania i w czasie 1 oraz w momencie włączenia do badania i w czasie 2 (ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p < 0,001$ ), przy czym OB w obu badaniach kontrolnych nie różniło się istotnie statystycznie (**Rycina 27**).

W odniesieniu do grupy kontrolnej nie wykazano różnicy istotnej statystycznie pomiędzy wartością OB w grupie II w czasie 1 (test Kruskala-Wallisa z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p = 0,096$ ).

Stwierdzono istotną statystycznie różnicę w czasie 2 pomiędzy wartością OB w grupie II i w grupie kontrolnej (test Kruskala-Wallisa z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p = 0,002$ ).

**Rycina 27.** Porównanie wartości OB w zależności od czasu w grupie II.

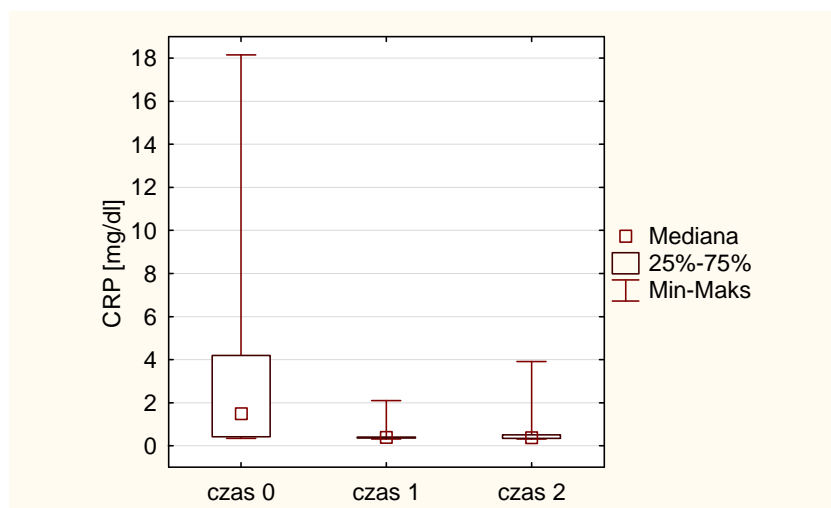


U około 16% dzieci z grupy II stwierdzano podwyższone stężenie CRP podczas pierwszej i drugiej wizyty kontrolnej.



Wykazano istnienie różnicy na poziomie istotności 0.05 pomiędzy stężeniami CRP w momencie włączenia do badania i w czasie 1 oraz w momencie włączenia do badania i w czasie 2 ((ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p < 0,001$ ), przy czym stężenie CRP w obu badaniach kontrolnych nie różniło się istotnie statystycznie (**Rycina 28**).

**Rycina 28.** Porównanie stężenia CRP w zależności od czasu w grupie II.



Nie wykazano różnicy istotnej statystycznie między stężeniem CRP w grupie I i w grupie kontrolnej w czasie 1 (test Kruskala-Wallisa z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,074$ ) oraz w czasie 2 (test Kruskala-Wallisa z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,552$ ).

Pomiędzy podgrupami o różnym początku choroby nie stwierdzono różnicy istotnej statystycznie wartości OB w czasie 1 (test Manna-Whitneya,  $p=0,508883$ ) i w czasie 2 (test Manna-Whitneya,  $p=0,680$ ) oraz stężenia CRP w czasie 1 (test Manna-Whitneya,  $p=0,967$ ) i w czasie 2 (test Manna-Whitneya,  $p=0,386$ ).

W podgrupie o nielicznostawowym początku choroby nie stwierdzono różnicy istotnej statystycznie pomiędzy wartością OB w momencie włączenia do badania i w czasie 1 oraz w momencie włączenia do badania i w czasie 2, a także w obu badaniach kontrolnych (ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,081$ ).

Obserwowano różnicę istotną statystycznie pomiędzy wartością OB w podgrupie z wielostawową postacią MIZS w momencie włączenia do badania i w czasie 1 oraz w momencie włączenia do badania i w czasie 2 (ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p < 0,001$ ),

przy czym wartość OB w obu badaniach kontrolnych nie różniła się istotnie statystycznie.

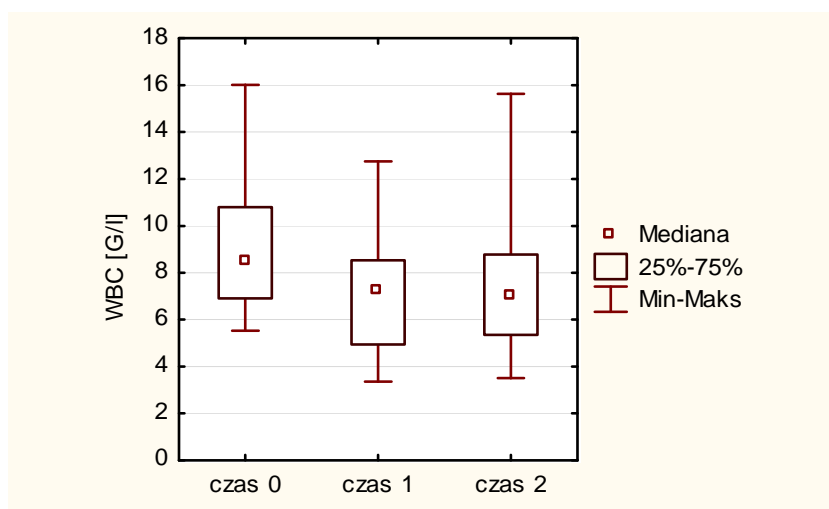
Wykazano różnicę istotną statystycznie pomiędzy stężeniami CRP w podgrupie ze nielicznostawową postacią MIZS w momencie włączenia do badania i w czasie 2 (ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,023$ ), przy czym stężenie CRP w momencie włączenia do badania i w czasie 1 oraz w obu badaniach kontrolnych nie różniło się istotnie statystycznie.

Obserwowano różnicę istotną statystycznie pomiędzy stężeniami CRP w podgrupie z wielostawową postacią MIZS w momencie włączenia do badania i w czasie 1 (ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,004$ ), przy czym stężenie CRP w momencie włączenia do badania i w czasie 2 oraz w obu badaniach kontrolnych nie różniło się istotnie statystycznie.

W badanej grupie w czasie 1 tylko u dwojga dzieci stężenie białych krwinek było podwyższone. U jednego pacjenta stwierdzono obniżone stężenie WBC, będące wynikiem terapii metotreksatem. U wszystkich pacjentów obserwowano prawidłowe wartości wskaźników stanu zapalnego. Dzieci, u których występowała leukocytoza otrzymywały metyloprednizolon w średniej dawce podtrzymującej 0,1 mg/kg/24h. W drugim badaniu kontrolnym stężenie krwinek białych było podwyższone u dwojga i obniżone u dwojga pacjentów. Z wyjątkiem chłopca, u którego niskie stężenie WBC wiązało się z leczeniem MTX, u wszystkich pozostałych dzieci wartości wykładników stanu zapalnego były podwyższone. Dzieci, u których występowała leukocytoza otrzymywały metyloprednizolon w średniej dawce podtrzymującej 0,1 mg/kg/24h.

Obserwowano różnicę istotną statystycznie pomiędzy stężeniami WBC w grupie II w momencie włączenia do badania i w czasie 1 oraz w momencie włączenia do badania i w czasie 2, (ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,008$ ), przy czym stężenia WBC w obu badaniach kontrolnych nie różniły się istotnie statystycznie (**Rycina 29**).

**Rycina 29.** Porównanie stężenia WBC w zależności od czasu w grupie II.



*Nie stwierdzono różnicy istotnej statystycznie stężeń krwinek białych w grupie II i grupie kontrolnej w czasie 1 (test Kruskala-Wallisa z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,094$ ) oraz w czasie 2 (test Kruskala-Wallisa z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,064$ ).*

W pierwszym badaniu kontrolnym tylko u trojga pacjentów rozpoznano niedokrwistość. Niedokrwistość występowała również u sześciorga dzieci w drugim badaniu kontrolnym.

*Nie obserwowano różnicy istotnej statystycznie pomiędzy stężeniami RBC w grupie II w momencie włączenia do badania i w czasie 1 oraz w momencie włączenia do badania i w czasie 2, a także w obu badaniach kontrolnych (ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,404$ ).*

*Nie wykazano znamiennej różnicy pomiędzy stężeniem RBC w grupie II i w grupie kontrolnej w czasie 1 (test Kruskala-Wallisa z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,575$ ) i w czasie 2 (test Kruskala-Wallisa z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,521$ ).*

*Nie obserwowano różnicy istotnej statystycznie pomiędzy stężeniami hemoglobiny w grupie II w momencie włączenia do badania i w czasie 1 oraz w momencie włączenia do badania i w czasie 2, a także w obu badaniach kontrolnych (ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,280$ ).*

*Nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy stężeń hemoglobiny pomiędzy grupą II i grupą kontrolną w czasie 1 (test Kruskala-Wallisa z opcją wielokrotnych*

porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,736$ ) oraz w czasie 2 (test Kruskala-Wallisa z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,449$ ).

W pierwszym badaniu kontrolnym nadpłytkowość występowała u dwojga, a w drugim badaniu u trojga pacjentów.

W analizowanej grupie pacjentów stwierdzono różnicę istotną statystycznie na poziomie istotności 0.05 pomiędzy stężeniem płytek krwi w momencie włączenia do badania i w czasie 2 (ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,008$ ), przy czym nie wykazano takiej różnicy dla czasu 0 i 1 oraz czasu 1 i 2.

Nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy stężeń płytek krwi pomiędzy grupą II i grupą kontrolną w czasie 1 (test Kruskala-Wallisa z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,067$ ) oraz w czasie 2 (test Kruskala-Wallisa z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,692$ ).

Stężenia RBC, Hb i PLT w podgrupach o różnym początku choroby nie różniły się istotnie statystycznie w czasie 1 (RBC - test Manna-Whitneya,  $p=0,680$ ; Hb - test Manna-Whitneya,  $p=0,901$ ; PLT - test Manna-Whitneya,  $p=0,650$ ) i w czasie 2 (RBC - test Manna-Whitneya,  $p=0,592$ ; Hb - test Manna-Whitneya,  $p=0,649$ ; PLT - test Manna-Whitneya,  $p=0,283$ ).

Stwierdzono różnicę istotną statystycznie stężeń WBC pomiędzy postacią nielicznostawową i wielostawową w czasie 1 (test Manna-Whitneya,  $p=0,019$ ).

Stężenia WBC w podgrupach o różnym początku choroby nie różniły się istotnie statystycznie w czasie 2 (test Manna-Whitneya,  $p=0,265$ ).

Obserwowano różnicę istotną statystycznie pomiędzy stężeniami WBC w podgrupie ze nielicznostawową postacią MIZS w momencie włączenia do badania i w czasie 1 (ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,023$ ), przy czym stężenie WBC w momencie włączenia do badania i w czasie 2 oraz w obu badaniach kontrolnych nie różniło się istotnie statystycznie.

W podgrupie o początku wielostawowym stężenia WBC w momencie włączenia do badania i w czasie 1, w momencie włączenia do badania i w czasie 2 oraz w obu badaniach kontrolnych nie różniły się istotnie statystycznie (ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,148$ ).

Stężenie RBC w podgrupie o początku wielostawowym i w podgrupie nielicznostawowej nie różniło się istotnie statystycznie w momencie włączenia do badania i w czasie 1, w momencie włączenia do badania i w czasie 2 oraz w obu badaniach kontrolnych (postać nielicznostawowa - ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,497$ ; postać wielostawowa - ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,529$ ).

Stężenie hemoglobiny w podgrupie o początku nielicznostawowym i w podgrupie wielostawowej nie różniło się istotnie statystycznie w momencie włączenia do badania i w czasie 1, w momencie włączenia do badania i w czasie 2 oraz w obu badaniach kontrolnych (postać nielicznostawowa - ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,670$ ; postać wielostawowa - ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,404$ ).

Liczba płytek krwi w podgrupie o początku nie różniła się istotnie statystycznie w momencie włączenia do badania i w czasie 1, w momencie włączenia do badania i w czasie 2 oraz w obu badaniach kontrolnych (postać nielicznostawowa - ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=197$ ).

Obserwowano różnicę istotną statystycznie pomiędzy liczbą płytek krwi w podgrupie z wielostawową postacią MIZS w momencie włączenia do badania i w czasie 2 (ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,033$ ), przy czym liczba płytek krwi w momencie włączenia do badania i w czasie 1 oraz w obu badaniach kontrolnych nie różniła się istotnie statystycznie.

W badanej grupie dzieci aktywność choroby oceniono w pierwszym i drugim badaniu kontrolnym jako niską. Wartości poszczególnych parametrów aktywności choroby przedstawia **Tabela 23**. W pierwszym badaniu kontrolnym 14 pacjentów spełniało kryteria choroby nieaktywnej klinicznie, a w drugim – 11.

W grupie II aktywność choroby w ocenie lekarza i pacjenta w pierwszym badaniu kontrolnym była podobna i wynosiła odpowiednio 2,0 cm (IQR 1,0-2,0) oraz 1,0 cm (IQR 0,0-2,0). Wartości obu wskaźników były zbliżone również przy uwzględnieniu podziału na podgrupy o różnym początku choroby (nielicznostawowa vs wielostawowa) – **Tabela 24**.

*Nie stwierdzono różnicy istotnej statystycznie w całkowitej ocenie aktywności choroby dokonanej przez lekarza pomiędzy pacjentami z postacią nielicznostawową i wielostawową MIZS (test Manna-Whitneya,  $p=0,296$ ).*

*Nie wykazano statystycznie istotnej różnicy w całkowitej ocenie dobrego samopoczucia pacjenta pomiędzy dziećmi z postacią nielicznostawową i wielostawową MIZS (test Manna-Whitneya,  $p=0,761$ ).*

W grupie II w pierwszym badaniu kontrolnym zaobserwowano, że liczba stawów z aktywnym procesem zapalnym była niższa niż liczba stawów z ograniczeniem ruchomości (**Tabela 23**), przy czym po podziale na podgrupy o różnym typie początku MIZS stwierdzono, że zależność ta dotyczy tylko pacjentów z postacią wielostawową choroby (**Tabela 24**).

*Wykazano różnicę istotną statystycznie pomiędzy liczbą stawów z czynnym zapaleniem a liczbą stawów z ograniczeniem ruchomości w grupie II w czasie 1 (test Wilcoxon,  $p=0,043$ ).*

*W czasie 1 nie stwierdzono różnicy istotnej statystycznie pomiędzy liczbą stawów z czynnym zapaleniem a liczbą stawów z ograniczeniem ruchomości u pacjentów z postacią wielostawową MIZS (test Wilcoxon,  $p=0,109$ ) i u pacjentów z typem nielicznostawowym (test Wilcoxon,  $p=0,180$ ).*

W drugim badaniu kontrolnym w analizowanej grupie pacjentów średnia aktywność choroby w ocenie lekarza i pacjenta wynosiła 1,0 cm (IQR 0,0-2,0). Wartości obu wskaźników były zbliżone również przy uwzględnieniu podziału na podgrupy o różnym początku choroby (nielicznostawowa vs wielostawowa) – **Tabela 25**.

*Nie stwierdzono różnicy istotnej statystycznie w całkowitej ocenie aktywności choroby dokonanej przez lekarza pomiędzy pacjentami z postacią nielicznostawową i wielostawową MIZS (test Manna-Whitneya,  $p=0,223$ ).*

*Nie obserwowano różnicy istotnej statystycznie w całkowitej ocenie dobrego samopoczucia pacjenta pomiędzy dziećmi z postacią nielicznostawową i wielostawową MIZS (test Manna-Whitneya,  $p=0,436$ ).*

W drugim badaniu kontrolnym grupy II średnia liczba stawów z aktywnym procesem zapalnym była niższa niż liczba stawów z ograniczeniem ruchomości (**Tabela 23**). Przy uwzględnieniu podziału na podgrupy o różnym typie początku MIZS wykazano, że zależność ta dotyczy tylko pacjentów z postacią wielostawową

choroby (**Tabela 25**), ale z powodu małej liczebności grupy i dużego rozrzutu wyników nie potwierdzono tego statystycznie.

*Nie obserwowano różnicy istotnej statystycznie pomiędzy liczbą stawów z czynnym zapaleniem a liczbą stawów z ograniczeniem ruchomości w grupie II w czasie 2 (test Wilcoxon,  $p=0,144$ ).*

Wskaźnik niepełnosprawności wg CHAQ w pierwszym i drugim badaniu kontrolnym w całej grupie II oraz w podgrupach o różnym początku choroby poprawił się o ponad 0,13 w stosunku do jego wartości w momencie rozpoznania choroby (**Tabela 23, Tabela 24, Tabela 25**), co wg Dempstera interpretuje się jako klinicznie znaczącą poprawę. Jego średnia wartość u pacjentów z grupy II oraz dzieci z postacią wielostawową w czasie 1 i 2 odpowiadała łagodnemu stopniowi niepełnosprawności. U pacjentów z typem o początku nielicznostawowym wartość CHAQ w pierwszym badaniu kontrolnym była tożsama z łagodnym stopniem niesprawności, a w drugim odpowiadała pełnej sprawności.

*W grupie II stwierdzono różnicę istotną statystycznie pomiędzy całkowitą oceną aktywności choroby przez lekarza w momencie włączenia do badania i w czasie 1 oraz w momencie włączenia do badania i w czasie 2 (ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p<0,001$ ).*

*Istotną statystycznie różnicę pomiędzy całkowitą oceną aktywności choroby przez lekarza w momencie włączenia do badania i w czasie 1 oraz w momencie włączenia do badania i w czasie 2 wykazano dla podgrupy z postacią wielostawową (ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p<0,001$ ).*

*Dla podgrupy o nielicznostawowym początku choroby wykazano istotną statystycznie różnicę pomiędzy całkowitą oceną aktywności choroby przez lekarza w momencie włączenia do badania i w czasie 2 (ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,004$ ). Całkowita ocena aktywności choroby przez lekarza w momencie włączenia do badania i całkowita ocena aktywności choroby przez lekarza w czasie 1 różniły się między sobą, ale najprawdopodobniej ze względu na zbyt małą liczebność grupy nie wykazano różnicy istotnej statystycznie. Absolutna różnica pomiędzy sumami rang w teście post-hoc wg Dunna wynosiła 9,5 (wymagana dla stwierdzenia istotności statystycznej wynosiła 9,576).*

W grupie II stwierdzono różnicę istotną statystycznie pomiędzy całkowitą oceną dobrego samopoczucia pacjenta dokonaną przez rodzica lub chore dziecko w momencie włączenia do badania i w czasie 1 oraz w momencie włączenia do badania i w czasie 2 (ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p < 0,001$ ).

Wykazano różnicę istotną statystycznie pomiędzy całkowitą oceną dobrego samopoczucia pacjenta dokonaną przez rodzica lub chore dziecko w momencie włączenia do badania i w czasie 1 oraz w momencie włączenia do badania i w czasie 2 w podgrupie z wielostawową postacią choroby (ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p < 0,001$ ).

Dla podgrupy o nielicznostawowym początku choroby wykazano różnicę istotną statystycznie wartości całkowitej oceny dobrego samopoczucia pacjenta dokonaną przez rodzica lub chore dziecko w czasie (ANOVA Friedmana,  $p = 0,006$ ). Ze względu na małą liczebność podgrupy test post-hoc wg Dunna nie wskazał, dla których punktów czasowych istnieją różnice istotne statystycznie.

W grupie II oraz w podgrupach nieliczno- i wielostawowej stwierdzono różnicę istotną statystycznie pomiędzy liczbą stawów z czynnym zapaleniem w momencie włączenia do badania i w czasie 1 oraz w momencie włączenia do badania i w czasie 2 (grupa II - ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p < 0,001$ ; postać nielicznostawowa - ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p < 0,001$ ; postać wielostawowa - ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p < 0,001$ ).

