

ПИЛОТНО ПРОУЧВАНЕ НА СЕРУМНИТЕ НИВА НА TNF- α ВЪВ ВРЪЗКА С КЛИНИЧНИТЕ И ЛАБОРАТОРНИТЕ ПАРАМЕТРИ НА БОЛЕСТНАТА АКТИВНОСТ ПРИ БЪЛГАРСКА ПОПУЛАЦИЯ ОТ БОЛНИ С АНКИЛОЗИРАЩ СПОНДИЛИТ

М. Иванова¹, Р. Стоилов¹, М. Платиканова² и И. Манолова³

¹Клиника по ревматология, УМБАЛ „Св. Ив. Рилски“ – София

²Катедра „Хигиена, инфекциозни болести и епидемиология“, МФ на ТУ – Стара Загора

³Лаборатория по клинична имунология, УМБАЛ – Стара Загора

Резюме. Целта на нашето проучване беше да анализираме серумните нива на tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) при болни с анкилозиращ спондилит (АС) и връзката им с болестната активност. За определяне на серумния цитокин TNF- α беше приложен ELISA тест при 45 пациенти с АС. Резултатите бяха сравнени с тези на 36 здрави контроли. Изследвахме също връзката между серумните концентрации на този цитокин и параметрите на болестната активност при АС. Серумната концентрация на TNF- α при болните с АС (mean \pm SD, 7.37 \pm 17.69; range, 0.3-62.7) не се различаваше статистически значимо от тази на здравите контроли (mean \pm SD, 1.03 \pm 0.47; range, 0.44-2.4) ($p = 0.558$). Не намерихме разлика и в стойностите на серумните нива на TNF- α между болните с активен периферен артрит (mean \pm SD, 7.72 \pm 18.18; range, 0.5-62.7) и тези с изолирано ангажиране на гръбнака (mean \pm SD, 7.04 \pm 17.61; range, 0.3-62.6; $p = 0.524$). Не установихме корелация между TNF- α и измерените клинични и лабораторни параметри на болестната активност – BASDAI, ASDAS-CRP, ASDAS-CYE, глобална оценка на лекаря и пациента за болестната активност, CYE и СРП.

Ключови думи: TNF- α , АС

M. Ivanova, R. Stoilov, M. Platikanova and I. Manolova. A PILOT STUDY OF TNF-ALPHA SERUM LEVELS IN RELATION TO CLINICAL AND LABORATORY PARAMETERS OF DISEASE ACTIVITY IN BULGARIAN PATIENTS WITH ANKYLOSING SPONDYLITIS

Summary. The aim of our study was to analyse the serum tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) levels in patients with AS and their relationship with disease activity. An ELISA test was used to analyse serum cytokine TNF-alpha levels in 45 patients with AS. Results were compared with those from 36 healthy controls. The relationship between serum concentrations of this cytokine and parameters of disease activity in AS patients was also evaluated. No significant difference was found between TNF-alpha serum levels in AS and in controls (mean \pm SD, 7.37 \pm 17.69; range, 0.3-62.7) and between patients with spinal involvement only (mean \pm SD, 7.04 \pm 17.61; range, 0.3-62.6; $p = 0.524$) and those who also had peripheral arthritis (mean \pm SD, 7.72 \pm 18.18; range, 0.5-62.7), as well. TNF-alpha did not correlate with laboratory or clinical parameters of disease activity – BASDAI, ASDAS-CRP, ASDAS-CYE, physician's and patient's global assessment of disease activity, ESR and CRP.

