А.Н. Кожевников^{1, 2}, М.В. Москаленко³, Н.А. Поздеева², Г.А. Новик¹, В.И. Ларионова¹

¹ Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия

² Научно-исследовательский институт детской ортопедии и травматологии им. Г.И. Турнера, Санкт-Петербург

³ Санкт-Петербургский государственный университет

Роль нарушений апоптоза в формировании ювенильного идиопатического артрита

Контактная информация:

Кожевников Алексей Николаевич, аспирант кафедры педиатрии имени И.М. Воронцова ФПК и ПП СПбГПМА

Адрес: 194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2, тел.: (812) 295-14-04

Статья поступила: 16.01.2012 г., принята к печати: 12.05.2012 г.

Проведено исследование полиморфизма гена p53 Arg72Pro 4 экзона и ins/del 16 н.п. 3 интрона у детей с ювенильным идиопатическим артритом с целью выявления влияния генного полиморфизма на течение и исход заболевания. Дети были разделены на несколько групп — учитывали пол, вариант суставного поражения, эффективность проводимого лечения. Главным критерием эффективности лечения считали достижение «неактивного» артрита с выходом в клинко-медикаментозную (фармакологическую) ремиссию. Впервые была показана взаимосвязь распределения генотипов гена p53 у девочек с олиго-полиартикулярным вариантом ювенильного идиопатического артрита с длительностью заболевания и эффективностью противоревматической терапии. Полученные данные свидетельствуют о необходимости дальнейших исследований взаимосвязи полиморфизмов гена p53 и ювенильного идиопатического артрита у детей.

Ключевые слова: апоптоз, полиморфизм гена p53, ювенильный идиопатический артрит.

Ювенильный идиопатический артрит — это часто встречающееся хроническое заболевание неуточненной этиологии, длительностью более 6 нед, развивающееся у детей не старше 16-летнего возраста, при исключении другой патологии суставов. Суставное поражение характеризуется преимущественно синовиальной гиперплазией с клеточной инфильтрацией, приводящей к деструкции хряща и костной ткани [1]. Один из патогенетических механизмов развития болезни — снижение чувствительности клеток к апоптозу, что приводит к пролиферации и гиперплазии синовиоцитов, поддержанию пула антиген-презентирующих клеток и Т лимфоцитов, хронизации воспаления [2]. Ключевая

роль в патогенезе суставного поражения принадлежит синовиальному фибробласту (RASf) — клетке, широко представленной в синовиальной оболочке, основная функция которой заключается в участии в непрерывном ремоделировании хрящевого матрикса и его компонентов. RASf лишена поверхностных антигенов HLA-DR, но при определенных условиях может приобретать функции иммунокомпетентной стволовой клетки; обладая богатым рецепторным аппаратом, способна синтезировать широкий спектр цитокинов, хемоаттрактантов и металлопротеаз, которые приводят к деструкции подлежащих тканей [3, 4]. Основной моделью нарушения клеточного апоптоза являются структурные изменения

A.N. Kozhevnikov^{1, 2}, M.V. Moskalenko³, N.A. Pozdeeva², G.A. Novik¹, V.I. Larionova¹

¹ Saint-Petersburg Pediatric Medical Academy, Russian Federation

² Saint-Petersburg Research Pediatric Orthopedic Institute n. a. G.I. Turner, Russian Federation

³ Saint-Petersburg State University, Department of Genetics & Breeding, Russian Federation

The role of apoptosis violations in the juvenile idiopathic arthritis formation

We investigated the polymorphism of the gene p53 exon 4 Arg72Pro and intron 3 ins/del 16 b.p. in children with juvenile idiopathic arthritis in order to identify the influence of gene polymorphisms on the course and outcome of the disease. The children were divided into several groups according to the sex, type of articular lesion and the effectiveness of treatment. The main criteria of therapy effectiveness was defined as achieving «inactive» arthritis as well as a clinical (pharmacologic) remission. The correlation between p53 gene genotypes among girls with oligo-, polyarthritis of juvenile idiopathic arthritis was shown for the first time. The data obtained demonstrates the necessity for further studies of the correlation between genotype p53 and juvenile idiopathic arthritis.

Key words: apoptosis, p53 gene polymorphism, juvenile idiopathic arthritis.