W grupie II i w podgrupie o wielostawowym początku choroby wykazano różnicę istotną statystycznie pomiędzy liczbą stawów z ograniczeniem ruchomości w momencie włączenia do badania i w czasie 1 oraz w momencie włączenia do badania i w czasie 2 (grupa II - ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p < 0,001$ ; postać wielostawowa - ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p = 0,004$ ).

Dla podgrupy o nielicznostawowym początku choroby wykazano różnicę istotną statystycznie pomiędzy liczbą stawów z ograniczeniem



*ruchości w momencie włączenia do badania i w czasie 2 (ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,00238$ ).*

Liczba stawów z ograniczeniem ruchomości w momencie włączenia do badania i liczba stawów z ograniczeniem ruchomości w czasie 1 różniły się między sobą, ale moim zdaniem ze względu na zbyt małą liczebność grupy nie wykazano statystycznie istotnej różnicy. Absolutna różnica pomiędzy sumami rang w teście post-hoc wg Dunna wynosiła 9,5 (wymagana dla stwierdzenia istotności statystycznej wynosiła 9,576).

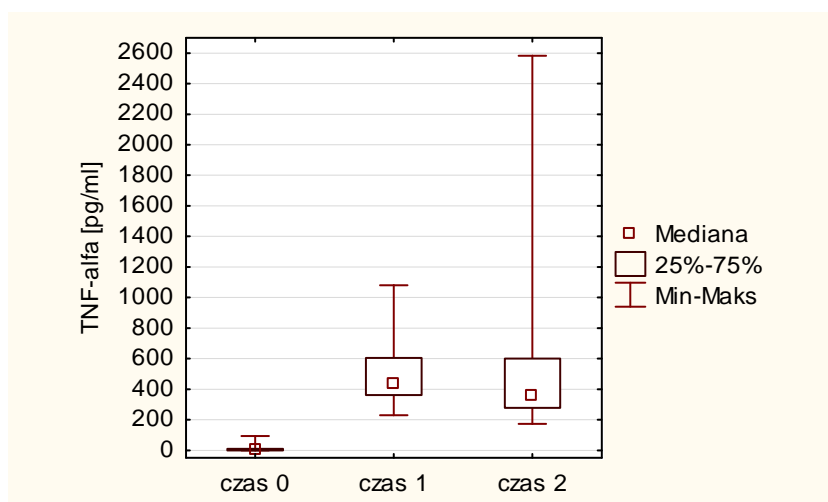
*W grupie II i podgrupie o wielostawowym początku choroby stwierdzono różnicę istotną statystycznie pomiędzy wskaźnikiem niepełnosprawności wg CHAQ w momencie włączenia do badania i w czasie 1 oraz w momencie włączenia do badania i w czasie 2 (grupa II - ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p<0,001$ ; postać wielostawowa - ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p<0,001$ ).*

*Dla podgrupy o nielicznostawowym początku choroby wykazano różnicę istotną statystycznie pomiędzy wskaźnikiem niepełnosprawności wg CHAQ w momencie włączenia do badania i w czasie 1 (ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,003$ ).* Wskaźnik niepełnosprawności wg CHAQ w momencie włączenia do badania i w czasie 2 różniły się między sobą, ale najprawdopodobniej ze względu na zbyt małą liczebność grupy nie wykazano statystycznie istotnej różnicy. Absolutna różnica pomiędzy sumami rang w teście post-hoc wg Dunna wynosiła 9,5 (wymagana dla stwierdzenia istotności statystycznej wynosiła 9,576).

W badanej grupie podczas terapii etanerceptem przede wszystkim monitorowano stężenia cytokin prozapalnych w surowicy krwi. Badania kontrolne wykazały duże różnice ich stężeń pomiędzy poszczególnymi pacjentami (przy zachowaniu indywidualnego wyjściowego profilu cytokin prozapalnych) i znaczące zmiany ich średnich stężeń w czasie.

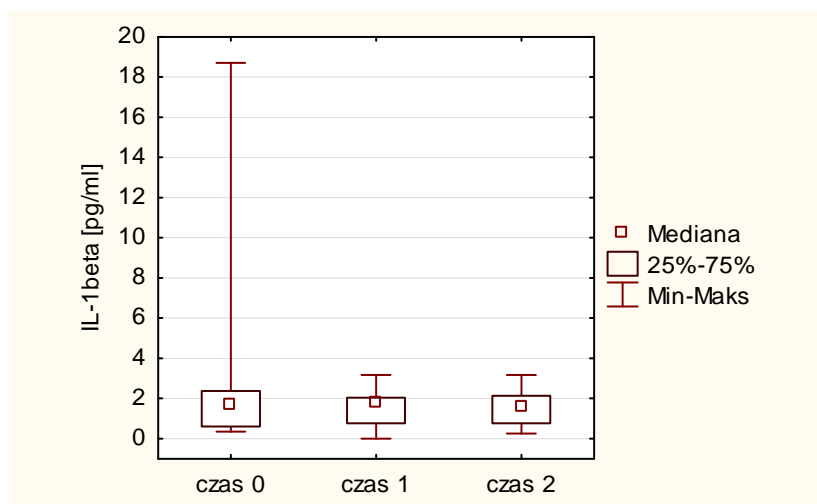
*Stwierdzono różnicę istotną statystycznie pomiędzy stężeniami TNF- $\alpha$  w grupie II w momencie włączenia do badania i w czasie 1 oraz w momencie włączenia do badania i w czasie 2, a także w obu badaniach kontrolnych (ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p<0,001$ ), przy czym nie wykazano takiej różnicy dla obu badań kontrolnych – **Rycina 30**.*

**Rycina 30.** Grupa II – porównanie stężeń TNF- $\alpha$  w zależności od czasu.



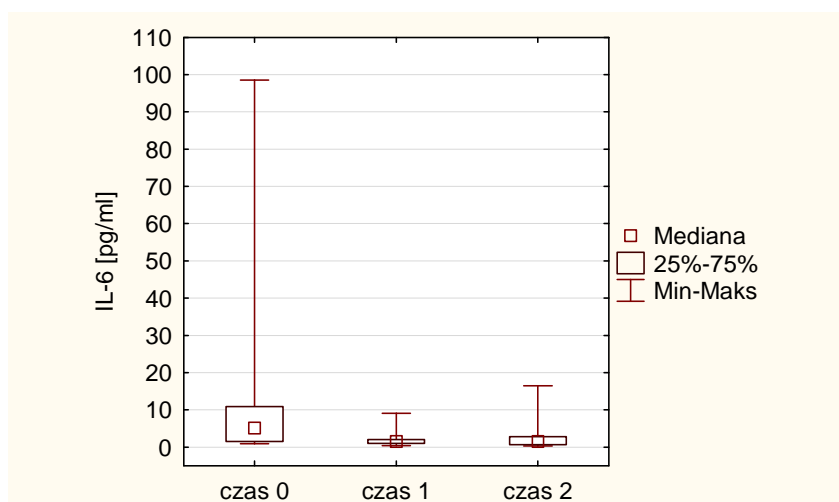
Nie stwierdzano różnicy istotnej statystycznie pomiędzy stężeniami IL-1 $\beta$  w grupie II w momencie włączenia do badania i w czasie 1 oraz w momencie włączenia do badania i w czasie 2, a także w obu badaniach kontrolnych (ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p=0,793$ ) – **Rycina 31**.

**Rycina 31.** Grupa II – porównanie stężeń IL-1 $\beta$  w zależności od czasu.



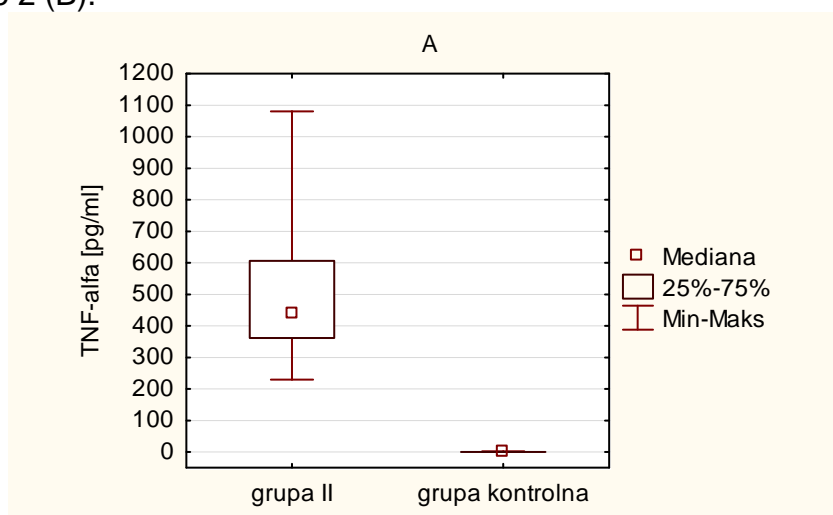
W analizowanej grupie pacjentów stwierdzono różnicę istotną statystycznie na poziomie istotności 0.05 pomiędzy stężeniem IL-6 w momencie włączenia do badania i w czasie 1 oraz w momencie włączenia do badania i w czasie 2, przy czym nie wykazano takiej różnicy dla obu badań kontrolnych (ANOVA Friedmana z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p<0,001$ ) – **Rycina 32**.

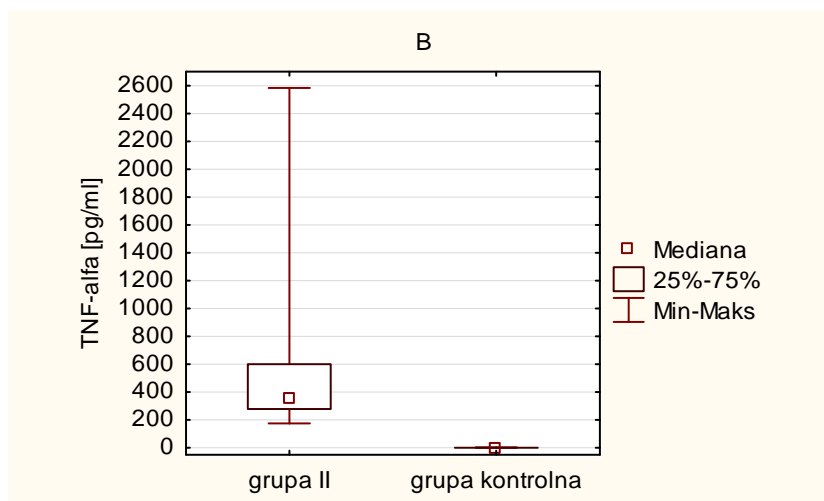
**Rycina 32.** Grupa II – porównanie stężeń IL-6 w zależności od czasu.



W odniesieniu do grupy kontrolnej różnicę istotną statystycznie stwierdzano tylko pomiędzy stężeniem TNF- $\alpha$  w czasie 1 i w czasie 2 (test Kruskala-Wallisa z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p < 0,001$ ) – **Rycina 33**. Dla pozostałych badanych cytokin w grupie II różnice stężeń były nieistotne statystycznie: w czasie 1 (IL 1 $\beta$  – (test Kruskala-Wallisa z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p = 0,910$ ; IL 6 – (test Kruskala-Wallisa z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p = 0,602$ ) oraz w czasie 2 (IL 1 $\beta$  – (test Kruskala-Wallisa z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p = 0,330$ ; IL 6 – (test Kruskala-Wallisa z opcją wielokrotnych porównań typu post-hoc wg Dunna,  $p = 0,772$ ).

**Rycina 33.** Porównanie stężeń TNF $\alpha$  pomiędzy grupą II i grupą kontrolną w czasie 1 (A) i w czasie 2 (B).





W obu badaniach kontrolnych dodatkowo przeanalizowano stężenia cytokin prozapalnych w zależności od obecności ANA (w mianie  $\geq 1:160$ ). Nie stwierdzono różnicy istotnej statystycznie pomiędzy stężeniami cytokin prozapalnych u pacjentów z dodatnimi ANA w porównaniu z dziećmi z mianem ANA  $< 1:160$  w obu badaniach kontrolnych (**Tabela 26**).

**Tabela 26.** Porównanie stężeń cytokin prozapalnych w grupie II w czasie 1 i 2 w zależności od obecności przeciwciał przeciwjądrowych (wartości przedstawiają mediany i rozstęp kwartylowy; n – liczebność grupy).

Grupa II			Test Manna-Whitneya
Czas 1	ANA dodatnie (n=12)	ANA ujemne (n=7)	
TNF- $\alpha$ [pg/ml]	519,92 (375,61-755,38)	427,64 (326,88-584,99)	p=0,291
IL-1 $\beta$ [pg/ml]	1,76 (0,92-2,05)	1,74 (0,43-1,94)	p=0,526
IL-6 [pg/ml]	1,36 (1,02-1,56)	2,40 (0,66-2,99)	p=0,198
Czas 2	ANA dodatnie (n=12)	ANA ujemne (n=7)	
TNF- $\alpha$ [pg/ml]	416,88 (303,52-636,09)	328,11 (197,79-459,79)	p=0,398
IL-1 $\beta$ [pg/ml]	1,91 (0,81-2,31)	0,93 (0,43-1,69)	p=0,205
IL-6 [pg/ml]	1,28 (0,83-2,60)	1,56 (0,35-5,20)	p=0,865

Oceniono także stężenia TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  i IL-6 pomiędzy pacjentami w aktywnej fazie MIZS, a tymi którzy spełniali kryteria choroby nieaktywnej – **Tabela 27**.

**Tabela 27.** Porównanie stężeń cytokin prozapalnych w grupie II pomiędzy fazą aktywną i nieaktywną choroby (wartości przedstawiają mediany i rozstępy kwartyłowe; n – liczebność grupy)

Grupa II		
Wszystkie pobrania	Faza aktywna (n=32)	Faza nieaktywna (n=25)
TNF- $\alpha$ [pg/ml]	23,17 (0,00-287,16)	454,96 (361,98-671,60)
IL-1 $\beta$ [pg/ml]	1,69 (0,51-1,98)	1,69 (0,85-2,14)
IL-6 [pg/ml]	3,23 (1,56-8,79)	1,16 (0,72-1,56)

Porównując stężenia cytokin prozapalnych w surowicy pomiędzy pacjentami z chorobą klinicznie nieaktywną i aktywną (niezależnie od czasu pobrania) stwierdzono istotnie statystycznie niższe stężenie TNF- $\alpha$  oraz wyższe IL-6 u pacjentów w fazie aktywnej choroby (TNF- $\alpha$  - test Manna-Whitneya,  $p < 0,001$ ; IL-6 - test Manna-Whitneya,  $p < 0,001$ ). Nie wykazano takiej różnicy dla IL-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$  – test Manna-Whitneya,  $p = 0,664$ ).

W analizowanej grupie, w trakcie pierwszego i drugiego badania kontrolnego, dokonano oceny korelacji pomiędzy stężeniami cytokin prozapalnych a parametrami laboratoryjnymi i wskaźnikami aktywności choroby oraz stanu funkcjonalnego.

Nie wykazano korelacji pomiędzy stężeniem TNF- $\alpha$  w surowicy krwi a którymkolwiek z badanych parametrów w pierwszym badaniu kontrolnym (korelacja porządku rang Spearmana,  $p > 0,05$ ).

W drugim badaniu kontrolnym stwierdzono zależność pomiędzy stężeniem TNF- $\alpha$  w surowicy krwi a: liczbą stawów z aktywnym procesem zapalnym ( $r_s = -0,50$ ), liczbą stawów z ograniczeniem ruchomości ( $r_s = -0,58$ ) i liczbą płytek krwi ( $r_s = -0,58$ ) (korelacja porządku rang Spearmana,  $p < 0,05$ ).

Nie stwierdzono korelacji pomiędzy stężeniem IL-1 $\beta$  a żadnym z analizowanych parametrów w czasie 1 (korelacja porządku rang Spearmana,  $p > 0,05$ ).

Stężenie IL-1 $\beta$  w czasie 2 korelowało z: OB ( $r_s = -0,53$ ) i WBC ( $r_s = -0,53$ ) (korelacja porządku rang Spearmana,  $p < 0,05$ ).

Stężenie IL 6 w czasie 1 korelowało z: CRP ( $r_s = 0,56$ ) (korelacja porządku rang Spearmana,  $p < 0,05$ ).

Nie wykazano korelacji pomiędzy stężeniem IL-6 w surowicy krwi a którymkolwiek z badanych parametrów w drugim badaniu kontrolnym (korelacja porządku rang Spearmana,  $p > 0,05$ ).

Nie wykazano korelacji pomiędzy stężeniami badanych cytokin prozapalnych ani dla czasu 1, ani dla czasu 2 (korelacja porządku rang Spearmana,  $p > 0,05$ ).

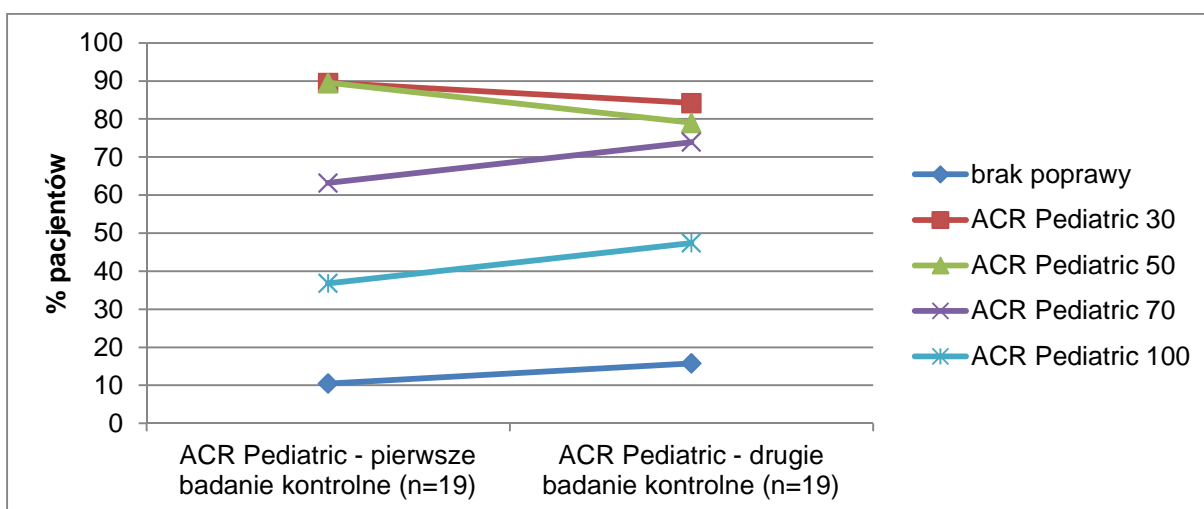
Nie stwierdzono zależności pomiędzy stężeniami badanych cytokin prozapalnych w obu badaniach kontrolnych ani w podgrupie z postacią nielicznostawową, ani u pacjentów o wielostawowym początku choroby (korelacja porządku rang Spearmana,  $p > 0,05$ ).

W grupie II po pierwszym półroczu leczenia poprawę ACR Pediatric 30 i ACR Pediatric 50 obserwowano u 89,5% pacjentów. ACR Pediatric 70 stwierdzono u 63,2% pacjentów, a poprawę o 100% stwierdzano u 36,8% badanych. 10,5% pacjentów nie osiągnęło poprawy po leczeniu (**Rycina 34**).

W kolejnym badaniu kontrolnym przeprowadzonym u wszystkich pacjentów po ok. 1 roku terapii brak odpowiedzi na leczenie stwierdzono u 15,8% dzieci. Poprawę ACR Pediatric 30 osiągnęło 84,2% badanych, ACR Pediatric 50 – 79,0% dzieci, a ACR Pediatric 70 stwierdzano u 73,9% pacjentów. Odsetek chorych, którzy w pełni odpowiedzieli na leczenie wynosił 47,4% (**Rycina 34**).

