

UNIVERZITET U BEOGRADU
MEDICINSKI FAKULTET

Rada M. Mišković

**Značaj dokazivanja anti-Epštajn Bar virusnih
antitela u pacijenata sa sistemskim eritemskim
lupusom: udruženost sa kliničkim i
imunoserološkim ispoljavanjem bolesti**

Doktorska disertacija

Beograd, 2023

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF MEDICINE

Rada M. Mišković

**Significance of determination anti-EBV
antibodies in patients with systemic lupus
erythematosus: association with clinical and
immunoserological disease characteristics**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2023

Podaci o mentoru i komisiji

Mentori:

Prof. dr Sanvila Rašković

Redovni profesor na Medicinskom fakultetu, Univerziteta u Beogradu

Klinika za alergologiju i imunologiju, Univerzitetski klinički centar Srbije, Beograd

Prof. dr Ana Banko

Vanredni profesor na Medicinskom fakultetu, Univerziteta u Beogradu

Institut za mikrobiologiju i imunologiju, Medicinski fakultet u Beogradu

Komisija:

Prof. dr Vesna Tomić Spirić

Redovni profesor na Medicinskom fakultetu, Univerziteta u Beogradu

Klinika za alergologiju i imunologiju, Univerzitetski klinički centar Srbije, Beograd

Prof. dr Aleksandra Perić Popadić

Redovni profesor na Medicinskom fakultetu, Univerziteta u Beogradu

Klinika za alergologiju i imunologiju, Univerzitetski klinički centar Srbije, Beograd

Doc. dr Danijela Miljanović

Docent na Medicinskom fakultetu, Univerziteta u Beogradu

Institut za mikrobiologiju i imunologiju, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Doc. dr Anđa Ćirković

Docent na Medicinskom fakultetu, Univerziteta u Beogradu

Institut za medicinsku statistiku i informatiku, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Prof. dr Igor Mitić

Redovni profesor na Medicinskom fakultetu, Univerziteta u Novom Sadu

Klinika za nefrologiju i kliničku imunologiju, Klinički centar Vojvodine, Novi Sad

Ova doktorska disertacija je realizovana u okviru projekta Fonda za nauku Republike Srbije PROMIS broj 6060866, pod nazivom: „ROLERS“ čiji je rukovodilac prof. dr Ana Banko.

Zahvalnica

Zahvaljujem se mojoj porodici, na bezuslovnoj ljubavi, zbog koje su sva odricanja i napori mnogo lakši. Mojim roditeljima i sestri na stalnoj podršci i nesebičnom davanju. Suprugu Bojanu na razumevanju za moj rad, na ljubavi i podršci u životnim izazovima, a mojim ćerkama, Eleni i Mili na nepresušnoj inspiraciji.

Zahvaljujem se svojim mentorkama, prof. dr Sanvili Rašković i prof. dr Ani Banko.

Prof. dr Sanvili Rašković, koja je sa mnom delila svoje znanje i iskustvo svih ovih godina, na bezrezervnoj ličnoj i profesionalnoj podršci, idejama, uvek korisnim savetima i velikoj podršci tokom izrade ove doktorske disertacije.

Prof. dr Ani Banko, koja je imala poverenja i dala mi je priliku da učestvujem u inovativnom ROLERS projektu, na neiscrpnim idejama, konstruktivnim savetima u rešavanju naučnih dilema. Zahvaljujem se na iskrenoj ljudskoj podršci.

Neizmernu zahvalnost upućujem moji dragim ROLERS-ima na divnoj saradnji, bezrezervnoj podršci, i motivaciji tokom svim faza izrade doktorske disertacije – Anđi Ćirković, Ivici Jeremić, Danijeli Miljanović, Milki Grk, Milici Basarić, Ivani Lazarević. Uvek optimističan stav, koristan savet i motivacija za nove izazove. Zaista sam srećna što sam imala priliku da ih upoznam i sarađujem sa njima!

Veliku zahvalnost dugujem članovima komisije, prof. dr Vesni Tomić Spirić, prof. dr Aleksandri Perić Popadić, prof. dr Igoru Mitiću, doc. dr Anđi Ćirković i doc. dr Danijeli Miljanović na stručnim savetima i sugestijama u završnoj fazi izrade doktorske disertacije.

Zahvalnost dugujem i kolegama i medicinskim sestrama sa Klinike za alergologiju i imunologiju UKCS na pomoći u prikupljanju uzorka pacijenata sa lupusom.

Takođe bih se zahvalila kolegama i laboratorijskim tehničarima Odeljenja za visokospecijalizovanu dijagnostiku imunoloških i alergoloških obolenja Klinike za alergologiju imunologiju UKCS u kojoj su urađene imunološke analize.

Zahvaljujem se i laboratorijskim tehničarima Instituta za mikrobiologiju i imunologiju gde su urađene virusološke analize i Instituta za humanu genetiku Medicinskog fakulteta UB gde je urađena analiza polimorfizama gena za IL10R i IL22R.

Posebno se zahvaljujem kolegicama Kl. ass. dr Maji Stojanović i Kl. ass. dr Aleksandri Plavšić, na stručnim savetima i konstruktivnim predlozima tokom izrade publikacija, a pre svega na iskrenoj ljudskoj podršci.

Takođe se zahvaljujem koautorima radova koji su proizašli kao rezultat istraživanja u okviru ove doktorske teze koji su učestvovali u:

Kreiranju koncepta teze: prof. dr Sanvila Rašković, prof. dr Ana Banko, doc. dr Ivica Jeremić

Prikupljanju podataka: kl. ass. dr Maja Stojanović, kl. ass. dr Aleksandra Plavšić, dr Milica Basarić;

Validaciji i formalnoj analizi: doc. dr Anđa Ćirković; doc. dr Danijela Miljanović, doc. dr Milka Grk

Istraživanju: doc. dr Milka Grk, doc. dr Danijela Miljanović;

Metodologiji: doc. dr Anđa Ćirković, doc. dr Danijela Miljanović, prof. dr Ivana Lazarević, doc. dr Milka Grk;

Superviziji: prof.dr Sanvila Rašković, prof. dr Ana Banko;

Pisanju – priprema nacрта: doc. dr Ivica Jeremić;

Pisanju- recenzija i uređivanje: prof. dr Ana Banko, prof. dr Sanvila Rašković;

Ovaj rad posvećujem svojim ćerkama, Eleni i Mili.

Značaj dokazivanja anti-Epštajn Bar virusnih antitela u pacijenata sa sistemskim eritemskim lupusom: udruženost sa kliničkim i imunoserološkim ispoljavanjem bolesti

Uvod: Sistemski eritemski lupus (SEL) je multisistemsko autoimuno oboljenje heterogene kliničke prezentacije, koje prevashodno zahvata osobe ženskog pola, najčešće u reproduktivnom periodu. Nastaje u kompleksnoj interrekciji genetičke osnove i faktora sredine, među kojima infektivni agensi, posebno Epštajn-Bar virus (EBV) imaju značajnu ulogu.

Ciljevi istraživanja: Ciljevi ovog istraživanja su ispitati serološke i molekularne markere i status EBV infekcije u ispitanika sa SEL u odnosu na kontrolnu grupu, utvrditi njihovu udruženost sa stepenom aktivnosti, kliničkim i imunoserološkim manifestacijama bolesti, promenu markera i statusa EBV infekcije u ispitanika sa aktivnim SEL nakon šest meseci u odnosu na postizanje remisije/stanja niske aktivnosti SEL, identifikovati prediktore prelaska iz aktivne u latentnu EBV infekciju i analizirati genetičke faktore koji bi mogli uticati na odgovor organizma na EBV infekciju i način ispoljavanja SEL.

Materijal i metodologija: Sprovedena je prospektivna kohortna studija koja je obuhvatila 103 ispitanika sa dijagnozom SEL koji su lečeni na Klinici za alergologiju i imunologiju Univerzitetskog kliničkog centra Srbije. Ispitanici sa aktivnim SEL (klinički SLEDAI ≥ 4 i ukupni SLEDAI ≥ 6) su praćeni tokom šest meseci, nakon čega je učinjena nova procena aktivnosti bolesti i analiza markera EBV infekcije. Primarni ishod u ovoj grupi ispitanika bio je postizanje remisije ili niske aktivnosti lupusa (eng. Lupus Low Disease Activity, LLDAS) nakon šest meseci praćenja. Kontrolnu grupu činilo je 99 ispitanika starijih od 18. godina, koji nisu imali dijagnozu sistemske autoimunske ili aktivne maligne bolesti, niti pozitivnu porodičnu anamnezu za iste. Određivana su antitela na EBV antigene EBNA 1 (IgG), VCA (IgM, IgG) i EA(D) (IgM, IgG) u uzorcima seruma primenom komercijalnih ELISA testova prema uputstvima proizvođača. Aktivna EBV infekcija je definisana prisustvom virusne DNK (pozitivna EBNA1 i/ili LMP1) i/ili prisustvom anti-VCA IgM i/ili anti-EA(D) IgM antitela. Komercijalni TaqMan SNP esej je korišćen za određivanje genotipova *IL10RA* (rs10892202, rs4252270, rs3135932, rs2228055, rs2229113, rs9610), *IL10RB* (rs999788, rs2834167, rs1058867) i *IL22RA* (rs16829204, rs3795299). Aktivnost bolesti procenjena je primenom sledećih skala i skorova: SLEDAI 2K, LFA-REAL ClinRO i PGA. SLICC/ACR Damage Index je korišćen za procenu akumuliranog oštećenja. Od pacijenata je traženo da daju svoju procenu aktivnosti bolesti primenom LFA REAL PRO, a stepen zamora ocenjivan je primenom FACIT-F skale.

Rezultati: Ispitivanjem je obuhvaćeno 103 ispitanika sa SEL, većinom žena (91,3%), prosečne starosti $45,42 \pm 12,9$ godina. Limfopenija (50%), alopecija (39%), artritis (32%) i leukopenija (32%) bile su najčešće kliničke manifestacije. Aktivna forma bolesti bila je prisutna kod 51 (49,5%) ispitanika. Kontrolnu grupu činilo je 99 ispitanika, većinom žena (88%), prosečne starosti $55,43 \pm 13,62$ godine. Aktivna EBV infekcija je značajno češće bila prisutna u ispitanika sa SEL (41,7%) u odnosu na kontrolnu grupu (9,2%). Ispitanici sa SEL imali su višu prevalencu i titar anti-VCA IgM, anti-EA(D) IgG i anti-EA(D) IgM antitela u odnosu na kontrolnu grupu ($p < 0,001$, $p < 0,001$, $p = 0,008$, redom). Premda je prevalenca aktivne EBV infekcije u ispitanika sa aktivnim SEL (47,1%) bila viša u odnosu na ispitanike u remisiji/LLDAS (36,5%), ova razlika nije

bila statistički značajna ($p=0,321$). Prevalenca EBV DNK u plazmi je bila niska i nije se značajno statistički razlikovala u odnosu na ispitanike u kontrolnoj grupi ($p=0,893$). Titrovi anti-VCA IgM, anti-EA(D) IgG i anti-EA(D) IgM antitela bili su značajno viši u ispitanika sa SEL u odnosu na kontrolnu grupu ($p<0,001$, $p<0,001$, $p=0,012$, redom). Ispitanici koji su imali anti-EA(D) IgG antitela imali su čak 14 puta veću verovatnoću da imaju SEL (OR 14,144, 95%CI 1,21-164,72, $p=0,034$). Kod ispitanika sa lupus nefritisom i limfopenijom češće je bio prisutan EBNA1 gen ($p=0,047$). Viši titar anti-VCA IgG antitela bio prediktor alopecije (OR 1,018, 95%CI 1,00-1,04, $p=0,046$), a anti-EA(D) IgG antitela limfopenije u ispitanika sa SEL (OR 1,040, 95%CI 1,01-1,08, $p=0,032$). Nađena je umerena pozitivna korelacija titra anti-VCA IgM antitela sa koncentracijom RF ($p<0,001$, $\rho=0,355$). Ispitanici sa SEL su ređe bili nosioci *IL10RB* rs1058867 G alela u odnosu na kontrolnu grupu (51,5% vs 38,8%, $p=0,12$). Nosioci *IL22RA* rs3795299 G alela imali su 4,5 puta veći rizik da razviju hematološke manifestacije SEL ($p=0,018$), i 3,8 puta veću rizik za pojavu limfopenije ($p=0,042$). Nosioci *IL10RA* rs10892202 C alela i *IL10RA* rs4252270 T alela imali su skoro 11,6 puta veću šansu za pojavu autoimune hemolizne anemije ($p=0,018$). Malarni raš se 4,4 puta češće javljao kod nosioca *IL10RA* rs10892202 GG i *IL10RA* rs4252270 CC genotipa ($p=0,013$). Sjogrenov sindrom je bio češći kod nosioca *IL10RA* rs3135932 AA i *IL22A* rs3795299 CC genotipa ($p=0,036$, $p=0,029$, redom), a Hashimoto tiroiditis kod nosioca *IL10RA* rs9610 GG genotipa, *IL22RA* rs3795299 C alela i *IL22RA* rs16829204 CC genotipa ($p=0,027$, $p=0,002$, $p=0,026$, redom). Nakon šest meseci praćenja ispitanika sa aktivnim SEL kod 77% ispitanika koji su imali aktivnu EBV infekciju nastala je latentna infekciju ($p<0,001$). Na prelazak u latentnu EBV infekciju nisu uticali primenjena terapija za SEL i prisustvo pridruženih autoimunskih bolesti. Nakon šest meseci zabeležena je značajna redukcije seroprevalence i titra anti-EBNA1 IgG ($p<0,001$) i anti-VCA IgM antitela ($p=0,001$), i porasta titra anti-EA(D) IgG antitela ($p=0,043$). Nađeno je da je prisustvo anti-EA(D) IgM antitela pri uključivanju u ispitivanje nezavisan prediktor remisije/LLDAS u ispitanika sa kožnim manifestacijama SEL. Takođe, viša koncentracija C3 u serumu bila je pozitivni prediktor prelaska u iz aktivne u latentnu EBV infekciju nakon šest meseci praćenja.

Zaključci: Ovo istraživanje predstavlja prvo prospektivno ispitivanje sveobuhvatnih seroloških i molekularnih markera EBV infekcije i genetičkih faktora u ispitanika sa SEL. Analiza seroloških markera EBV infekcije može pomoći u predikciji rizika od nastanka SEL kod genetski predisponiranih osoba, dok kod osoba sa već postojećom dijagnozom SEL može pomoći u predikciji kliničkog toka bolesti i ulaska u remisiju/LLDAS. Prisustvo *IL10RB* rs1058867 G alela može imati protektivni efekat na pojavu SEL. Polimorfizmi gena za *IL10RA* i *IL22RA* dovode se u vezu sa razvojem hematoloških manifestacija, postojanjem pridruženog Sjogrenovog sindroma i Hashimoto tiroiditisa, a polimorfizmi gena za *IL10RA* sa pojavom malarnog raša. Ova saznanja mogu doprineti razvoju personalizovanog pristupa pacijentu sa SEL a sa ciljem što ranijeg prepoznavanja ove bolesti i adekvatnog lečenja.

Ključne reči: sistemski eritemski lupus (SEL), Epštajn-Bar virus (EBV), anti-EBNA 1 IgG, anti-VCA IgM/IgG, anti-EA(D) IgM/IgG, EBNA1, LMP1, *IL10RA*, *IL10RB*, *IL22RA*

Naučna oblast: Medicina

Uža naučna oblast: Zapaljenje i autoimunost

UDK broj: _____

SUMMARY

Significance of determination anti-EBV antibodies in patients with systemic lupus erythematosus: association with clinical and immunoserological disease characteristics

Introduction: Systemic lupus erythematosus (SLE) is a multisystemic autoimmune disease with a heterogeneous clinical presentation, which primarily affects women in the reproductive period. It develops in a complex interaction of genetic and environmental factors, among which infectious agents, especially the Epstein-Barr virus (EBV), play a significant role.

Aims: The aims of this research were to examine serological and molecular markers and the status of EBV infection in subjects with SLE compared to the control group, to investigate their association with the disease activity, clinical and immunoserological SLE manifestations, changes in the markers and status of EBV infection in subjects with active SLE after six months in relation to the achievement of remission/state of low lupus activity, identify predictors of transition from active to latent EBV infection and analyze genetic factors that could affect the response to EBV infection and the SLE manifestations.

Materials and methods: A prospective cohort study was conducted that included 103 subjects with SLE who were treated at the Clinic for Allergy and Immunology University Clinical Center of Serbia. Subjects with active SLE (clinical SLEDAI ≥ 4 and total SLEDAI ≥ 6) were followed for six months, after which a new assessment of disease activity and analysis of markers of EBV infection was performed. The primary outcome was the achievement of remission or low lupus activity (Lupus Low Disease Activity, LLDAS) after six months of follow-up. The control group consisted of 99 subjects ≥ 18 years, without the diagnosis of systemic autoimmune or active malignant disease, nor a positive family history. Antibodies to EBV antigens EBNA 1 (IgG), VCA (IgM, IgG), and EA(D) (IgM, IgG) were determined in serum samples using commercial ELISA tests according to the manufacturer's instructions. Active EBV infection was defined by the presence of viral DNA (positive EBNA1 and/or LMP1) and/or the presence of anti-VCA IgM and/or anti-EA(D) IgM antibodies. A commercial TaqMan SNP assay was used to determine the genotypes of *IL10RA* (rs10892202, rs4252270, rs3135932, rs2228055, rs2229113, rs9610), *IL10RB* (rs999788, rs2834167, rs1058867) and *IL22RA* (rs168292). 04, rs3795299). Disease activity was assessed using the following scales: SLEDAI 2K, LFA-REAL ClinRO and PGA. The SLICC/ACR Damage Index was used to assess accumulated damage. Patients were asked to assess SLE activity using LFA REAL PRO, and the degree of fatigue was assessed using the FACIT-F scale.