Key words: TNF-alpha, AS

Увод

Анкилозиращият спондилит (АС) е хронично възпалително ревматично заболяване, засягащо предимно сакроилиачните стави и гръбначния стълб, чиято етиология остава все още неясна. Цитокините са разтворими протеини, със специфични роли във възпалителния отговор. Те контролират взаимодействието между клетките на имунната система както при естествената, така и при специфичната имунна реакция [4]. TNF- α е цитокин, който се продуцира предимно от макрофагите. Огромният интерес към неговото изследване се дължи на доказаната му роля във

възпалителния процес и явната му значимост както по отношение на инфекциозните, така и за аутоимунните заболявания [2]. Знае се, че IL-1 β и TNF- α играят основна роля в патогенезата на ставната деструкция при РА [17, 18].

Th1 клетките секретират проинфламаторни цитокини като IFN- γ и TNF- α , докато Th2 клетките са отговорни за секрецията на антиинфламаторни цитокини като IL-10 и IL-4. Все още остава неизяснена ролята на нарушения Th1 отговор, който се наблюдава при пациенти с АС [13, 24]. Rudwaleit и Braun демонстрират, че податливостта на индивидите, носители на

гена HLA-B27, към АС е асоциирана с намалена продукция от Т-клетките на TNF- α и IFN- γ [7, 12]. Други автори намират повишен серумен TNF- α при активен и неактивен АС и смятат, че той е важен възпалителен медиатор за заболяването.

Нашият интерес към изследването на този проинфламаторен цитокин е продиктуван от широко прилаганата през последните години биологична терапия с TNF- α блокиращи агенти при болни с активен АС. Съвременните наблюдения в клиничните опити с тази група медикаменти показват, че те водят до значимо подобрене по отношение на симптомите на болестта, както и във физическата функция на пациентите, но все още не е доказан ефектът им върху прогресията на структурната увреда. Двугодишно изследване с Etanercept и Infliximab не потвърждава ефективността им при потискане на формирането и растежа на синдесмофитите, което поражда хипотезата, че синдесмофитното формиране и нарастване се дължи на TNF независими механизми [20, 21]

Цел

В проучването анализирахме продукцията на TNF- α при пациенти с АС и при здрави индивиди. Оценихме също връзката между серумното ниво на този цитокин и клиничните и лабораторните параметри на болестната активност (BASDAI, ASDAS-CRP, ASDAS-CUE, глобална оценка на лекаря и пациента за болестната активност, острофазовите протеини СУЕ и СРП), за да установим значението му за заболяването.

Методи

В проучването бяха включени четиридесет и пет болни с АС (32-ма мъже и 13 жени) на средна възраст (\pm SD) 39,6 \pm 10,5 г. Всички участващи пациенти изпълваха модифицираните Нюйоркски критерии за болестта [23]. Като контролна група бяха изследвани 36 здрави лица (24 мъже и 12 жени) на средна възраст (\pm SD) 39,3 \pm 11,46 г.

Бяха събрани данни за демографските характеристики и показателите, свързани с активността на заболяването. За оценка на болестната активност беше приложен Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index (BASDAI) [5]. Той включва 6 въпроса, свързани с характерните симптоми на болестта (болка в гърба, умора, болка в ставите и ентезит, скованост – тежест и продължителност) и се попълва от болните на

10 cm VAS (от 0 = липсва активност; до 10 = максимална активност). Общият скор на BASDAI варира от 0 до 10, като по-високата стойност показва по-голяма болестна активност. Другите два клинични показателя за активност, които приложихме, бяха “оценка на пациента за болестната активност” и “оценка на лекаря за болестната активност” върху 10 cm хоризонтални VAS, разграничени по аналогичен начин – “липсва болестна активност” на 0 cm и “много тежка активност” на 10 cm. Съобразно общоприетото схващане на клиницистите, дефинирахме стойности ≥ 4 като болестна активност за трите променливи, а тези < 4 възприехме като неактивно заболяване.