Pacjenci, którzy spełniali kryteria nieaktywnej klinicznie choroby osiągnęli poprawę ACR Pediatric 100 lub 70 lub 50. Podobnie jak w grupie I wyjątek stanowił jeden pacjent, u którego w momencie włączenia do badania choroba miała na tyle niewielką aktywność, że nawet dobra odpowiedź na leczenie, według kryteriów Gianniniego, była interpretowana jako brak poprawy klinicznej.

**Rycina 34.** Grupa II - odpowiedź na leczenie w pierwszym i drugim badaniu kontrolnym.



## VI DYSKUSJA

Młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów (MIZS) jest najczęstszą w wieku rozwojowym przewlekłą artropatią, o podłożu autoimmunologicznym i nieznannej etiologii. Jest też najczęstszą nabytą przyczyną niepełnosprawności u dzieci. Zgodnie z obowiązującymi kryteriami uwzględniającymi objawy kliniczne i wyniki badań dodatkowych w pierwszych 6 miesiącach choroby, wyodrębnia się 7 podtypów MIZS (2). Badania prowadzone w ostatnich latach podkreślają odrębność etiopatogenezy poszczególnych podtypów MIZS. Wskazują one różnice w uwarunkowaniach genetycznych, w funkcjonowaniu mechanizmów immunoregulacyjnych oraz zaburzeniach czynności układu odporności wrodzonej i nabytej. Niezależnie od postaci cechą charakterystyczną MIZS jest zajęcie procesem zapalnym stawów, a zjawiska doprowadzające do destrukcji struktur stawu, towarzyszące przede wszystkim postaci nielicznostawowej i wielostawowej, wydają się być podobne (39). Na rozwój stanu zapalnego w MIZS mają wpływ cytokiny regulujące kolejne etapy odpowiedzi immunologicznej, m.in.: IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ . Udokumentowanie ilościowej dominacji określonych cytokin w MIZS stało się podstawą wprowadzenia do leczenia biologicznych leków antycytokinowych. Obecnie w Polsce do leczenia MIZS zarejestrowane są dwa leki blokujące działanie TNF- $\alpha$ : etanercept i adalimumab. Leczenie tymi lekami odbywa się w ramach programu terapeutycznego według wytycznych NFZ i dotyczy głównie dzieci z postacią wielostawową i systemową MIZS. Leki blokujące TNF- $\alpha$  mają zastosowanie u pacjentów, u których klasyczne LMPCh nie przynoszą oczekiwanego efektu. Stosowane są one również wtedy, gdy występuje nawrót choroby trudny do opanowania, a z przyczyn obiektywnych nie można kontynuować standardowego leczenia (144).

W niniejszej pracy poddano początkowej analizie dane 104 pacjentów z MIZS, będących w opiece poradni i oddziału reumatologicznego Szpitala Klinicznego im. K. Jonschera w Poznaniu w okresie 03.2007 – 02.2009r.. W tej grupie pacjentów przeważały dziewczynki (69) vs chłopcy (35). Spośród nich wyselekcjonowano dzieci, u których postawiono diagnozę MIZS i wdrożono standardowe leczenie choroby (grupa I, n=24) oraz tych pacjentów z MIZS, u których mimo leczenia standardowego nie udało się uzyskać remisji i wdrożono następowo terapię etanerceptem (grupa II, n=19).

Obraz kliniczny choroby opisany w niniejszej pracy jest zbliżony do przedstawianego w piśmiennictwie, zarówno pod względem symptomatologii, wyników badań laboratoryjnych, jak i wskaźników aktywności choroby (1; 18; 91; 114; 139; 145; 146).

Najczęściej zajętymi stawami w momencie rozpoznania choroby niezależnie od podziału na grupy badane były stawy kolanowe, a następnie nadgarstkowe i skokowe. Wynik ten nie różni się od innych cytowań (30; 115; 147).

Wśród wybranych pacjentów dominowały dziewczynki (31/43; 72,1%). 12 chłopców (12/43; 27,9%) uzupełniało grupę badaną. Proporcja płci żeńskiej do męskiej w grupie badanej (2,6:1) odbiegała więc nieznacznie od początkowej (~2:1). Podobną przewagę dziewcząt (~2:1) opisali w swoich pracach Saurenmann i wsp. (148), Modesto i wsp. (31) oraz Bernston i wsp. (23). Również w skandynawskim badaniu kohortowym obejmującym 500 pacjentów z MIZS leczonych w Danii, Szwecji, Finlandii i Norwegii w latach 1997-2000 obserwowano dwukrotną przewagę dziewczynek (146). Natomiast w badaniach Riise i wsp. opisujących częstość występowania MIZS u dzieci norweskich (30) oraz w pracy Danner i wsp. na temat epidemiologii MIZS w Alzacji (27) przewaga dziewcząt była mniejsza i wynosiła ok. 1,5:1.

W grupie dzieci analizowanej w niniejszej pracy zaobserwowano nieznacznie większą niż w cytowanych pracach liczbę dziewcząt. Wynika to najprawdopodobniej z zakwalifikowania do badanej grupy wyłącznie pacjentów z postacią nieliczno- lub wielostawową MIZS, w których według Ramanana i wsp. proporcja płci żeńskiej do męskiej wynosi 2-3:1, natomiast podtyp choroby o początku systemowym dotyczy w równym stopniu zarówno dziewcząt, jak i chłopców (32). Również Macaubas i wsp. opisują trzykrotną przewagę dziewczynek wśród dzieci z MIZS o początku skapostawowym lub wielostawowym (39).

W analizowanym materiale cechą najbardziej różniącą grupę badanych dziewczynek od chłopców niezależnie od prezentowanego podtypu choroby był wiek zachorowania. O ile w grupie dzieci z nowo zdiagnozowanym MIZS różnica ta była nieistotna statystycznie, to w grupie zakwalifikowanej do leczenia biologicznego 93,3% dziewczynek zachorowało przed ukończeniem 6 r.ż. (vs 25,0% chłopców). W tej grupie 66,6% spośród pacjentów z wczesnym początkiem choroby (<6 r.ż.) miało obecne ANA w mianie  $\geq 1:160$ .



Dodatkowo 80% pacjentów, u których rozwinęło się zapalenie błony naczyniowej oka należało do tej grupy.

Jak dotąd przewagę płci żeńskiej, młodszy wiek w chwili zachorowania, obecność ANA oraz zwiększone ryzyko rozwoju *uveitis* wiązano z jednym typem MIZS – postacią nielicznostawową (91). Jednak w prezentowanym materiale własnym do opisanej podgrupy pacjentów należały dzieci zarówno z postacią skapo-, jak i wielostawową MIZS.

Aktualnie obowiązująca klasyfikacja MIZS jest niedoskonała, dlatego cały czas trwają poszukiwania dyskryminatora, który pozwoliłby wyodrębnić jak najbardziej jednorodne podgrupy pacjentów. W 2011r. Ravelli i wsp. analizując retrospektywnie grupę 860 dzieci z MIZS dowiedli, że pacjenci z obecnymi przeciwciałami przeciwjądrowymi prezentujący różne podtypy choroby według ILAR charakteryzują się podobnymi cechami klinicznymi: przewagą płci żeńskiej, młodszym wiekiem zachorowania, zwiększonym ryzykiem rozwoju *uveitis*, mniejszą liczbą zajętych stawów i asymetrycznym rozkładem zapalenia stawów (149). Analiza własnego materiału nie upoważnia jednak do postawienia takiego wniosku. Tylko w grupie II pacjenci ANA(+) odpowiadali charakterystyce klinicznej przedstawionej w cytowanej pracy. Natomiast wśród dzieci z nowo zdiagnozowanym MIZS i obecnością ANA obserwowano niewielką przewagę płci żeńskiej i pojawienie się pierwszych objawów choroby w różnym wieku.

Warto podkreślić, że już wcześniej stwierdzono, że wiek w chwili zachorowania może mieć implikacje biologiczne w przebiegu choroby. Jednak poza podtypem charakteryzującym się zapaleniem stawów i ścięgien parametr ten nie jest wykorzystywany w klasyfikacji MIZS (150). Za wystąpienie pierwszych objawów choroby w określonym wieku odpowiadają geny związane z układem zgodności tkankowej (43). Pacjenci z wczesnym początkiem choroby (<6 r.ż.) posiadają inny panel łańcuchów lekkich typu kappa i częściej są ANA(+) (151; 152). Barnes i wsp. analizowali ekspresję genów dla komórek jednojądrzastych krwi obwodowej u dzieci z nowo rozpoznaną postacią nielicznostawową i wielostawową seronegatywną w zależności od wieku zachorowania. Badacze udowodnili, że niezależnie od podtypu MIZS u pacjentów, którzy zachorowali przed ukończeniem 6 r.ż. dominuje ekspresja genów związanych z odpornością humoralną kodujących immunoglobuliny,

markery powierzchniowe i czynniki transkrypcyjne charakterystyczne dla limfocytów B. Z kolei dla pacjentów z późnym początkiem choroby specyficzna jest większa ekspresja genów związanych z odpornością komórkową i linią komórek mieloidalnych (150). Dane te sugerują, że wiek w chwili wystąpienia objawów może być ważnym parametrem, który należałoby rozważyć w klasyfikacji MIZS. Ponadto badacze sugerują, że mechanizmy patologiczne mogą się zmieniać wraz z wiekiem zachorowania i zrozumienie tych procesów może prowadzić do poprawy leczenia MIZS.

Zaprezentowane w pracy wyniki pozwalają wysunąć hipotezę, że dziewczynki, które zachorowały przed ukończeniem 6 roku życia są bardziej narażone na niepowodzenie leczenia standardowego i będą potencjalnymi kandydatami do leczenia biologicznego. Jednak dla poparcia tej tezy konieczne jest przeprowadzenie dalszych badań w liczniejszej grupie pacjentów z MIZS.

Analiza oparta o doświadczenia własne Kliniki wskazuje, że okres czasu potrzebny do rozpoznania choroby po pojawieniu się jej pierwszych objawów, biorąc pod uwagę 6 tygodni wynikające z definicji MIZS, był stosunkowo krótki. W grupie I mediana czasu pomiędzy początkiem choroby a diagnozą wynosiła 2,5 miesiąca, a w grupie II – 2,0 miesiące. Warto jednak podkreślić, że okres czasu między pojawieniem się pierwszych objawów choroby a postawieniem diagnozy zależał od tego do lekarza jakiej specjalności zgłosił się pacjent. Na podstawie analizy danych z grupy I ustalono, że w przypadku pacjentów konsultowanych przez reumatologa mediana czasu jaki minął od wystąpienia zapalenia stawów do rozpoznania choroby wynosiła 1,75 miesiąca. Okres czasu potrzebny do rozpoznania MIZS u dzieci, które w pierwszej kolejności diagnozował lekarz rodzinny, ortopeda lub chirurg wydłużył się do 5,5 miesiąca (mediana). Nie obserwowano różnicy stężeń cytokin prozapalnych w obu grupach. Podobne obserwacje dotyczące czasu, jaki upłynął od wystąpienia objawów zapalenia stawów do skierowania pacjenta na pierwszą wizytę u reumatologa dziecięcego, co pozwoliło rozpoznać MIZS, przedstawili w 2008r. Adib i wsp.. Spośród 507 chorych, których dane przeanalizowali, najwcześniej (średnio po 1,6 miesiąca) do specjalisty trafili pacjenci z postacią systemową MIZS. Łatwo jest to wyjaśnić ciężkim przebiegiem tego podtypu choroby i związaną z nim koniecznością hospitalizacji. U pacjentów z wielostawowym początkiem MIZS okres ten trwał średnio 6,2 miesiąca, najdłuższy był w łuszczykowym zapaleniu stawów

i wynosił 8,6 miesiąca. Adib i wsp. sugerowali, że przyczyną takich opóźnień w ustaleniu diagnozy MIZS jest nieodpowiednie nauczanie reumatologii w Wielkiej Brytanii (153). Z kolei w cytowanym już w niniejszej pracy skandynawskim badaniu kohortowym przedstawiono bardziej optymistyczne dane. Mediana czasu jaki upłynął od wystąpienia objawów zapalenia stawów do rozpoznania MIZS wynosiła 47 dni niezależnie od tego jakiej specjalności lekarz opiekował się pacjentem (reumatolog, pediatra, ortopeda, lekarz rodzinny) (146). Porównując wyniki z własnej grupy pacjentów z danymi przedstawionymi w cytowanej pracy skandynawskich badaczy, można wysunąć wniosek, że w przypadku dzieci, które nie zostały skierowane do reumatologa w pierwszej kolejności okres czasu jaki upłynął od początku choroby do rozpoznania, a co za tym idzie do rozpoczęcia właściwego postępowania terapeutycznego, był zbyt długi. Należałoby przeanalizować dane dotyczące czasu rozpoznania dla większej grupy pacjentów, aby móc sformułować dalej idące wnioski. Jednak pomimo braku takich badań w Polsce według Tuskiewicz-Misztal znaczny odsetek dzieci trafia na pierwsze badanie do reumatologa za późno. Jej zdaniem na wielu wydziałach lekarskich reumatologia dziecięca jest nauczana w bardzo ograniczonym zakresie, a w dostępnych polskich podręcznikach pediatrii brakuje kompleksowego i nowoczesnego potraktowania MIZS (154).

Cytokiny, działając w sieci wzajemnych powiązań odpowiadają za procesy immunoregulacyjne oraz odpowiedź zapalną. Główną rolę patogenną w MIZS przypisuje się TNF- $\alpha$ , IL-6 i IL-1 $\beta$ . TNF- $\alpha$  uczestniczy w niemal wszystkich zjawiskach składających się na odpowiedź zapalną: inicjuje syntezę chemokin, wzmacnia ekspresję cząsteczek adhezyjnych, promuje dojrzewanie komórek dendrytycznych oraz indukuje wytwarzanie mediatorów zapalenia i innych cytokin prozapalnych (w tym IL-1 $\beta$  i IL-6) (84). IL-6 jest cytokiną plejotropową, o właściwościach zarówno pro-, jak i przeciwzapalnych. W chorobach stawów przeważa funkcja prozapalna tej cytokiny. Główną jej rolą jest inicjowanie i regulacja ostrej odpowiedzi zapalnej oraz ułatwianie rozwoju i ukierunkowanie odpowiedzi nabytej. Jest uznawana za cytokinę przekąźnikową, ponieważ indukuje produkcję białek ostrej fazy w wątrobie. Wzmoczone wytwarzanie tej cytokiny promuje przejście reakcji zapalnej w fazę przewlekłą. IL-6 wykazuje także wiele działań ogólnoustrojowych. Przeciwzapalne działanie IL-6 polega na hamowaniu wytwarzania TNF- $\alpha$  i IL-1 oraz na indukowaniu syntezy

IL-1Ra i tkankowego inhibitora metaloproteinaz (84; 101). Ostatnie badania u zwierząt z zapaleniem stawów indukowanym podaniem antygeny wykazały jednoznacznie, że zarówno TNF- $\alpha$ , jak i IL-6 przyczyniają się do powstania i utrzymywania się przetrwałego bólu stawów zajętych procesem zapalnym (155).

Udział IL-1 $\beta$  w patogenezie MIZS polega głównie na podtrzymywaniu odpowiedzi zapalnej. Funkcje biologiczne tej cytokiny są podobne do działania TNF- $\alpha$ . Jednak pomimo tych zbieżności udział IL-1 $\beta$  w patogenezie chorób reumatycznych wydaje się mniej istotny, gdyż jej synteza jest indukowana przez TNF- $\alpha$  (84). Ponadto najnowsze badania wskazują, że IL-1 $\beta$  jest cytokiną działającą homeostatycznie na tkankę kostną. Podczas przetrwałego zapalenia IL-1 $\beta$  działa prodestrukcyjnie, zwiększając wytwarzanie i aktywność osteoklastów resorbujących kość, ale w warunkach fizjologicznych może zapobiegać destrukcji, gdyż hamuje wczesne etapy osteoklastogenezy (100).

Istnieje wiele doniesień potwierdzających obecność podwyższonych stężeń cytokin prozapalnych w surowicy krwi i płynie stawowym chorych z różnymi postaciami MIZS oraz takich, w których opisywano dobrą odpowiedź na leczenie antycytkinowe (92; 104; 105; 106; 108; 156; 157). Chociaż kluczowa rola cytokin prozapalnych w patogenezie MIZS jest dobrze udokumentowana, dane z piśmiennictwa przynoszą rozbieżne informacje na temat użyteczności oceny ich stężeń w diagnozowaniu choroby lub monitorowaniu jej przebiegu. Dotychczas ukazało się niewiele prac oceniających dynamikę zmian stężeń cytokin i chemokin w procesie zapalnym w przebiegu MIZS. Wśród tych, których wyniki zostały opublikowane większość polegała na oznaczaniu stężeń czynników prozapalnych tylko raz podczas trwania choroby. Badacze skupiali się m.in. na wykazaniu różnic w profilu cytokin w różnych podtypach choroby lub pomiędzy ich stężeniem w surowicy krwi i w płynie stawowym. Kilka publikacji dotyczyło porównania stężeń czynników prozapalnych w surowicy krwi lub w płynie stawowym pomiędzy fazą aktywną i nieaktywną MIZS niezależnie od sposobu leczenia. Istnieją również doniesienia, w których stężenia cytokin prozapalnych były mierzone przed włączeniem leczenia biologicznego i podczas terapii antycytkinowej, ale jej efekty oceniano przy pomocy wskaźników poprawy klinicznej (158; 159; 160). Tylko w części badań autorzy sprawdzali korelacje stężenia określonych cytokin ze wskaźnikami aktywności choroby (156; 157; 161; 162). Warto podkreślić, że niewielka ilość publikacji

na temat profilu cytokin w MIZS wynika również z faktu, że jeszcze do niedawna obowiązywały dwie definicje i klasyfikacje choroby.

W materiale własnym wykazano obecność podwyższonych stężeń TNF- $\alpha$  w surowicy krwi w odniesieniu do grupy kontrolnej w obu analizowanych grupach w momencie włączenia do badania, tzn. w fazie aktywnej choroby. Należy zauważyć, że uwzględniając reprezentowane w badanych grupach podtypy choroby, w odniesieniu do grupy I oceniany profil cytokin dotyczył prawie wyłącznie nielicznostawowej postaci MIZS. Z kolei w grupie II uzyskane wyniki odnosiły się do MIZS o początku nieliczno- i wielostawowym, przy czym stężenia wszystkich trzech badanych cytokin prozapalnych nie różniły się między postaciami choroby.

Mangge i wsp. w dwuletnim badaniu prospektywnym dokonali szczegółowej analizy stężeń czynników prozapalnych, rozpuszczalnych receptorów dla IL-6 i IL-2 oraz konwencjonalnych wskaźników stanu zapalnego u pacjentów z młodzieńczym reumatoidalnym zapaleniem stawów (MRZS). Badacze stwierdzili obecność podwyższonych, w porównaniu z grupą kontrolną, stężeń TNF- $\alpha$  w surowicy krwi w całej grupie badanej niezależnie od podtypu choroby oraz w poszczególnych postaciach MRZS. Jedynie u dzieci z typem II postaci nielicznostawowej stężenia TNF- $\alpha$  były takie jak w grupie kontrolnej (104).

Podobną tendencję do prezentowanej w rozprawie wykazali Shahin i wsp., którzy na materiale 19 pacjentów z młodzieńczym przewlekłym zapaleniem stawów (MPZS) stwierdzili obecność podwyższonych stężeń TNF- $\alpha$  w surowicy krwi w porównaniu z grupą kontrolną. Najwyższe stężenia tej cytokiny występowały u dzieci z postacią uogólnioną choroby (163).