Results: The study included 103 SLE patients, mostly women (91.3%), average age 45.42 ± 12.9 years. Lymphopenia (50%), alopecia (39%), arthritis (32%) and leukopenia (32%) were the most common clinical manifestations. The active SLE was present in 51 (49.5%) subjects. The control group consisted of 99 participants, mostly women (88%), average age 55.43 ± 13.62 years. Active EBV infection was significantly more often in subjects with SLE (41.7%) compared to the controls (9.2%). Subjects with SEL had a higher prevalence and titer of anti-VCA IgM, anti-EA(D) IgG and anti-EA(D) IgM antibodies compared to the control group ($p < 0.001$, $p < 0.001$, $p = 0.008$, respectively). Although the prevalence of active EBV infection in subjects with active SLE (47.1%) was higher compared to subjects in remission/LLDAS (36.5%), this difference was not statistically significant ($p = 0.321$). The prevalence of EBV DNA in plasma

was low and did not significantly differ from the control group ($p=0.893$). Titers of anti-VCA IgM, anti-EA(D) IgG and anti-EA(D) IgM antibodies were significantly higher in subjects with SLE compared to the control group ($p<0.001$, $p<0.001$, $p=0.012$, respectively). Subjects who had anti-EA(D) IgG antibodies were even 14 times more likely to have SLE (OR 14.144, 95%CI 1.21-164.72, $p=0.034$). The EBNA1 gene was more often present in subjects with lupus nephritis and lymphopenia ($p=0.047$). A higher titer of anti-VCA IgG antibodies was a predictor of alopecia (OR 1.018, 95%CI 1.00-1.04, $p=0.046$), and anti-EA(D) IgG antibodies predicted of lymphopenia in subjects with SLE (OR 1.040, 95%CI 1.01-1.08, $p=0.032$). A moderate positive correlation of anti-VCA IgM antibody titer with RF concentration was found ($p<0.001$, $\rho=0.355$). Subjects with SLE were less often carriers of the *IL10RB* rs1058867 G allele compared to the controls (51.5% vs 38.8%, $p=0.12$). *IL22RA* rs3795299 G allele carriers had a 4.5 times higher risk of developing hematological manifestations ($p=0.018$), and a 3.8 times higher risk of developing lymphopenia ($p=0.042$). Carriers of *IL10RA* rs10892202 C allele and *IL10RA* rs4252270 T allele had an almost 11.6 times greater chance of developing autoimmune hemolytic anemia ($p=0.018$). Malar rash occurred 4.4 times more often in *IL10RA* rs10892202 GG and *IL10RA* rs4252270 CC genotype carriers ($p=0.013$). Sjogren's syndrome was more common in carriers of *IL10RA* rs3135932 AA and *IL22A* rs3795299 CC genotype ($p=0.036$, $p=0.029$, respectively), and Hashimoto thyroiditis in carriers of *IL10RA* rs9610 GG genotype, *IL22RA* rs3795299 C allele and *IL22RA* rs16829204 CC genotype ($p=0.027$, $p=0.002$, $p=0.026$, respectively). After six months follow-up of subjects with active SLE, 77% transitioned from active to latent EBV infection ($p<0.001$). The transition to latent EBV infection was not influenced by therapy and presence of associated autoimmune diseases. After six months, there was a significant reduction in the seroprevalence and titer of anti-EBNA1 IgG ($p<0.001$) and anti-VCA IgM antibodies ($p=0.001$), and an increase in the titer of anti-EA(D) IgG antibodies ($p=0.043$). The presence of anti-EA(D) IgM antibodies at enrollment was found to be an independent predictor of remission/LLDAS in subjects with cutaneous manifestations of SLE. A higher serum C3 concentration positively predicted transition to latent EBV infection after six months of follow-up.

Conclusions: This study represents the first prospective evaluation of comprehensive serological and molecular markers of EBV infection and genetic factors in subjects with SLE. The analysis of serological markers of EBV infection can help predicting the risk of SLE in genetically predisposed individuals, while in people with an existing SLE it can help predicting the course of the disease and achievement of remission/LLDAS. The presence of the *IL10RB* rs1058867 G allele may have a protective effect on the development of SLE. *IL10RA* and *IL22RA* gene polymorphisms are associated with hematological manifestations, presence of associated Sjogren's syndrome and Hashimoto thyroiditis, and *IL10RA* gene polymorphisms with the occurrence of malar rash. These findings can contribute to the development of a personalized approach to SLE patients, with the aim of early disease recognition and adequate treatment.

Keywords: systemic lupus erythematosus (SLE), Epstein-Barr Virus (EBV), anti-EBNA 1 IgG, anti-VCA IgM/IgG, anti-EA(D) IgM/IgG, EBNA1, LMP1, *IL10RA*, *IL10RB*, *IL22RA*

Scientific field: Medicine

Specialised scientific field: Inflammation and autoimmunity

UDK No: _____

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Epidemiologija SEL	1
1.2. Patogeneza SEL	1
1.2.1. Genetički faktori	1
1.2.2. Faktori okoline	2
1.2.3. Virusi kao pokretači autoimunosti u SEL	2
1.2.4. Imunološki mehanizmi patogeneze SEL i uloga interferona tipa I	3
1.3. Klinička prezentacija, dijagnoza i klasifikacija SEL	5
1.4. Biomarkeri u SEL	9
1.5. Procena aktivnosti i stepena oštećenja u SEL	9
1.6. Zamor u SEL	11
1.7. Terapijski ciljevi – definicija remisije i stanja niske aktivnosti bolesti	11
1.8. Epstein-Bar virus (EBV) i njegova uloga u SEL	12
1.8.1. Morfološke, strukturne i genetičke karakteristike EBV	13
1.8.2. Životni ciklus EBV	14
1.8.3. Mehanizmi izbegavanja imunskog odgovora domaćina	15
1.8.4. Karakteristike imunskog odgovora na EBV infekciju	15
1.8.5. Molekularna dijagnostika EBV infekcije	16
1.8.6. Serološka dijagnostika EBV infekcije	16
1.8.7. Specifičnosti imunskog odgovora na EBV infekciju u pacijenata sa SEL	17
1.8.8. Mehanizmi indukcije autoimunosti u SEL posredovane EBV	18
1.8.9. Reaktivacija EBV i pretpostavljeni model njene uloge u nastanku SEL	19
2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA	20
3. MATERIJAL I METODE.....	21
3.1 Ispitanici	21
3.2 Uzorci	22
3.3 Izolovanje virusne DNK i dokazivanje EBNA1 i LMP1 gena	22
3.4 Određivanje seroloških markera EBV infekcije	22
3.5 Određivanje statusa EBV infekcije	23
3.6 Izolacija humane DNK i analiza polimorfizama gena za <i>IL10RA</i> , <i>IL10RB</i> i <i>IL22RA</i> receptore	23
3.7 Analiza imunoseroloških markera	23
3.8 Klinički indeksi aktivnosti i oštećenja	24
3.9 Mere ishoda koje procenjuje pacijent i procena stepena zamora	24
3.10 Statistička analiza podataka	24
4. REZULTATI	26
4.1 Karakteristike ispitanika	26
4.2 Aktivnost SEL i mere ishoda koje procenjuje pacijent	29
4.3 Prevalenca EBV DNK i anti-EBV antitela, i status EBV infekcije	30
4.4 Analiza polimorfizama gena za <i>IL10RA</i> , <i>IL10RB</i> i <i>IL22RA</i> receptore	34
4.5 Udruženost markera EBV infekcije i polimorfizama gena <i>IL10RA</i> , <i>IL10RB</i> i <i>IL22RA</i> receptore sa SEL	37

4.6 Uticaj EBV infekcije na kliničke manifestacije i aktivnost SEL	38
4.7 Udruženost seroloških markera EBV infekcije i imunoseroloških markera SEL	41
4.8 Povezanost polimorfizama gena za <i>IL10RA</i> , <i>IL10RB</i> i <i>IL22RA</i> receptore sa manifestacijama SEL	41
4.9 Analiza markera EBV infekcije u pacijenata sa aktivnim SEL tokom perioda praćenja	43
5. DISKUSIJA	50
6. ZAKLJUČCI	57
7. LITERATURA	58

1. UVOD

Sistemska eritemski lupus (SEL) je sistemska autoimunska inflamatorna oboljenja, vrlo heterogene kliničke prezentacije koje sa karakteriše povremenim pogoršanjima bolesti različitog inteziteta. Nastaje u vrlo kompleksnoj interakciji genetičkih i faktora sredine, među kojima virusi imaju značajnu ulogu. Uloga Epštajn-Bar virusa (EBV) u SEL je odavno prepoznata, i predstavlja predmet intezivnog proučavanja poslednjih decenija. Dosadašnji podaci ukazuju na moguću ulogu EBV ne samo u nastanku, već i u kliničkoj prezentaciji lupusa, sugerišući i nove mogućnosti u terapiji pa i prevenciji SEL.

1.1 Epidemiologija SEL

Lupus karakteriše izrazita predilekcija za osobe ženskog pola, i to dominantno u reproduktivnom periodu između 15-44 godine života (1). Žene čak 13 puta češće obolevaju od SEL u odnosu na osobe muškog pola (2). Podaci o incidenciji i prevalenciji SLE se značajno razlikuju u zavisnosti od geografskog područja. Incidencija SEL u Evropi iznosi 0,3 do 5,1 slučajeva na 100 000 godišnje, na osnovu čega je prevalencija bolesti procenjena na 200.000 do 250.000 obolelih u Evropi (3). Međutim, postoje značajne regionalne varijacije. Nažalost, nema preciznih podataka o incidenciji i prevalenciji SEL u Srbiji.

1.2 Patogeneza SEL

U osnovi patogeneze SEL nalazi se složena interrekcija genetičke predispozicije, brojnih faktora sredine i značajan uticaj hormonskih faktora. Ključnu ulogu u patogenezi ima gubitak autotolerancije, pri čemu su uključeni mehanizmi i urođene i stečene imunosti. Rezultat ovog procesa je stvaranje mnoštva autoantitela, formiranje imunskih kompleksa koji se deponuju u različitim tkivima i organima, sa posledičnom aktivacijom komplementa i akumulacijom neutrofila i drugih zapaljenskih ćelija (1).

1.2.1 Genetički faktori

Nasledna komponenta u SEL je odavno prepoznata, te su prva saznanja o genetičkoj komponenti proizašla proučavanjem mono- i dizigotnih blizanaca kod koji je uočena stopa podudarnosti od 24% i 2%, redom (4). Čak 10-12% prvih srodnika obolelih od SLE takođe ima SEL u odnosu na manje od 1% u kontrolnoj grupi (5). Veliki broj gena je do sada povezan sa predispozicijom za nastanak SEL, i mnogi od njih su identifikovani upravo ispitivanjem celog genoma porodica sa više članova obolelih od SEL. Deficit pojedinih komponenti komplementa

C1q, C1r, C1s, C2 i C4 značajan je faktor rizika sa nastanak SEL (6). Skoro 90% osoba sa deficitom C1q razvijaju tzv. lupus-like bolest (7). Geni glavnog kompleksa tkivne podudarnosti (MHC, eng. major histocompatibility complex) koji imaju važnu ulogu u prezentaciji antigena HLA-A1, B8 i DR3 takođe su udruženi sa SEL (8). Sa pojavom GWAS studija (eng. genome-wide association studies) spektar suspektnih gena se proširio, te se sada zna za preko 80 gena udruženih sa SEL (9–12). Pored MHC molekula i komponenti komplekta, identifikovani su geni čiji produkti utiču na imunski sistem kao što su između ostalih IRF5, ITGAM, STAT4, BLK i CTLA4 (13). Među njima su posebno česti polimorfizmi gena čiji su produkti deo interferonskog puta (14–16). Polimorfizmi gena za IL-10R i IL-22R nisu do sada ekstenzivnije ispitivani u SEL. Receptor za IL-10 je član porodice IL-10 receptora zajedno sa receptorima za IL-10, IL-19, IL-20, IL-22, IL-24, IL-26, IL-2. Sastoji iz dva lanca IL-10R1 kodiranih genom *IL10RA* i dva lanca IL-10R2 kodiranih genom *IL10RB*. *IL10RA* gen se nalazi na hromozomu 11 (11q23.3), a *IL10RB* gen na hromozomu 21 (21q22.11) (17). Receptor za IL-22 (IL-22R) se sastoji se od dve heterodimerne podjedinice, IL-22R1 i IL-10R2. Gen koji kodira IL-22R1 je lociran na hromozomu 1p36.11 (18). Razumevanje regulacije IL-10 i IL-22 i njihovih receptora je neophodno u cilju boljeg razjašnjenja patogeneze SEL, ali i važan korak u osmišljavanju novih terapijskih opcija.

1.2.2 Faktori okoline

Uticao faktora okoline na pojavu SEL ispitivan je u većem broja studija. Ultravioletno zračenje, lekovi i suplementi, pušenje, aerozagađenje, nedostatak vitamina D i različiti infektivni agensi posebno virusi, kao i epigenetske modifikacije najznačajni su faktori okoline udruženi sa lupusom (19–23). Najčešći lekovi i suplementi koji se dovode u vezu sa nastankom lupusa su izoniazid, hidralazin, prokainamid, TNF- α inhibitori, ehinacea (21,24,25). Novije studije su ukazale i na važnu ulogu psihološkog stresa koji je udružen sa čak 50% povećanjem rizika od razvoja SEL (26,27).

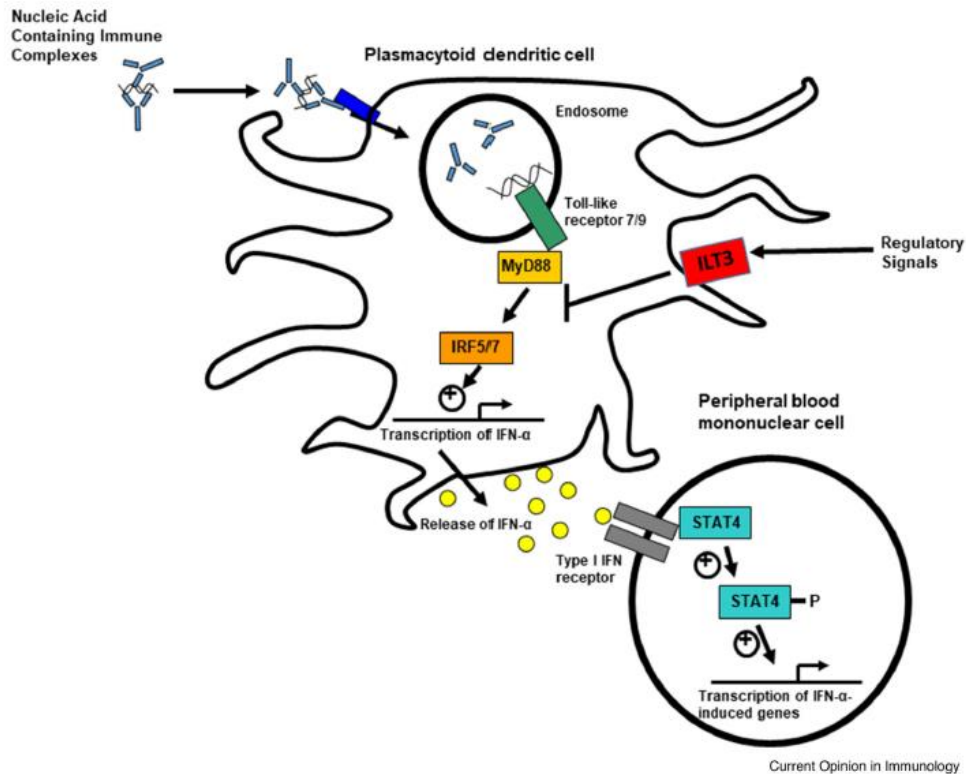
1.2.3 Virusi kao pokretači autoimunosti u SEL

Mnogi virusi su prepoznati kao potencijalni okidači pojave SEL. Takođe, pretpostavlja se da su virusi udruženi sa pogoršanjem lupusa i da mogu da utiču na kliničko ispoljavanje pa i tok bolesti (28,29). Najviše su proučavani EBV, citomegalovirus (CMV), Parvo B19, virus humane imunodeficijencije (HIV), humani endogeni virusi (HERV) i retrovirusi (28). Interakcija virusa i domaćina putem različitih mehanizama vremenom dovodi do gubitka tolerancije, produkcije autoantitela, formiranja i deponovanja imunskih kompleksa sa posledičnim zapaljenjem i oštećenjem ciljnih tkiva i organa. Mehanizmi molekulske mimikrije i širenja epitopa su dobro poznati mehanizmi indukcije autoimunosti koji se zasnivaju značajnom stepenu homologije sopstvenih i virusnih proteina (30–32). Virusi mogu uzrokovati i epigenetske promene kao što su metilacija DNK, modifikacija histona i mikroRNK, čime menjaju ekspresiju gena favorizujući razvoj autoimunosti (30,32). Pojedini virusi su razvili mehanizme izbegavanja imunskog odgovora domaćima, kao što su herpesvirusi što im omogućava da uspostave stanje perzistentne virusne infekcije a posledično i hroničnu inflamaciju sa poliklonskom proliferacijom B i T limfoicita (33). Tokom ovog procesa može doći do pojave autoreaktivnih klonova i produkcije autoantitela. Virusne nukleinske kiseline vezivanjem za TLR (eng. toll-like receptor), NLR (eng. nucleotide

binding and oligomerization domain receptor) i RIG-I (eng. retinoic acid-inducible gene-I) receptore dovode do aktivacije urođene imunosti i pojačanog odgovora gena tipa IFN I (34).

1.2.4 Imunološki mehanizmi patogeneze SEL i uloga interferona tipa I

Patogenezu SEL karakteriše disregulacija urođene i stečene imunosti i povećana produkcija interferona (IFN) tipa I (35–37). Interferoni tipa I aktiviraju ćelije urođene i stečene imunosti regulisanjem ekspresije tzv. IFN inducibilnih gena, što je označeno kao interferonski potpis (38–40). Glavni izvor interferona tipa I su dendritične ćelije koje prepoznaju nukleinske kiseline u sklopu imunskih kompleksa, a poznato je da su endogene i egzogene nukleinske kiseline koje se oslobađaju tokom apoptoze važan antigenski stimulans u SEL. Međutim, okidači za produkciju IFN tipa I kao i tačni mehanizmi njihovog delovanja u autoimunosti nisu dovoljno poznati. Pored apoptoze i neutrofilne ekstracelularne zamke – NETs (eng. neutrophils extracellular traps) važan su izvori antigena u lupusu, ali i IFN- α delovanjem na TLR9 (41–43). Tokom apoptoze dolazi do oslobađanja intracelularnog sadržaja koji sadrži endogene nukleinske kiseline dovodeći do stvaranja imunskih kompleksa. Imunski kompleksi aktiviraju potom dendritične ćelije (DC) putem TLR7 i TLR9 (eng. toll-like receptor), stimulišući ih da produkuju IFN tipa I (44). Putevi "sensinga" nukleinskih kiselina su inače strogo regulisani i imaju za cilj pre svega adekvatan antivirusni odgovor, ali kod pacijenata sa SEL postoji hronično pojačana aktivacija IFN puta (45). Takođe, defekt klirensa imunskih kompleksa i apoptotičnog materijala usled nedostatka pojedinih komponentni komplementa stvara uslove za razvoj inflamacije i produkcije autoantitela (46). Hronično povišeni nivoi IFN tipa I nisu samo posledica povećane produkcije, već i povećane senzitivnosti ali i poremećaja negativne regulacije (40). U prilog tome govore i polimorfizmi gena čiji produkti učestvuju u različitim delovima interferenskog puta. Polimorfizmi IRF (eng. interferon regulatory factor) 5 i IRF7 gena udruženi su sa povišenim nivom IFN tipa I, a polimorfizam STAT4 (eng. signal transducer and activator of transcription) koji je se nalazi nishodno od IFNAR (eng. type I IFN receptor) je udružen sa povećanom senzitivnošću na IFN tip I (14–16). (Slika 1.)