Апоптоз — это защитный механизм организма, направленный на поддержание чистоты генома, клеточного баланса, играющий главную роль в поддержании жизнедеятельности и процессах старения. Нарушения системы апоптоза приводят к различным патологическим состояниям, включающим онкопролиферативные процессы, аутоиммунные заболевания и нейродегенеративные нарушения [8]. Существуют два пути реализации программной клеточной гибели: первый — посредством активации системы мембранных рецепторов семейства TNF (Fas/Apo-1/CD95, TNFRI, TRIAL) с передачей сигнала через белковый посредник FADD и активацией системы каспаз; второй — внутренний путь активации процесса — связан с проапоптотическим белком p53, белковыми молекулами семейства BCL-2 и цитохромом C. Оба механизма находятся в тесном взаимоотношении, дополняя друг друга, тем самым минимизируя возможность срыва процесса клеточной смерти. Центральным звеном данного процесса является белок p53 (рис. 1).

Главная функция гена — поддержание стабильности генома и генетической однородности клетки. Мутантный белок теряет главную охранительную функцию, что приводит к безудержному делению клеток. Впервые полиморфизм гена р53, а не мутация, был выявлен группой ученых в 1986 году в США на примере двух семей: данные

P53 – ядерный, онкосупрессорный белок; Fas (CD95) – рецептор активации внешнего пути апоптоза на поверхности клеток; FasL – лиганд рецептора Fas; FADD – цитоплазматический белок-посредник активации системы каспаз; BAK, BAX – главные проапоптотические белки семейства BCL-2; BCL-2, BCL-xL – главные антиапоптотические белки семейства BCL-2; APAF1 – белок-посредник активации системы каспаз через цитохром C.

Рис. 2. Мономерная структура белка P53

были опубликованы в журнале «Nucleic Acids Research» (Codon 72 polymorphism of the *TP53* gene), где описывался полиморфизм 72-го кодона с заменой аминокислоты аргинина на пролин, идентифицируемый методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) [14].

В настоящее время значение полиморфизмов гена *p53* как в эпидемиологии, так и патофизиологии хронических артритов остается до конца неясным. В течение последнего десятилетия проводились исследования с целью изучения ассоциации между полиморфизмом *Arg72Pro* 4-го экзона и риском хронических артритов у взрослых. В экспериментальных условиях было показано, что биохимическая активность белка клеточных линий полиморфизмов *p53Pro* и *p53Arg* не эквивалентна, оба белка обладают антипролиферативными свойствами, однако, более низкая способность подавления клеточного роста имеется у полиморфизма *p53Pro*, а *p53Arg* обладает более быстрым эффекторным проапоптотическим действием за счет более высокой способности проникновения в митохондрию и высвобождения цитохрома C [15]. Полиморфизм *p53Pro* способен более длительно задерживать клеточный цикл в фазе G1 и обладает более мощным репарационным механизмом [16]. Исследования модели коллаген-индуцированного артрита у мышей *p53-/-* и *p53+/+* показали, что более агрессивный характер течения заболевания отмечался в группе мышей *p53-/-*, проявляющийся гиперэкспрессией тканевых и сывороточных цитокинов IL-1 β и IL 6, MMP13, более выраженной пролиферативной активностью синовиальных фибробластов и качественно низким уровнем клеточного апоптоза (*TUNEL*) [17].

Единичные мутации в интронных участках способны регулировать экспрессию гена, а сочетание нескольких минорных полиморфизмов приводит к снижению функциональной активности белка. Так, ассоциации полиморфизмов гена *p53 dup 16pb3in, in6 G/C* и *Arg72Pro4ex* приводят к значительному снижению клеток, репарации ДНК и апоптозу [18].

В зарубежной литературе описаны работы по изучению влияния полиморфизма гена *p53* на течение и исход гемобластозов, злокачественных новообразований, псориаза и ревматических болезней. За последние 10 лет в мире проведено 4 крупных исследования популяций Италии, Германии, Северной Кореи и южной части Африки. По обобщенным данным, статистически значимых изменений соотношений полиморфных аллелей здоровых и больных лиц не обнаружено, однако у лиц европеоидной расы с полиморфизмом *p53Pro* течение заболевания носило более тяжелый характер с преобладанием эрозивной картины суставного поражения [19–21]. В единственном исследовании, проведенном у детей с ювенильным хроническим артритом,