Zbliżone do opisanych rezultaty przyniosło badanie Pietrewicz i wsp., w którym oceniano stężenie cytokin prozapalnych w surowicy krwi u 25 dzieci z MIZS w fazie aktywnej i nieaktywnej choroby. Niezależnie od aktywności choroby autorzy stwierdzili najwyższe stężenie TNF- $\alpha$  w grupie z początkiem systemowym MIZS. Jednocześnie wykazali oni, że w podtypie MIZS z zajęciem niewielu stawów stężenie tej cytokiny było niższe niż w grupie kontrolnej (164).

Również Kutukculer i wsp. obserwowali obecność podwyższonych stężeń TNF- $\alpha$  w surowicy krwi i płynie stawowym pacjentów z postacią nielicznostawową i wielostawową MIZS w fazie aktywnej choroby (165).

Ich spostrzeżenia były zgodne z wcześniejszymi obserwacjami Lepore i wsp. przeprowadzonymi w grupie 66 dzieci z MPZS o początku nieliczno- i wielostawowym oraz systemowym (166).

Z kolei Prahalad i wsp. w 2008r. dowiedli, że stężenia TNF- $\alpha$  w surowicy krwi mierzone przy pomocy cytometrii przepływowej były znacząco wyższe u wszystkich pacjentów z MIZS (niezależnie od postaci choroby) w porównaniu z grupą kontrolną dzieci zdrowych. W przeprowadzonych przez nich badaniach, w grupie ok. 80 dzieci z MIZS, stężenia TNF- $\alpha$  w surowicy krwi były podwyższone we wszystkich grupach z wyjątkiem przetrwałej postaci jednostawowej MIZS (108).

Podwyższone stężenie TNF- $\alpha$  w surowicy krwi obserwowali również Breda i wsp., którzy w grupie pacjentów z postacią nielicznostawową i wielostawową MIZS w wieku przedpokwitaniowym oceniali obecność wczesnych zmian miażdżycowych, zależność pomiędzy cIMT (carotid intima-media thickness) a wskaźnikami aktywności choroby i stężeniem cytokin prozapalnych oraz wpływ leczenia na normalizację powyższych parametrów (167).

W przeciwieństwie do cytowanych powyżej doniesień wyniki innych badań poddają w wątpliwość przydatność oceny stężeń TNF- $\alpha$  w surowicy krwi w diagnozowaniu lub monitorowaniu przebiegu MIZS oraz skuteczności leczenia.

Ou i wsp. przeprowadzili badania w niewielkiej grupie 14 pacjentów z różnymi postaciami MIZS i nie potwierdzili wcześniejszych spostrzeżeń, że w fazie aktywnej choroby stężenia TNF- $\alpha$  są znacząco wyższe niż w grupie kontrolnej zdrowych dzieci (162).

Zbliżone rezultaty odnośnie stężeń TNF- $\alpha$  w surowicy krwi dzieci z MRZS prezentowali Yilmaz i wsp.. W okresie 4 lat obserwacji przeanalizowali profil cytokin prozapalnych w fazie aktywnej i nieaktywnej zapalenia stawów u 34 pacjentów reprezentujących trzy najczęstsze postacie choroby. Badacze nie wykazali różnic w stężeniu TNF- $\alpha$  pomiędzy analizowaną grupą a zdrowymi dziećmi niezależnie od aktywności MRZS i od postaci choroby (156).

W zgodzie z powyższymi pozostają wyniki przedstawione w jednej z ostatnich publikacji dotyczącej profilu cytokin prozapalnych autorstwa Spirchez i wsp. (161).

Dodatkowo Caparbo i wsp. w pracy dotyczącej wpływu czynników zawartych w surowicy dzieci z aktywną postacią wielostawową MIZS na różnicowanie, mineralizację i apoptozę ludzkich osteoblastów w warunkach *in vitro* dowiedli, że stężenie TNF- $\alpha$  nie różniło się pomiędzy grupą badaną i kontrolną (168).

W cytowanych pracach obserwacje dotyczyły dzieci z młodzieńczym zapaleniem stawów rozpoznanym i leczonym przed rozpoczęciem badania. W większości z nich pacjenci byli leczeni w sposób standardowy (GKS, LMPCh, NLPZ objawowo). Spirchez i wsp., Prahald i wsp. oraz Breda i wsp. oceniali w swoich pracach grupę niejednorodną pod względem postępowania terapeutycznego. Obok dzieci w trakcie leczenia standardowego uzupełniali ją pacjenci leczeni etanerceptem (108; 161; 167). Dodatkowo w pracy pierwszego zespołu w analizowanej grupie uwzględniono dzieci, które osiągnęły remisję przed rozpoczęciem badania i nie wymagały przyjmowania leków (161).

W materiale własnym, w grupie dzieci z nowo zdiagnozowanym MIZS zastosowana terapia skutkowała początkowym spadkiem stężenia TNF- $\alpha$  po 6 miesiącach, w odniesieniu do grupy zdrowych rówieśników, ale po roku średnie stężenie omawianej cytokiny osiągnęło wartość obserwowaną na wstępie badania. Wyniki nie są zaskoczeniem jeśli uwzględni się, że dawka MTX w przeliczeniu na m<sup>2</sup> powierzchni ciała, od której rozpoczęto leczenie była statystycznie znacząco wyższa od średniej dawki stosowanej w drugim półroczu badania. W samej grupie badanej nie stwierdzono statystycznie znamiennych różnic w średnich stężeniach TNF- $\alpha$  w czasie. Odmienne wyniki prezentowali pacjenci z grupy leczonej biologicznie. Podczas terapii etanerceptem średnie stężenia TNF- $\alpha$  w surowicy krwi u tych dzieci wzrosły kilkadziesiąt razy w porównaniu do grupy kontrolnej oraz stanu sprzed włączenia leczenia niezależnie od uzyskanej poprawy klinicznej. Z tego powodu w pracy nie porównano stężeń cytokin prozapalnych pomiędzy obiema grupami badanymi.

Obok nielicznych prac, w których opisywano normalizację stężeń TNF- $\alpha$  podczas stosowania etanerceptu, większość wcześniejszych doniesień potwierdzała wzrost stężenia TNF- $\alpha$  w trakcie leczenia inhibitorami czynnika martwicy nowotworów (167; 169). Zou i wsp. obserwowali u pacjentów ze spondyloartropatią leczonych etanerceptem w dawce 25 mg podskórnie dwa razy w tygodniu nasilenie sekrecji TNF- $\alpha$  przez subpopulację limfocytów T CD4+ i CD8+ po ich niespecyficzną stymulację w warunkach *in vitro* (170).

W podobnym czasie Madhusudan i wsp. oceniali skuteczność etanerceptu w leczeniu zaawansowanego raka piersi opornego na standardową terapię. Badacze zauważyli, że stężenie TNF- $\alpha$  wzrosło znacząco w pierwszej dobie leczenia antycytokinowego i, że zjawisko to utrzymywało się aż do zakończenia podawania leku (171).

Podobne obserwacje poczynili Tsimberidou i wsp. u pacjentów ze szpiczakiem mnogim leczonych etanerceptem (172).

Zwiększoną koncentrację czynnika martwicy nowotworów w trakcie terapii antycytokinowej opisywali również Nowlan i wsp. (173) u pacjentów z okresowymi zespołami związanymi z receptorem 1 TNF oraz Spirchez i wsp. (161) oraz Levälampi i wsp. (174) u dzieci z MIZS.

Z kolei Suffredini i wsp. oceniali wpływ etanerceptu na odpowiedź zapalną u pacjentów z jatrogenną endotoksemią. Oprócz wzrostu stężenia TNF- $\alpha$  w surowicy krwi zauważyli jego zależność od podanej dawki leku (175).

Ponadto istnieją doniesienia o współwystępowaniu podwyższonych stężeń rozpuszczalnego TNF- $\alpha$  w surowicy krwi pacjentów leczonych etanerceptem i rozwoju nowej choroby autoimmunologicznej, np. choroby Leśniowskiego-Crohna czy łuszczycy (176; 177; 178). W 2010r. Kaneko i wsp. opublikowali opis przypadku pacjenta z chorobą Still'a o początku w wieku dorosłym powikłaną zespołem aktywacji makrofaga. Autorzy uważają, że znaczący wzrost stężenia TNF- $\alpha$  w surowicy krwi, jaki wystąpił po leczeniu antycytokinowym był przyczyną nagłego zaostrzenia procesu chorobowego (179).

Hipotetyczne wyjaśnienie powyższego mechanizmu zaproponował Kast w 2005r.. Obie formy TNF- $\alpha$ : rozpuszczalna i błonowa wykazują aktywność biologiczną za pośrednictwem dwóch rodzajów receptorów



TNFR1 (działanie proapoptotyczne i przeciwzapalne) i TNFR2 (działanie antyapoptotyczne i prozapalne). Rozpuszczalna forma TNF- $\alpha$  wykazuje większe powinowactwo do TNFR1, natomiast forma błonowa w równym stopniu wiąże się z oboma rodzajami receptora. Etanercept, czyli białko fuzyjne składające się z dimerycznego rozpuszczalnego TNFR2 i fragmentu Fc ludzkiej IgG1, wiążąc wydzielniczą postać TNF- $\alpha$  zapobiega połączeniu się cytokiny z jej receptorami. W związku z tym zaburza równowagę w przekazywaniu sygnału przez oba receptory na korzyść TNFR2. Skutkiem tej nierównowagi jest nasilenie syntezy TNF- $\alpha$  i zahamowanie procesu apoptozy (180). Należy również zauważyć, że przeciwciała anti-TNF- $\alpha$  stosowane w komercyjnych testach łączą się zarówno z wolnymi cząsteczkami TNF- $\alpha$ , jak i z tymi związanymi z etanerceptem. To oznacza, że przy ich pomocy wykrywa się aktywny i nieaktywny biologicznie TNF- $\alpha$ . Ponadto warto zwrócić uwagę, na fakt, że okres półtrwania w krążeniu rozpuszczalnej formy TNF- $\alpha$  (który w naturalnych warunkach wynosi 3÷30 minut) po związaniu przez cząsteczkę etanerceptu ulega znacznemu wydłużeniu (okres półtrwania etanerceptu ok. 70h) (181; 182). Co więcej, po odłączeniu od cząsteczki etanerceptu, TNF- $\alpha$  nadal może wykazywać aktywność biologiczną (183).

W obu analizowanych grupach w momencie włączenia do badania, czyli w aktywnej fazie choroby wykazano obecność podwyższonych stężeń IL-6 w surowicy krwi w porównaniu z grupą kontrolną. Podobne wyniki u dzieci z różnymi postaciami MRZS, MPZS lub MIZS przedstawiało wcześniej wielu autorów (92; 104; 108; 156; 157; 161; 162; 163; 168; 184). IL-6, obok IL-1 $\beta$ , ma największe znaczenie w patogenezie postaci układowej MIZS (36; 64; 88; 89; 90). Ma to związek m.in. z nadmierną aktywacją genów związanych z IL-6, receptorami TLR/IL-1R i ze szlakiem przekazywania sygnału z udziałem receptorów aktywowanych proliferatorami peroksysomów typu gamma (90).

W materiale własnym stężenia IL-6 były podobnie wysokie w obu reprezentowanych postaciach choroby. W odniesieniu do podtypu choroby z zajęciem wielu stawów wyniki te są zgodne z większością danych literaturowych (156; 157; 161; 163; 164; 166; 168; 185; 184; 167). Z kolei obserwacje dotyczące stężeń IL-6 w surowicy krwi dzieci z postacią nielicznostawową, podobnie jak w odniesieniu do TNF- $\alpha$ , różnią się między sobą. De Benedetti i wsp., (184)

Madson i wsp. (185) oraz Breda i wsp. (167) przedstawili obserwacje analogiczne do tych uzyskanych w materiale własnym. Odmienne wyniki uzyskali niezależnie od siebie Yilmaz i wsp. (156), Lepore i wsp. (166) oraz Spirchez i wsp. (161), którzy wykazali, że stężenie IL-6 w surowicy krwi pacjentów z postacią nielicznostawową MIZS jest podobne jak w grupie dzieci zdrowych. Natomiast zespół Pietrewicz i wsp. obserwował obniżone stężenie IL-6 w stosunku do grupy kontrolnej w podtypie z zajęciem niewielu stawów (164).

W analizowanym materiale stężenie IL-6 obniżyło się znacząco w trakcie leczenia. W grupie I spadek stężenia omawianego czynnika w czasie dotyczył wszystkich pacjentów niezależnie od stopnia poprawy klinicznej. W grupie II tylko u dzieci w fazie nieaktywnej stężenia IL-6 osiągnęły wartości znacząco niższe niż przed włączeniem leczenia etanerceptem. Podobnie Levälampi i wsp. donosili o redukcji stężenia IL-6 w surowicy krwi podczas terapii anty-TNF- $\alpha$ . Badacze obserwowali u dzieci z MIZS leczonych infliksimabem spadek stężenia IL-6 o ok. 50% i utrzymanie się takiego efektu przez 24 tygodnie (174). Podobne rezultaty opisywali Visvanathan i wsp. (186). Wy tłumaczeniem tego zjawiska jest fakt, że związanie TNF- $\alpha$  przez etanercept lub infliksimab blokuje jego aktywność biologiczną m.in. zdolność do pobudzania produkcji IL-6 przez różne komórki. Ponadto pacjenci z aktywną chorobą oraz pacjenci w remisji w trakcie leczenia różnią się ekspresją różnych grup genów. W grupie chorych z aktywną chorobą nadmiernej ekspresji ulegają geny dla IFN- $\gamma$ , IL-6, IL-4. Sugeruje to, że na poziomie molekularnym remisja kliniczna w trakcie leczenia to zahamowanie ekspresji ww. genów (187). Analiza stężeń IL-6 w obu grupach w zależności od aktywności choroby (niezależnie od czasu pobrania) potwierdziła wcześniejsze obserwacje, że u dzieci w nieaktywnej klinicznie fazie choroby stężenie tej cytokiny jest niższe (104; 108; 156; 161; 162; 164; 168; 184).

W analizowanym materiale stężenia IL-1 $\beta$  nie różniły się pomiędzy dziećmi chorymi a zdrowymi. Wyjątek stanowili pacjenci z nowo zdiagnozowanym ANA+ MIZS, u których stężenie IL-1 $\beta$  było wyższe niż w grupie kontrolnej. Zastosowane leczenie nie miało znaczącego wpływu na stężenie IL-1 $\beta$  w żadnej z analizowanych grup.

Rola tej cytokiny w patogenezie choroby jest bezsprzeczna w odniesieniu do postaci o początku uogólnionym (107; 188; 189). Wielu autorów

opisywało obecność podwyższonych stężeń IL-1 $\beta$  w surowicy krwi pacjentów z podtypem systemowym choroby (104; 108; 156; 190; 191). Chociaż w wielu badaniach nie wykazano zwiększonej ekspresji IL-1 $\beta$  w komórkach jednojądrzastych krwi obwodowej dzieci z postacią uogólnioną MIZS, Pascual i wsp. udowodnili, że surowica pacjentów z układowym podtypem MIZS dodana do hodowli tkankowych z komórkami jednojądrzastymi wyizolowanymi z krwi zdrowych ochotników, stymuluje produkcję IL-1 $\beta$  przez układ fagocytów jednojądrzastych oraz że komórki jednojądrzaste tych samych pacjentów produkują znacznie większe ilości IL-1 $\beta$  w porównaniu z grupą kontrolną (64; 107; 158; 188; 192; 193). Najistotniejszym dowodem na udział IL-1 $\beta$  w postaci MIZS o początku uogólnionym jest dobra odpowiedź na leczenie antagonistą receptora dla IL-1 (107; 132).

Podobnie jak w przypadku wcześniej omówionych cytokin prozapalnych piśmiennictwo dostarcza przeciwstawnych danych na temat znaczenia IL-1 $\beta$  w diagnozowaniu i monitorowaniu przebiegu MIZS o początku innym niż systemowy. Na podwyższone stężenie tej cytokiny w surowicy bądź płynie stawowym dzieci z postacią wielostawową i/lub nielicznostawową młodzieńczego zapalenia stawów uwagę zwracali m.in. cytowani już wcześniej Mangge i wsp. (104), Yilmaz i wsp. (156) oraz Madson i wsp. (185), a także Breda i wsp. (167). Ponadto Saxena i wsp. donosili w 2005r., że młodociani pacjenci z zajęciem wielu stawów lub równoczesnym zapaleniem stawów i ścięgien mieli wyższe stężenie IL-1 $\beta$  w płynie stawowym niż grupa chorych z RZS (194). Z kolei Alarcon-Riquelme i wsp. wykazali, że stężenie tej cytokiny w surowicy krwi obwodowej dzieci z MRZS było prawidłowe (195). Jeszcze inne obserwacje miały zespoły Caparbo i wsp. (168) oraz Ou i wsp. (162). W prowadzonych przez tych drugich badaniach stężenie IL-1 $\beta$  w surowicy krwi pacjentów z MIZS znajdowało się poniżej limitu detekcji, który wynosił 5 pg/ml (162). Warto zaznaczyć, że w prezentowanym materiale własnym granica wykrywalności IL-1 $\beta$  była równa 0,32 pg/ml, a średnie stężenie tej cytokiny nie przekraczało 3,427 pg/ml. Pomimo tak dużych rozbieżności wyników w cytowanych pracach potwierdzono celowość stosowania anakinry w postaci wielostawowej MIZS, w przebiegu której może opóźnić wystąpienie zmian wykazywanych badaniem radiologicznym (196).

W analizowanym materiale nie wykazano zależności pomiędzy stężeniami cytokin prozapalnych w żadnym z punktów czasowych, również po uwzględnieniu typu początku choroby. Korelacje takie nie istniały także

przy wyodrębnieniu z obu grup pacjentów w różnych fazach aktywności choroby. Wyjątek stanowiły dzieci z grupy II przed włączeniem leczenia biologicznego, u których zaobserwowano ujemną korelację pomiędzy stężeniem TNF- $\alpha$  i IL-1 $\beta$ . Dane literaturowe dotyczące rozpatrywanych zależności są bardzo skromne. W istniejących doniesieniach, w których zajmowano się tym zagadnieniem przedstawiono wyniki sprzeczne z uzyskanymi w analizowanym materiale własnym. Kontny i wsp. odnotowali bardzo wysoką korelację pomiędzy stężeniami TNF- $\alpha$  i IL-6 w surowicy krwi pacjentów z nielicznostawową postacią choroby (197). Z kolei Prahalad i wsp. opisywali wysoki stopień zależności pomiędzy stężeniami TNF- $\alpha$  i IL-6, TNF- $\alpha$  i IL-1 $\beta$  oraz IL-6 i IL-1 $\beta$  w surowicy krwi (108). W analizowanej przez nich grupie pacjentów znalazły się dzieci z różnymi podtypami MIZS (systemowym, wielostawowym seropozytywnym, wielostawowym seronegatywnym, nielicznostawowym i związanym z zapaleniem ścięgien).