Slika 1. Shematski prikaz modulacije IFN puta u SEL (preuzeto iz Postal i saradnici (40))

Aktivirani neutrofilni putem stvaranja NETs značajno učestvuju u imunopatogenezi SEL. Pokazano je da su lupus karakteristična autoantitela deo NETs (47,48). Povećano stvaranje NETs uz neadekvatnu degradaciju dovodi do eksternalizacije autoantigena i indukcije IFN tipa I (49). Takođe, histoni povezani sa NET-om aktiviraju TLR i inflamazome koji ekspimiraju NLRP3 (eng. NLR-pyrin domain), dovodeći do oslobađanja IL-1 β i IL-18 (50). Vezujući C1q komponentu komplementa pokreću aktivaciju klasičnog puta, pri čemu aktivirane komponente komplementa inhibišu degradaciju NETs dodatno doprinoseći autoimunskom procesu (51).

Niz alteracija stečene imunosti je pokazan kod pacijenata sa SEL. Promena u TCR (eng. T cell receptor) - CD3 signalnom put koju karakteriše smanjenja ekspresija CD3 ζ lanca što dovodi do njegove zamene homologim FcR γ dovodi do povećane aktivacije kalcineurina. Kalcineurin uzrokuje aktivaciju transkripcionog faktora NFAT (eng. nuclear factor of activated T cells) i time lakšu aktivaciju CD40L gena, što olakšava aktivaciju T limfocita (52). Povećana je i aktivacija PI3K (eng. phosphoinositide-3 kinase), koji je deo PI3K- Akt-mTOR (eng. mammalian target of rapamycin) signalnog puta koji se povezuje sa povećanom produkcijom proteina. Pokazano je da primena PI3K inhibitora redukuje inflamaciju u tkivima i kliničke simptome lupusa (53,54). Disbalans između Th1 i Th2 limfocita važan je deo patogeneze lupusa (55). Najveći broj studija ukazuje na smanjenu funkciju Th1 i povećanu Th2 limfocita sa posledičnom aktivacijom autoreaktivnih B limfocita. S druge strane disbalans Th17 i T regulatornih limfocita dovodi do povećane produkcije IL-17, i povišeni nivoi ovog citokina nađeni su u bubrezima, koži, i plućima pacijenata sa lupusom (56,57). U saradnji sa BlyS (eng. B-cell stimulating factor) stimuliše diferencijaciju i preživljavanje autoreaktivnih B limfocita. Broj i funkcija T regulatornih limfocita su redukovani (58). U pacijenata sa SEL povećan je i broj T folikularnih pomoćničkih limfocita (Tfh) koji imaju ulogu u selekciju visokoafinitetnih B limfocita u germinalnom centru. Pokazano je da broj Tfh koreliše sa aktivnošću lupusa i titrom autoantitela (59).

Ekspresija faktora aktivacije B limfocita (BAFF, eng. B-cell activating factor) je povećana u pacijenata sa lupusom i stimuliše proliferaciju B limfocita i produkciju autoantitela (60). Broj i funkcija B regulatornih limfocita (Bregs) koji putem sekrecije IL-10 i TNF- β inhibišu produkciju Th1 citokina i regulišu prezentaciju antigena značajno su redukovani kod pacijenata sa lupusom, a raste nakon primene imunosupresivne terapije (51,61–63).

1.3 Klinička prezentacija, dijagnoza i klasifikacija SEL

Klinička prezentacija SEL je izrazito heterogena i praktično ne postoji organ ili organski sistem koji ne može biti zahvaćen ovom bolešću. Najčešće su zahvaćeni koža i sluzokože, mišićnoskeletni sistem, bubrezi, nervni i hematopoezni sistem.

Smatra se da i do 90% pacijenata sa SEL razvije u nekom momentu svoje bolesti kutane manifestacije. Spektr kutanih manifestacija je izrazito širok, ali su neke od njih specifične sa lupus te su deo klasifikacionih kriterijuma za SEL. To su akutni kutani lupus, subakutni kutani lupus, i nekoliko formi hroničnog kutanog lupusa (diskoidni, lupus profundus, chillblain lupus, lupus tumidus). Međutim, nespecifične kutane manifestacije poput alopecije, vaskulitisa, livedo reticularis-a su takođe česte (64,65). Tipičan patohistološki nalaz bioptiranih kožnih promena pokazuje "interface" dermatitis sa perivaskularnim i periadneksalnim zapaljenjem, dok imunohistohemijski nalaz često pokazuje depozite imunoglobulina i komplemena na dermo-epidermalnoj spojnici (35,64). Kutane manifestacije su tipično lokalizovane u fotoeksponiranim delovima kože, pojavljuju se nekoliko dana nakon izlaganja UV zračenju i često predstavljaju važnu indiciju za postavljanje dijagnoze SEL. Oralne manifestacije su najčešće u vidu mukozalnih ulceracija i imaju učestalost oko 40%, ali se mogu manifestovati i kao suvoća usne duplje, promene na pljuvačnim žlezdama, desnima (66).

Mišićno-skeletne manifestacije su takođe česte i obično tipa artritisa i tenosinovitisa. Artritis je najčešće neerozivan, simetrične distribucije, tipično zahvata zglobove šaka (metakarpofalnagalne, proksimalne interfalangealne), ručja i kolena (67,68). Inflamacija periartikularnih struktura često je vidljiva kliničkim pregledom, ali se još češće otkriva primenom ehosonografije (69). Važno je razlikovati ove manifestacije od široko rasprostranjenog bola i zamora koji su posledica fibromijalgije, koja je čest komorbiditet u pacijenata sa SEL (70).

Hematološke manifestacije SEL su česte i brojne, i mogu predstavljati inicijalnu kliničku prezentaciju bolesti. Tipično se javljaju leukopenija, limfopenija, trombocitopenija, autoimuna hemolizna anemija, a moguća je pojava trombotične trombocitopenijske purpura i mijelofibroze (71). Leukopenijom se smatra $< 4000/\text{mm}^3$ i javlja se u 50-60% pacijenata. Limfopenija je česta u aktivnoj fazi lupusa, međutim retko zahteva primenu profilakse oportunističkih infekcija. Neutropenija je ređa, i samu 17% slučajeva je broj neutrofila ispod $1000/\text{mm}^3$, ali ukoliko je izraženija praćena je povišenim morbiditetom i mortalitetom, te zahteva detaljan pristup. Mnogi pacijenti dugo godina bivaju lečeni pod dijagnozom idiopatske trombocitopenijske purpura, a tokom vremena razviju i druge manifestacije SEL. Trombocitopenija je često udružena sa prisustvom antifosfolipidnih antitela, antifosfolipidnim sindromom i lezijom bubrega. Nekada je međutim teško utvrditi da li su ove citopenije deo kliničke slike SEL ili pak posledica primenjene imunosupresivne terapije. Iako trombotična trombocitopenijska purpura i mijelofibroza

predstavljaju retke manifestacije SEL, često su ozbiljne i zahtevaju intenzivnu terapiju. Splenomegalija i limfadenopatija se javljaju u oko 40% slučajeva i retko su klinički značajne (71).

Oštećenje bubrega se javlja kod oko 50% pacijenata sa SEL (72). Predstavlja najznačajniji uzrok morbiditeta i mortaliteta pacijenata sa lupusom i može voditi bubrežnoj insuficijenciji (73). Tipično se manifestuje pojavom proteinurije i patološkog sedimenta urina. Međutim, pokazano je da skoro 25% pacijenata sa lupusom ima znakove lupus nefritis na biopsiji bubrega, bez kliničkih znakova lezije bubrega (74). Imunoserološki lupus nefritis često prati prisustvo anti-dsDNA, anti-C1q i potrošnja komponentni komplekta. Biopsija bubrega je ključna u postavljanju dijagnoze lupus nefritisa, proceni aktivnosti i stepena oštećenja, kao i izboru terapijskog pristupa. Prema Renal Pathology Society/International Society of Nephrology klasifikaciji postoji šest patohistoloških tipova lupus nefritisa: minimalni mezangijalni lupus nefritis (klasa I), mezangijalni proliferativni lupus nefritis (klasa II), fokalni lupus nefritis (klasa III), difuzni lupus nefritis (klasa IV), membranozni lupus nefritis (klasa V) i uznapredovali sklerozirajući lupus nefritis (klasa VI) (75,76). Međutim, pored lezije bubrežnih glomerula mogući su i drugi vidovi oštećenja bubrega kao što su tubulointersticijski nefritis, podocitopatije, trombotična mikroangiopatija (77,78).

Premda je širok spektar neuropsihijatrijskih manifestacija udružen sa SEL (NPSEL), samo nekoliko se smatra tipičnim. To su epi napadi, psihoza, mononeuritis multiplex, mijelitis, neuropatije, akutno konfuzno stanje (79,80). U dijagnozi NPSEL se dominantno koristi NMR centralnog nervnog sistema i analiza cerebrospinalnog likovora. Nalaz oligoklonalnih traka i povišen IgG u likvoru ukazuju na aktivan NPSEL (81). Veliki broj pacijenata sa SEL ima kognitivne poremećaje, te se savetuje psihometrijska i psihijatrijska evaluacija pacijenata (82).

Pulmološke i kardiovaskularne manifestacije SEL značajan su uzrok morbiditeta i mortaliteta pacijenata sa SEL. Perikarditis i perikardni izliv su najčešće kardiološke manifestacije sa učestalošću od oko 25%. Perikardni izlivi su obično blagi i asimptomatski. Zahvatanje miokarda je retko i obično se javlja sa aktivnošću lupusa u drugim sistemima. Spektar plućnih manifestacija je značajno širi, obično u vidu pleuritisa i obostranih pleuralnih izliva u 40-50 % slučajeva. Javljaju se i intersticijska bolest pluća (3-13%), akutni lupusni pneumonitis (1-4%), difuzna alveolarna hemoragija i "shrinking lung" sindrom (83).

Gastrointestinalne i hepatološke manifestacije se javljaju kod 25-40% pacijenta. Pojava peritonitisa, mesenterijalnog vaskulitisa i infarkta creva su teške premda retke manifestacije lupusa. Pankreatitis može biti posledica vaskulitisa ili tromboze, i javlja se u 2-8% slučajeva. Međutim, opisan je i porast pankreasinih enzima bez evidentnog pankreatitisa. Premda je jetra često zahvaćena u lupusu, retko je klinički značajna. Najčešće se registruje hepatomegalija (12-25%). Lupus udruženi hepatitis je redak, obično je blagog stepena, i nekada je teško razlikovati ga od autoimunskog hepatitisa. Moguća je pojava ascitesa i enteropatije sa gubitkom proteina (eng. protein-losing enteropathy) koje su relativno retke manifestacije lupusa (83).

Oftalmološke manifestacije lupusa su raznovrsne i mogu se manifestovati pojavom zapaljenja retinalne arterije, infarkta retine, retinalnog vaskulitisa, uveitisa, skleritisa, optičkog neuritisa. Zahvatanje konjunktive i kornee je obično znak postojanja pridruženog Sjögrenovog sindroma (83).

Imunoserološki parametri SEL koriste se ne samo u dijagnozi već i u prognozi i proceni aktivnosti bolesti (83). Pored ANA (antinuklearna antitela) koja se javljaju u mnogim drugim autoimunskim bolestima, lupus karakterišu brojna specifična antitela. Autoantitela na dsDNK i histone su karakteristična za SEL i za lekom indukovani lupus. Smatra se da skoro 70% pacijenata sa lupusom ima anti-dsDNK antitela u nekom periodu svoje bolesti. Obzirom da su visoko specifična za SEL, vrlo su korisna u postavljanju dijagnoze bolesti. Anti-Sm (Smith) antitela su prisutna u 10-30% pacijenata i takođe imaju visoku specifičnost sa SEL. Visoka specifičnost ali značajno manju senzitivnost imaju anti-ribosomalna antitela. Pojedina autoantitela su udružena sa pojavom kliničkih manifestacija lupusa (84). Prisustvo i titar anti-dsDNK korelišu sa lupus nefritisom, težinom lupusa i stepenom oštećenja. Anti-SSA i anti-SSB antitela su udružena sa mukokutanim manifestacijama, pojavom neonatalnog lupusa i urođenog srčanog bloka kod dece seropozitivnih majki (85). Antifosfolipidna antitela, koja su imunološki marker antifosfolipidnog sindroma često su udružena sa lupus nefritisom, zahvatanjem centralnog nervnog sistema, ali i sa stepenom akumuliranog oštećenja tokom vremena i mortalitetom (86).

Obzirom na ovako heterogenu kliničku prezentaciju, postavljanje dijagnoze SEL može nekada biti vrlo dugotrajan proces koji zahteva iskustvo. Ne postoje definisani kriterijumi za postavljanje dijagnoze lupusa, već se ona zasniva na kombinaciji kliničkih, laboratorijskih i drugih dijagnostičkih pokazatelja, uz istovremeno isključivanje velikog broja stanja i bolesti koje mogu imitirati kliničku sliku SEL. Takođe, mnoge manifestacije lupusa se razvijaju sukcesivno kroz vreme, što delimično objašnjava značajno kašnjenje u dijagnozi SEL. Tokom vremena, a pre svega sa ciljem boljeg definisanja što homogenije grupe ispitanika za uključivanje u kliničke studije ispitivanja efikasnosti novih lekova formirano je nekoliko setova klasifikacionih kriterijuma. Poslednji set klasifikacionih kriterijuma iz 2019. godine (2019 EULAR/ACR klasifikacioni kriterijumi) pokazao je specifičnost od 93% i senzitivnost od 97% i zahteva prisustvo ANA kao ulazni kriterijum (Tabela 1.) (87).

Tabela 1. Klasifikacioni kriterijumi 2019 ACR/EULAR za SEL (preuzeto i adaptirano iz Aringer i saradnici, 2019) (87)

Ulazni kriterijum: + ANA\geq 1:80 na supstratu Hep2 ćelija ili ekvivalentnom testu			
Dodatni kriterijumi:			
Kriterijum se ne računa ukoliko ne postoji drugo verovatnije objašnjenje sem SEL			
Dovoljno je da kriterijum bude prisutan u jednom navratu			
Neophodan je bar jedan klinički kriterijum			
Kriterijumi ne noraju biti istovremeno prisutni			
U okviru svakog domena boduje se samo kriterijum sa najvećom težinom			
Klinički domeni i kriterijumi	Težina (Bodovi)	Imunološki domeni i kriterijumi	Težina (Bodovi)
Konstucionalni		Anti-fosfolipidna antitela	
Povišena telesna temperatura	2	anti-kardiolipinska ili anti- β 2GP1 ili lupus antikoagulans	2
Kutani		Proteini komplekta	
neožiljna alopecija	2	Snižen C3 ili C4	3
oralne ulceracije	2	Snižen i C3 i C4	4
subakutni kutani ili diskoidni lupus	4		
Akutni kutani lupus	6		
Artritis		Visoko specifična antitela	
Ili sinovitis karakterisan otokom ili izlivom \geq 2 zglobova ili osetljivost \geq 2 zglobova plus \geq 30 min jutarnja ukočenost		anti-dsDNK	6
		anti-Smith	6
Neurološki			
Delirijum	2		
Psihoza	3		
Epi napadi	5		
Serozitis			
Pleuralni ilin perikardni izliv	5		
Akutni perikarditis	6		
Hematološki			
Leukopenija	3		
Trombocitopenija	4		
Autoimuna hemoliza	4		
Bubrežni			
Proteinurija $>$ 5g/24h	4		
Lupus nefritis klasa II ili V	8		
Lupus nefritis klasa III ili IV	10		
Klasifikovati kao SEL ukoliko je ukupni skor najmanje 10 i ispunjen je ulazni kriterijum.			

Kriterijumi obuhvataju sedam kliničkih i tri imunološka domena sa deskriptorima različite težine i bodovanja. Mogu se primeni samo ukoliko ne postoji drugo verovatnije objašnjenje sem lupusa. U odnosu na prethodne kriterijume, bolje reprezentuju rutinsku kliničku praksu, te mogu biti značajna pomoć u postavljanju dijagnoze lupusa, a ne samo u klasifikaciji bolesti.

1.4 Biomarkeri u SEL

Mogućnost predikcije razvoja lupusa, zahvatanja organa, postizanja remisije ili odgovora na terapiju primenom odgovarajućih biomarkera predstavlja polje intenzivnog istraživanja. Premda se titar anti-dsDNA antitela, nivo komponenti komplekta, i markera zapaljenja često koriste u rutinskoj praksi, nema puno dokaza koji potvrđuju njihovu primenu. Praktično sve preporuke EULAR-a poslednjih decenija naglašavaju neophodnost identifikovanja novih biomarkera SEL (88). IFN tipa I dobro korelišu sa aktivnošću bolesti, ali ih je teško meriti u serumu jer se vezuju za svoje široko rasprostranjene receptore (IFNAR). Zbog toga većina eseja meri ćelijski odgovor na IFN tipa I u vidu ekspresije seta gena poznat kao interferonski potpis. Interferonski potpis (ISG, eng. interferon stimulated genes) nije jedinstven, već postoje klasteri IFN stimuliranih gena koji imaju različit klinički značaj. Ovakava stratifikacija pacijenata omogućila je uvođenje nove terapija za SEL, predikciju pogoršanja i primene kortikosteroida (89). Pokazano je primenom IFN eseja specifičnog za B limfocite da je tetarin na površini memorijskih B limfocita udružen sa postojanjem SEL, aktivnošću bolesti i da je bolji prediktor pogoršanja nego tetarin ekspresiran na drugim ćelijskim populacijama ili u esejima koji koriste celu krv (89). Takođe, skorija studija je pokazala i mogućnost primene interferonskog skora u predikciji razvoja SEL (90).