была показана более достоверная значимость данного полиморфизма гена, встречаемого в 2 раза чаще, в сравнении с группой здорового населения [22]. В Российской Федерации имеются работы по изучению взаимосвязи полиморфизма гена *p53* и раком молочной железы и легких, псориазом, сахарным диабетом I типа, различных лимфом и гломерулонефритом. В работе по изучению псориаза четкой предрасположенности к развитию заболевания в зависимости от полиморфизма гена не выявлено, однако, обнаружено более тяжелое течение, сопровождающееся резистентностью к проводимой терапии в случае полиморфизма гена *p53Pro* [23]. Не выявлена и степень влияния полиморфизма гена *p53* на острый лимфобластный лейкоз у детей, однако, обнаружена четкая закономерность влияния минорных полиморфизмов *p53* на течение и прогноз неходжкинских злокачественных лимфом [23–29].

Цель исследования: изучение течения и исхода ювенильного идиопатического артрита у детей с различными вариантами генотипа *p53*.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследование включено 95 детей с ювенильным идиопатическим артритом, различными вариантами суставного поражения, формой течения и проводимой терапии. Основные базы исследования: отделение ревматоидного артрита Научно-исследовательского института детской ортопедии и травматологии имени Г. И. Турнера и педиатрическое отделение № 3 Санкт-Петербургской государственной педиатрической медицинской академии. Все участники исследования соответствовали критериям Международного конгресса ассоциации ревматологов, ILAR (Dublin 1997, Edmonton 2001). Дети были разделены на несколько групп: первую составили 20 девочек с картиной персистирующего олигоартрита, с положительным антинуклеарным фактором (АНФ+); вторую — 15 детей с олигоартикулярным вариантом поражения, дебютом заболевания в более старшем возрасте (87% девочек, 13% мальчиков); 30 детей с картиной серонегативного полиартрита составили третью группу (80% девочек, 20% мальчиков); системный артрит наблюдался у 10 исследуемых детей, которые составили четвертую группу (60% мальчиков, 40% девочек); 20 детей, имеющих картину ювенильного артрита с энтезопатией, составили пятую исследуемую группу (25% девочек, 75% мальчиков). Основная масса детей имела стаж заболевания более 5 лет за исключением девочек с олигоартикулярным вариантом поражения. В зависимости от эффективности проводимой терапии мы разделили детей на две подгруппы: детей, сохраняющих «активный» артрит на фоне противоревматической терапии, и детей, имеющих «неактивный» артрит либо достигших клинико-медикаментозной (фар-

макологической) ремиссии. Активный артрит определялся как наличие одного или нескольких суставов с признаками воспаления в виде отека/выпота, болезненности и ограничения функции на фоне лечения; неактивный артрит — как отсутствие всех клинико-лабораторных признаков суставного воспаления и увеита, совпадающих с нулевой активностью визуально-аналоговой шкалы (ВАШ). Достижими полной клинико-медикаментозной ремиссии считались больные с неактивным артритом в течение минимум 6 мес на фоне проводимого лечения [30–32]. Группу сравнения составили 60 детей, у которых распределение полиморфизмов гена *p53* не отличались от ранее представленных данных в других исследованиях. Клинико-лабораторный комплекс исследования включал в себя определение степени воспалительной активности (СРБ, СОЭ, уровень форменных элементов крови), инструментальную оценку состояния костно-мышечной системы, иммунологические маркеры заболевания (антигены гистосовместимости, в частности HLA B27, антинуклеарный (АНФ) и ревматоидный (РФ) факторы), а также определение характера суставного поражения и наличие эрозивного компонента с использованием компьютерной и магнитно-резонансной томографии. Для оценки активности заболевания, эффективности проводимой терапии мы использовали критерии ACR_{pedi} [33].