Analizując występowanie zależności pomiędzy stężeniem TNF- $\alpha$  a wskaźnikami aktywności choroby w obu grupach oraz w obu podtypach choroby, nie stwierdzono takiej korelacji dla większości punktów czasowych. Warto pamiętać, że w grupie II stężenie TNF- $\alpha$  wzrosło w związku z wdrożonym leczeniem. W pierwszym badaniu kontrolnym zmiana stężenia TNF- $\alpha$  była proporcjonalna do zastosowanej dawki etanerceptu w aktywnej i nieaktywnej fazie choroby, ale w tym czasie nie odnotowano korelacji między stężeniem badanej cytokiny a którymkolwiek ze wskaźników aktywności MIZS. Z kolei w drugim badaniu kontrolnym, w którym zależność między dawką etanerceptu a stężeniem TNF- $\alpha$  obserwowano tylko u pacjentów z remisją, stwierdzono wysoki stopień korelacji tej cytokiny z liczbą stawów z aktywnym procesem zapalnym oraz z liczbą stawów z ograniczeniem ruchomości. Dane z piśmiennictwa po raz kolejny dostarczają rozbieżnych informacji. Większość autorów była zgodna z pierwszą obserwacją (104; 156; 166; 164). Należy jednak pokreślić, że ich zespoły skupiły się głównie na laboratoryjnych wskaźnikach aktywności choroby (OB, CRP). Odmienne rezultaty przedstawili Kutukculer i wsp., którzy znaleźli zależność między stężeniem TNF- $\alpha$  i CRP w surowicy krwi pacjentów ze skapo- i wielostawową postacią MPZS (165). Z kolei Prahalad i wsp. opisywali obecność korelacji między stężeniem badanej cytokiny a liczbą zajętych stawów w grupie 77 dzieci z różnymi podtypami MIZS (108).

Badanie zależności między stężeniami IL-1 $\beta$  i wskaźnikami aktywności choroby przyniosło podobne rezultaty jak w przypadku TNF- $\alpha$ . W obu analizowanych grupach oraz w obu podtypach choroby nie stwierdzono takiej korelacji dla większości punktów czasowych. Wyjątek stanowili pacjenci z grupy II, u których po roku leczenia stężenie IL-1 $\beta$  korelowało z wartością OB. Powyższe wyniki pozostają w zgodzie z większością doniesień z piśmiennictwa. Na brak zależności pomiędzy ilością IL-1 $\beta$  a wskaźnikami aktywności choroby uwagę zwracali cytowani już wcześniej Yilmaz i wsp. (156), Lotito i wsp. (157), Ou i wsp. (162) oraz Mangge i wsp. (104). Jedynie Ozen i wsp. opisywali korelację pomiędzy omawianą cytokiną a nasileniem choroby u dzieci z MPZS. Trzeba jednak podkreślić, że ich zespół był jedynym, który aktywność choroby oceniał na podstawie własnego wskaźnika. Jego wartość obliczano uwzględniając 5 kryteriów: obecność objawów ogólnych i/lub sztywności porannej, obrzęk stawów, wzmożone ucieplenie stawów, ograniczenie ruchomości oraz ból stawów. W materiale własnym i większości publikacji nasilenie procesu chorobowego ocenia się przy pomocy różnych wskaźników aktywności: a) laboratoryjnych (OB, CRP), b) stawowych (liczba stawów z aktywnym zapaleniem, liczba stawów z ograniczeniem ruchomości) oraz c) subiektywnych (całkowita ocena aktywności choroby przez lekarza, całkowita ocena dobrego samopoczucia pacjenta dokonana przez rodzica lub chore dziecko)

W przedstawianej pracy, podobnie jak w wielu innych opracowaniach, stężenie IL-6 korelowało z największą liczbą zmiennych. W obu analizowanych grupach istniała zależność pomiędzy stężeniami IL-6 i CRP. Wyjątek stanowili pacjenci z grupy II po 1 roku leczenia. W poszczególnych punktach czasowych stężenie IL-6 korelowało z dodatkowymi wskaźnikami aktywności choroby. W grupie I były to: w momencie włączenia do badania – OB, całkowita ocena aktywności choroby przez lekarza, liczba stawów z aktywnym zapaleniem i z ograniczeniem ruchomości, w drugim badaniu kontrolnym - całkowita ocena aktywności choroby przez lekarza, liczba stawów z aktywnym zapaleniem i z ograniczeniem ruchomości. Z kolei w grupie II jedynie przed włączeniem leczenia stwierdzono zależność pomiędzy stężeniem IL-6 a dodatkowymi zmiennymi (OB, całkowitą oceną aktywności choroby przez lekarza oraz całkowitą oceną dobrego samopoczucia pacjenta dokonaną przez rodzica). Powyższe wyniki pozostają w zgodzie z dotychczasowymi doniesieniami dotyczącymi pacjentów ze nielicznostawową

i wielostawową postacią choroby (104; 157; 164; 165). Ww. wyniki nie zaskakują, gdyż funkcja IL-6 jako induktora produkcji białek ostrej fazy w wątrobie znana jest od dawna. Lepore i wsp. (166) wykazali korelację pomiędzy IL-6 a OB i CRP dla postaci systemowej i wielostawowej MPZS, Rooney i wsp. (198) tylko dla podtypu o początku uogólnionym, a De Benedetti i wsp. (184) wyłącznie dla postaci z zajęciem wielu stawów. Ponadto ostatni zespół (184), podobnie jak Lotito i wsp. (157) oraz Ozen i wsp. (191), opisywał obecność zależności pomiędzy stężeniem IL-6 w surowicy krwi a liczbą obrzękniętych stawów w nieliczno- i wielostawowej postaci MPZS. Jedynie w opracowaniu cytowanych już wcześniej Yilmaz i wsp. nie obserwowano korelacji między stężeniem IL-6 a wskaźnikami stanu zapalnego u pacjentów z tymi dwoma podtypami MIZS (156).

W grupie dzieci z nowo rozpoznanym MIZS przed włączeniem leczenia modyfikującego przebieg choroby obserwowano nieznacznie podwyższone średnie wartości wskaźników stanu zapalnego, prawidłową średnią liczbę krwinek białych i płytek krwi oraz prawidłowe średnie stężenie hemoglobiny. Uwzględniając, że większość grupy stanowili pacjenci z postacią nielicznostawową MIZS, wartości tych parametrów laboratoryjnych nie różniły się od opisywanych w literaturze (1; 91; 113; 114; 115). W grupie zakwalifikowanej do leczenia biologicznego analizowanej jako całość obserwowano podobne wartości parametrów laboratoryjnych jak w grupie I. Jednak biorąc pod uwagę obecność dwóch podtypów choroby w grupie II stwierdzono znacznie podwyższone wartości wykładników stanu zapalnego, nadpłytkowość, niedokrwistość i leukocytozę u dzieci z postacią wielostawową (ze względu na małą liczebność podgrup nie stwierdzono różnic istotnych statystycznie), co pozostaje w zgodzie z danymi z piśmiennictwa (1; 91; 113; 114; 115). W trakcie leczenia obserwowano normalizację parametrów laboratoryjnych w obu grupach.

W analizowanym materiale stopień niepełnosprawności ustalony na podstawie kwestionariusza CHAQ dla grupy I i grupy II (jako całości oraz dla podgrupy ze nielicznostawową postacią choroby), zgodnie z interpretacją Dempstera i wsp. (143), określono jako „łagodny”. Wskaźnik stanu funkcjonalnego dla pacjentów o wielostawowym początku choroby był wyższy i według cytowanego zespołu badaczy interpretowany jako „łagodny do umiarkowanego” (143). Podobne obserwacje opisywano już wcześniej (199; 200; 201). Jedynie Boiu i wsp. donosili, że współczynnik stanu czynnościowego w różnych podtypach MIZS jest

podobny (202). W obu badanych grupach i w podgrupach o różnym początku choroby wskaźnik niepełnosprawności wg CHAQ poprawił się o ponad 0,13 w trakcie terapii, co interpretuje się jako klinicznie znaczącą poprawę (143). Poprawę stanu funkcjonalnego w odpowiedzi na zastosowane leczenie (standardowe i biologiczne) opisywano już wcześniej (145; 202; 203). W przedstawianej pracy nie porównano wartości wskaźnika stanu funkcjonalnego w obu badanych grupach, ponieważ w miarę postępu choroby jego wielkość zależy od różnych czynników. W przypadku dzieci we wczesnym stadium MIZS (grupa I) dominujące znaczenie ma aktywność choroby. W miarę progresji choroby wzrasta rola nieodwracalnych zmian związanych z uszkodzeniem struktur stawowych (204). Złożoność tych relacji sprawia, że ocena pacjentów z wczesnym i zaawansowanym stadium choroby różni się i może mieć istotne implikacje dla oceny stanu pacjenta w codziennej praktyce oraz w badaniach klinicznych.

Dla żadnej z analizowanych cytokin nie stwierdzono korelacji ze wskaźnikiem niesprawności według CHAQ. W piśmiennictwie brakuje danych na ten temat.

W przedstawianej pracy 90% pacjentów z grupy I osiągnęło poprawę kliniczną (wg kryteriów Gianniniego) po 6 i 12 miesiącach terapii. Po roku odsetek dzieci, które całkowicie odpowiedziały na leczenie wzrósł z 36,8% do 55,0%. Ze względu na różne schematy leczenia stosowane w tej grupie, uzyskanych wyników nie można porównać z danymi literaturowymi.

W grupie II obserwowano sukcesywną poprawę w trakcie leczenia. Co prawda po roku terapii odsetek pacjentów, u których stan nie poprawił się (według kryteriów Gianniniego) lub u których stwierdzono poprawę ACR Pediatric 30 i 50, zwiększył się w stosunku do tego obserwowanego po 6 miesiącach, to jednocześnie wzrosła liczba pacjentów z poprawą ACR Pediatric 70 i 100. U większości z tych pacjentów udało się odstawić GKS. Wyniki obserwowane w tej grupie, po 1 roku leczenia, były nieco lepsze niż w badaniach Lovella i wsp. oraz Horneffa i wsp. po tym samym okresie obserwacji (122; 125).

Biorąc pod uwagę szerokie spektrum klinicznych manifestacji choroby, ograniczoną wartość testów laboratoryjnych i brak "złotego" standardu, monitorowanie przebiegu klinicznego MIZS pozostaje wciąż wyzwaniem dla reumatologa. Samo stwierdzenie podwyższonego stężenia TNF- $\alpha$  czy IL-6

ma raczej wątpliwą wartość diagnostyczną przy rozpoznaniu MIZS, ze względu na fakt, że także u pacjentów z innymi chorobami przewlekłymi (cukrzyca, otyłość) lub infekcyjnymi obserwowano umiarkowane zwiększenie stężenia czynników prozapalnych (89; 98; 205; 206). Ponadto Kontny i wsp. dowiedli, że profil i stężenia cytokin prozapalnych (TNF, IL-6, IL-8, IL-23 i IL-17) u pacjentów z postacią nielicznostawową MIZS nie różnią od profilu i stężenia cytokin u dzieci z „artralgiami”. Ponadto przeciwciała wykorzystywane w komercyjnych zestawach różnią się miejscem wiązania TNF- $\alpha$  czy IL-6 i stąd mają różną zdolność wykrywalności cytokin (zarówno wolnych, jak i tych związanych z białkami). Dodatkowo, aktywacja cytokin *ex vivo* oraz ich degradacja zależy od sposobu pobrania i przechowywania materiału. Wiele cytokin posiada swój rytm dobowy, dlatego ważna jest ta sama pora pobierania materiału do badań.

Opierając się na wynikach badań własnych oraz danych z piśmiennictwa, uważam, że z pewnością ocena stężenia IL-6 w surowicy krwi pacjentów z MIZS może mieć wartość pomocniczą w monitorowaniu przebiegu choroby i skuteczności leczenia. Mimo że u pacjentów z nowo rozpoznanym MIZS, w odniesieniu do grupy kontrolnej obserwowano normalizację stężeń TNF- $\alpha$  w trakcie leczenia standardowego oraz ponowny wzrost stężenia tej cytokiny w trakcie redukcji dawek leków indukujących i podtrzymujących remisję, to w samej grupie badanej nie zaobserwowano takich zależności. Uwzględniając ostatnie spostrzeżenie oraz brak korelacji pomiędzy stężeniem TNF- $\alpha$  a którymkolwiek ze wskaźników aktywności choroby można stwierdzić, że analizowany czynnik prozapalny ma ograniczoną wartość jako wykładnik nasilenia choroby. Z kolei to czy wzrost stężenia IL-6 w surowicy krwi może być wskazaniem do ponownego stosowania wyższych dawek GKS i MTX czy jednoczesnego podania leku biologicznego wymaga dalszych badań prospektywnych. Ponadto, ze względu na obserwowany w trakcie leczenia etanerceptem rzekomy wzrost stężenia TNF- $\alpha$ , wynikający z wydłużenia okresu półtrwania w krążeniu rozpuszczalnej formy tej cytokiny po związaniu jej przez cząsteczkę leku oraz faktu, że przeciwciała anti-TNF- $\alpha$  stosowane w komercyjnych testach łączą się zarówno z wolnymi cząsteczkami TNF- $\alpha$ , jak i z tymi związanymi z etanerceptem, monitorowanie stężenia tej cytokiny w trakcie leczenia anti-TNF wydaje się być bezzasadnym.



Ocena stężenia IL-6 w surowicy u pacjentów z MIZS ma wartość pomocniczą i może być wykorzystywana przy podejmowaniu decyzji terapeutycznych jako cenne uzupełnienie wnikliwej obserwacji klinicznej i analizy rutynowych badań diagnostycznych.

## **VII WNIOSKI**

1. Postać nielicznostawowa była najczęstszą postacią MIZS w analizowanej grupie chorych w badanym okresie.
2. Płeć żeńska i wiek w chwili zachorowania <6 r.ż., to czynniki ryzyka warunkujące słabszą odpowiedź na leczenie standardowe i konieczność wcześniejszego zastosowania leczenia antycytokinowego w MIZS.
3. Rozpoznanie MIZS u dzieci, które nie zostały skierowane w pierwszej kolejności do reumatologa było znacząco opóźnione w grupie badanej.
4. Ocena dynamiki zmian stężeń TNF- $\alpha$  w surowicy u pacjentów z postacią nielicznostawową i postacią wielostawową MIZS leczonych w sposób standardowy ma ograniczoną wartość diagnostyczną w rozpoznawaniu choroby i monitorowaniu jej przebiegu oraz skuteczności leczenia.
5. Stężenie IL-6 w surowicy krwi może służyć jako biomarker aktywności choroby u dzieci z MIZS o początku nieliczno- lub wielostawowym, ułatwiając podjęcie decyzji terapeutycznych, zwłaszcza w sytuacjach kiedy istnieje duża rozbieżność pomiędzy stanem klinicznym a wynikami konwencjonalnych wykładników stanu zapalnego.
6. Ocena stężeń IL- $\beta$  nie ma wartości diagnostycznej w przebiegu nielicznostawowej i wielostawowej postaci MIZS.
7. Stężenie TNF- $\alpha$  w surowicy krwi mierzone przy wykorzystaniu komercyjnych testów, podczas terapii etanerceptem w rekomendowanej dawce ~0,4 mg/kg, jest znacząco wyższe niż przed leczeniem, niezależnie od uzyskanej poprawy klinicznej i w związku z tym monitorowanie stężenia tej cytokiny w trakcie leczenia anty-TNF, w oparciu o dostępne zestawy komercyjne nie jest zasadne.
8. Dawka MTX stosowana w leczeniu dzieci z MIZS powinna być modyfikowana w odstępach nie dłuższych niż 6 miesięcy ze względu na zmianę parametrów rozwoju fizycznego.

## **VIII STRESZCZENIE**

Młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów to najczęstsza artropatia zapalna w wieku rozwojowym. Zgodnie z obowiązującymi kryteriami uwzględniającymi objawy kliniczne i wyniki badań dodatkowych w pierwszych 6 miesiącach choroby, wyodrębnia się 7 podtypów MIZS. Badania prowadzone w ostatnich latach podkreślają odrębność etiopatogenezy poszczególnych podtypów MIZS i wskazują różnice w uwarunkowaniach genetycznych, w funkcjonowaniu mechanizmów immunoregulacyjnych oraz zaburzeniach czynności układu odporności wrodzonej i nabytej. Niezależnie od postaci cechą charakterystyczną MIZS jest zajęcie procesem zapalnym stawów, a zjawiska doprowadzające do destrukcji struktur stawu, towarzyszące przede wszystkim postaci nielicznostawowej i wielostawowej, wydają się być podobne. Na rozwój stanu zapalnego w MIZS niezaprzeczalny wpływ mają cytokiny regulujące kolejne etapy odpowiedzi immunologicznej, m.in. TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ . Udokumentowanie ilościowej dominacji określonych cytokin w MIZS stało się podstawą wprowadzenia do leczenia biologicznych leków antycytokinowych. W Polsce w leczeniu MIZS zarejestrowane są dwa leki blokujące działanie TNF- $\alpha$ : etanercept i adalimumab. Leczenie tymi lekami dotyczy głównie dzieci z postacią wielostawową i systemową MIZS. Leki blokujące TNF- $\alpha$  mają zastosowanie u pacjentów, u których klasyczne LMPCh nie przynoszą oczekiwanego efektu. Stosowane są one wówczas, gdy występuje trudny do opanowania nawrót choroby, a z przyczyn obiektywnych nie można kontynuować standardowego leczenia

Cele pracy obejmowały: (1) wyselekcjonowanie z grupy dzieci z zapaleniem stawów zebranych w jednej instytucji pacjentów z nowo zdiagnozowanym MIZS, u których wdrożono standardowe leczenie choroby oraz tych pacjentów z MIZS, u których mimo wcześniejszego leczenia standardowego nie udało się uzyskać remisji i zakwalifikowano ich do terapii etanerceptem, (2) ocenę kliniczną i biochemiczną obu grup pacjentów w odstępach sześciomiesięcznych, (3) ocenę stężeń cytokin prozapalnych (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6) w surowicy krwi, określenie ich korelacji między sobą oraz określenie ich korelacji ze wskaźnikami aktywności choroby w obu grupach w odstępach sześciomiesięcznych, (4) ocenę wartości diagnostycznej czynników prozapalnych w przebiegu MIZS.

Praca miała charakter analizy prospektywnej z wykorzystaniem danych o pacjentach będących w opiece poradni i oddziału reumatologicznego Kliniki Endokrynologii i Reumatologii Dziecięcej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu.

Badaną grupę stanowiło 43 dzieci, u których w w okresie 03.2007 – 02.2009 postawiono diagnozę MIZS i wdrożono standardowe leczenie choroby (grupa I, n=24) oraz tych pacjentów z MIZS, u których mimo leczenia standardowego nie udało się uzyskać remisji i wdrożono następowo terapię etanerceptem (grupa II, n=19). Analizie poddano szereg parametrów, stwierdzanych u tych dzieci w chwili rozpoznania choroby (grupa I) lub włączenia leczenia biologicznego (grupa II) (wiek w chwili rozpoznania, płeć, wywiad rodzinny, stan kliniczny, wskaźniki aktywności choroby i stanu funkcjonalnego, morfologia krwi, stężenie cytokin prozapalnych, wskaźniki poprawy klinicznej, sposób leczenia). Do badania włączono również grupę kontrolną dzieci zdrowych (n=18).

Wśród pacjentów z nowo zdiagnozowanym MIZS obserwowano prawie wyłącznie postać nielicznostawową choroby. Również w grupie zakwalifikowanej do terapii antycytokinowej odnotowano znaczący udział procentowy dzieci z tym podtypem choroby.

Większość w analizowanych grupach stanowiły dziewczynki (stosunek płci żeńskiej do męskiej wynosił: w grupie I – 2:1; w grupie II – 3,75:1), co zważywszy na reprezentowane w badaniu postacie MIZS, pozostaje w zgodzie z dotychczasowymi doniesieniami piśmiennictwa.

W grupie zakwalifikowanej do leczenia etanerceptem 93,3% dziewczynek zachorowało przed ukończeniem 6 r.ż., co może sugerować, że są one bardziej narażone na niepowodzenie leczenia standardowego, jednak dla poparcia tej tezy konieczne jest przeprowadzenie dalszych badań w liczniejszej grupie pacjentów z MIZS.