Praćenje odgovora i predikcija novog relapsa u pacijenata na terapiji rituksimabom uslovlila je primenu novih metoda visoko senzitivne protočne citometrije koje omogućavaju merenje broja plasmablasta i specifičnih podtipova B limfocita. Poznato je da plasmablasti imaju nisku ekspresiju CD20 (zbog čega rituksimab ne deluje na njih) i kratak poluzivot u cirkulaciji, te se njihovo prisustvo u odsustvu drugih podtipova B limfocita nakon primene rituksimaba smatra znakom postojanja aktivnosti B limfocita u drugim tkivima. Takođe, repopulacija plasmablasta se pokazala kao dobar prediktor relapsa SEL nakon terapije rituksimabom (91). Kao potencijalni biomarkeri ispituju se primena komplekta vezanog za ćelije, merenje genske ekspresije plasmablasta i neutrofila (tzv. neutrofilni i plazma ćelijski potpis) i veći broj serumskih i urinarnih proteina (92). Do sada nije značajnije ispitivana moguća uloga markera EBV infekcije kao biomarkera u SEL.

1.5 Procena aktivnosti i stepena oštećenja u SEL

Postoji veliki broj različitih validiranih instrumenata, skala, indeksa, koji se mogu koristiti u proceni aktivnosti SEL, praćenju pacijenata i odgovora na terapiju. Najčešće se primenjuju SLEDAI (Systemic Lupus Erythematosus Activity Index), BILAG (British Isles Lupus Assessment Group Index), ECLAM (European Consensus Lupus Activity Measure), SLAM (Systemic Lupus Activity Measure). SLEDAI2K skor se odnosi na period od prethodnih 30 dana, i uključuje 24 deskriptora u devet organskih sistema. Svakom od 24 deskriptora dodeljen je odgovarajući broj bodova koji predstavlja ocenu njegove težine, sa ukupnim skorom koje je u opsegu 0-105 (Prilog 1.) (93,94). Aktivnost lupusa procenjena SLEDAI2K skorom pokazala se kao snažan prediktor šestomesečnog mortaliteta, a takođe je jedna od važnih determinanti akumuliranog oštećenja usled bolesti (95). Skor je jednostavan za primenu u svakodnevnoj praksi, te je jedan od najčešće korišćenih instrumenata za procenu aktivnosti lupusa. Glavni nedostatak ovog instrumenta je nemogućnost registrovanja poboljšanja ili pogoršanja, već se skoruje samo prisustvo ili odsustvo određenog deskriptora, a samim tim i manja senzitivnost na promenu tokom vremena u odnosu

na ostale instrumente. Ovaj nedostatak je delimično prevaziđen u SELENA-SLEDAI modifikaciji skora koja uključuje i indeks pogoršanja (eng. SELENA-SLEDAI flare index). Drugi često primenjivani indeks – BILAG zasniva se na tzv. nameri lekara da leči (eng. intention to treat) (96). Sadrži ukupno 86 deskriptora (klinički znaci, simptomi i laboratorijski parametri) u osam sistema. Da bi se skorovao, deskriptor mora da bude pripisan lupusu i da bude prisutan u prethodne četiri nedelje. U svakom od osam sistema pravi se kategorizacija u četiri nivoa (A, B, C, D) različite težine. Dobro koreliše sa drugi validiranim indeksima aktivnosti lupusa i senzitivna je na promenu. Međutim, iako sveobuhvatan, pokazao se kao komplikovan za svakodnevnu primenu, zahteva obuku i dosta vremena da bi se adekvatno primenio (93). Premda u svojoj suštini nije indeks aktivnosti bolesti Globalna ocena lekara (eng. Physician's Global Assessment (PGA)) predstavlja jedan od najčešće primenjivanih instrumenata i jedni koji je deo EULAR -ovih preporuka za terapiju SEL (97). PGA predstavlja vizuelno analognu skalu sa vrednostima 0-3 kojom se ocenjuje aktivnost bolesti u prethodnih mesec dana, uzimajući u obzir težinu aktivnih manifestacija lupusa i rezultate laboratorijskih analiza. Ova skala ne uključuje oštećenje organa, niti rezultate imunoseroloških analiza (98). Opseg vrednosti na skale se kreće od 0 (bez aktivnosti bolesti) do 3 (najteži oblik aktivnosti bolesti), pri čemu se 1 i 2 koriste kao unutrašnji markeri za kategorizaciju aktivnosti bolesti. Vrednosti PGA skale $\geq 0,5$ i ≤ 1 označavaju blagu aktivnost, > 1 i ≤ 2 označavaju umerenu aktivnost, dok vrednosti > 2 i ≤ 3 označavaju tešku aktivnost lupusa. Preporuka je da skalu primenjuju lekari koji imaju iskustva u njenoj primeni, i da isti lekar vrši ocenjivanje prilikom svake posete pacijenta (Prilog 3.)

U pokušaju da se prevaziđu navedeni nedostaci, u skorije vreme su razvijena dva indeksa aktivnosti SEL koji omogućavaju procenu aktivnosti lupusa sa stanovišta i lekara i pacijenta. Radi se od LFA-REAL ClinRO (Lupus Foundation of America Clinician Reported Outcome) and LFA-REAL PRO (Patient Reported Outcome) (99–101). LFA-REAL ClinRO (Prilog 2.) obuhvata 9 domena: mukokutani (sa poddomenima: raš, alopecija, mukozalne ulceracije), muskuloskeletni (sa poddomenima artralgijske/artritis, mijalgije/miozitis), kardiorespiratorni, neuropsihijatrijski, bubrežni, hematološki, konstitucionalni, domen vaskulitisa i domen drugo (koristi se ukoliko postoje dve ili više manifestacija u prethodnim domenima, ili ukoliko postoji manifestacija od strane organa koji nije označen). Za svaki od navedeni domena koristi se VAS (Vizuelno Analogna Skala) sa opsegom 0-100mm, sa oznakama koje razdvajaju blagi, umereni i teški oblik bolesti. Moguća su dva zbirna skora. Prvi uključuje samo individualne manifestacije (bez globalne ocene mukokutanog i muskuloskletnog domena), i ima opseg 0-1400. Drugi obuhvata samo globalne domene (bez individualnih manifestacija), i ima opseg 0-1100 (99).

LFA-REAL PRO (Prilog 5.) obuhvata sedam domena: raš, artritis (sa poddomenima: bol u zglobovima, oticanje zglobova, ukočenost zglobova), bolovi u mišićima, zamor, povišena telesna temperatura, opadanje kose i telesni simptomi (koji obuhvataju bol u grudima, nedostatak vazduha i oticanje nogu). Za svaki od domena se koristi VAS skala (0-100mm). Pacijent najpre ocenjuje svaki od poddomena artritisa posebno, nakon čega daje zbirnu ocenu, čime se pacijent podstiče da artritis ocenjuje na sličan način kao i lekar. Moguća su dva zbirna skora. Prvi obuhvata sve individualne domene sem globalne ocene artritisa, sa mogućim skorom 0-1200, dok drugi obuhvata globalnu ocenu artritisa ali ne i njegove poddomene, dajući skor sa opsegom 0-1000 (99).

Pored procene aktivnosti lupusa važan deo sagledavanja pacijenata sa SEL jeste procena akumuliranog oštećenja usled aktivnosti lupusa, ali i primenjene terapije i nastalih komorbiditeta. SLICC/ACR Damage Index (Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology) sadrži deskriptore trajnih oštećenja, koji moraju da budu prisutni bar šest

meseci da bi se mogli skorovati. Izuzetak od ovog pravila su infarkt miokrada i cerebrovaskularni insult (Prilog 4.) (102). Ovim indeksom su definisana oštećenja u 12 organskih sistema, sa maksmilanim skorom koji iznosi 47. Indeks se pokazao kao dobar prediktor mortaliteta (103).

1.6 Zamor u SEL

Zamor različitog stepena je prisutan kod 67-90% pacijenata sa SEL (104). Često je vodeći simptom sa velikim uticajem na svakodnevno funkcionisanje, radnu sposobnost i kvalitet života. Iako je prisutan tokom aktivne faze bolesti, nije pokazana jasna korelacija sa aktivnošću lupusa (105–107). Takođe, nedovoljno su poznati faktori udruženi sa zamorom. U nekoliko studija uočena je udruženost sa prisustvom depresije, anksioznosti, poremećaja spavanja, i fibromijalgije (70,108). U skoro objavljenj FATILUP studiji preko 67% pacijenata je imalo zamor, a čak 37% je imalo teški zamor koji je značajno uticao na radnu sposobnost. Zamor je bio udružen sa prisustvom depresije, anksioznosti, aktivnošću lupusa, bolom, starošću i primenom kortikosteroida (109). Međutim, malo su poznati uzroci pojave zamora u pacijenata sa SEL. U pacijenata sa sindromom hroničnog zamora/mijalgičnog encefalitisa prepoznata je moguća uloga hronične infekcije EBV (110). Kod jednog dela pacijenata sa sindromom hroničnog zamora/mijalgičnog encefalitisa nađen je povišen nivo EBV2 (eng. EBV induced gene 2) iRNK u monocitima periferne krvi, koji je bio udružen sa težim fenotipom bolesti (111). Međutim, do sada nije ispitivano da li ovakva veza sa zamorom postoji i kod pacijenata sa SEL.

Preporuka je da procena postojanja i stepena zamora u pacijenata sa SEL bude deo redovne evaluacije pacijenata sa lupusom. Za sada međutim ne postoje instrumenti koji bi specifično merili zamor u SEL, te se primenju opšti instrumenti kao što su SF-36, Krupova skala zamora i FACIT-F skala. Obzirom na kompleksnost i multifaktorijalnu etiologiju, neophodne su nove strategije pristupa dijagnozi i lečenju zamora u SEL. Sadašnje terapijske preporuke savetuju primenu psihološkog savetovanja, promenu stila života, redukciju bola, uz prepoznavanje i lečenje pridruženih stanja (112).

1.7 Terapijski ciljevi - definicija remisije i stanja niske aktivnost bolesti

Terapijski pristup SEL značajno je uslovljen kompleksnošću i heterogenošću kliničke slike i zasniva se na adekvatnoj proceni aktivnosti bolesti i stepena akumuliranog oštećenja primenom validiranih instrumenata. Postizanje remisije bolesti, povoljnih dugoročnih ishoda, prevencija oštećenja, redukcija neželjenih efekata terapije i poboljšanje kvaliteta života pacijenta osnovni su terapijski ciljevi u SEL (97). Veliki broj različitih definicija remisije je korišćen u dosadašnjim opservacionim i kliničkim studijama ispitivanja efiksanosti novi lekova. Grupa eksperata je međunarodnim konsenzusom ustanovila incijativu označenu kao T2T/SLE (eng. treat-to-target for SLE) koja se zasniva na tri principa: identifikovanje odgovarajućeg terapijskog cilja, primena terapije radi postizanja definisanog cilja i procena da li je cilj postignut i ukoliko je potrebno prilagođavanje terapije (88). U isto vreme oformljena je i incijativa za definisanje remisije u SEL – DORIS (eng. definition of remission in SLE), koja je remisiju SEL definisala na osnovu ispunjenosti svih od sledećih kriterijuma: klinički SLEDAI skor 0, Globalna ocena lekara (PGA) <0,5, dozvoljena je primena antimalarika, <5mg prednisolona dnevno i i/ili stabilna doza imunosupresivnog leka

(uključujući biološke lekove) (113). Premda je postizanje remisije poželjan ishod, nije ga moguće postići kod svih pacijenata. To je uslovalo definisanje alternativnog terapijskog cilja kod pacijenata kod koji nije moguće postići remisiju, a koji je označen kao stanje niske aktivnosti bolesti (LLDAS, eng lupus low disease activity), a koji je takođe udružena sa smanjenjem morbiditeta i mortaliteta (114,115).

Pokazano je da svako pogoršanje SEL doprinosi povećanju akumuliranog oštećenja i nepovoljnom ishodu. Zbog toga je prevencija pogoršanja SEL takođe važan terapijski cilj. Ne postoji precizna defincija pogoršanja SEL, ali se u praksi pod pogoršanjem lupusa najčešće podrazumeva povećanje aktivnosti bolesti koje je merljivo i koje je najčešće praćeno inteziviranjem terapije (88). Mlađe životno doba, odsustvo antimalarika u terapiji i serološka aktivnost bolesti su poznati faktori udruženi sa češćim pogoršanjima lupusa (116,117). Zbog toga je u ovim grupama pacijenata važno redovno praćenje pacijenata i često proveravanje pridražavanja terapije.

1.8 Epštajn-Bar virus (EBV) i njegova uloga u SEL

Epštajn-Bar virus (EBV) ili Humani Herpes virus 4 (HHV4) je ubikvitarni virus sa svetskom prevalencom preko 90%. To je prvi poznati onkogeni virus, opisan po prvi put 1964. godine u časopisu Lancet kao rezultat istraživanja troje naučnika – Entoni Epštajna, Ivon Bar i Bert Ahonga. Pre njih, britanski hirurg Denis Burkit je tokom boravka u Ugandi ispitivao etiologiju do tada nepoznatih tumora vilice kod dece, otkrivši da se radi o B ćelijskim limfomima i postavljajući hipotezu da su tumori infektivne etiologije. Entoni Epštajn uspeva da kultiviše ćelije Burkitovog limfoma i da potom u njima identifikuje prisustvo virusa elektronskom mikroskopijom (118). Daljim istraživanja potvrđen je onkogeni potencijal virusa u nastanku drugih tipova limfoma i nazofaringelanog karcinoma (119).

Uloga EBV u nastanku autoimunosti je odavno prepoznata i zasniva se dominantno na studijama koje su pokazale izmenjen imunski odgovor na EBV u nekoliko autoimunskih bolesti. Skorije studije su pružile ubedljive epidemiološke i mehanističke dokaze o uzročnoj vezi virusa i multiple skleroze, a sve je veći broj dokaza koji ukazuju na značajnu ulogu virusa u nastanku, progresiji i pogoršanju SEL (28,120–123).

Virus se dominantno prenosi putem pljuvačke. Primarna infekcija se najčešće dešava u ranom detinjstvu, i tada je obično asimptomatska. U periodu adolescencije primarna infekcija EBV se najčešće manifestuje kliničkom slikom infektivne mononukleoze (IM). Interesantno je da postoji dosta preklapanja u kliničkim manifestacijama IM i SEL (124). Tabela 2. prikazuje uporedno glavne manifestacije SEL i IM.

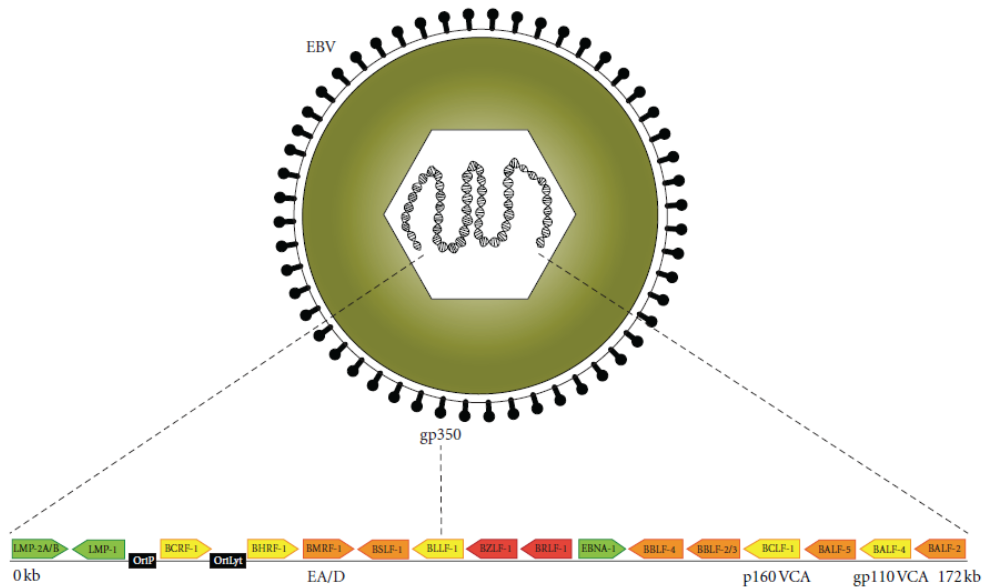
Tabela 2. Uporedni prikaz manifestacija SEL i IM (adaptirano iz Draborg et al. 2012 (122)).

Sistemski eritemski lupus	Infektivna mononukleoza
Malarni raš	Raš na koži
Diskoidni raš	Egzantem na nepcu
Fotosenzitivnost	
Oralne/nazofaringealne ulceracije	Faringitis
Artritis	Artralgije
Serozitis	
Renalne manifestacije	Renalni poremećaji
Hematološki poremećaji	Hematološki poremećaji
Anemija	Anemija
Leukopenija	Neutropenija
Limfopenija	Trombocitopenija
Trombocitopenija	Limfadenopatija
Imunološki poremećaji	Imunološki fenomeni
ANA	ANA
anti-dsDNA	anti-DNA
anti-histon	anti-histon
anti-RNP	anti-RNP
RF	RF
Neurološki poremećaji (epi napadi/psihoza)	Neurološki poremećaji (encefalitis/meningitis)
Umor	Glavobolja
Bolovi i mišićima	Bolovi u mišićima
Povišena telesna temperatura	Povišena telesna temperatura
Smanjen apetit	Slabost/malaksalost
	Hepatosplenomegalija

1.8.1 Morfološke, strukturne i genetičke karakteristike EBV

EBV je sferičnog oblika, veličine 150-200 nm. Sastoji se iz virusne DNK, nukleokapsida koji čine 162 kapsomere, proteinskog tegumenta između nukleokapsida i omotača, i omotača sa glikoproteinskim izdancima. Genom EBV čini linearna dvolančana ~172-kb DNK koja kodira preko 85 gena (125). U zavisnosti od faze životnog ciklusa virusa eksprimiraju se različiti EBV geni. Tokom latentne faze, većina gena se ne eksprimira kako bi se izbeglo prepoznavanje od strane T limfocita. Eksprimira se samo devet gena koji kodiraju proteine neophodne za preživljavanje virusa i dve male nekodirajuće RNK (EBER-1 i -2). To su tri gena latentnih membranskih proteina (LMP-1, LMP-2A, LMP-2B) i šest gena nuklearnih proteina (EBNA-1, - 2, - 3A, -3B, -3C i LP). Tokom litičke infekcije eksprimiraju se tri grupe gena, označeni kao najranji, rani i kasni geni. Produkti najranijih gena su većinom transkripcioni faktori i replikativni enzimi neophodni za indukciju litičke faze, kao i proteini potrebni u tzv. izbegavanju imunskog odgovora domaćina. Produkti ranih gena čine rani antigenski kompleks EA (eng. early antigen). Kasni geni kodiraju strukturne proteine virusnog kapsida koji čine tzv. VCA kompleks (eng. viral capsid

antigen) i glikoproteine tzv. MA kompleksa (eng. membrane antigen). Antitela na EA i VCA predstavljaju važne serološke markere EBV infekcije (122,125). Slika 2. prikazuje strukturu EBV i deo mape virusnog genoma.