Генетическое исследование проводили на базе лаборатории молекулярной диагностики с расширенной группой экогенетики НИЦ ГОУ ВПО СПбГПМА. ДНК была выделена методом фенольно-хлороформной экстракции. Исследование полиморфизмов *ins/del intron 3* и *Arg72Pro exon 4* проводилось методом полимеразной цепной реакции полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПЦР-ПДРФ анализ). Разделение ампликона проводилось в 7,5% полиакриламидном геле (рис. 3, 4). Оценка результатов, сравнения частоты полиморфизмов между детьми, страдающих артритом, и группой здоровых детей, а также внутригрупповые сравнения проводили с помощью точного критерия Фишера, где $p < 0,01$ считалось статистически достоверным.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам проведенного исследования (табл.) достоверных различий между детьми, страдающих ювенильными артритами, и группой здоровых детей не получено ($p > 0,05$). Анализ генотипов детей с различными вариантами суставного поражения показал значимость влияния гетерозиготных и мутантных гомозиготных генотипов на течение и исход артрита преимущественно у девочек. Анализируя группу девочек с персистирующим олигоартритом, мы получили, что 70% пациенток, сохра-

Рис. 3. Результаты аллель-специфической ПЦР на выявление гена *p53* интрона 3 *ins/del* 16 н.п.
1 — *del/del* (делеция),
2 — *ins/ins* (инсерция),
3 — *ins/del* (инсерция/делеция)

Рис. 4. Результаты ПЦР-ПДРФ-анализа с использованием эндонуклеазы рестрикции *BstUI*: 1 — *Arg/Arg* нормальный гомозиготный генотип (полный гидролиз), 2 — *Arg/Pro* гетерозиготный генотип (частичный гидролиз), 3 — *Pro/Pro* мутантный гомозиготный генотип (отсутствие гидролиза)

Таблица. Результаты анализа генотипов больных ювенильным идиопатическим артритом и здоровых детей

Инtron/экзон	Генотип	ЮИА (n = 95)		Здоровые дети (n = 60)		p
		абс. число	%	абс. число	%	
Ins/del 16bp 3 intron	<i>del/del</i>	70	73	45	75	> 0,05
	<i>ins/del</i>	21	23	14	23	
	<i>ins/ins</i>	4	4	1	2	
Arg72Pro 4 exon	<i>Arg/Arg</i>	44	46	29	51	> 0,05
	<i>Arg/Pro</i>	42	44	23	46	
	<i>Pro/Pro</i>	9	10	6	8	

Рис. 5. Персистирующий олигоартрит (100% девочки)

Рис. 6. Полиартикулярный вариант

Рис. 7. Системный артрит

няющих активный артрит (СОЭ 24 ± 9 , ACR_{pedi} 30–50) на фоне проводимой противоревматической терапии более 3 лет, имели гетерозиготный генотип *Arg/Pro*, 20% из них имели мутантный гомозиготный генотип *Pro/Pro* и лишь у 10% был нормальный генотип *Arg/Arg* ($p < 0,01$). При этом девочки, достигшие клинко-медикаментозной ремиссии ($ACR_{pedi} > 70$) в 80% имели нормальный гомозиготный генотип *Arg/Arg*. Зависимых различий полиморфизма *ins/del* 16 *b.p.* выявлено не было (рис. 5). Во второй группе 80% детей, имеющих олигоартрит с дебютом заболевания в старшем возрасте, достигли клинко-медикаментозной ремиссии в течение 1 года от начала противоревматической терапии (СОЭ 14 ± 7 ,

ACR_{pedi} 70–90), из них 75% имели нормальный гомозиготный генотип *Arg/Arg*.

Группу детей, страдающих полиартритом, мы разделили по половому признаку: 24 девочки и 6 мальчиков. Все девочки имели активный полиартрит более 5 лет на фоне противоревматической терапии с высокой степенью активности (СОЭ 30 ± 12 , ACR_{pedi} 30–50), 79% (19 девочек) из них имели гетерозиготный генотип *Arg/Pro*, на долю нормального гомозиготного генотипа *Arg/Arg* пришлось лишь 13% ($p < 0,01$). При этом 66% мальчиков (4 из 6) имели нормальный гомозиготный генотип *Arg/Arg*, несмотря на тяжелый прогрессирующий вариант суставного поражения, высокую параклиническую активность, наличие суставного эрозивного компонента и низкий ответ на проводимую терапию (СОЭ 34 ± 6 , ACR_{pedi} 30) (рис. 6).

В группе детей с системным артритом (рис. 7) достоверных различий по сравнению со здоровыми детьми выявлено не было, однако все девочки имели нормальный гомозиготный генотип *Arg/Arg + del/del*.