W przypadku dzieci, które nie zostały skierowane w pierwszej kolejności do reumatologa okres czasu jaki upłynął od początku choroby do rozpoznania i wdrożenia właściwego postępowania terapeutycznego, był znacząco wydłużony. Należałoby przeanalizować większą grupę pacjentów, aby móc sformułować wnioski i zaproponować wytyczne w tym zakresie.

Po analizie stężeń cytokin prozapalnych w obu badanych grupach stwierdzono, że zarówno w grupie dzieci z nowo rozpoznaną chorobą, jak i tych niereagujących na standardowe leczenie i zakwalifikowanych do terapii biologicznej, stężenia TNF- $\alpha$  i IL-6 w surowicy krwi były znacząco podwyższone w porównaniu do zdrowych rówieśników, niezależnie od reprezentowanego podtypu MIZS. W trakcie terapii tylko stężenie IL-6 obniżyło się znacząco w obu grupach.

U dzieci z nowo zdiagnozowanym MIZS konwencjonalna terapia skutkowała początkowym spadkiem stężenia TNF- $\alpha$ , ale po 1 roku średnie stężenie tej cytokiny osiągnęło wartość obserwowaną na wstępie badania i związane było z niedostosowaniem dawki MTX do zmieniającej się powierzchni ciała. Podczas terapii etanerceptem średnie stężenia TNF- $\alpha$  w surowicy krwi wzrosły kilkadziesiąt razy w porównaniu do grupy kontrolnej oraz stanu sprzed włączenia leczenia, niezależnie od uzyskanej poprawy klinicznej.

W analizowanym materiale stężenia IL-1 $\beta$  nie różniły się pomiędzy dziećmi chorymi a zdrowymi. Zastosowane leczenie nie miało znaczącego wpływu na stężenie IL-1 $\beta$  w żadnej z badanych grup.

Oceniając występowanie korelacji wybranych cytokin prozapalnych ze wskaźnikami aktywności choroby wykazano, że jedynie IL-6 może służyć jako biomarker aktywności choroby u dzieci z MIZS o początku nieliczno- lub wielostawowym.

Ustalono, że ocena stężenia IL-6 w surowicy krwi pacjentów z MIZS ma wartość pomocniczą i może być wykorzystywana przy podejmowaniu decyzji terapeutycznych w sytuacjach kiedy istnieje duża rozbieżność pomiędzy stanem klinicznym a wynikami konwencjonalnych wykładników stanu zapalnego oraz jako uzupełnienie wnikliwej obserwacji klinicznej i analizy standardowych badań diagnostycznych.

## **IX SUMMARY**

Juvenile idiopathic arthritis (JIA) is the most frequent chronic inflammatory arthropathy at the developmental age. According to current criteria, taking into

account clinical symptoms and laboratory tests, 7 subtypes of JIA can be distinguished. Research studies carried out in the last few years emphasize the differences in the etiopathogenesis of individual oJIA subtypes. This indicates differences in genetic conditioning, disturbances in functioning of the immune system (innate and acquired) and of immunoregulatory mechanisms. Regardless of the form of JIA, a distinctive characteristic is joint inflammation and the phenomena resulting in the destruction of joint structures accompanying mainly oligoarticular and polyarticular arthritis seem to be similar. The important role in developing and maintaining a persistent inflammatory response and in the process of joint destruction is attributed to cytokines, especially TNF- $\alpha$ , IL-6 and IL-1 $\beta$ .

As the quantitative dominance of certain cytokines in JIA was proved, anticytokine biological drugs were introduced into treatment. In Poland, two drugs are registered for the treatment of JIA that block the action of TNF- $\alpha$ : etanercept and adalimumab. Treatment with these agents focuses on children with a polyarticular and systemic JIA. Drugs that block TNF- $\alpha$  are applicable in patients where classical DMARDs do not produce the desired effect. They are used in the case of relapse of disease that is difficult to control, and standard treatment cannot be continued for objective reasons.

The work objectives included: (1) a selection from a group of children with arthritis collected in a single institution patients with newly diagnosed JIA undergoing the standard treatment of the disease and patients with JIA who, despite previous standard treatment, failed to achieve remission and were qualified for etanercept therapy, (2) a clinical and biochemical assessment of both groups of patients at intervals of six months, (3) an assessment of the levels of pro-inflammatory cytokines (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6) in blood serum to determine their correlation with each other and to determine their correlation with disease activity indices in both groups every six months, (4) an evaluation of the diagnostic value of pro-inflammatory factors in the course of JIA.

The work was based on prospective analysis using data of patients under the care of the outpatient clinic and rheumatology department of Pediatric Endocrinology and Rheumatology Clinic, Poznan University of Medical Sciences. The study group consisted of 43 children diagnosed with JIA in 03.2007 - 02.2009 and qualified for the standard treatment of the disease (group I, n = 24) and those patients with JIA who despite the standard treatment failed to achieve remission and were qualified for

etanercept therapy (group II, n = 19). The analysis involved a wide range of parameters, those found in these children at diagnosis (group I) or at the inclusion of biological treatment (group II) (age at diagnosis, gender, family history, clinical status, disease activity and functional status indices, complete blood count, concentration of pro-inflammatory cytokines, indicators of clinical improvement, method of treatment). The study also included a control group of healthy children (n = 18).

Patients with newly diagnosed JIA had almost exclusively the oligoarticular form of the disease. There was a significant percentage of children with this subtype of the disease also in the group qualified for cytokine therapy.

Most of the analysed groups were girls (the ratio of female to male was: group I – 2:1, in group II – 3.75:1), which in view of the JIA forms represented in the study, is in line with previous literature reports.

In the group qualified for etanercept therapy, 93.3% of girls fell ill before the age of 6, suggesting that they are more likely to standard treatment failure, however, to support this thesis, it is necessary to conduct further studies in a larger group of JIA patients.

In the case of children who were not referred to a rheumatologist in the first place, the period of time that elapsed since the onset of disease to diagnosis and implementation of appropriate therapeutic intervention was significantly prolonged. A larger group of patients should be examined to draw conclusions and propose guidelines in this regard.

After analysing the concentrations of pro-inflammatory cytokines in both groups, it was found that TNF- $\alpha$  and IL-6 in serum were significantly increased compared to healthy peers, regardless of the subtype of JIA in both groups of children with newly diagnosed disease and those not responding to the standard treatment and classified for biological therapy. During the therapy, only the concentration of IL-6 decreased significantly in both groups. In children with newly diagnosed JIA, the conventional therapy resulted in an initial decrease in TNF- $\alpha$ , but after one year the average concentration of this cytokine reached the value observed at baseline and was associated with the inadequacy of the dose of MTX to the changing surface of the body. During etanercept therapy, mean TNF- $\alpha$  levels in the serum increased by several times compared to the control group and the state from before the onset of treatment, without regard to clinical improvement.

In the analysed material, levels of IL-1 $\beta$  did not differ between sick and healthy children. The type of treatment had no significant effect on IL-1 $\beta$  levels in any of the groups.

Assessing the presence of correlations between selected pro-inflammatory cytokines and disease activity indices, it was showed that only IL-6 can be used as a biomarker of disease activity in children with oligoarticular- and polyarticular-onset JIA.

It was found that the assessment of IL-6 in serum of JIA patients is of supporting value and can be used in making treatment decisions if there is a large discrepancy between the clinical condition and the results of conventional markers of inflammation and in addition to careful clinical observation and analysis of the standard diagnostic tests.

## **X BIBLIOGRAFIA**



1. Rostropowicz-Denisiewicz K. Młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów. W: Rostropowicz-Denisiewicz K, Romicka AM (red.). Zapalne choroby reumatyczne w wieku rozwojowym. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2005; 71-87.
2. Petty RE, Southwood TR, Manners P, Baum J, Glass DN, Goldenberg J, He X, Maldonado-Cocco J, Orozco-Alcala J, Prieur AM, Suarez-Almazor ME, Woo P. International League of Associations for Rheumatology classification of juvenile idiopathic arthritis: second revision, Edmonton, 2001. *J Rheumatol* 2004; 31: 390-392.
3. Tuchocka A. Historia reumatologii. W: Zimmermann-Górska I (red.). Reumatologia kliniczna. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2008; 15-17.
4. Stanisławska A. Art i artretyzm, czyli pędzel, dłuto i medycyna. *Rzeczpospolita*. 4 XII 2008.
5. Phaire T. *Styffness of lymmes. The book of chyl dren*. Edinburgh : E&S Livingston, 1545 (reprinted 1955).
6. Woo P. The growth of paediatric rheumatology. *Brit J Rheumatol* 1997; 36: 721-726.
7. Storey GD. Alfred Barring Garrod (1819-1907). *Rheumatology* 2001; 40: 1189-1190.
8. Diamantberger MS. *Du rheumatisme nouveaux chez les enfants*. Paris : Lecrosnier et Babe, 1891 (reprinted Editions Louis Parente, Paris, 1988).
9. Martini A. Chronic childhood arthritis: 100 years after intuition of G.F.Still. *Eur J Pediatr* 1996; 155: 919-920.
10. Kaiser H. Mayer S. Diamantberger (1864-1944): Erstbeschreiber der juvenilen chronischen Arthritis. *Z Rheumatol* 2009; 68: 264-6, 268-70.
11. Still GF. On a form of chronic joint disease in children. *Am J Dis Child* 1979; 132: 195-200.
12. Farrow SJ. Sir George Frederick Still (1868-1941). *Rheumatology* 2006; 45: 777-778.
13. Ohm J. Bandfoermige Hornhauttrübung bei einen neunjaehrigen. *Klin Monatsbl Augenheilk* 1910; 48: 243.
14. Wissler H. Über eine besondere Form sepsisähnlicher Krankheiten (Subsepsis hyperergica). *Monatschrift Kinderheilkunde* 1943; 94: 1-15.
15. Fanconi G. Über einen Fall von Subsepsis allergica Wissler. 1946; 1: 532-537.

16. Woo P, George Frederick Still - registrar, Great Ormond Street Children's Hospital. *Brit J Rheumatol* 1998; 37: 1247.
17. Manners PJ, Bower C. Worldwide prevalence of juvenile arthritis-why does it vary so much? *J Rheumatol* 2002; 29: 1520-1530.
18. Ravelli A, Martini A. Juvenile idiopathic arthritis. *Lancet* 2007; 369: 767-778.
19. Symmons DP, Jones M, Osborne J, Sills J, Southwood TR, Woo P. Pediatric rheumatology in the United Kingdom: data from the British Pediatric Rheumatology Group National Diagnostic Register. *J Rheumatol* 1996; 23: 1975-1980.
20. Peterson LS, Mason T, Nelson AM, O'Fallon WM, Gabriel SE. Juvenile rheumatoid arthritis in Rochester, Minnesota 1960-1993. Is the Epidemiology Changing? *Arthritis Rheum* 1996; 39: 1385-1390.
21. Arguedas O, Fasth A, Andersson-Gäre B, Porras O. Juvenile chronic arthritis in urban San José, Costa Rica: a 2 year prospective study. *J Rheumatol* 1998; 25: 1844-1850.
22. Von Koskull S, Truckenbrodt H, Holle R, Hörmann A. Incidence and prevalence of juvenile arthritis in an urban population of southern Germany: a prospective study. *Ann Rheum Dis* 2001; 60: 940-945.
23. Berntson L, Andersson Gäre B, Fasth A, Herlin T, Kristinsson J, Lahdenne P, Marhaug G, Nielsen S, Pelkonen P, Rygg M. Incidence of juvenile idiopathic arthritis in the Nordic countries. A population based study with special reference to the validity of the ILAR and EULAR criteria. *J Rheumatol* 2003; 30: 2275-2282.
24. Hanova P, Pavelka K, Dostal C, Holcatova I, Pikhart H. Epidemiology of rheumatoid arthritis, juvenile idiopathic arthritis and gout in two regions of the Czech Republic in a descriptive population-based survey in 2002-2003. *Clin Exp Rheumatol* 2006; 24: 499-507.
25. Hashkes PJ. Profile of a pediatric rheumatology practice in Israel. *Clin Exp Rheumatol* 2003; 21: 123-128.
26. Rosenberg AM. Longitudinal analysis of a pediatric rheumatology clinic population. *J Rheumatol* 2005; 32: 1992-2001.
27. Danner S, Sordet C, Terzic J, Donato L, Velten M, Fischbach M, Sibilia J. Epidemiology of juvenile idiopathic arthritis in Alsace, France. *J Rheumatol* 2006; 33: 1377-1381.

28. Pruunsild C, Uibo K, Liivamägi H, Tarraste S, Talvik T, Pelkonen P. Incidence of juvenile idiopathic arthritis in children in Estonia: a prospective population-based study. *Scand J Rheumatol* 2007; 36: 7-13.
29. Pruunsild C, Uibo K, Liivamägi H, Tarraste S, Talvik T, Pelkonen P. Prevalence and short-term outcome of juvenile idiopathic arthritis: a population-based study in Estonia. *Clin Exp Rheumatol* 2007; 25: 649-653.
30. Riise ØR, Handeland KS, Cvancarova M, Wathne KO, Nakstad B, Abrahamsen TG, Kirkhus E, Flatø B. Incidence and characteristics of arthritis in Norwegian children: a population-based study. *Pediatrics* 2008; 121: 299-306.
31. Modesto C, Antón J, Rodríguez B i wsp. Incidence and prevalence of juvenile idiopathic arthritis in Catalonia (Spain). *Scand J Rheumatol* 2010; 39: 472-479.
32. Ramanan, AV, Grom, AA. Does systemic-onset juvenile idiopathic arthritis belong under juvenile idiopathic arthritis? *Rheumatol* 2005; 44: 1350-1353.
33. Rutkowska-Sak L, Tuszkiewicz-Misztal E, Brózik H, Niedziela M, Żuber Z, Tłustochowicz W, Wiland P. Stanowisko Zespołu Ekspertów ds. Reumatologii Dziecięcej przy Konsultancie Krajowym w Dziedzinie Reumatologii dotyczące terapii biologicznej w leczeniu młodzieńczego idiopatycznego zapalenia stawów. *Reumatologia* 2009; 47: 111-115.
34. Zygmunt A, Biernacka-Zielinska M, Brózik, Smolewska E, Stańczyk J. Choroby reumatyczne w populacji dzieci i młodzieży z regionu łódzkiego. *Pediatrica Polska* 2005; 80: 995-1001.
35. Wolny-Niedzielska A. Choroby układu ruchu u dzieci kierowanych do Poradni Reumatologicznej w Kielcach w latach 1999–2003. *Reumatologia* 2005; 43: 265-273.
36. Lin Y-T, Wang C-T, Gershwin ME, Chiang BL. The pathogenesis of oligoarticular/polyarticular vs systemic juvenile idiopathic arthritis. *Autoimmunity Reviews* 2011; 10: 482-489.
37. Prakken B, Albani S, Martini A. Juvenile idiopathic arthritis. *Lancet* 2011; 377: 2138-2149.
38. Prahalad S, Glass DN. A comprehensive review of the genetics of juvenile idiopathic arthritis. *Pediatr Rheumatol Online J* 2008; 6: 11.
39. Macaubas C, Nguyen K, Milojevic D, Park JL, Mellins ED. Oligoarticular and polyarticular JIA: epidemiology and pathogenesis. *Nat Rev Rheumatol* 2009; 5: 616–626.

40. Moroldo MB, Tague BL, Shear ES, Glass DN, Giannini EH. Juvenile rheumatoid arthritis in affected sibpairs. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 1962–1966.
41. Angeles-Han S, Prahalad S. The Genetics of Juvenile Idiopathic Arthritis: What Is New in 2010? *Curr Rheumatol Rep* 2010; 12: 87–93.
42. Murray K, Thompson SD, Glass DN. Pathogenesis of juvenile chronic arthritis: genetic and environmental factors. *Arch Dis Child* 1997; 77: 530-534.
43. Murray KJ, Moroldo MB, Donnelly P, Prahalad S, Passo MH, Giannini EH, Glass DN. Age-specific effects of juvenile rheumatoid arthritis-associated HLA alleles. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 1843-1853.
44. Fernandez-Via M, Fink C, Stastny P. HLA associations in juvenile arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 1994; 12: 205-214.
45. Thomson W, Barrett JH, Donn R, Pepper L, Kennedy LJ, Ollier WE, Silman AJ, Woo P, Southwood T. Juvenile idiopathic arthritis classified by the ILAR criteria: HLA associations in UK patients. *Rheumatology (Oxford)* 2002; 41: 1183-1189.
46. Wojewoda E. Czynniki genetyczne w patogenezie i współwystępowaniu chorób autoimmunologicznych, ze szczególnym uwzględnieniem chorób reumatycznych wieku dziecięcego. *Reumatologia* 2009; 47: 39–43.
47. Epplen C, Rumpf H, Albert E, Haas P, Truckenbrodt H, Epplen JT. Immunoprinting excludes many potential susceptibility genes as predisposing to early onset pauciarticular juvenile chronic arthritis except HLA class II and TNF. *Eur J Immunogenet* 1995; 22: 311-322.
48. 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: 3304-3311.
49. 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: 103-108.
50. Donn R, Alourfi Z, De Benedetti F, Meazza C, Zeggini E, Lunt M, Stevens A, Shelley E, Lamb R, Ollier WE, Thomson W, Ray D. Mutation screening of the macrophage migration inhibitory factor gene: positive association of a functional polymorphism of macrophage migration inhibitory factor with juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 2402-2409.
51. De Benedetti F, Meazza C, Vivarelli M, Rossi F, Pistorio A, Lamb R, Lunt M, Thomson W, Ravelli A, Donn R, Martini A. Functional and prognostic relevance of the

- 173 polymorphism of the macrophage migration inhibitory factor gene in systemic-onset juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 1398-1407.
52. Donn R, Alourfi Z, Zeggini E, Lamb R, Jury F, Lunt M, Meazza C, De Benedetti F, Thomson W, Ray D. A functional promoter haplotype of macrophage migration inhibitory factor is linked and associated with juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 1604-1610.
53. Sanjeevi CB, Miller EN, Dabadghao P, Rumba I, Shtauvere A, Denisova A, Clayton D, Blackwell JM. Polymorphism at NRAMP1 and D2S1471 loci associated with juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 1397-1404.
54. Runstadler JA, Säilä H, Savolainen A, Leirisalo-Repo M, Aho K, Tuomilehto-Wolf E, Tuomilehto J, Seldin MF. Association of SLC11A1 (NRAMP1) with persistent oligoarticular and polyarticular rheumatoid factor-negative juvenile idiopathic arthritis in Finnish patients: haplotype analysis in Finnish families. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 247-256.
55. Hinks A, Barton A, John S, Bruce I, Hawkins C, Griffiths CE, Donn R, Thomson W, Silman A, Worthington J. Association between the PTPN22 gene and rheumatoid arthritis and juvenile idiopathic arthritis in a UK population: further support that PTPN22 is an autoimmunity gene. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 1694-1699.
56. Viken MK, Amundsen SS, Kvien TK, Boberg KM, Gilboe IM, Lilleby V, Sollid LM, Førre OT, Thorsby E, Smerdel A, Lie BA. Association analysis of the 1858C>T polymorphism in the PTPN22 gene in juvenile idiopathic arthritis and other autoimmune diseases. *Genes Immun* 2005; 6: 271-273.
57. Cinek O, Hradsky O, Ahmedov G, Slavcev A, Kolouskova S, Kulich M, Sumnik Z. No independent role of the -1123 G>C and +2740 A>G variants in the association of PTPN22 with type 1 diabetes and juvenile idiopathic arthritis in two Caucasian populations. *Diabetes Res Clin Pract* 2007; 76: 297-303.
58. Hinks A, Barton A, Shephard N, Eyre S, Bowes J, Cargill M, Wang E, Ke X, Kennedy GC, John S, Worthington J, Thomson W. Identification of a novel susceptibility locus for juvenile idiopathic arthritis by genome-wide association analysis. *Arthritis Rheum* 2009; 60: 258–263.
59. Lamb R, Thomson W, Ogilvie E, Donn R. Wnt-1-inducible signaling pathway protein 3 and susceptibility to juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 3548-3553.