Използвахме новото средство за оценка на болестната активност при АС, създадено през 2009 г. [10] (Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score – ASDAS). Оценихме двата индекса: **ASDAS B = 0.079 x Back pain + 0.069 x Duration morning stiffness + 0.113 x Patient global + 0.086 x Peripheral pain/swelling + 0.293 x $\sqrt{(ESR)}$** и **ASDAS C = 0.121 x Back pain + 0.058 x Duration morning stiffness + 0.110 x Patient global + 0.073 x Peripheral pain/swelling + 0.579 x Ln (CRP+1)**, защото, въпреки че СУЕ и СРП се считат за взаимозаменяеми острофазови реактанти, в известна степен отразяват различни процеси. Стратифицирахме следните категории болестна активност съобразно ASDAS: неактивно заболяване – ASDAS $< 1,3$, умерена болестна активност – $1,3 < 2,1$, висока болестна активност – $2,1 - 3,5$, и много висока болестна активност – $> 3,5$.

Тъй като има разлики в стойностите на СУЕ и СРП при болните, които са с изолирано ангажиране на гръбнака, и тези с активен периферен артрит (повишени средни стойности на СРП, СУЕ и глобална оценка на пациента при наличие на периферна болестна активност в двете големи кохортни проучвания – OASIS и ISSAS) [11, 15], разделихме пациентите в тези две групи. Активният периферен артрит беше дефиниран като синовит поне на 1 голяма става или на 3 и повече малки стави.

Серумното ниво на TNF- α беше измерено чрез сандвичев имуноензимен метод и високочувствителен търговски ELISA кит на фирмата R&D Systems, Minneapolis, USA. Серумите на пациентите и контролите бяха съхранявани при $t -20^{\circ}\text{C}$ до извършване на изследването. Нито едно от изследваните лица нямаше клинични данни за интеркурентно заболяване по време на

събиране на пробите. С-реактивният протеин беше изследван чрез нефелометричен анализ (mg/l, норма < 6). СУЕ измерихме по метода на Westergren (mm/h; нормални стойности за мъже 0-20, за жени 0-30). Нивата на СРП, които бяха под долната граница на количественото определяне, бяха приети за недоловими. По подобие на други клинични проучвания приехме за повишени стойности на СУЕ > 28 mm/h, а за СРП > 6 mg/l.

Статистически анализ

Данните от проведените изследвания бяха обработени статистически чрез използване на SPSS пакет за Windows, v. 16.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA). Приложени бяха вариационен, непараметричен (Mann Whitney U test), корелационен анализ (Spearman Rank Order Correlaton). При всички анализи резултатите с ниво на значимост $p < 0.05$ са считани за статистически достоверни.

РЕЗУЛТАТИ

Съобразно измерените стойности на BASDAI 29 от пациентите бяха с активност на болестта, а при 16 болестта беше неактивна. Когато приложихме индекса за активност ASDAS, 43-ма от

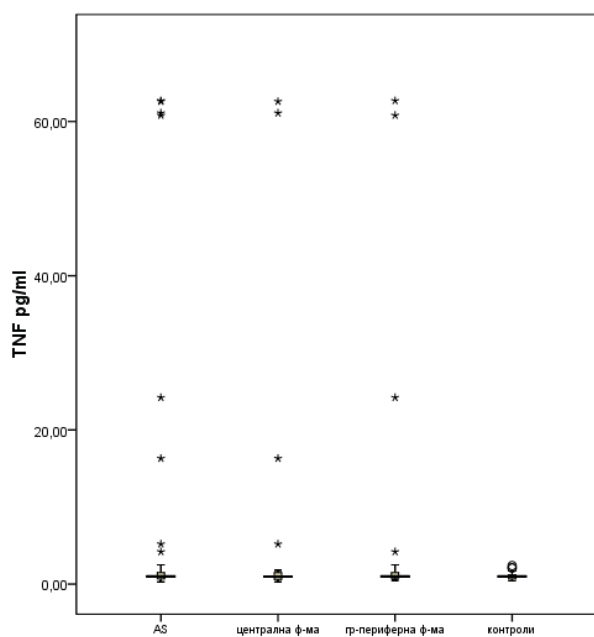
болните, или 95,6%, бяха с активно заболяване. Двадесет от пациентите (44,4%) бяха лекувани с терапия от първа линия – НСПВС, 8 от които приемаха медикамент от тази група само при нужда. При 25 болни (55,6%) беше назначен болестомодифициращ медикамент, като петнадест от тях се лекуваха с TNF-блокиращ агент Humira или Enbrel. На табл. 1 са представени ключовите базисни характеристики на изследваната група.