В группе детей, страдающих ювенильным артритом с энтезопатией, 75% имели гетерозиготный генотип *Arg/Pro*, все девочки (5) имели гетерозиготный генотип *Arg/Pro + ins/del*, при этом течение заболевания не носило агрессивного характера с выходом в клинко-медикаментозную ремиссию в короткий период 1–3 лет (ACR_{pedi} 70–90) (рис. 8).

В этом исследовании мы проанализировали различные варианты течения ювенильного идиопатического артрита в зависимости от полиморфизма гена *p53*. Девочки с олиго-полиартикулярным вариантом заболевания, имеющие мутантный аллель *Pro*, страдают более тяжелым вариантом суставного поражения в отличие от гомозиготных особей *Arg*. Девочки с гомози-

готным генотипом *Arg/Arg*, независимо от полиморфизма *ins/del 16 b.p.*, имеют более благоприятный вариант суставного поражения в сравнении с девочками, имеющими генотип *Arg/Pro* или *Pro/Pro*. Полученные данные указывают на значимость мутаций экзонных участков гена *p53*, на течение и варианты исхода заболевания. Аналогичных данных в пользу интронных участков получено не было. В группе детей с энтезит-ассоциированной формой ювенильного артрита значимой зависимости полиморфизма и длительности течения заболевания не выявлено, что объясняется поражением преимущественно околосуставных структур.

Наши результаты показывают, что важным патогенетическим механизмом развития суставного воспаления является дефект системы апоптоза, способствующий удлинению сроков течения заболевания, утяжелению степени суставного поражения и развитию неблагоприятных исходов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Алексеева Е. И., Литвицкий П. Ф. Ювенильный ревматоидный артрит: этиология, патогенез, клиника, алгоритмы диагностики и лечения. Руководство для врачей, преподавателей, научных сотрудников / под общ. ред. А. А. Баранова. М.: Веди. 2007. 360 с.
- Gay S., Gay R. E., Koopman W. J. Molecular and cellular mechanisms of joint destruction in rheumatoid arthritis: two cellular mechanisms explain joint destruction? *Annals of the Rheumatic Diseases*. 1993; 52: 39–44.
- Muller-Ladner U., Ospelt C., Gay S. et al. Cells of the synovium in rheumatoid arthritis. Synovial fibroblasts. *Arthritis Research Therapy*. 2007; 9: 223.
- Huber L. C., Distler O., Tarnier I. et al. Synovial fibroblasts: key players in rheumatoid arthritis. *Rheumatology*. 2006; 45: 669–675.
- Vogelstein B., Kinzler K. W. P53 function and dysfunction. *Cell*. 1992; 70: 523–526.
- Hollstein M., Sidransky D., Vogelstein B. et al. P53 mutations in human cancers. *Science*. 1991; 253 (5015): 49–53.
- Dumont P., Leu J., Della A. C. et al. The codon 72 polymorphic variants of p53 have markedly different apoptotic potential. *Nature Genetics*. 2003; 33: 357–365.
- Arends M. J., Morris R. G., Wyllie A. H. Apoptosis. The role of the endonuclease. *Am J Pathology*. 1990; 136 (3): 593–608.
- Choisy-Rossi C., Reisdorf P., Yonish-Rouach E. The p53 tumor suppressor gene: structure, function and mechanism of action. *Results and problems in cell differentiation*. 1999; 23 (1): 45–72.
- Inhibition of the p53-MDM2 interaction: targeting a protein-protein interface. Patrick Che'ne. *Molecular Cancer Research*. 2004; 2: 20–28.
- Laptenko O., Prives C. Transcriptional regulation by p53: one protein, many possibilities. *Cell Death Differentiation*. 2006; 13: 951–961.
- Sakamuro D., Sabbatini P., White E. et al. The polyproline region of p53 is required to activate apoptosis but not growth arrest. *Oncogene*. 1997; 15: 887–898.
- Kristen K., Walker A., Arnold J. Levine Identification of a novel p53 functional domain that is necessary for efficient growth suppression. *Proc. Natl. Acad. Sci*. 1996; 93: 15335–15340.
- Ara S., Lee P. S. Y., Hansen M. F. et al. Codon 72 polymorphism of the TP53 gene. *Nucleic Acids Research*. 1990; 18 (16): 4961.
- Dumont P., Leu J. et al. The codon 72 polymorphic variants of p53 have markedly different apoptotic potential. *Nature Genetics*. 2003; 33: 357–365.
- Sullivan A., Syed N., Gasco M. et al. Polymorphism in wildtype p53 modulates response to chemotherapy in vitro and in vivo. *Oncogene*. 2004; 23: 3328–3337.
- Yamanishi Y., Boyle D. L., Pinkoski M. J. et al. Regulation of joint destruction and inflammation by p53 in collagen-Induced arthritis. *American Journal of Pathology*. 2002; 160: 123–130.
- Wu X., Zhao H., Amos C. I. et al. p53 genotypes and haplotypes associated with lung cancer susceptibility and ethnicity. *J. Natl. Cancer Inst.* 2002; 94 (9): 681–690.