Slika 2. Struktura EBV i deo mape virusnog genoma (preuzeto iz Draborg et al. 2012 (122))

1.8.2 Životni ciklus EBV

Nakon infekcije domaćina putem pljuvačke, EBV se incijalno umnožava u epitelnim ćelijama nazofarinksa i orofarinksa, a potom inficira i B limfocite vezivanjem virusnog glikoproteina omotača gp350 za CD21 (B cell type 2 complement receptor) na površini B limfocita. Time započinje litičku fazu životnog ciklusa tokom koje je eksprimirana većina virusnih gena (90-100) koja rezultuje umnožavanjem virusnog genoma i izbacivanjem velikog broja virusnih partikula u pljuvačku. Ovim putem se inficiraju nove epitelne ćelije i B limfociti ali i omogućava širenje EBV na nove domaćine putem pljuvačke (126). Nakon što imunski odgovor domaćina uspostavi kontrolu infekcije, virus ulazi u fazu latencije, tokom koje doživotno perzistira u mirujućim memorijskim B limfocitima. Virusna DNK se u ćelijama domaćina nalazi u cirkularnom obliku, u formi epizoma, ponašajući se kao hromozomska DNK domaćina, te je ekspresija virusnih gena značajno redukovana. Ovo takođe predstavlja jedan od mehanizama izbegavanja imunskog odgovora domaćina. Tokom povremenih reaktivacija, virus prelazi u litičku fazu, umnožava se, i inficira nove B limfocite i epitelne ćelije. Signali koji pokreću reaktivaciju nisu dovoljno poznati. Pretpostavlja se da jedan od trigera može biti diferencijacija inficiranog B limfocita u plazma ćeliju tokom koje dolazi do aktivacije u regionu promotora ranih litičkih gena virusa (127).

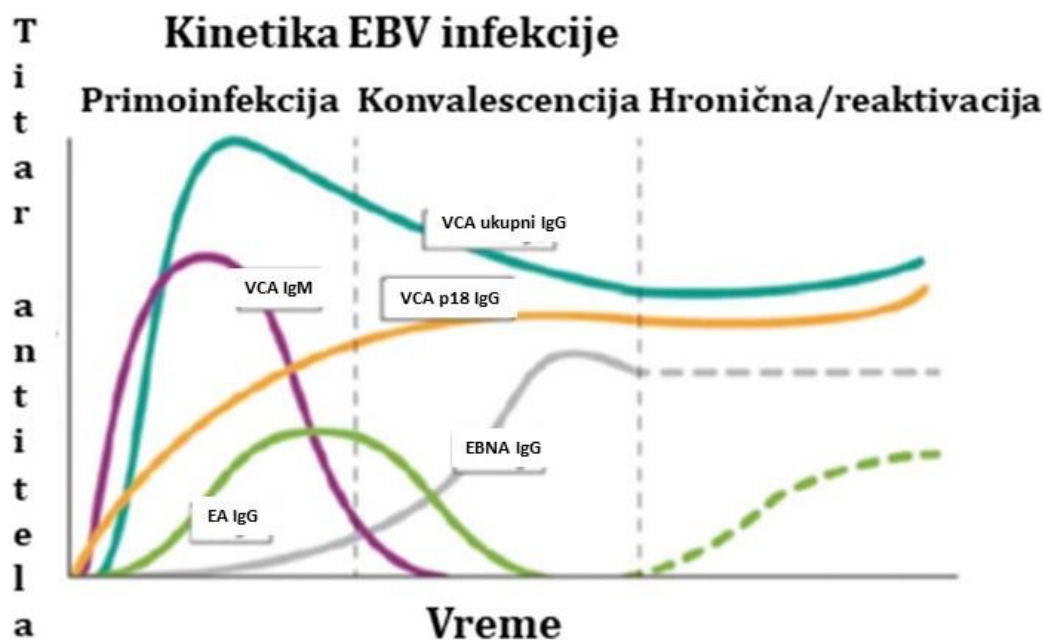
1.8.3 Mehanizmi izbegavanja imunskog odgovora domaćina

Specifičnost životnog ciklusa EBV i doživotna latencija virusa u domaćinu nakon primarne infekcije omogućeni su velikim brojem različitih mehanizama izbegavanja imunskog odgovora praktično u svim fazama infekcije virusom. Tokom litičke faze eksprimiran je BCRF-1 gen koji kodira virusni homolog IL-10, koji inhibira sintezu interferona- γ (IFN- γ). Time se suprimira odgovor CD8⁺ citotoksičnih T limfocita i ushodna regulacija MHC molekula I klase (128). Produkt gena BHRF-1 litičke faze je tzv. ograničeni EA (EA (R)), koji predstavlja virusni homolog Bcl-2 (B-cell lymphoma 2) i koji je odgovoran za sprečavanja apoptoze inficiranih B limfocita i epitelnih ćelija (129). Tokom latentne faze, LMP-1 deluje kao funkcionalni analog CD40 imitirajući signal koji obezbeđuju CD4⁺ T-pomoćnički limfociti, dok LMP-2A imitira signal B ćelijskog receptora. Time LMP-1 i LMP-2A obezbeđuju signale koji sprečavaju apoptozu inficiranog B limfocita (130).

Umnožavanje virusa u EBV inficiranim ćelijama, a time i prepoznavanje latentno inficiranog B limfocita od strane imunskog sistema tokom latentne faze kontrolisano je transkripcionim faktorom koji kodira EBNA-2 gen, a koji kontroliše ekspresiju svih ostalih latentnih virusnih gena (131). Jedini virusni protein koji je u fazi latencije potreban za preživljavanje virusa je produkt EBNA-1 gena koji funkcioniše kao replikacioni faktor omogućavajući umnožavanje virusne DNK jednom tokom svakog ćelijskog ciklusa. Budući da EBNA-1 sadrži Gly-Ala ponovke, ne može da bude razgrađen od strane proteazoma i bude prezentovan na površini B limfocita, čime je ostaje "nevidljiv" imunskom sistemu (127).

1.8.4 Karakteristike imunskog odgovora na EBV infekciju

Za kontrolu EBV infekcije dominantno je odgovoran ćelijski imunski odgovor. Citotoksični CD8⁺ T limfociti tokom litičke faze infekciju uništavaju veći deo EBV inficiranih B limfocita, dok u manjem broju B limfocita indukuju prelazak u latentnu fazu (132). Ćelijski imunski odgovor važan je i za prevenciju prelaska iz latentne u litičku fazu infekcije. U pacijenata sa IM dokazane su značajno povišene vrednosti IFN- γ , što ukazuje na značajnu ulogu ovog citokina u imunskom odgovoru na EBV infekciju (133). Humoralni imunski odgovor na EBV infekciju učestvuje u kontroli EBV infekcije dominantno mehanizmom ćelijske citotoksičnosti zavisne od antitela. Karakteriše ga produkcija antitela na različite virusne antigene u zavisnosti da li se radi o primarnoj infekciji, latenciji ili reaktivaciji virusa. Tokom primarne infekcije najpre se pojavljuju antitela na VCA i EA (D), a nešto kasnije se pojavljuju i antitela na EBNA-1 antigene. Anti-VCA IgM antitela su znak skorije aktivne infekcije, dok anti-VCA IgG i anti-EBNA 1 IgG antitela obično doživotno perzistiraju. Anti-EA (D) IgM i IgG antitela nastaju tokom primarne infekcije, nakon čega njihov titar postepeno opada, ali ponovo raste tokom reaktivacije virusa (134). Slika 3. Prikazuje dinamiku anti-EBV antitela tokom različitih faza EBV infekcije.



Slika 3. Dinamika anti-EBV antitela tokom različitih faza EBV infekcije (Middeldorp et al.) (135)

1.8.5 Molekularna dijagnostika EBV infekcije

Za identifikaciju EBV i određivanje tzv. viremije (eng.viral load) koristi se više tehnika različite senzitivnosti i specifičnosti. Ove metode su pre sve korisne u ranim fazama aktivne infekcije (primarne infekcije ili reaktivacije). Kvantitativni Real-time PCR je osetljiva, specifična i pozdana metoda za određivanje prisustva virusa i viral load-a (136). Ukoliko nije neophodno kvantitativno određivanje viral load-a, koristi se i tehnika nested-PCR. Moguće je koristiti različite uzorke za određivanje prisustva EBV DNK kao što su puna krv, plazma, pljuvačka, tkivo u parafinskom kalupu, ali se u rutinskom radu najčešće koristi plazma pacijenta. Vrsta korišćenog uzorka za analizu, kao i vreme od početka infekcije ili reaktivacije virusa značajno utiču na tumačenje rezultata pomenutih tehnika. Nakon 14 dana od pojave simptoma infekcije načešće nije moguće identifikovati EBV DNK, te su uzorci plazme ili seruma uzeti nakon ovog perioda negativni. Međutim, kako virus perzistira u memorijskim B limfocitima u fazi latencije, moguće je identifikovati virusnu DNK u uzorcima koji sadrže mononuklearne ćelije periferne krvi. Primena molekularne dijagnostike EBV infekcije je posebno važna kod pacijenata koji su imunokompromitovani obzirom da mnogi od njih ne mogu da razviju adekvatan humoralni imunski odgovor na infekciju, kao i kod EBV-udruženih limfoproliferativnih stanja.

1.8.6 Serološka dijagnostika EBV infekcije

Serološke metode se koriste u rutinskoj dijagnostici EBV infekcije. Obično se testiraju antitela na tri virusna antigena - VCA, EA i EBNA-1 što je u najvećem broju slučajeva dovoljno da se odredi status EBV infekcije. Anti- VCA IgM nastaju vrlo rano, ali titar opada tokom oporavka, i

znak su nedavne primarne infekcije. Odmah nakon toga ili u isto vreme sintetišu se anti-VCA IgG koja obično doživotno perzistiraju, te predstavljaju pouzdan znak prethodne EBV infekcije (137). Anti-EBNA-1 IgG se pojavljuje kasnije, nakon tri do šest meseci, potom im titar postepeno opada ali perzistira doživotno, ukazujući na prošlu ili oporavljenu EBV infekciju. Međutim kod imunosuprimiranih kao i kod 5-10% imunokompetentnih osoba anti-EBNA-1 se nikad ne sintetišu (137). Anti-EBNA-1 IgM se obično rutinski ne određuju, zbog otežane interpretacije njihovog nalaza. Naime, ova antitela pokazuju unakrsnu reaktivnost sa antitelima na CMV, Parvo B19, a kako perzistiraju više meseci nakon primarne infekcije i pojavljuju se i tokom reaktivacije virusa nije moguće pouzdano utvrditi značaj njihovog prisustva ili odsustva (138). Antitela na EA mogu da budu usmerena na dve komponente ovog kompleksa – difuzni EA (D) i ograničeni EA (R). Antitela IgG klase na EA se pojavljuju tokom prve tri do četiri nedelje, nakon čega im titar opada do nedetektabilnih vrednosti tri do četiri meseca nakon infekcije (139). Antitela su dominantno usmerena na EA (D) komponentu, ali se tokom reaktivacije virusa stvara i visok titar anti-EA (R) IgG, te najveći broj komercijalnih ELISA testova prepoznaje obe EA komponente (140). Međutim, kako se visok titar anti-EA (D) IgG nalazi i kod 20-30% osoba sa starom EBV infekcijom, ovaj test se obično koristi u kombinaciji sa drugim parametrima EBV infekcije kako bi se omogućila adekvatna interpretacija nalaza (141). Reaktivacija EBV infekcije je praćena porastom titra anti-VCA IgG uz ponovnu pojavu i porast titra anti-EA (D) IgG antitela (140).

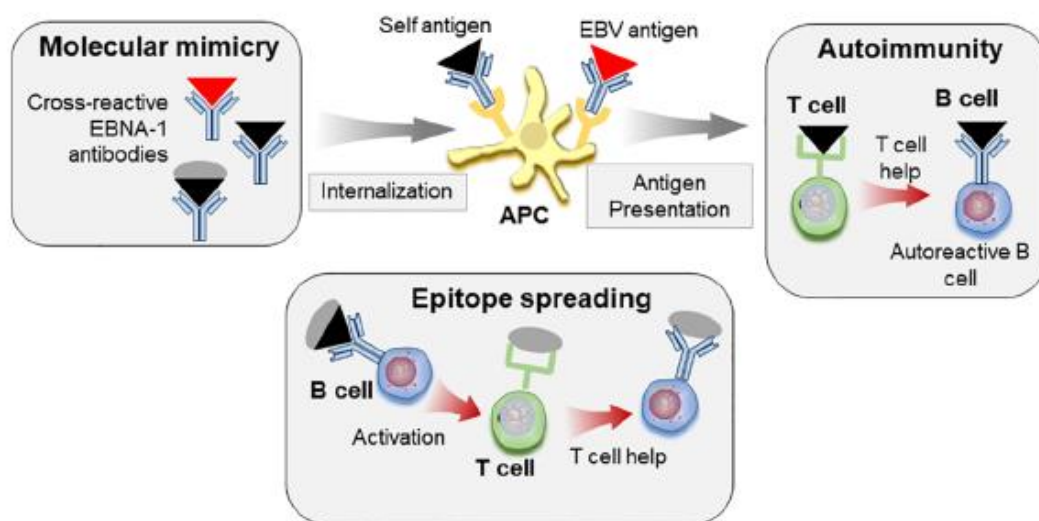
1.8.7 Specifičnosti imunskog odgovora na EBV infekciju u pacijenata sa SEL

Kod pacijenata sa SEL je značajno izmenjen imunski odgovor na EBV infekciju što vodi čestim reaktivacijama infekcije i umnožavanju virusa. Nekoliko studija pokazalo je značajno viši viral load u monocitima periferne krvi pacijenata sa SEL (15-40 x) i to bez obzira na primenjenu imunosupresivnu terapiju (142,143). U skorijoj meta-analizi koja je obuhvatila sedam studija sa ukupno 514 ispitanika sa SEL i 1086 ispitanika u kontrolnoj grupi, učestalost pozitivnog nalaza EBV DNK kod ispitanika sa SEL iznosila je 55,1% u odnosu na 20,7% u kontrolnoj grupi. Generisani ukupni OR iznosio je 3,864 (95%CI 1,518-9,830, p=0,005) (144). Ovakav nalaz se objašnjava pre svega značajno redukovanim brojem EBV-specifičnih CD8⁺ T limfocita i oštećenjem njihove funkcije sa smanjenjem citotoksičnim potencijalom. Neadekvatna kontrola EBV infekcije sa ponovljenim reaktivacijama, vodi daljem iscrpljivanju citotoksičnih T limfocita (145,146). Kompezatorno dolazi do povećanja broja EBV-specifičnih CD4⁺ T limfocita koji proizvode IFN- γ (143). Neadekvatnoj kontroli EBV infekcije doprinosi i smanjenje broja Th17 i T regulatornih limfocita (147). Budući da su opšti mehanizmi imunskog nadzora očuvani, što dokazuje očuvan CMV- specifični T ćelijski odgovor, verovatno se radi o intrinzičkom defektu vezanim specifično za regulaciju EBV infekcije (124). Neadekvatnoj regulaciji imunskog odgovora doprinosi i disfunkcija leukocita i oštećen citokinski odgovor na EBV antigene (148). Obzirom da ćelijski imunitet nije u stanju da EBV infekciju drži pod kontrolom, kompezatorno je naglašen humoralni imunitet, što je praćeno pojačanom produkcijom antitela na različite virusne antigene (149–151). Meta-analiza iz 2019. godine pokazala je značajno višu seropozitivnost za većinu anti-EBV antitela, sem za anti-EBNA-1 kod ispitanika SEL u odnosu na kontrolnu grupu (144). Pored toga uočena je i kvalitativna promena u humoralnom imunskom odgovoru (152,153). Pacijenti sa SEL češće stvaraju antitela IgA klase na različite EBV antigene. U studiji Draborg i saradnika čak 58% ispitanika sa SEL imalo je anti-EA(D) IgA, i nijedan ispitanik u kontrolnoj grupi (154). Autori ovaj nalaz objašnjavaju reaktivacijom EBV ne samo u limfocitima, već i u epitelnim ćelijama.

Takođe, ispitanici sa SEL su značajno češće bili pozitivni na dva ili više izotipova anti-EA (D) antitela, što verovatno odražava diseminovanu infekciju.

1.8.8 Mehanizmi indukcije autoimunosti u SEL posredovane EBV

Strukturna i funkcionalna molekulska mimikrija osnovni su mehanizmi indukcije autoimunosti posredovane EBV. Nekoliko EBNA-1 regiona pokazuje značajnu homologiju sa više lupusnih autoantigena, pre svega sa Ro, dsDNK, SmB, SmD i C1q (155–157). Dodatno, imunizacija eksperimentalnih životinja unakrsno reaktivnim EBNA-1 epitopom dovodi najpre do stvaranja anti-Ro antitela, a u daljem toku i razvoja manifestacija sličnih lupusu. Pri tome je uočeno stvaranje dodatnih autoantitela, verovatno kroz mehanizam širenja epitopa (Slika 4.) (158). Unakrsna reaktivnost je pokazana i između anti-EBNA-1 i dsDNK i Sm antigena (159). Osim EBNA-1 antigena, peptidi dobijeni iz EA, LMP1 i LMP2A virusnih antigena, takođe su uključeni u indukciju autoimunskog odgovora. U animalnom modelu peptidi dobije iz ovih virusnih antigena dovode do povećanja ANA, anti-SmB i anti-SmE autoantitela (160). Novija saznanja ukazuju na ulogu još jednog latentnog virusnog proteina – EBNA2 u patogenezi autoimunosti. Autori su istraživali interakciju gena i sredine u odnosu na EBV primenom bioinformatičkog algoritma i pokazali da je skoro polovina alela koji su povezani sa rizikom od nastanka lupusa zauzeta EBNA2 proteinom koji funkcioniše kao transkripcioni faktor (161). Ovakva vrsta povezanosti nađena je i kod multiple skleroze, reumatoidnog artritisa, dijabetesa tipa 1, celijakije i inflamatorne bolesti creva. Ovu grupu autoimunskih bolesti autori su označili zajedničkim imenom - EBNA2 poremećaji.