Серумната концентрация на TNF- α при болните с АС (mean \pm SD, 7.37 \pm 17.69; range, 0.3-62.7) не се различаваше статистически значимо от тази на здравите контроли (mean \pm SD, 1.03 \pm 0.47; range, 0.44-2.4) ($p = 0.558$). Също така не намерихме разлика в стойностите на серумните нива на TNF- α между болните с активен периферен артрит (mean \pm SD, 7.72 \pm 18.18; range, 0.5-62.7) и тези с изолирано ангажиране на гръбнака (mean \pm SD, 7.04 \pm 17.61; range, 0.3-62.6; $p = 0.524$). При 6 болни с АС беше регистрирана висока серумна концентрация на TNF- α – от 16.3 до 62.7 pg/ml, спрямо останалите болни. Вариационният анализ показва значима дисперсия в стойностите на TNF- α при болните с АС (variance 312.94) спрямо контролната група (variance 0.214, $p < 0.001$) (фиг. 1).

Таблица 1. Основни характеристики на болните, включени в проучването

Характеристики	Стойности
Възраст (год.), mean \pm SD (range)	39,6 \pm 1,0,5 (24-60)
Пол (% мъже)	71%
Продължителност на болестта (год.), mean \pm SD (range)	13 \pm 8,5 (1-36)
Активен периферен артрит (%)	49%
BASDAI, mean \pm SD (range), BASDAI \geq 4 (%)	4,7 \pm 2,3 (0,35-8,8) N = 29 (64,4%)
ASDAS-ESR, mean \pm SD (range), ASDAS \geq 4 (%)	3,0 \pm 1,0 (0,35-8,8) N = 43 (95,6%)
ASDAS-CRP, mean (SD) (range) ASDAS \geq 4 (%)	3,14 \pm 1,2 (0,6-5,4) N = 43 (95,6%)
Глобална оценка на пациента за болестната активност, mean \pm SD (range), \geq 4 (%)	4,9 \pm 2,5 (0,3-9,7) N = 28 (62,2%)
Глобална оценка на лекаря за болестната активност, mean \pm SD (range), \geq 4 (%)	4,1 \pm 2,0 (0,2-8,3) N = 24 (53,3%)
СУЕ (mm), mean \pm SD (range), СУЕ \geq 28 (%)	27,9 \pm 20,6 (2-80), N = 20 (44,4%)
СРП (mg/l), mean \pm SD (range), СРП \geq 6 (%)	21,5 \pm 25,8 (0,62-103,4), N = 28 (62,2%)

BASDAI, Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index; ASDAS, Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score; ESR/СУЕ – скорост на утаяване на еритроцитите; CRP/СРП – С-реактивен протеин



Фиг. 1. Стойности на TNF-alpha при болните с анкилозиращ спондилит в подгрупите със засягане само на аксиалния скелет (централна ф-ма) и на тази с периферен артрит (гр-периферна ф-ма) и на контролната група здрави лица. Представени са медиана, 25-75 перцентил, стойностите над 75-ия перцентил

Резултатите от корелационния анализ са представени в табл. 1. Не установихме корелация между TNF- α и измерените параметри на болестната активност – BASDAI, ASDAS-CRP, ASDAS-CUE, глобална оценка на лекаря и пациента за болестната активност, CUE и CRP.