Рис. 8. Ювенильный артрит с энтезопатией (ACR_{pedi} 70–90, n = 20)

- Macchioni P., Nicoli D., Casali B. et al. The codon 72 polymorphic variants of p53 in Italian rheumatoid arthritis patients. *Clin Exp Rheumatol*. 2007; 25 (3): 416–421.
- Lee Y. H., Kim Y. R., Ji J. D. et al. P53 codon 72 polymorphism and rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol*. 2001; 28 (11): 2392–2394.
- Moodley D., Mody G. M., Chuturgoon A. A. et al. Functional analysis of the p53 codon 72 polymorphism in black South Africans with rheumatoid arthritis — a pilot study. *Clin Rheumatol*. 2010; 29: 1099–1105.
- Taubert H., Thamm B., Meye A. et al. The p53 status in juvenile chronic arthritis and rheumatoid arthritis. *Clin Exp Immunol*. 2000; 122: 264–269.
- Хайрутдинов В. Р., Суспицын Е. Н., Буслов К. Г. и др. Особенности распределения аллелей 72 кодона гена *p53* у больных псориазом. Материалы юбилейной научной конференции молодых ученых Северо-Западного региона. *Медицинский академический журнал*. 2004; 4 (3): 72–73.
- Чердынцева Н. В., Слонимская Е. М., Белявская В. А. и др. Исследование связи полиморфизма генов онкосупрессора *p53*, гена хемокинового рецептора *CCR5* и их сочетаний с риском развития и прогрессированием рака молочной железы. *Молекулярная медицина*. 2007; 1: 23–31.
- Петросян Э. К., Ильенко Л. И., Цыгин А. Н. и др. Влияние полиморфизма гена *p53* на течение и исходы хронического гломерулонефрита у детей и подростков. *Педиатрия*. 2006; 5: 4–7.
- Спицина Е. В., Якунина Н. Ю., Чудакова Д. А. и др. Ассоциация полиморфизма маркеров *Pro72Arg* и *C (-594)CC* гена *p53* с диабетической полинейропатией при сахарном диабете типа I в русской популяции г. Москвы. *Молекулярная биология*. 2007; 41 (6): 989–993.
- Гервас П. Ф., Литвяков Н. В., Стахеева Н. М. и др. Влияние полиморфизма генов апоптоза и репарации на эффективность неoadъювантной химиотерапии злокачественных новообразований. *Сибирский онкологический журнал*. 2009; 4: 41–47.
- Казначеев К. С., Белявская В. А., Ляхович В. В. и др. Варианты полиморфных изменений генов *p53*, *XRCC1* и *XPB* у детей с острым лимфобластным лейкозом. *Бюллетень сибирской медицины*. 2008; 2: 47–53.
- Поспелова Т. И., Воевода М. И., Воропаева Е. Н. и др. Значение конституциональных полиморфизмов гена *p53* у больных неходжкинскими злокачественными лимфомами. *Бюллетень сибирской медицины*. 2008; 3: 56–63.
- Lovell D. J., Giannini E. H., Reiff A. et al. Etanercept in children with polyarticular juvenile rheumatoid arthritis. *N Engl J Med*. 2000; 342: 763–769.
- Wallace C. A., Ruperto N., Giannini E. et al. Preliminary criteria for clinical remission for select categories of juvenile idiopathic arthritis. *J Rheumatol*. 2004; 31: 2290–2294.
- Wallace C. A. Current management of juvenile idiopathic arthritis. *Practice Research Clinical Rheumatology*. 2006; 20 (2): 279–300.
- Albornoz M. A. ACR formally adopts improvement criteria for juvenile arthritis (ACR pediatric 30). *ACR News*. 2002; 21: 3.