60. Hinks A, Ke X, Barton A, Eyre S, Bowes J, Worthington J, Thompson SD, Langefeld CD, Glass DN, Thomson W. Association of the IL2RA/CD25 gene with juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum* 2009; 60: 251-257.
61. Prahalad S, Hansen S, Whiting A, Guthery SL, Clifford B, McNally B, Zeff AS, Bohnsack JF, Jorde LB. Variants in TNFAIP3, STAT4 and C12orf30 loci associated with multiple autoimmune diseases are also associated with juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum* 2009; 60: 2124-2130.
62. Albers HM, Kurreeman FA, Houwing-Duistermaat JJ, Brinkman DM, Kamphuis SS, Girschick HJ, Wouters C, Van Rossum MA, Verduijn W, Toes RE, Huizinga TW, Schilham MW, ten Cate R. The TRAF1/C5 region is a risk factor for polyarthritis in juvenile idiopathic arthritis. *Ann Rheum Dis* 2008; 67: 1578-1580.
63. Hinks A, Eyre S, Ke X, Barton A, Martin P, Flynn E, Packham J, Worthington J, Thomson W. Overlap of disease susceptibility loci for rheumatoid arthritis and juvenile idiopathic arthritis. *Ann Rheum Dis* 2010; 69: 1049-1053.
64. Ogilvie EM, Fife MS, Thompson SD, Twine N, Tsoras M, Moroldo M, Fisher SA, Lewis CM, Prieur AM, Glass DN, Woo P. The -174G allele of the interleukin-6 gene confers susceptibility to systemic arthritis in children: a multicenter study using simplex and multiplex juvenile idiopathic arthritis families. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 3202-3206.
65. McDowell TL, Symons JA, Ploski R, Førre O, Duff GW. A genetic association between juvenile rheumatoid arthritis and a novel interleukin-1 alpha polymorphism. *Arthritis Rheum* 1995; 38: 221-228.
66. Cimaz R, Cazalis MA, Reynaud C, Gerloni V, Zulian F, Biggioggero M, Martini G, Pontikaki I, Fantini F, Mouglin B, Miossec P. IL1 and TNF gene polymorphisms in patients with juvenile idiopathic arthritis treated with TNF inhibitors. *Ann Rheum Dis* 2007; 66: 900-904.
67. Vencovský J, Jarosová K, Růžicková S, Nemcová D, Niederlová J, Ozen S, Alikasifoglu M, Bakkaloglu A, Ollier WE, Mageed RA. Higher frequency of allele 2 of the interleukin-1 receptor antagonist gene in patients with juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 2387-2391.
68. Stock CJ, Ogilvie EM, Samuel JM, Fife M, Lewis CM, Woo P. Comprehensive association study of genetic variants in the IL-1 gene family in systemic juvenile idiopathic arthritis. *Genes Immun* 2008; 9: 349-357.

69. Fife MS, Gutierrez A, Ogilvie EM, Stock CJ, Samuel JM, Thomson W, Mack LF, Lewis CM, Woo P. Novel IL10 gene family associations with systemic juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Res Ther* 2006; 8: R148.
70. Sugiura T, Maeno N, Kawaguchi Y, Takei S, Imanaka H, Kawano Y, Terajima-Ichida H, Hara M, Kamatani N. A promoter haplotype of the interleukin-18 gene is associated with juvenile idiopathic arthritis in the Japanese population. *Arthritis Res Ther* 2006; 8: R60.
71. Hinks A, Martin P, Flynn E, Eyre S, Packham J, Barton A, Worthington J, Thomson W. Association of the CCR5 gene with juvenile idiopathic. *Genes Immun* 2010; 11: 584-589.
72. Ellis JA, Munro JE, Ponsonby A-L. Possible environmental determinants of juvenile idiopathic arthritis. *Rheumatology* 2010; 49: 411-425.
73. Gonzalez B, Larrañaga C, León O, Díaz P, Miranda M, Barría M, Gaggero A. Parvovirus B19 may have a role in the pathogenesis of juvenile idiopathic arthritis. *J Rheumatol* 2007; 34: 1336-1340.
74. Lehmann HW, Plentz A, von Landenberg P, Küster RM, Modrow S. Different patterns of disease manifestations of parvovirus B19-associated reactive juvenile arthritis and the induction of antiphospholipid-antibodies. *Clin Rheumatol* 2008; 27: 333-338.
75. Pritchard MH, Matthews N, Munro J. Antibodies to influenza A in a cluster of children with juvenile chronic arthritis. *Br J Rheumatol* 1988; 27: 176-180.
76. Oen K, Fast M, Postl B. Epidemiology of juvenile rheumatoid arthritis in Manitoba, Canada, 1975-92: cycles in incidence. *J Rheumatol* 1995; 22: 745-750.
77. Barash J, Goldzweig O. Possible role of streptococcal infection in flares of juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum* 2007; 57:877-880.
78. Prelog M, Schwarzenbrunner N, Sailer-Hoeck M, Kern H, Koppelstaetter C, Wurzner R, Zimmerhackl LB, Brunner J. Indications for a disturbed peripheral T-cell homeostasis in juvenile idiopathic arthritis (JIA): absent expansion of CD28 T-cells and no decrease of naive T-cells in cytomegalovirus-positive patients with JIA. *J Rheumatol* 2008; 35: 520-527.
79. Jaakkola JJ, Gissler M. Maternal smoking in pregnancy as a determinant of rheumatoid arthritis and other inflammatory polyarthropathies during the first 7 years of life. *Int J Epidemiol* 2005; 34: 664-671.

80. Carlens C, Jacobsson L, Brandt L, Cnattingius S, Stephansson O, Askling J. Perinatal characteristics, early life infections and later risk of rheumatoid arthritis and juvenile idiopathic arthritis. *Ann Rheum Dis* 2009; 68: 1159-1164.
81. Korematsu S, Miyahara H, Kawano T, Yamada H, Akiyoshi K, Sato K, Maeda T, Suenobu S, Izumi T. A relapse of systemic type juvenile idiopathic arthritis after a rubella vaccination in a patient during a long-term remission period. *Vaccine* 2009; 5041-5042.
82. Aasland A, Flatø B, Vandvik IH. Psychosocial outcome in juvenile chronic arthritis: a nine-year follow-up. *Clin Exp Rheumatol* 1997; 15: 561-568.
83. Roupe van der Voort C, Heijnen CJ, Wulffraat N, Kuis W, Kavelaars A. Stress induces increases in IL-6 production by leucocytes of patients with the chronic inflammatory disease juvenile rheumatoid arthritis: a putative role for alpha(1)-adrenergic receptors. *J Neuroimmunol* 2000; 110: 223-229.
84. Kontny E, Maśliński W. Zaburzenia immunologiczne w patogenezie chorób reumatycznych. W: Zimmermann-Górska I (red.). *Reumatologia Kliniczna*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2008; 101-132.
85. Kontny E, Maśliński W. Sieć cytokin i implikacje terapeutyczne w chorobach reumatycznych. W: Wiland P (red.). *Leczenie biologiczne chorób reumatycznych*. Termedia, Poznań 2009; 9-36.
86. Kontny E. Patogeneza reumatoidalnego zapalenia stawów. Część II – odpowiedź wrodzona, nowe cele terapeutyczne. *Reumatologia* 2011; 49: 115–121.
87. Mills KH. TLR-dependent T cell activation in autoimmunity. *Nat Rev Immunol* 2011; 18: 807-822.
88. Mellins ED, Macaubas C, Grom AA. Pathogenesis of systemic juvenile idiopathic arthritis: some answers, more questions. *Nat Rev Rheumatol* 2011; 7:416-426.
89. Prakken BJ, Albani S. Using biology of disease to understand and guide therapy of JIA. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2009; 23: 599-608.
90. Vastert SJ, Kuis W, Grom AA. Systemic JIA: new developments in the understanding of the pathophysiology and therapy. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2009; 23: 655-664.
91. Smolewska E. Młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów. W: Puszczewicz M (red.). *Wielka interna - reumatologia*. Medical Tribune Polska, Warszawa 2010; 89-96.



92. De Jager W, Hoppenreijers EP, Wulffraat NM, Wedderburn LR, Kuis W, Prakken BJ. Blood and synovial fluid cytokine signatures in patients with juvenile idiopathic arthritis; cross-sectional study. *Ann Rheum Dis* 2007; 66: 589-598.
93. Kim EY, Moudgil KD. Regulation of autoimmune inflammation by pro-inflammatory cytokines. *Immunology Letters* 2008; 120: 1-5.
94. Jelusic M, Lukic IK, Tambic-Bukovac L, Dubravčić K, Malčić I, Rudan I, Batinić D. Interleukin 18 as mediator of systemic juvenile idiopathic arthritis. *Clin Rheumatol* 2007; 26: 1332-1334.
95. Tracey D, Klareskog L, Sasso EH, Salfeld JG, Tak PP. Tumor necrosis factor antagonist mechanisms of action: a comprehensive review. *Pharmacol Ther* 2008; 117: 244-279.
96. Quarta L, Corrado A, Melillo N, Cantatore FP. Juvenile idiopathic arthritis: an update on clinical and therapeutic approaches. *Ann Ital Med Int* 2005; 20: 211-217.
97. Moeller B, Villiger PM. Inhibition of IL-1, IL-6, and TNF- $\alpha$  in immune-mediated inflammatory diseases. *Semin Immun* 2006; 27: 391-408.
98. Gołąb J, Jakóbisiak M, Zagożdżon R, Obłąkowski P. Cytokiny. W: Jakóbisiak M, Lasek W Gołąb J (red.). *Immunologia*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2002; 198-248.
99. Korobowicz A. Biologia czynnika martwicy nowotworów typu alfa. *Pol Merk Lek* 2006; 21: 358-361.
100. Kontny E. Patogeneza reumatoidalnego zapalenia stawów. Część III - cytokinu i procesy destrukcyjne. *Reumatologia* 2011; 49: 180-186.
101. Kontny E, Maśliński W. Interleukina 6 – znaczenie biologiczne i rola w patogenezie reumatoidalnego zapalenia stawów. *Reumatologia* 2009; 47: 24-33.
102. Yokota S, Miyamae T, Imagawa T, Iwata N, Katakura S, Mori M. Inflammatory cytokines and systemic-onset juvenile idiopathic arthritis. *Mod Rheumatol* 2004; 14: 12-17.
103. [http://www.roactemra.com/portal/roactemra/role\\_of\\_il-6?\\_requestid=2054075](http://www.roactemra.com/portal/roactemra/role_of_il-6?_requestid=2054075). [Online]
104. Mangge H, Kenzian H, Gallistl S, Neuwirth G, Liebmann P, Kaulfersch W, Beaufort F, Muntean W, Schauenstein K. Serum cytokines in juvenile rheumatoid arthritis. Correlation with conventional inflammation parameters and clinical subtypes. *Arthritis Rheum* 1995; 38: 211-220.

105. 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: 432-438.
106. De Benedetti F, Ravelli A, Martini A. Cytokines in juvenile rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 1997; 9: 428-433.
107. Pascual V, Allantaz F, Arce E, Punaro M, Banchereau J. Role of interleukin-1 in the pathogenesis of systemic onset juvenile idiopathic arthritis and clinical response to IL-1 blockade. *J Exp Med* 2005; 201: 1479-1486.
108. Prahalad S, Martins TB, Tebo AE, Whiting A, Clifford B, Zeff AS, McNally B, Bohnsack JF, Hill HR. Elevated serum levels of soluble CD154 in children with juvenile idiopathic arthritis. *Pediatr Rheumatol Online J* 2008; 28: 6-8.
109. Agarwal S, Misra R, Aggarwal A. Interleukin 17 levels are increased in juvenile idiopathic arthritis synovial fluid and induce synovial fibroblasts to produce proinflammatory cytokines and matrix metalloproteinases. *J Rheumatol* 2008; 35: 515-519.
110. Lubberts E, van den Bersselaar L, Oppers-Walgreen B, Schwarzenberger P, Coenen-de Roo CJ, Kolls JK, Joosten LA, van den Berg WB. IL-17 promotes bone erosion in murine collagen-induced arthritis through loss of the receptor activator of NF-kappa B ligand/osteoprotegerin balance. *J Immunol* 2003; 170: 2655-2662.
111. Romicka AM. Młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów. *Przew Lek* 2001; 4: 35-38.
112. Lien G, Ueland T, Godang K, Selvaag AM, Førre OT, Flatø B. Serum levels of osteoprotegerin and receptor activator of nuclear factor -κB ligand in children with early juvenile idiopathic arthritis: a 2-year prospective controlled study. *Pediatr Rheumatol Online J* 2010; 8: 30.
113. Romicka AM, Rostropowicz-Denisewicz K. Choroby reumatyczne w wieku rozwojowym. W: Zimmermann-Górska (red.). *Reumatologia kliniczna*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2008: 521-535.
114. Romicka AM. Młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów – obraz kliniczny. *Standardy medyczne - Pediaatria* 2010; 7: 189-193.
115. Rutkowska-Sak L, Gietka P, Wierzbowska M, Gazda A, Kołodziejczyk B, Kwiatkowska M, Szczygielska I, Hernik E. *Reumatologia wieku rozwojowego*. *Reumatologia* 2012; 50: 142–161.

116. B, Pilch. Młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów. W: Pietrzyk J (red.). Wybrane zagadnienia z pediatrii. Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków 2004; 331-337.
117. Van Rossum M, van Soesbergen R, de Kort S, ten Cate R, Zwinderman AH, de Jong B, Dijkmans B, van Venrooij WJ. Anti-cyclic citrullinated peptide (anti-CCP) antibodies in children with juvenile idiopathic arthritis. *J Rheumatol* 2003; 30: 825-828.
118. Rutkowska-Sak L. Zastosowanie kliniczne etanerceptu w młodzieńczym idiopatycznym zapaleniu stawów. W: Szechiński J (red.). Enbrel-Zastosowanie kliniczne. Górnicki Wydawnictwo Medyczne, Wrocław 2008; 39-47.
119. Kelly A, Ramanan AV. The principles of pharmacological treatment of juvenile idiopathic arthritis. *Paediatrics and Child Health* 2011; 21: 563–568.
120. Załącznik nr 6 do Zarządzenia Nr 3/2011/DGL Prezesa NFZ z dnia 20 stycznia 2011 roku. Terapeutyczne Programy Zdrowotne 2011 .
121. Lovell DJ, Giannini EH, Reiff A, Jones OY, Schneider R, Olson JC, Stein LD, Gedalia A, Ilowite NT, Wallace CA, Lange M, Finck BK, Burge DJ. 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: 218-226.
122. Horneff G, Schmeling H, Biedermann T, Foeldvari I, Ganser G, Girschick HJ, Hospach T, Huppertz HI, Keitzer R, Küster RM, Michels H, Moebius D, Rogalski B, Thon A. The German etanercept registry for treatment of juvenile idiopathic arthritis. *Ann Rheum Dis* 2004; 63: 1638-1644.
123. Lovell DJ, Reiff A, Jones OY, Schneider R, Nocton J, Stein LD, Gedalia A, Ilowite NT, Wallace CA, Whitmore JB, White B, Giannini EH. Long-term safety and efficacy of etanercept in children with polyarticular-course juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 1987-1994.
124. Tzaribachev N, Kuemmerle-Deschner J, Eichner M, Horneff G. Safety and efficacy of etanercept in children with juvenile idiopathic arthritis below the age of 4 years. *Rheumatol Int* 2008; 28: 1031-1034.
125. Lovell DJ, Reiff A, Ilowite NT, Wallace CA, Chon Y, Lin SL, Baumgartner SW, Giannini EH. Safety and efficacy of up to eight years of continuous etanercept therapy in patients with juvenile rheumatoid arthritis. *Nat Clin Pract Rheumatol*. 2008; 4: 628-629.

126. Giannini EH, Ilowite NT, Lovell DJ, Wallace CA, Rabinovich CE, Reiff A, Higgins G, Gottlieb B, Singer NG, Chon Y, Lin SL, Baumgartner SW. Long-term safety and effectiveness of etanercept in children with selected categories of juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum* 2009; 60: 2794-2804.
127. Franklin CM. Clinical experience with soluble TNF p75 receptor in rheumatoid arthritis. *Semin Arthritis Rheum* 1999; 29: 172-182.
128. Genome Alberta. <http://www.drugbank.ca/drugs/DB00005>. [Online]
129. Charakterystyka produktu leczniczego – Humira. [Online]  
[http://www.emea.europa.eu/docs/pl\\_PL/document\\_library/EPAR\\_\\_Product\\_Information/human/000481/WC500050870.pdf](http://www.emea.europa.eu/docs/pl_PL/document_library/EPAR__Product_Information/human/000481/WC500050870.pdf).
130. Beukelman T, Patkar NM, Saag KG, Tolleson-Rinehart S, Cron RQ, DeWitt EM, Ilowite NT, Kimura Y, Laxer RM, Lovell DJ, Martini A, Rabinovich CE, Ruperto N. 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: 465-482.
131. Lequerré T, Quartier P, Rosellini D, Alaoui F, De Bandt M, Mejjad O, Kone-Paut I, Michel M, Dernis E, Khellaf M, Limal N, Job-Deslandre C, Fautrel B, Le Loët X, Sibilia J. Interleukin-1 receptor antagonist (anakinra) treatment in patients with systemic-onset juvenile idiopathic arthritis or adult onset Still disease: preliminary experience in France. *Ann Rheum Dis* 2008; 67: 302-308.
132. Quartier P, Allantaz F, Cimaz R, Pillet P, Messiaen C, Bardin C, Bossuyt X, Boutten A, Bienvenu J, Duquesne A, Richer O, Chaussabel D, Mogenet A, Banchereau J, Treluyer JM, Landais P, Pascual V. A multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled trial with the interleukin-1 receptor antagonist anakinra in patients with systemic-onset juvenile idiopathic arthritis (ANAJIS trial). *Ann Rheum Dis* 2011; 70: 747-754.
133. Zeff A, Hollister R, LaFleur B, Sampath P, Soep J, McNally B, Kunkel G, Schlesinger M, Bohnsack J. Anakinra for systemic juvenile arthritis: the Rocky Mountain experience. *J Clin Rheumatol* 2009; 15: 161-164.
134. Szmyrka-Kaczmarek M, Wiland P. Tocilizumab – interleukin 6 receptor inhibitor – a new therapeutic option. *Reumatologia* 2009; 47: 85-94.