ОБСЪЖДАНЕ

Серумното ниво на TNF при здравите индивиди показва големи и стабилни вариации, поради това че в популацията има фенотипи с висока и ниска продукция [9, 22]. Този факт потвърждава съществената роля на регулацията на гена за TNF върху нивата на този цитокин при различните индивиди. Westendorp и сътр. [26] намират конкордантност в серумната концентрация на TNF при монозиготни близнаци, което също доказва влиянието на генетичните вариации върху продукцията на TNF.

Проинфламаторните цитокини TNF- α , IL-6 и IL-1 β имат отношение към Т- и В-клетъчната диференциация, химиотаксиса на лимфоцитите и моноцитите и индукцията на острофазовите

протеини. Gratacos и сътр. [6] са едни от първите учени, изследвали серумните цитокини при АС. Те демонстрират, че нивата на TNF- α са повишени както при пациентите с активно, така и с неактивно заболяване, в сравнение с група контроли. Sonel и сътр. [14] съобщават за повишени нива на TNF- α в тяхната група болни със SpA, в сравнение с контролната им група. Chung-Ming Huang и авторски колектив [8] също установяват сигнификантно повишен серумен TNF- α при АС, спрямо здрави контроли и заключават, че този цитокин играе важна роля в патогенезата на болестта и би могъл да се използва като маркер на болестна активност при диагностицирането и лечението на АС. A. Bal [1], Toussiro [16] и техните съавтори намират само тенденция за повишен TNF- α при пациентите с АС. Резултатите от проучванията сочат повишени серумни нива на TNF- α при SpA. В контраст на това Vazquez-Del Mercado и съавтори [25], подобно на нашите резултати, не намират сигнификантни разлики в нивата на TNF- α между болните с АС и контролната група от здрави лица.

Разнопосочните резултати от тези проучвания биха могли да се обяснят с влиянието на етническите фактори или на ефектите от медикаментозното лечение. Всички болни в нашето проучване провеждаха лечение с НСПВС, Sulphasalazine, TNF- α блокиращ агент или комбинация от тях. 33% от изследваните болни бяха на лечение с Humira или Enbrel. 40% от болните, лекувани само с НСПВС, приемаха медикамент от групата само при нужда, а не като дълготрайна терапия. Ние смятаме, че всички тези лекарствени средства повлияват клиничните и лабораторните параметри на болестната активност. Нямахме възможност да сравним изследваните показатели между пациентите на медикаментозна терапия и нелекуваните болни, защото 82% от нашите пациенти бяха на съответен терапевтичен режим непрекъснато.

При 6 от изследваните от нас болни установихме значително повишени стойности на TNF- α (16,3–62,7 pg/ml), който не свързваме със съпътстващо заболяване. Интересен е фактът, че 5 от тях бяха на биологична терапия с анти-TNF, която успешно беше повлияла симптомите болка, умора и скованост, физическата функция и лабораторните показатели CUE и CRP.

Относно проучването на връзката на TNF- α с параметрите на болестната активност, някои автори не намират асоциация между нивата на

TNF- α и СУЕ и СРП [6]. За разлика от тях Chung-Ming Huang [8] и други изследователи [1] установяват положителна зависимост между серумната концентрация на TNF- α и СУЕ. Авторският колектив от Китай в проучването си с 81 пациенти с АС и 49 здрави контроли не намира асоциация между нивото на TNF- α и СРП, но установява позитивна корелация на цитокина с BASDAI ($p = 0.001$, $r = 0.41$). Това им дава основание да изкажат становището, че TNF- α отразява болестната активност при китайската популация болни с АС. В нашето проучване не установихме сигнификантна корелация между този цитокин и острофазовите възпалителни реактанти, както и с нито един от клиничните показатели за болестна активност.

Все още липсва подходящ златен стандарт за болестната активност при АС. За тази цел в клиничните проучвания се използват предимно BASDAI, глобална оценка на пациента и лекаря. BASDAI отразява съобщените от болния симптоми на болестта: болка в гърба и периферните стави, умора и скованост. Установено е, че този индекс се променя от лечението с НСПВС [19] и особено от TNF-блокиращите медикаменти [3], които значително повлияват и СУЕ, и СРП.