Slika 4. Molekulska mimikrija i širenje epitopa (preuzeto iz Jog i saradnici, 2021 (124))

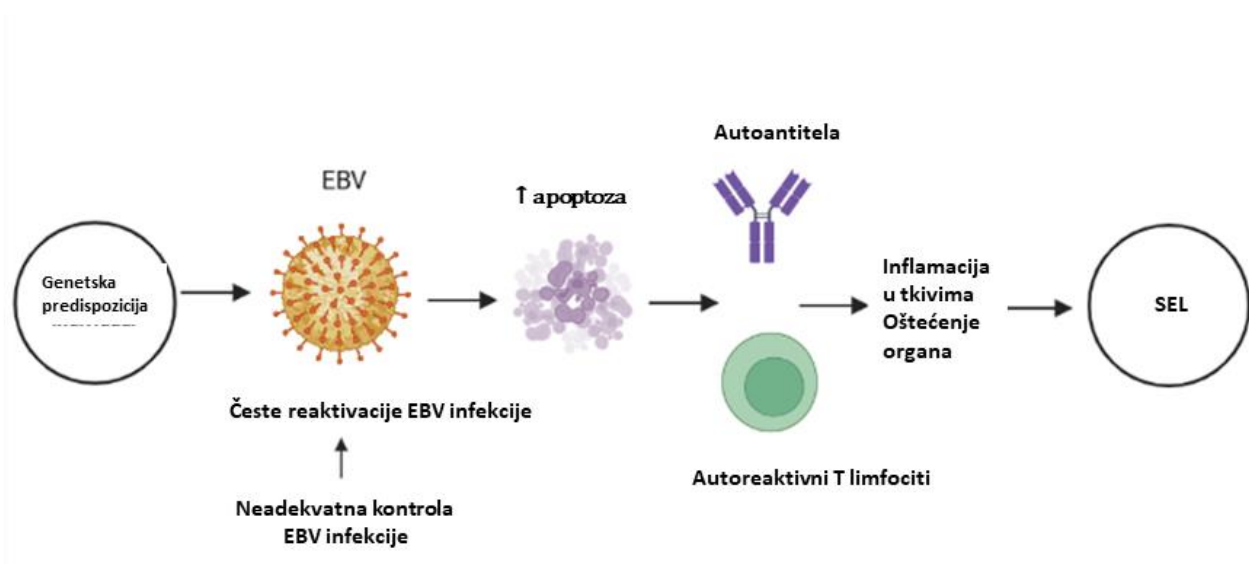
Nekoliko virusnih proteina ima ulogu u mehanizmu tzv. funkcionalne mimikrije koji prvenstveno omogućava izbegavanje imunskog odgovora domaćina, ali učestvuje i u pojačanju autoimunskog odgovora. Pokazano je na eksperimentalnom modelu da je LMP1 eksprimiran tokom pogoršanja lupusa i da u interakciji sa SEL predisponirajućim genima dodatno potencira autoimunski proces aktivacijom B limfocita, pojačanjem B limfocitne kostimulacije i T ćelijske aktivacije, što dalje dodatno aktivira B limfocite (162). Takođe, skorija studija pokazala je

povećanu ekspresiju LMP1 gena u ispitanika sa SEL, povezujući je pri tome sa aktivnošću lupusa i interferonskim putem (163). Ukoliko se ovaj nalaz potvrdi u daljim studijama, LMP1 bi mogao postati ciljno mesto delovanja novih terapijskih opcija u SEL.

1.8.9 Reaktivacija EBV i pretpostavljeni model njene uloge u nastanku SEL

Veza između učestalih reaktivacija EBV i nastanka SEL jasno je pokazana u rezultatim studije iz 2019. godine koja je tokom 6,3 godina pratila 463 srodnika osoba obolelih od SEL od koji je 13% tokom navedenog perioda takođe obolelo od SEL (123). Iako su svi srodnici obolelih od SEL inicijalno imali sličnu prevalencu seropozitivnosti (što ukazuje na sličnu prethodnu izloženost virusu), značajno viši rizik od nastanka SEL imali su oni sa višim nivoom anti-VCA IgG i anti-EA (D) IgG antitela. U istoj studiji dodatno su ispitivani i geni koji su uključeni u puteve interreakcije virusa i domaćina. Pokazana je značajna interreakcija između CD40 rs48100485 i nivoa anti-VCA IgG, i IL-10 rs3024493 i nivoa anti-VCA IgA u procesu tranzicije ka SEL. Autori su zaključili da navedeni genetički faktori utiču na kontrolu latentne EBV infekcije, što kod predisponiranih osoba vodi čestim reaktivacijama virusa i povećava rizik od nastanka SEL.

Dosadašnji podaci iz kliničkih i eksperimentalnih studija rezultirali su formiranjem pretpostavljenog modela uloge EBV u patogenezi SEL. Prema ovom modelu, neadekvatna kontrola latentne EBV infekcije kod genetski predisponiranih osoba dovodi do čestih reaktivacija EBV infekcije, postepenog povećanja broja virusom inficiranih ćelija koje tokom litičke faze podležu apoptozi, čime se stvara veća količina tzv. waste load-a. Time se u kombinaciji sa otežanim klirensom apoptotičnog materijala, stvaraju uslovi za povećanu produkciju autoantitela i nastanak autoreaktivnih T limfocita, a u daljem toku dolazi i do razvoja zapaljenskog procesa u tkivima i organima i do nastanka klinički manifestnog SEL (28,122). Ipak, tačni patogenetski mehanizmi nisu poznati, i predstavljaju predmet intezivnog istraživanja. Slika 5. prikazuje pretpostavljeni model uloge reaktivacije EBV u patogenezi SEL.



Slika 5. Pretpostavljeni model interakcije gena i sredine sa naglaskom na ulogu EBV (adaptirano iz Miskovic et al. 2023) (164)

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Istraživanjem su definisani sledeći ciljevi:

1. Odrediti prisustvo, klasu i titar antitela na EBV antigene (VCA, EBNA-1, EA(D)) u serumu, prisustvo EBV gena (EBNA1, LMP1) u plazmi i status EBV infekcije u pacijenata sa SEL u odnosu na kontrolnu grupu.
2. Ispitati udruženosti seroloških i molekularnih markera EBV infekcije sa kliničkim karakteristikama pacijenata sa SEL i stepenom aktivnosti bolesti.
3. Ispitati udruženosti seroloških markera EBV infekcije sa imunoserološkim karakteristikama (ANA, anti-dsDNA, anti-SSA, IgG, aCL IgG, aCL IgM, C3, C4) pacijenata sa SEL.
4. Ispitati učestalost polimorfizma gena za *IL10RA*, *IL10RB* i *IL22RA* u ispitanika sa SEL u odnosu na kontrolnu grupu, njihovu udruženost sa SEL i kliničkim manifestacijama bolesti.
5. Ispitati promenu seroloških markera i statusa EBV infekcije u odnosu na postizanje remisije u pacijenta sa aktivnim SEL šest meseci od započinjanja terapije.
6. Ispitati prediktore prelaska iz aktivne u latentnu EBV infekciju kod ispitanika sa aktivnim SEL nakon šest meseci.

3. MATERIJAL I METODE

Sprovedena je prospektivna kohortna studija na Klinici za alergologiju i imunologiju Univerzitetskog kliničkog centra Srbije, Institutu za mikrobiologiju i imunologiju Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu i Institutu za humanu genetiku Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu u periodu od juna 2020. godine do maja 2022.

3.1 Ispitanici

Ispitivanjem su obuhvaćeni pacijenti sa potvrđenom dijagnozom SEL lečeni na Klinici za alergologiju i imunologiju Univerzitetskog kliničkog centra Srbije kojima je dijagnoza SEL zasnovana na ACR (American College of Rheumatology) kriterijumima iz 1997 godine ili SLICC (Systemic Lupus International Collaborating Clinics) kriterijumima iz 2012 godine (79,165). Kohortu je činilo ukupno 103 pacijenta sa SEL. Od ukupnog broja, 51 pacijent je bio sa aktivnim SEL (klinički SLEDAI ≥ 4 i ukupni SLEDAI ≥ 6) na stabilnoj dozi prednizona od 20mg/dnevno, i/ili antimalarika najmanje četiri nedelje i/ili imunosupresiva najmanje osam nedelja pre prikupljanja uzoraka. Pacijenti sa aktivnim SEL su praćeni tokom šest meseci. Ukupno 52 pacijenta su bila u remisiji (definisano kao ukupni SLEDAI $< 4 = 0$) ili niskoj aktivnosti bolesti (eng.LLDAS, lupus low disease activity state) (definisano kao ukupni SLEDAI-2K skor ≤ 4 , bez aktivnosti lupusa u glavnim organskim sistemima, uz PGA < 1) (166–168). Svi pacijenti su bili stariji od 16. godina. Iz ispitivanja su isključeni pacijenti sa postojanjem značajnih komorbiditeta (teške srčane, plućne, bubrežne i maligne bolesti, psihijatrijski bolesnici, demencija), aktivnom infekcijom i teškim životno-ugrožavajućim oblikom SEL. Upitnikom su prikupljeni sledeći podaci: starost, pol, zanimanje, životne navike, podaci o ličnoj i porodičnoj anamnezi, a iz istorija bolesti podaci o biohumoralnim parametrima, kliničkim manifestacijama i toku bolesti, rezultatima imunoloških analiza, komorbiditetima, rezultatima primenjenih dijagnostičkih procedura shodno ispoljenoj kliničkoj slici, podaci o primenjenim terapijskim modalitetima.

U grupi pacijenata sa aktivnim SEL (ukupno 51 pacijent) je nakon šest meseci ponovljena procena aktivnosti bolesti i određivanje seroloških i molekularnih markera EBV infekcije. Dva pacijenta su u međuvremenu preminula, te je konačna analiza uključila 49 pacijenata. Primarni ishod u ovoj grupi ispitanika bio je postizanje remisije SEL ili LLDAS nakon šest meseci praćenja.

Kontrolnu grupu činilo je 99 ispitanika starijih od 18. godina, koji nisu imali dijagnozu sistemske autoimunske ili aktivne maligne bolesti, niti pozitivnu porodičnu anamnezu za iste. U kontrolnoj grupi bilo je 50 ispitanika sa dijagnozom osteoartritisa. Dodatno, nakon detaljnog intervjua i fizikalnog pregleda, isključeni su svi ispitanici sa simptomima i znacima sugestivnim za postojanje sistemske autoimunske bolesti.

Svi ispitanici su detaljno informisani o ispitivanju pre davanja saglasnosti za učešće, što su potvrdili potpisom na obrascu Informisanog pristanka. Studija je sprovedena u skladu sa smernicama dobre kliničke prakse, dobre laboratorijske prakse, Helsinškom deklaracijom i važećom lokalnom regulativom. Istraživanje je odobreno od strane Etičkog odbora Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu (broj odluke 1322/V-5)

3.2 Uzorci

Po jedan uzorak krvi ispitanika uziman je u epruvetu sa dodatkom EDTA (etilendiamintetrasirećetna kiselina) i epruvetu bez antikoagulansa. Nakon toga iz epruvete sa EDTA centrifugiranjem je izdvojena plazma, a iz epruvete bez antikoagulansa je izdvojen serum. Uzorci su ili odmah testirani ili čuvani (plazma na -70°C , a serum na -20°C) do dalje analize.

3.3 Izolovanje virusne DNK i dokazivanje EBNA 1 i LMP 1 gena

Izolacija virusne DNK je vršena iz 200 μl plazme koršćenjem PureLink Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen by Thermo Fisher Scientific Massachusetts, USA) prema instrukcijama proizvođača. Stotinu pedeset i dva izolata DNK je dalje korišćeno u nested-PCR metodi za amplifikaciju dva EBV gena – EBNA1 i LMP1. Amplifikacija C kraja EBNA 1 i C kraja LMP1 su rađene primenom nested-PCR metode kao što je prethodno opisano, korišćenjem prajmera koje su opisali Lorenzetti i saradnici i Li i saradnici (169–172).

3.4 Određivanje seroloških markera EBV infekcije

Antitela na EBV antigene EBNA 1 (IgG), VCA (IgM, IgG) i EA(D) (IgM, IgG) su određivana i merena u uzorcima seruma primenom komercijalnih ELISA testova prema uputstvima proizvođača (Euroimmun, Lubeck, Germany). U svakom testu su korišćeni standardni kalibratori za izračunavanje vrednosti indeksa/optičke gustine (OD, optical density), koji služe kao kvantitativna mera nivoa IgG antitela ili semi-kvantitativna mera nivoa IgM antitela. Svi testovi su ispunili unapred određene mere kontrole kvaliteta zasnovane na pozitivnim, negativnim i blanko kontrolama. Granična vrednost za pozitivnost prisustva IgG antitela je iznosila 20 relativnih jedinica (RU/ml). Pozitivnost IgM antitela je definisana kao $\text{OD} \geq 1.1$. Apsorbanse su merene na Multiscan FC microplate čitaču (Thermo Scientific, Massachusetts, USA) primenom talasne dužine od 450 nm sa pozadinskom subtrakcijom na 650 nm.

3.5 Određivanje statusa EBV infekcije

Status EBV infekcije je određivan na osnovu prisustva DNK sekvenci virusnih gena (EBNA1, LMP1) i serološkog statusa. Aktivna EBV infekcija je definisana prisustvom virusne DNK (pozitivna EBNA1 i/ili LMP1) i/ili prisustvom anti-VCA IgM i/ili anti-EA(D) IgM antitela.

3.6 Izolacija humane DNK i analiza polimorfizma gena za *IL10RA*, *IL10RB* i *IL22RA*

Molekularno-genetska analiza je urađena na Institutu za humanu genetiku Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu. Ekstrakcija ukupne genomske DNK iz leukocita periferne krvi je učinjena primenom standardne metode izolovanja (173). Fotospektrometrijska metoda je korišćena za proveru koncentracije i kvaliteta DNK. Komercijalni TaqMan SNP esej za genotipizaciju (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) u Applied Biosystems' 7500 Real-Time PCR sistemu (Applied Biosystems) je korišćen za određivanje genotipova *IL10RA* (rs10892202, rs4252270, rs3135932, rs2228055, rs2229113, rs9610), *IL10RB* (rs999788, rs2834167, rs1058867) i *IL22RA* (rs16829204, rs3795299). HaploView 4.2 program je korišćen za analizu haplotipa, a blokovi haplotipa su procenjivani primenom metode "Confidence Intervals LD" (174).

3.7 Analiza imunoseroloških markera

Analizirano je prisustvo sledećih autoantitela u serumu pacijenata sa SEL: ANA, anti-ds DNA, anti-ENA (specifična za sledeće antigene: Sm, Sm/RNP, SSA, SSB, Jo-1, Scl-70), aCL IgG i IgM klase, anti-β2-GPI IgG i IgM klase, anti-SSA 60kD, anti-Sm. Detekcija i karakterizacija ANA je rađena metodom indirektno imunofluorescence (IIF) na supstratu Hep-2 ćelija (Aescu Diagnostics, Germany). ANA titer ≥ 1:80 je smatran pozitivnim. Anti-ENA antitela, anti-Sm i anti-SSA 60kD su određivana ELISA testom (Euroimmune, Germany). Antikardiolipinska antitela IgG i IgM klase, kao i anti-β2-GPI IgG i IgM klase su određivana ELISA metodom (Demeditec Diagnostics, Germany). Primenjivane su referentne vrednosti pozitivnog nalaza prema preporuci proizvođača (aCL IgG > 10 U/ml, aCL IgM > 7 U/ml, anti-β2-GPI IgG > 8 U/ml, anti-β2-GPI IgM > 8 U/ml).

Nefelometrijska metoda (Automatic Biochemistry analyzer Spin 200E-Spinreact) je korišćena za određivanje serumske koncentracije komponenti komplekta C3, C4, ukupnih serumskih imunoglobulina IgG, IgA, IgM, kao i RF uz primenu referentnog opsega prema preporuci proizvođača (C3 0,65-1,8 g/L; C4 0,1-0,4 g/L; IgG 7,0-16,0 g/L; IgM 0,4-2,3 g/L; IgA 0,7-4,0 g/L; RF > 20 IU/ml).

3.8 Klinički indeksi aktivnosti SEL i oštećenja

Aktivnost bolesti procenjavana je primenom sledećih skala i skorova: SLEDAI 2K, LFA-REAL ClinRO i PGA (Prilozi 1., 2. i 3.) (94,98,99). Pored ukupnog SLEDAI 2K skora određivan je i klinički SLEDAI 2K skor koji je uključivao sve domene kao i ukupni SLEDAI 2K sem onih koji se odnose na komplement i anti-dsDNK antitela. SLICC/ACR Damage Index (SLICC/ACR DI) je korišćen za procenu akumuliranog oštećenja (Prilog 4.) (102).

3.9 Mere ishoda koje procenjuje pacijent i procena stepena zamora

Od pacijenata je traženo da daju svoju procenu aktivnosti bolesti primenom LFA REAL PRO skale koju su popunjavali kroz intervju sa lekarom, pri čemu su prethodno dobili odgovore na sva dodatna pitanja i nedoumice u vezi sa samom skalom (Prilog 5.) (99).

Stepen zamora ocenjivan je primenom FACIT-F skale koju (verzija 4) koju su pacijenti samostalno popunjavali (Prilog 6.) (175).

3.10 Statistička analiza podataka

Prilikom statističke analize podataka korišćene su metode deskriptivne (tabeliranje i grafičko prikazivanje, izračunavanje mera centralne tendencije, varijabiliteta i proporcije) i analitičke statistike (Hi-kvadrat test, Fisherov test, Kruskal-Wallisov test, Mann-Whitney U test, Spearmanov i Pearsonov koeficijent korelacije). Normalnost raspodele je ispitivana matematičkim (koeficijent varijacije, mere simetričnosti i spljoštenosti raspodele, testovi Kolmogorov-Smirnov i Šapiro-Vilk) i grafičkim metodama (histogram, Q-Q dijagram, detrendovani Q-Q dijagram, dijagram kutije).