135. Yokota S, Imagawa T, Mori M, Miyamae T, Aihara Y, Takei S, Iwata N, Umebayashi H, Murata T, Miyoshi M, Tomiita M, Nishimoto N, Kishimoto T. 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: 998-1006.
136. De Benedetti F, Brunner HI, Ruperto N, Kenwright A, Wright S, Calvo I, Cuttica R, Ravelli A, Schneider R, Woo P, Wouters C, Xavier R, Zemel L, Baildam E, Burgos-Vargas R, Dolezalova P, Garay SM, Merino R, Joos R, Grom A, Wulffraat N, Zuber Z, Zulian F, Lo. Randomized trial of tocilizumab in systemic juvenile idiopathic arthritis. *N Engl J Med* 2012; 367: 2385-2395.
137. Yokota S, Imagawa T, Mori M, Miyamae T, Takei S, Iwata N, Umebayashi H, Murata T, Miyoshi M, Tomiita M, Nishimoto N, Kishimoto T. Long-term treatment of systemic juvenile idiopathic arthritis with tocilizumab: results of an open-label extension study in Japan. *Ann Rheum Dis* 2013; 72: 627-628.
138. Consolaro A, Ruperto N, Bazso A, Pistorio A, Magni-Manzoni S, Filocamo G, Malattia C, Viola S, Martini A, Ravelli A. Development and validation of a composite disease activity score for juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum* 2009; 61: 658-666.
139. Wiland P. Młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów. W: Wiland P(red.). Monitorowanie stanu pacjenta w chorobach reumatycznych. Górnicki Wydawnictwo Medyczne,Wrocław 2008; 63-74.
140. 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* 2011; 63: 929-936.
141. Giannini EH, Ruperto N, Ravelli A, Lovell DJ, Felson DT, Martini A. Preliminary definition of improvement in juvenile arthritis. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 1202-1209.
142. Romicka AM, Ruperto N, Gutowska-Grzegorzczak G, Musiej-Nowakowska E, Wyszynska E. The Polish version of the Childhood Health Assessment Questionnaire (CHAQ) and the Child Health Questionnaire (CHQ). *Clin Exp Rheumatol* 2001; 19: 121-125.

143. Dempster H, Porepa M, Young N, Feldman BM. The Clinical Meaning of Functional Outcome Scores in Children With Juvenile Arthritis. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 1768–1774.
144. Żuber Z, Rutkowska-Sak L, Postępski J, Tłustochowicz W, Wiland P, Tuszkiewicz-Misztal E. Długoterminowa ocena bezpieczeństwa i skuteczności leczenia biologicznego młodzieńczego idiopatycznego zapalenia stawów – prezentacja polskiego rejestru elektronicznego. *Reumatologia* 2011; 49: 10-15.
145. Hyrich KL, Lal SD, Foster HE, Thornton J, Adib N, Baidam E, Gardner-Medwin J, Wedderburn LR, Chieng A, Davidson J, Thomson W. Disease activity and disability in children with juvenile idiopathic arthritis one year following presentation to paediatric rheumatology. Results from the Childhood Arthritis Prospective Study. *Rheumatology (Oxford)* 2010;49: 116-122.
146. Nordal E, Zak M, Aalto K, Berntson L, Fasth A, Herlin T, Lahdenne P, Nielsen S, Straume B, Rygg M. Ongoing disease activity and changing categories in a long-term nordic cohort study of juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum.* 2011; 63: 2809-2818.
147. Felici E, Novarini C, Magni-Manzoni S, Pistorio A, Magnani A, Bozzola E, Buoncompagni A, Martini A, Ravelli A. Course of joint disease in patients with antinuclear antibody-positive juvenile idiopathic arthritis. *J Rheumatol* 2005; 32:1805-1810.
148. Saurenmann RK, Rose JB, Tyrrell P, Feldman BM, Laxer RM, Schneider R, Silverman ED. Epidemiology of juvenile idiopathic arthritis in a multiethnic cohort. *Arthritis & Rheumatism* 2007; 56: 1974–1984.
149. Ravelli A, Varnier GC, Oliveira S, Castell E, Arguedas O, Magnani A, Pistorio A, Ruperto N, Magni-Manzoni S, Galasso R, Lattanzi B, Dalprà S, Battagliese A, Verazza S, Allegra M, Martini A. Antinuclear antibody-positive patients should be grouped as a separate category in the classification of juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum* 2011; 63: 267-275.
150. Barnes MG, Grom AA, Thompson SD, Griffin TA, Luyrink LK, Colbert RA, Glass DN. Biologic similarities based on age at onset in oligoarticular and polyarticular subtypes of juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum* 2010; 62: 3249-3258.
151. Morbach H, Richl P, Faber C, Singh SK, Girschick HJ. The kappa immunoglobulin light chain repertoire of peripheral blood B cells in patients with juvenile rheumatoid arthritis. *Mol Immunol* 2008; 45: 3840-3846.

152. Ravelli A, Felici E, Magni-Manzoni S, Pistorio A, Novarini C, Bozzola E, Viola S, Martini A. Patients with antinuclear antibody-positive juvenile idiopathic arthritis constitute a homogeneous subgroup irrespective of the course of joint disease. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 826-832.
153. Adib N, Hyrich K, Thornton J, Lunt M, Davidson J, Gardner-Medwin J, Foster H, Baildam E, Wedderburn L, Thomson W. Association between duration of symptoms and severity of disease at first presentation to paediatric rheumatology: results from the Childhood Arthritis Prospective Study. *Rheumatology (Oxford)* 2008; 47: 991-995.
154. Tuskiewicz-Misztal E. Młodzieńcze idopatyczne zapalenie stawów. *Medycyna Praktyczna Pediatria*. 2012, 3, str. 44. komentarz do Diagnosing juvenile idiopathic arthritis. McMahon AM, Tattersall R. *Paediatrics and Child Health*, 2011; 21: 552-557.
150. Schaible HG, von Banchet GS, Boettger MK, Bräuer R, Gajda M, Richter F, Hensellek S, Brenn D, Natura G. The role of proinflammatory cytokines in the generation and maintenance of joint pain. *Ann N Y Acad Sci* 2010; 1193: 60-69.
155. Yilmaz M, Kendirli SG, Altintas D, Bingöl G, Antmen B. Cytokine levels in serum of patients with juvenile rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* 2001; 20: 30-35.
156. Lotito AP, Campa A, Silva CA, Kiss MH, Mello SB. Interleukin 18 as a marker of disease activity and severity in patients with juvenile idiopathic arthritis. *J Rheumatol* 2007; 34: 823-830.
157. Yokota S, Miyamae T, Imagawa T, Iwata N, Katakura S, Mori M, Woo P, Nishimoto N, Yoshizaki K, Kishimoto T. Therapeutic efficacy of humanized recombinant anti-interleukin-6 receptor antibody in children with systemic-onset juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 818-825.
158. Woo P, Wilkinson N, Prieur AM, Southwood T, Leone V, Livermore P, Wythe H, Thomson D, Kishimoto T. Open label phase II trial of single, ascending doses of MRA in Caucasian children with severe systemic juvenile idiopathic arthritis: proof of principle of the efficacy of IL-6 receptor blockade in this type of arthritis and demonstration of prolonged cli. *Arthritis Res Ther* 2005; 7: 1281-1288.
159. Imagawa T, Yokota S, Mori M, Miyamae T, Takei S, Imanaka H, Nerome Y, Iwata N, Murata T, Miyoshi M, Nishimoto N, Kishimoto T. Safety and efficacy of tocilizumab, an anti-IL-6-receptor monoclonal antibody, in patients with polyarticular-course juvenile idiopathic arthritis. *Mod Rheumatol* 2012; 22: 109-115.

160. Spîrchez M, Samaşca G, Iancu M, Bolba C, Miu N. Relation of interleukin-6, TNF-alpha and interleukin-1alpha with disease activity and severity in juvenile idiopathic arthritis patients. *Clin Lab* 2012; 58: 253-260.
161. Ou LS, See LC, Wu CJ, Kao CC, Lin YL, Huang JL. Association between serum inflammatory cytokines and disease activity in juvenile idiopathic arthritis. *Clin Rheumatol* 2002; 21: 52-56.
162. Shahin AA, Shaker OG, Kamal N, Hafez HA, Gaber W, Shahin HA. Circulating interleukin-6, soluble interleukin-2 receptors, tumor necrosis factor alpha, and interleukin-10 levels in juvenile chronic arthritis: correlations with soft tissue vascularity assessed by power Doppler sonography. *Rheumatol Int* 2002; 22: 84-88.
163. Pietrewicz E, Urban M, Górska A. Stężenie cytokin w surowicy u chorych z młodzieńczym idiopatycznym zapaleniem stawów w zależności od postaci choroby i stopnia jej aktywności. *Pol Merk Lek* 2004; 17: 232-234.
164. 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: 288-292.
165. 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: 561-565.
166. Breda L, Di Marzio D, Giannini C, Gaspari S, Nozzi M, Scarinci A, Chiarelli F, Mohn A. Relationship between inflammatory markers, oxidant-antioxidant status and intima-media thickness in prepubertal children with juvenile idiopathic arthritis. *Clin Res Cardiol* 2012. [opublikowany online przed wydrukowaniem].
167. Caparbo VF, Prada F, Silva CA, Regio PL, Pereira RM. Serum from children with polyarticular juvenile idiopathic arthritis (pJIA) inhibits differentiation, mineralization and may increase apoptosis of human osteoblasts "in vitro". *Clin Rheumatol* 2009; 28: 71-77.
168. Li L, Zhang X, Cui Y, Lu YY, Wang SX, Dong GF, Shi YZ, Luo RQ, Lei YX. Effect of recombinant human tumor necrosis factor receptor type II-Fc fusion protein antibody on cytokines and bone metabolism in patients with juvenile idiopathic arthritis. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2010; 90: 2205-2208. [abstrakt]
169. Zou J, Rudwaleit M, Brandt J, Thiel A, Braun J, Sieper J. Up regulation of the production of tumour necrosis factor alpha and interferon gamma by T cells in



ankylosing spondylitis during treatment with etanercept. *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 561-564.

170. Madhusudan S, Foster M, Muthuramalingam SR, Braybrooke JP, Wilner S, Kaur K, Han C, Hoare S, Balkwill F, Talbot DC, Ganesan TS, Harris AL. A phase II study of etanercept (Enbrel), a tumor necrosis factor alpha inhibitor in patients with metastatic breast cancer. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 6528-6534.

171. Tsimberidou AM, Waddelow T, Kantarjian HM, Albitar M, Giles FJ. Pilot study of recombinant human soluble tumor necrosis factor (TNF) receptor (p75) fusion protein (TNFR:Fc; Enbrel) in patients with refractory multiple myeloma: increase in plasma TNF alpha levels during treatment. *Leuk Res* 2003; 27: 375-380.

172. Nowlan ML, Drewe E, Bulsara H, Esposito N, Robins RA, Tighe PJ, Powell RJ, Todd I. Systemic cytokine levels and the effects of etanercept in TNF receptor-associated periodic syndrome (TRAPS) involving a C33Y mutation in TNFRSF1A. *Rheumatology (Oxford)* 2006; 45: 31-37.

173. Levälampi T, Honkanen V, Lahdenne P, Nieminen R, Hakala M, Moilanen E. Effects of infliximab on cytokines, myeloperoxidase, and soluble adhesion molecules in patients with juvenile idiopathic arthritis. *Scand J Rheumatol* 2007; 36: 189-193.

174. Suffredini AF, Reda D, Banks SM, Tropea M, Agosti JM, Miller R. Effects of recombinant dimeric TNF receptor on human inflammatory responses following intravenous endotoxin administration. *J Immunol* 1995; 155: 5038-5045.

175. Song IH, Appel H, Haibel H, Loddenkemper C, Braun J, Sieper J, Rudwaleit M. New onset of Crohn's disease during treatment of active ankylosing spondylitis with etanercept. *J Rheumatol* 2008; 35: 532-536.

176. Yazisiz V, Avci AB, Erbasan F, Yildirim B, Terzioğlu E. Development of Crohn's disease following anti-tumour necrosis factor therapy (etanercept). *Colorectal Dis* 2008; 10: 953-4.

177. Sari I, Akar S, Birlik M, Sis B, Onen F, Akkoc N. Anti-tumor necrosis factor-alpha-induced psoriasis. *J Rheumatol* 2006; 33: 1411-1414.

178. Kaneko K, Kaburaki M, Muraoka S, Tanaka N, Yamamoto T, Kusunoki Y, Abe H, Endo H, Kawai S. Exacerbation of adult-onset Still's disease, possibly related to elevation of serum tumor necrosis factor-alpha after etanercept administration. *Int J Rheum Dis* 2010; 13: 67-69.

179. Kast RE. Evidence of a mechanism by which etanercept increased TNF-alpha in multiple myeloma: new insights into the biology of TNF-alpha giving new treatment opportunities--the role of bupropion. *Leuk Res* 2005;29: 1459-1463.
180. Bhatia A, Kast RE. Tumor necrosis factor (TNF) can paradoxically increase on etanercept treatment, occasionally contributing to TNF-mediated disease. *J Rheumatol* 2007; 34: 447-449.
181. Pfizer. Summary of Product Characteristics. Enbrel 25 mg powder and solvent for solution for injection. 2012.
182. Scallon B, Cai A, Solowski N, Rosenberg A, Song XY, Shealy D, Wagner C. Binding and functional comparisons of two types of tumor necrosis factor antagonists. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 301: 418-426.
183. De Benedetti F, Robbioni P, Massa M, Viola S, Albani S, Martini A. Serum interleukin-6 levels and joint involvement in polyarticular and pauciarticular juvenile chronic arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 1992; 10: 493-498.
184. Madson KL, Moore TL, Lawrence JM 3rd, Osborn TG. Cytokine levels in serum and synovial fluid of patients with juvenile rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 1994; 21: 2359-2363.
185. Visvanathan S, Wagner C, Marini JC, Lovell DJ, Martini A, Petty R, Cuttica R, Woo P, Espada G, Gattorno M, Apaz MT, Baidam E, Fasth A, Gerloni V, Lahdenne P, Quartier P, Saurenmann R, Travers S, Mendelsohn A, Xu S, Giannini EH, Ruperto N. The effect of infliximab plus methotrexate on the modulation of inflammatory disease markers in juvenile idiopathic arthritis: analyses from a randomized, placebo-controlled trial. *Pediatr Rheumatol Online J* 2010; 8, 24. PMID: PMC2949752.
186. Knowlton N, Jiang K, Frank MB, Aggarwal A, Wallace C, McKee R, Chaser B, Tung C, Smith L, Chen Y, Osban J, O'Neil K, Centola M, McGhee JL, Jarvis JN. The meaning of clinical remission in polyarticular juvenile idiopathic arthritis: gene expression profiling in peripheral blood mononuclear cells identifies distinct disease states. *Arthritis Rheum* 2009; 60: 892-900.
187. Allantaz F, Chaussabel D, Stichweh D, Bennett L, Allman W, Mejias A, Ardura M, Chung W, Smith E, Wise C, Palucka K, Ramilo O, Punaro M, Banchereau J, Pascual V. Blood leukocyte microarrays to diagnose systemic onset juvenile idiopathic arthritis and follow the response to IL-1 blockade. *J Exp Med* 2007; 204: 2131-2144.

188. Pascual V, Allantaz F, Patel P, Palucka AK, Chaussabel D, Banchereau J. How the study of children with rheumatic diseases identified interferon-alpha and interleukin-1 as novel therapeutic targets. *Immunol Rev* 2008; 223: 39-59.
189. Prieur AM, Kaufmann MT, Griscelli C, Dayer JM. Specific interleukin-1 inhibitor in serum and urine of children with systemic juvenile chronic arthritis. *Lancet* 1987; 2: 1240-1242.
190. Ozen S, Saatci U, Bakkaloglu A, Ozdemir O, Besbas N, Kirazli S, Ozdemir S. Interleukin-1, -6, and -8 levels in juvenile chronic arthritis. *Clin Rheumatol* 1997; 16: 173-178.
191. Fall N, Barnes M, Thornton S, Luyrink L, Olson J, Ilowite NT, Gottlieb BS, Griffin T, Sherry DD, Thompson S, Glass DN, Colbert RA, Grom AA. Gene expression profiling of peripheral blood from patients with untreated new-onset systemic juvenile idiopathic arthritis reveals molecular heterogeneity that may predict macrophage activation syndrome. *Arthritis Rheum* 2007; Tom 56: 3793-3804.
192. De Benedetti F, Pignatti P, Massa M, Sartirana P, Ravelli A, Martini A. Circulating levels of interleukin 1 beta and of interleukin 1 receptor antagonist in systemic juvenile chronic arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 1995; 13: 779-784.
193. Saxena N, Aggarwal A, Misra R. Elevated concentrations of monocyte derived cytokines in synovial fluid of children with enthesitis related arthritis and polyarticular types of juvenile idiopathic arthritis. *J Rheumatol* 2005; Tom 32: 1349-1353.
194. Alarcon-Riquelme ME, Vazquez-Mellado J, Gomez-Cordillo M, Alcocer-Varela J, Burgos-Vargas R, Alarcón-Segovia D. Immunoregulatory defects in juvenile rheumatoid arthritis. Comparison between patients with the systemic or polyarticular forms. *J Rheumatol* 1988; 15: 1547-1550.
195. Ilowite N, Porras O, Reiff A, Rudge S, Punaro M, Martin A, Allen R, Harville T, Sun YN, Bevirt T, Aras G, Appleton B. Anakinra in the treatment of polyarticular-course juvenile rheumatoid arthritis: safety and preliminary efficacy results of a randomized multicenter study. *Clin Rheumatol* 2009; 28: 129-137.
196. Kontny E, Kwiatkowska M, Kołodziejczyk B, Romicka A, Rutkowska-Sak L. Cytokiny prozapalne u dzieci z bólem stawów niewyjaśnionego pochodzenia oraz chorych na młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów. *Reumatologia* 2010; 48: 301–306.
197. Rooney M, David J, Symons J, Di Giovine F, Varsani H, Woo P. Inflammatory cytokine responses in juvenile chronic arthritis. *Br J Rheumatol* 1995; 34: 454-460.

198. Ruperto N, Levinson JE, Ravelli A, Shear ES, Link Tague B, Murray K, Martini A, Giannini EH. Long-term health outcomes and quality of life in American and Italian inception cohorts of patients with juvenile rheumatoid arthritis. I. Outcome status. *J Rheumatol* 1997; 24: 945-951.
199. Oen K, Malleson PN, Cabral DA, Rosenberg AM, Petty RE, Cheang M. Disease course and outcome of juvenile rheumatoid arthritis in a multicenter cohort. *J Rheumatol* 2002; 29:1989-1999.
200. Oliveira S, Ravelli A, Pistorio A, Castell E, Malattia C, Prieur AM, Saad-Magalhães C, Murray KJ, Bae SC, Joos R, Foeldvari I, Duarte-Salazar C, Wulffraat N, Lahdenne P, Dolezalova P, de Inocencio J, Kanakoudi-Tsakalidou F, Hofer M, Nikishina I, Ozdogan H. Proxy-reported health-related quality of life of patients with juvenile idiopathic arthritis: the Pediatric Rheumatology International Trials Organization multinational quality of life cohort study. *Arthritis Rheum* 2007; 57: 35-43.
201. Boiu S, Marniga E, Bader-Meunier B, Mouy R, Compeyrot-Lacassagne S, Quartier P, Wouters CH. Functional status in severe juvenile idiopathic arthritis in the biologic treatment era: an assessment in a French paediatric rheumatology referral centre. *Rheumatology (Oxford)* 2012; 51: 1285-1292.
202. Halbig M, Horneff G. Improvement of functional ability in children with juvenile idiopathic arthritis by treatment with etanercept. *Rheumatol Int* 2009; 30: 229-238.
203. Palmisani E, Solari N, Magni-Manzoni S, Pistorio A, Labò E, Panigada S, Martini A, Ravelli A. Correlation between juvenile idiopathic arthritis activity and damage measures in early, advanced, and longstanding disease. *Arthritis Rheum* 2006; 55: 843-849.
204. Breslin WL, Johnston CA, Strohacker K, Carpenter KC, Davidson TR, Moreno JP, Foreyt JP, McFarlin BK. Obese Mexican American Children Have Elevated MCP-1, TNF- $\alpha$ , Monocyte Concentration, and Dyslipidemia. *Pediatrics* 2012;129: 1180-1186.
205. Kristiansen OP, Mandrup-Poulsen T. Interleukin-6 and diabetes: the good, the bad, or the indifferent? *Diabetes* 2005; 54: 114-124.