За първи път в българско проучване приложихме новия индекс за болестна активност за пациенти с АС – Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score. Валидизирани са четири формули за изчисляването му. Смята се, че този скор, в сравнение с BASDAI, има по-добра способност да разграничава пациентите с различни степени на болестна активност и следователно да демонстрира контраста между тях. И четирите ASDAS показателя за болестна активност корелират добре с възприятието както на лекаря, така и на пациента, затова са удобни и навлизат успешно в клиничната практика и научните изследвания. Все още остава като предизвикателство извличането на паралел между различните утвърдени индекси на болестна активност, за да се каже кое точно може да се счита за „реално“ ниво на болестна активност при конкретния пациент [10]. Поради тези открити въпроси и ние потърсихме връзка на серумното ниво на TNF- α с всеки един от тях, но не намерихме статистическа достоверност, която да потвърди ролята на цитокина като маркер на активност. Резултатът вероятно се дължи на малкия брой изследвани болни, мнозинството от които с активност на заболяването (95,6%), а и на ефекта от терапията.

При нашето проучване приложихме cross-секционен дизайн. Само при 7 пациенти серумният TNF- α беше изследван в динамика. За предпочитане е проспективното проучване на пациентите с АС в ранната фаза на тяхното заболяване и серийното наблюдение в хода на флукуацията в болестната активност, което би могло да бъде обект на по-нататъшни изследвания.

Библиография

1. Bai, A. et al. Comparison of serum IL-1 β , sIL-2R, IL-6 and TNF- α levels with disease activity parameters in ankylosing spondylitis. – *Clin. Rheumatol.*, 27, 2007, 211-215.
2. Beutler, B. A. The role of tumor necrosis factor in health and disease. – *J. Rheumatol.*, 26, 1999, Suppl. 57, 16-21.
3. Braun, J. et al. Treatment of active ankylosing spondylitis with infliximab: a randomized controlled multicentre trial. – *Lancet*, 359, 2002, 1187-1193.
4. Dinarello, C. A. et L. L. Moldawer. Proinflammatory and anti-inflammatory cytokines in rheumatoid arthritis. Amgen, Thousand Oaks, CA, 1999.
5. Garrett, S. et al. A new approach to defining disease status in ankylosing spondylitis: the Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index. – *J. Rheum.*, 21, 1994, 2286-2291.
6. Gratacos, J. et al. Serum cytokines (IL-6, TNF- α , IL-1 β and IFN- γ) in ankylosing spondylitis: a close correlation between serum IL-6 and disease activity and severity. – *Br. J. Rheumatol.*, 33, 1994, 927-931.
7. Haibel, H. et al. Open label trial of anakinra in active ankylosing spondylitis over 24 weeks. – *Ann. Rheum. Dis.*, 64, 2005, 296-298.
8. Huang, C.-M., P.-H. Huang et C.-L. Chen. Interleukin-1 beta, Interleukin-10, and tumor necrosis factor-alpha in chinese patients with ankylosing spondylitis. – *Mid. Taiwan J. Med.*, 14, 2009, 10-15.
9. Louis, E. et al. Tumor necrosis factor (TNF) gene polymorphism influences TNF-alpha production in lipopolysaccharide (LPS)-stimulated whole blood cell culture in healthy humans. – *Clin. Exp. Immunol.*, 113, 1998, 401-406.
10. Lukas, C. et al. Development of an ASAS-endorsed disease activity score (ASDAS) in patients with ankylosing spondylitis. – *Ann. Rheum. Dis.*, 68, 2009, 18-24.
11. Pham, T. et al. An international study on starting tumor necrosis factor-blocking agents in ankylosing spondylitis. – *Ann. Rheum. Dis.*, 65, 2006, 1620-1625.
12. Rudwaleit, M. et al. Prediction of a major clinical response (BASDAI 50) to tumor necrosis factor alpha blockers in ankylosing spondylitis. – *Ann. Rheum. Dis.*, 63, 2004, 665-670.
13. Smith, J. A., E. Marker-Hermann et R. A. Colbert. Pathogenesis of ankylosing spondylitis: current concept. – *Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.*, 20, 2006, 571-591.
14. Soneil, B., H. Tutkak et N. Duzgun. Serum levels of IL-1 beta, TNF-alpha, IL-8, and acute phase proteins in seronegative spondyloarthropathies. – *Joint Bone Spine*, 69, 2002, 463-467.
15. Spoorenberg, A. et al. Relative value of erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein in assessment of