Univarijantna logistička regresiona analiza je korišćena u cilju procene mogućih faktora koji utiču na verovatnoću da osoba ima SEL, sa sledstvenom multivarijantnom analizom koja je uključivala značajne varijable iz prethodne analize u modelu. Za procenu multikolinearnosti primenjeni su VIF metod i koeficijent korelacije. Varijable sa $VIF > 5$ su isključene iz multivarijantnog modela. Prema matrici kovarijanse i koeficijentima korelacije, eliminisana je jedna od dve korelirane varijable sa nižom p vrednošću u univarijantnoj logističkoj regresiji. Primenjen je Forward Wald metod regresije, a u rezultatima je prikazan samo poslednji korak. Prikazani su unakrsni odnos (eng. odds ratio, OR), 95% interval poverenje za unakrsni odnos (95% CI OR) i p vrednost. Veličina uzorka je izračunata uz pomoć G Power 3.1.9.2 za glavni ishod – prisustvo anti-EBV-EA (D) IgG antitela u SEL ispitanika i kontrolnoj grupi prema prethodno objavljenim podacima iz literature za efekat veličine 0,3, grešku tipa I (α) od 0,05, i statističku snagu od 0,8 (152). Procenjeno je da je 88 jedinica ispitivanja po grupi dovoljno za utvrđivanje razlike među njima.

U delu statističke analize podataka dobijenih od ispitanika sa aktivnim SEL koji su praćeni tokom šest meseci, McNemar-ov test je korišćen za poređenje dihotomnih podataka u zavisnom uzorku. Wilcoxon-ov test rangova je korišćen za procenu razlike numeričkih podataka koji nisu

imali normalnu raspodelu inicijalno i nakon šest meseci praćenja. Prediktori remisije ispitanika sa aktivnim SEL procenjivani su primenom univarijantne, a potom i multivarijantne logističke regresione analize, uz prilagođavanje za uzrast, pol, primenjenu terapiju. Rezultati su prikazani kao relativni rizik (eng. relative ratio, RR), 95% CI RR i p vrednost. Granične vrednosti (eng. cut-off value) C3 koje diskriminišu pacijente koje nakon šest meseci prelaze iz aktivne u latentu EBV infekciju određene su primenom ROC (eng. receiver-operating characteristic curve) krive. Sve statističke metode su smatrane značajne ukoliko je dobijena p vrednost bila $\leq 0,05$.

Za potrebe analize podataka je korišćen je program IBM Corp. Released 2012. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0. Armonk, NY: IBM Corp.

4. Rezultati

4.1. Karakteristike ispitanika

Ispitivanjem je obuhvaćeno 103 ispitanika sa SLE, većinom žena (91,3%), prosečne starosti 45,42±12,9 godina. Najčešće kliničke manifestacije u ovoj kohorti su bile limfopenija (50%), alopecija (39%), kožne manifestacije lupusa (32%), artritis (32%) i leukopenija (32%). Od ukupno 103 ispitanika 51 (49,5%) je imalo aktivnu formu bolesti, a kod 52 (50,5%) ispitanika bolest je bila u remisiji ili su registrovani znaci niske aktivnosti bolesti (LLDAS). Detaljne demografske, kliničke i laboratorijske karakteristike ispitanika u SLE kohorti u odnosu na aktivnost bolesti su prikazane u Tabelama 1, 2, 3 i 4.

Tabela 1. Glavne demografske karakteristike i komorbiditeti u ispitanika sa SEL

Karakteristika	SEL n=103	Aktivni SEL n=51	Remisija/LLDAS n=52	p*
Starost (god), AS±SD	45,43±12,90	42,49±13,06	48,31±12,19	0,021
Pol, muški/ženski, n (%)	9(8,7)/94(91,3)	3(3,9)/48(94,1)	6(11,5)/46(88,5)	0,488
Trajanje SEL (god), med (min-max)	5,0 (0,0-42,0)	7,54 (0-29)	7,87 (0,5-42)	0,412
BMI, AS±SD	25,93±5,25	25,41±5,67	26,44±4,79	0,042
Pušački status, n (%)	60 (60,0)	28 (58,4)	32 (61,5)	0,945
Trajanje pušenja (god), med (min-max)	16,0 (0,5-40,0)	13,5 (0,5-40)	20,0 (2,0-40,0)	0,254
Komorbiditeti, n (%)				
Sjogrenov sindrom, n (%)	39 (37,9)	20 (39,2)	19 (36,5)	0,840
AFS, n (%)	9 (8,7)	3 (5,9)	6 (11,5)	0,488
HT, n (%)	17 (16,7)	8 (16,0)	9 (17,3)	1,000
Arterijska hipertenzija	44 (42,7)	23 (45,1)	21 (40,4)	0,692
Dijabetes mellitus	7 (6,8)	2 (3,9)	5 (9,6)	0,437
KVS događaji,** n (%)	9 (8,7)	4 (7,8)	5 (9,6)	1,000
Broj ACR kriterijuma med (min-max)***	6,0 (4,0-11,0)	6 (4-11)	5 (4-11)	0,004

*odnosi se na poređenje pacijenata sa aktivnim lupusom i onih u remisiji/ niskoj aktivnosti bolesti za nivo značajnosti 0,05; ** CVI, TIA, AIM, AP; *** ACR kriterijumi iz 1997. god.

Skraćenice: BMI –indeks telesne mase, AFS – anti-fosfolipidni sindrom, HT- Hashimoto thyroiditis, KVS – kardiovaskularni događaji, CVI – cerebrovaskularni insult, TIA – tranzitorni ishemijski atak, AIM – akutni infarkt miokarda, AP – angina pectoris; AS – artimetrička sredina; SD – standardna devijacija

Tabela 2. Imunoserološke karakteristike ispitanika sa SEL

Karakteristika	SEL n=103	Aktivni SEL n=51	Remisija/ LLDAS n=52	p*
ANA, titar, med (min-max)	640,0 (40,0-640,0)	640 (80-640)	640 (40-640)	0,185
anti-dsDNA, n/N (%)	30/103 (29,1)	23/51 (45,1)	7/52 (13,5)	<0,001
anti-Sm, n/N (%)	22/101 (21,8)	19/51 (37,3)	3/50 (6,0)	<0,001
anti-SSA, n/N (%)	43/99 (43,4)	27/50 (54%)	16/49 (32,7)	0,052
aCL-IgG, n/N (%)	14/100 (14,0)	8/50 (16,0)	7/50 (14,0)	0,773
aCL-IgM, n /N (%)	14/100 (14,0)	7/50 (14,0)	7/50 (14,0)	1,000
Anti- β2-GPI IgG, n/N (%)	7/95 (7,4)	3/49 (6,1)	4/46 (8,7)	0,930
Anti-β2-GPI IgM, n/N (%)	7/95 (7,4)	3/49 (6,1)	4/46 (8,7)	0,930
RF, n/N (%)	19/94 (20,2)	14/49 (28,6)	5/45 (11,1)	<0,001
Snižen C3 i/ili C4	59/103 (57,3)	41/51 (80,4)	18/52 (34,6)	<0,001
C3, AS\pmSD	0,81 \pm 0,27	0,71 \pm 0,28	0,92 \pm 0,22	<0,001
C4, med (min-max)	0,12 (0,02-0,87)	0,12 (0,02-0,87)	0,19 (0,02-0,5)	<0,001
Ukupni IgG, AS\pmSD	13,91 \pm 5,20	15,1 \pm 6,2	12,8 \pm 3,8	0,025

*odnosi se na poređenje pacijenata sa aktivnim lupusom i onih u remisiji/LLDAS za nivo značajnosti 0,05

Skraćenice: ANA – antinuklearna antitela; anti-dsDNA – antitela na dvolančanu DNK; aCL – antikardiolipinska antitela; anti- β 2-GPI- antitela na β 2 glikoprotein I; RF – reumatoidni faktor; C3 - komponenta komplemента C3; C4 – komponenta komplemента C4; AS – aritmetička sredina; SD – standardna devijacija.

Tabela 3. Kliničke i laboratorijske karakteristike ispitanika i aktivnost SEL

Karakteristika	SEL n=103	Aktivni SEL n=51	Remisija/ LLDAS n=52	p*
Aktuelne manifestacije				
Kožne manifestacije, n (%)	33 (32,0)	29 (56,9)	4 (7,7)	<0,001
Broj bolnih i otečenih zglobova, med (min-max)	4 (0-22)	4 (0-22)	0 (0-2)	<0,001
Artritis, n (%)	33 (32,0)	33 (64,71)	0	<0,001
Mukozalne ulceracije, n (%)	12 (11,7)	11 (21,6)	1 (1,9)	0,002
Alopecija, n (%)	40 (38,8)	29 (56,9)	11 (21,2)	<0,001
Serozitis, n (%)	4 (3,9)	4 (7,84)	0	0,054
Aktivni lupus nefritis, n (%)	15 (14,6)	15 (29,4)	0	<0,001
NPSLE, n (%)	1 (0,97)	1 (1,96)	0	NP
Leukopenija, n (%)	33 (32,0)	11 (21,6)	3 (5,8)	0,04
Neutropenija, n (%)	13 (13,1)	11 (21,6)	3 (5,8)	0,04
Limfopenija, n (%)	50 (50,0)	33 (67,3)	17 (33,3)	0,022
Trombocitopenija, n (%)	11 (10,8)	8 (15,7)	3 (5,9)	0,178
FACIT, mean (±SD)	35,51±12,05	34,76 (8-55)	36,24 (2-52)	0,542
Markeri zapaljenja				
SE, med (min-max)	22,0 (4,0-125,0)	30 (4-125)	15 (4-76)	<0,001
CRP, med (min-max)	2,8 (0,2-87,5)	4,04 (0,2-87,5)	1,99 (0,2-28,8)	0,018
NLR, med (min-max)	2,1 (0-15,3)	3,3 (0-15,3)	2,2 (0,5-10,9)	0,064
Procena aktivnosti SEL, med (min-max)				
SLEDAI 2K	5,0 (0-29,0)	10 (6-29)	2 (0-5)	<0,001
Klinički SLEDAI 2K	3,0 (0-25,0)	8 (4-25)	0 (0-3)	<0,001
PGA	0,83 (0-2,34)	1,38 (0,75-2,34)	0,17 (0-0,96)	<0,001
LFA Real Clin	42 (0-186)	75 (29-186)	7 (0-80)	<0,001
LFA Real PRO	196 (0-599)	239 (0-599)	150 (0-538)	0,006
SLICC/ACR DI, med (min-max)	0 (0-6)	0 (0-6)	0 (0-5)	0,946

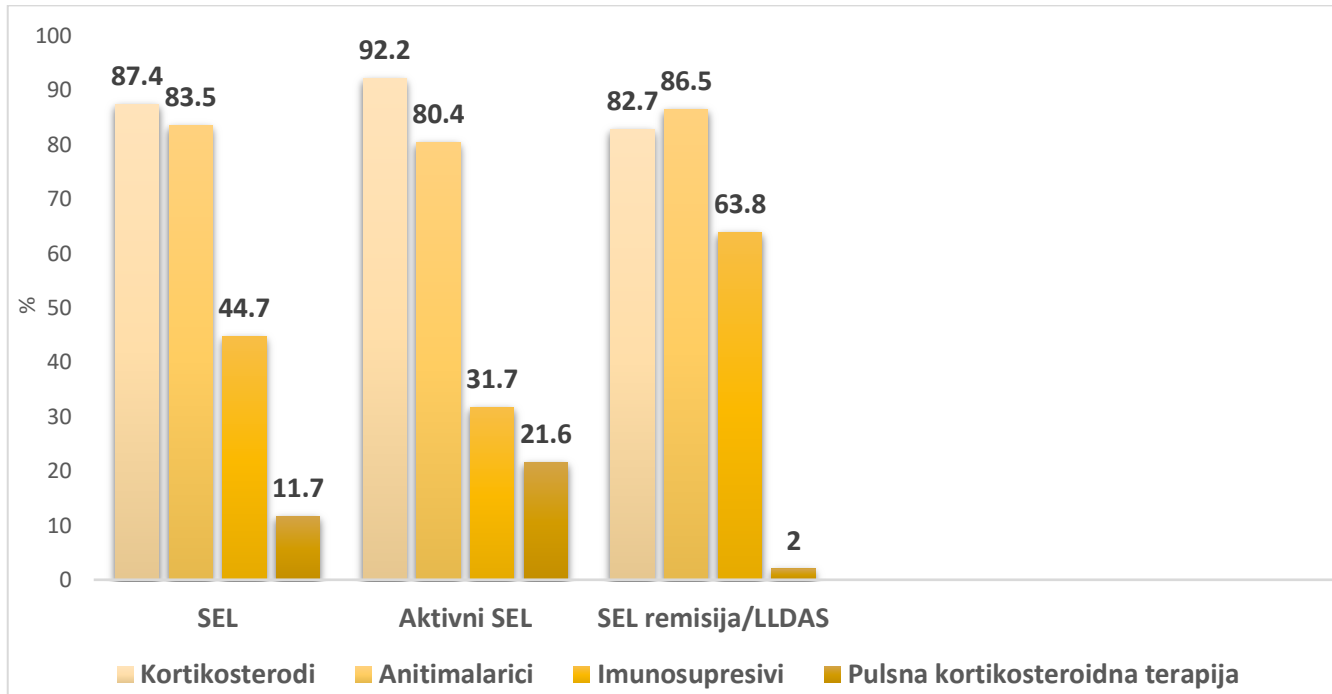
*odnosi se na poređenje pacijenata sa aktivnim lupusom i onih u remisiji/LLDAS za nivo značajnosti 0.05;

Skraćenice: NPSLE - neuropsihijatrijski lupus; FACIT – skor na skali zamora; SE – brzina sedimentacije eritrocita; CRP – C-reaktivni protein; SLEDAI-2K- eng. systemic lupus erythematosus disease activity index; LFA Real Clin – eng. Lupus Foundation of America Rapid Evaluation of Activity in Lupus Clinician Reported Outcome; LFA Real PRO – eng. Lupus Foundation of America Rapid Evaluation of Activity in Lupus Patient Reported Outcome; SLICC/ACR DI – eng. systemic lupus international collaborating clinics American College of Rheumatology Damage index; NP – nije primenljivo

U kontrolnoj grupi bilo je 99 ispitanika, takođe većinom žena (88%), prosečne starosti 55,43 ±13,62 godina. Ova grupa ispitanika je bila starija od onih u SEL kohorti (p<0,001), ređe su

bili pušači ($p=0,004$), a nisu se značajno razlikovali u odnosu na zastupljenost polova ($p=0,431$), prisustvo arterijske hipertenzije ($p=0,497$), dijabetes melitusa ($p=0,282$) i kardiovaskularnih događaja ($p=0,074$).

Većina pacijenata je koristila kortikosteroide u terapiji. Medijana doze prednizona u celokupnoj kohorti ispitanika sa SEL iznosila je 12,5 (0-80)mg, pri čemu su ispitanici sa aktivnim SEL imali značajno više doze prednizona (20 (5-80)mg vs 10 (2-30)mg, $p=0,001$). Ispitanci u grupi remisija/LLDAS su značajno češće koristili imunosupresivne lekove ($p<0,001$). Grafikon 1. prikazuje primenjene terapijske modalitete ispitanika sa SEL.



Grafikon 1. Terapijski modaliteti pacijenata sa SEL (Imunosupresivi: metotreksat, azatioprin, mikofenolat mofetil, ciklofosamid)

4.2 Aktivnost SEL i mere ishoda koje procenjuje pacijent

U cilju boljeg sagledavanja i procene aktivnosti SEL korišćeni su sledeći indeksi aktivnosti: SLEDAI2K, klinički SLEDAI2K, PGA i LFA Clin RO. Pacijenti su procenjivali stepen zamora primenom FACIT F skale, a aktivnost bolesti primenom LFA PRO indeksa. Postojala je statistički značajna jaka korelacija novog LFA Clin RO indeksa sa ostalim indeksima aktivnosti lupusa primenjivanim od strane lekara (Tabela 4). Dodatno, LFA-REAL Clin RO indeks je pokazao statistički značajnu umerenu korelaciju sa imunološkim markerima aktivnosti lupusa: anti-ds-DNA ($\rho=0,339$, $p<0,01$), C3 ($\rho=-0,406$, $p<0,01$) i C4 ($\rho=-0,420$, $p<0,01$).

Tabela 4. Korelacija LFA-REAL Clin RO sa ostalim indeksima aktivnosti SEL

Indeks	SLEDAI2K	klinički SLEDAI2K	PGA
LFA-REAL Clin RO, rho* (p)	0,836 (p<0,01)	0,879 (p<0,01)	0,947 (p<0,01)

*rho-Spirmanov koeficijent korelacije

Uporedili smo mere ishoda koje procenjuje pacijent sa indeksima aktivnosti lupusa koje primenjuje lekar i našli statistički značajnu umerenu korelaciju LFA-REAL PRO sa svim korišćenim indeksima aktivnosti (Tabela 5). Međutim, nije nađena korelacija sa imunološkim parametrima aktivnosti SEL (anti-ds-DNA p=0,979, C3 p=0,945, C4 p=0,881). U odnosu na stepen zamora nađena je statistički značajna, ali blaga negativna korelacija FACIT-F skora sa LFA Clin RO i značajna umerena negativna korelacija sa LFA-REAL PRO (rho-0,618, p<0,001) (Tabela 5). U odnosu na odabrane imunološke parametre SEL, FACIT-F skor je pokazao statistički značajnu blagu negativnu korelaciju sa koncentracijom C4 (C4 Rho -0,225, p=0,025), ali ne i sa koncentracijom C3 (p=0,075) i anti-ds-DNK (p=0,715).