- disease activity in ankylosing spondylitis. – J. Rheumatol., 26, 1999, 980-984.
16. Toussiro, E. et al. Serum levels of IL-1 β , tumor necrosis factor- α , soluble interleukin 2 receptor and soluble CD8 in seronegative spondylarthropathies. – Rheumatol. Int., 13, 1994, 175-180.
17. Van den Berg, W. B. et al. Amelioration on established murine collagen induced arthritis with anti-IL-1 treatment. – Clin. Exp. Immunol., 95, 1994, 237-243.
18. Van de Loo, F. A. et al. Role of interleukin-1, tumor necrosis factor alpha, and interleukin-6 in cartilage proteoglycan metabolism and destruction. Effect on in situ blocking in murine antigen- and zymosan-induced arthritis. – Arthritis Rheum., 38, 1995, 164-172.
19. Van der Heijde, D. et al. Evaluation of the efficacy of etoricoxib in ankylosing spondylitis: results of a fifty-two-week, randomized, controlled study. – Arthritis Rheum., 52, 2005, 1205-1215.
20. Van der Heijde, D. et al. Ankylosing Spondylitis Study for the Evaluation of Recombinant Infliximab Therapy Study Group. Radiographic findings following 2 years of infliximab therapy in patients with ankylosing spondylitis. – Arthritis Rheum., 58, 2008, 3063-3070.
21. Van der Heijde, D. et al. Radiographic progression of ankylosing spondylitis after up to two years of treatment with etanercept. – Arthritis Rheum., 58, 2008, 1324-1331.
22. Van der Linden, M. W., T. W. Huizinga et D. J. Stoeken. Determination of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-10 production in a whole blood stimulation system: assessment of laboratory error and individual variation. – J. Immunol. Methods, 218, 1998, 63-71.
23. Van der Linden, S. M., H. A. Valkenburg et A. Cats. Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis: a proposal for modification of the New York criteria. – Arthritis Rheum., 27, 1984, 361-368.
24. Van Roon, J. A. et J. W. Bijlsma. Th2 mediated regulation in RA and the spondyloarthropathies. – Ann. Rheum. Dis., 61, 2002, 951-954.
25. Vazquez-Del, M. M. et al. Interleukin β (IL-1 β), IL-10, tumor necrosis factor- α , and cellular proliferation index in peripheral blood mononuclear cells in patients with ankylosing spondylitis. – J. Rheumatol., 29, 2002, 522-526.
26. Westendorp, R. G. et al. Genetic influence on cytokine production and fatal meningococcal disease. – Lancet, 349, 1997, 170-173.

Постъпила за печат на 7 юни 2011 г.

✉ Адрес за кореспонденция:

Д-р Мариана Иванова
Клиника по ревматология
УМБАЛ „Св. Иван Рилски“
ул. „Урвич“ № 13
1612, София

☎ 958-23-71

✉ Address for correspondence:

Mariana Ivanova, M. D.
Clinic of Rheumatology
University Hospital "Sv. Iv. Rilski"
13, Urvich Str.
Bg – 1612 Sofia

☎ +359 2 958-23-71