Tabela 5. Korelacija LFA-REAL PRO i FACIT-F sa indeksima aktivnosti SEL

	LFA-REAL RO	Clin SLEDAI2K	klinički SLEDAI2K	PGA
LFA-REAL PRO, Rho* (p)	0,402 (<0,001)	0,323 (0,001)	0,377 (<0,001)	0,357 (<0,001)
FACIT-F, Rho* (p)	-0,201 (0,045)	-0,076 (0,453)	-0,153(0,129)	-0,152 (0,131)

*Rho- Spirmanov koeficijent korelacije

4.3 Prevalenca EBV DNK i anti-EBV antitela, i status EBV infekcije

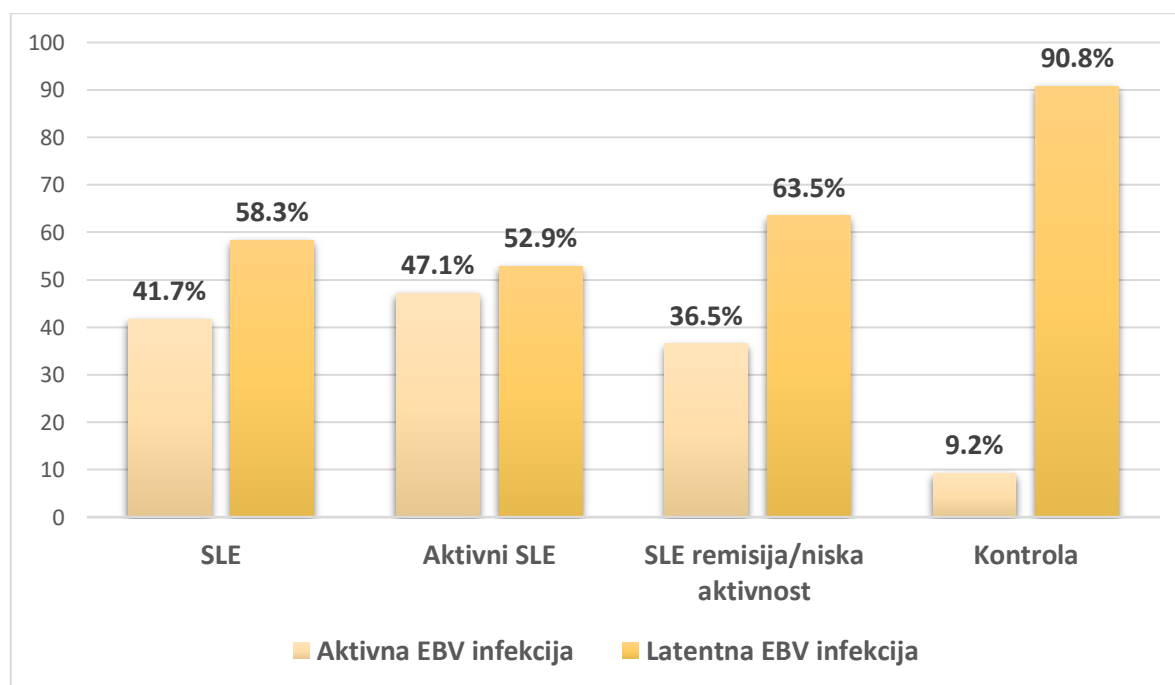
Prevalenca EBV DNK u plazmi ispitanika sa SEL iznosila je 10,7%, što se nije statistički značajno razlikovalo u odnosu na kontrolnu grupu (p=0,893). Serološke analize su pokazale da su svi ispitanici u grupi sa SEL imali znake prethodne infekcije EBV. U ovoj grupi registrovana je značajno viša prevalenca anti-VCA IgM, anti-EA(D) IgG i anti-EA(D) IgM antitela u odnosu na kontrolnu grupu (p<0,001, p<0,001, i p=0,008, redom). Međutim, nije bilo razlike u učestalosti anti-EBV antitela između ispitanika sa aktivnim SEL i onih u remisiji/LLDAS. U Tabeli 6. prikazano je poređenje prevalence pozitivnosti EBV DNK i anti-EBV antitela u ispitivanim kohortama.

Tabela 6. Prevalenca pozitivnosti virusne DNK i anti-EBV antitela

EBV DNK i anti-EBV At n (%)	SEL n=103	Aktivni SEL n=51	SEL remisija /LLDAS n=52	Kontrola n=99	p1* ¹	p2* ²	p3* ³	p4* ⁴
EBNA1 DNK	11 (10,7)	8 (15,7)	3 (5,8)	10 (10,1)	0,893	0,426	0,544	0,122
LMP1 DNK	9 (8,7)	5 (9,8)	4 (7,7)	3 (3,0)	0,086	0,120	0,231	0,741
Anti-EBNA1 IgG	99 (96,1)	50 (98,0)	49 (94,2)	97 (98,0)	0,436	0,980	0,221	0,617
Anti-VCA IgG	103 (100)	51 (100)	52 (100)	98 (99,0)	0,490	1,000	1,000	1,000
Anti-VCA IgM	26 (25,2)	16 (31,4)	10 (19,2)	3 (3,0)	<0,001	<0,001	<0,001	0,156
Anti-EA(D) IgG	35 (34,0)	21 (41,2)	14 (26,9)	5 (5,1)	<0,001	<0,001	<0,001	0,126
Anti-EA(D) IgM	22 (21,4)	10 (19,6)	12 (23,1)	8 (8,1)	0,008	0,039	0,009	0,668

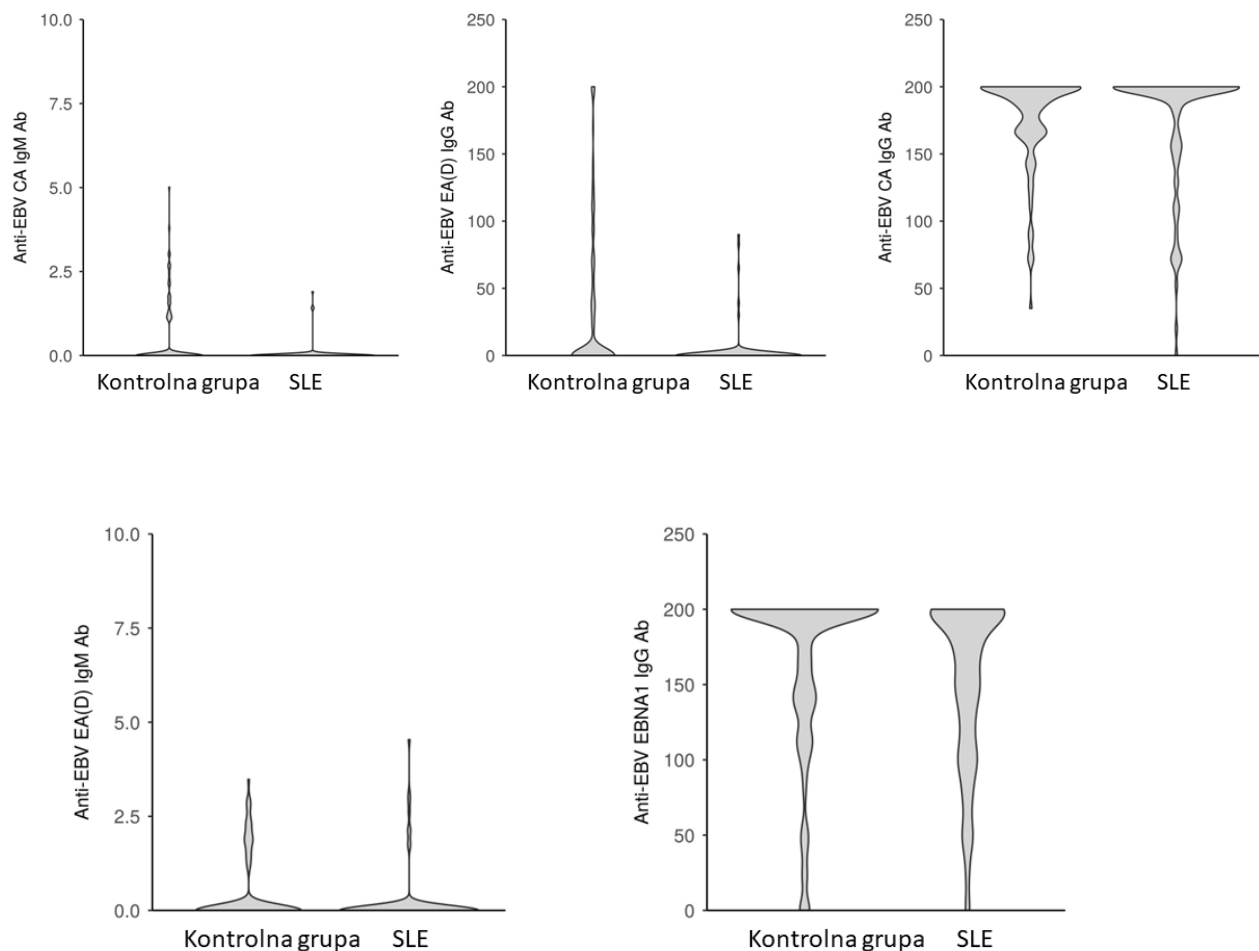
*za nivo značajnosti 0.05; ¹p1 – SEL vs kontrolna grupa; ²p2 - aktivni SEL vs kontrola; ³p3 – SEL remisija/LLDAS vs kontrola; ⁴p4 – aktivni SEL vs SEL remisija/LLDAS

Aktivna EBV infekcija je značajno češće nađena kod ispitanika sa SEL u odnosu na kontrolnu grupu ($p < 0,001$). Ispitanici sa aktivnim SEL ($p < 0,001$), i ispitanici sa SEL u remisiji/LLDAS ($p < 0,001$) imali su značajno češće aktivnu EBV infekciju u odnosu na kontrolnu grupu ispitanika. Međutim nije bilo značajne razlike u učestalosti aktivne EBV infekcije između grupe ispitanika sa aktivnim SLE i onih u remisiji/LLDAS ($p = 0,321$). Grafikon 2. prikazuje status EBV infekcije u ispitivanim kohortama.



Grafikon 2. Status EBV infekcije u ispitivanim grupama

Poređenje titra anti-EBV antitela ispitanika sa SEL je pokazalo značajno viši titar anti-VCA IgM, anti-EA(D) IgG, i anti-EA(D) IgM antitela u odnosu na kontrolnu grupu ($p < 0,001$, $p < 0,001$, and $p = 0,012$, redom). Titar anti-EBNA1 IgG i anti-VCA IgG antitela nisu se značajno razlikovali između ove dve grupe ispitanika ($p = 0,080$ i $p = 0,149$, redom)(Grafikon 3.).



Grafikon 3. Titar anti-EBV antitela u grupi ispitanika sa SEL u odnosu na kontrolnu grupu

Poređenje titra anti-EBV antitela u podgrupama ispitanika sa SEL pokazalo je značajno viši titar anti-VCA IgM, anti-EA(D) IgM i anti-EA(D) IgG antitela u obe podgrupe ispitanika sa SEL u odnosu na kontrolnu grupu. Međutim, titar nijednog od ispitivnih anti-EBV antitela nije se značajno razlikovao između grupe ispitanika sa aktivnim SEL i onih u grupi remisija/LLDAS. (Tabela 7.)

Tabela 7. Poređenje titra anti-EBV antitela u podgrupama ispitanika sa SEL u odnosu na kontrolnu grupu

Anti-EBV At	SEL n=103	Aktivni SEL n=51	SEL remisija /LLDAS n=52	Kontrola n=99	p1* ¹	p2* ²	p3* ³	p4* ⁴
Anti-EBNA1 IgG AS±SD	163,89 ±56,31	163,63 ±54,73	170,71 ±37,25	150,14 ±54,55	0,08	0,154	0,145	0,964
Anti-VCA IgG AS±SD	175,68 ±35,01	180,75 ±32,15	74,64 ±15,73	173,53 ±46,96	0,149	0,327	0,708	0,147
Anti-VCA IgM med (min-max)	0 (0-5,011)	0 (0-5,011)	0 (0-3,016)	0 (0-1,902)	<0,001	<0,001	0,001	0,172
Anti-EA(D) IgG med (min-max)	0 (0-200,0)	0 (0-200,0)	0 (0-195,0)	0 (0-90,0)	<0,001	<0,001	<0,001	0,039
Anti-EA(D) IgM med (min-max)	0 (0-3,481)	0 (0-3,481)	0 (0-2,920)	0 (0-4,537)	0,012	0,048	0,015	0,730

*za nivo značajnosti 0.05; ¹p1 – SEL vs kontrolna grupa; ²p2 - aktivni SEL vs kontrola; ³p3 – SEL remisija/LLDAS vs kontrola; ⁴p4 – aktivni SEL vs SEL remisija/LLDAS

4.4 Analiza polimorfizama gena za *IL10RA*, *IL10RB* i *IL22RA* receptore

Analizirali smo polimorfizme u okviru gena za *IL10RA*, *IL10RB* i *IL22RA* receptore. Distribucija ispitivanih polimorfizama nije odstupala od Hardy-Weinberg-ovog ekvilibrijuma u grupi ispitanika sa SEL i kontrolnoj grupi, a prikazana je u Tabeli 8. Nađeno je da su ispitanici u kontrolnoj grupi značajno češće bili nosioci G alela *IL10RB* rs1058867 u odnosu na ispitanike sa SEL (76,8% vs 61,2%, p=0,017, OR=0,477, 95%CI:0,258-0,879).

Tabela 8. Distribucija i poređenje učestalosti polimorfizama gena za *IL10RA*, *IL19RB* i *IL22RA* receptore

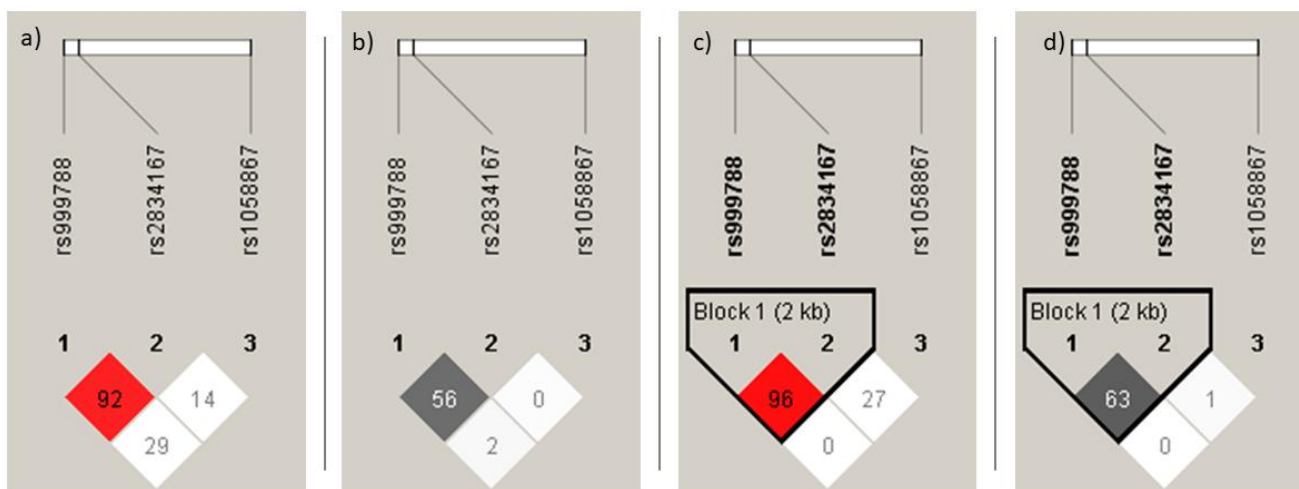
Polimorfizam, n (%)	Grupa		p*
	SEL n=99	Kontrola n=103	
<i>IL10RB</i> rs999788			
CC	66 (64,1)	60 (60,6)	0,787
CT	33 (32)	36 (36,4)	
TT	4 (3,9)	3 (3,0)	
C	165 (80,1)	156 (78,8)	0,806
T	41 (19,9)	42 (21,2)	
<i>IL10RB</i> rs2834167			
AA	54 (52,4)	47 (47,5)	0,714
AG	43 (41,7)	47 (47,5)	
GG	6 (5,8)	5 (5,1)	
A	151 (73,3)	141 (71,2)	0,658
G	55 (26,7)	57 (28,8)	
<i>IL10RB</i> rs1058867			
AA	40 (38,8)	23 (23,2)	0,038
AG	46 (44,7)	50 (50,5)	
GG	17 (16,5)	26 (26,3)	
A	126 (61,2)	96 (48,4)	0,012
G	80 (38,8)	102 (51,5)	
<i>IL10RA</i> rs10892202			
GG	89 (86,4)	83 (83,8)	0,779
GC	13 (12,6)	14 (14,1)	
CC	1 (1,0)	2 (2,0)	
G	191 (92,7)	180 (90,9)	0,587
C	15 (7,3)	18 (9,1)	
<i>IL10RA</i> rs4252270			
CC	89 (86,4)	83 (83,8)	0,779
CT	13 (12,6)	14 (14,1)	
TT	1 (1,0)	2 (2,0)	
C	191 (92,7)	180 (90,9)	0,587
T	15 (7,3)	18 (9,1)	
<i>IL10RA</i> rs3135932			
AA	72 (69,9)	77 (77,8)	0,100
AG	27 (26,2)	22 (22,2)	
GG	4 (3,9)	0 (0)	
A	171 (83,0)	176 (88,9)	0,115
G	35 (17,0)	22 (11,1)	
<i>IL10RA</i> rs2228055			
AA	92 (89,3)	84 (84,8)	0,343
AG	11 (10,7)	15 (15,2)	
GG	0 (0)	0 (0)	
A	195 (94,7)	183 (92,4)	0,420
G	11 (5,3)	15 (7,6)	
<i>IL10RA</i> rs2229113			
GG	44 (42,7)	49 (49,5)	0,182

AG	45 (43,7)	44 (44,4)	
AA	14 (13,6)	6 (6,1)	
G	133 (64,6)	142 (71,7)	0,136
A	73 (35,4)	56 (28,3)	
IL10RA rs9610			
AA	25 (24,3)	24 (24,2)	
AG	47 (45,6)	49 (49,5)	0,810
GG	31 (30,1)	26 (26,3)	
A	97 (47,1)	97 (49,0)	0,765
G	109 (52,9)	101 (51,0)	
IL22RA rs16829204			
CC	67 (65,0)	76 (76,8)	
CT	34 (33,0)	21 (21,2)	0,169
TT	2 (1,9)	2 (2,0)	
C	168 (81,6)	173 (87,4)	0,131
T	38 (18,4)	25 (12,6)	
IL22RA rs3795299			
CC	12 (11,7)	17 (17,2)	
GC	47 (45,6)	44 (44,4)	0,517
GG	44 (42,7)	38 (38,4)	
C	71 (34,5)	78 (39,4)	0,353
G	135 (65,5)	120 (60,6)	

* za nivo značajnosti 0,05 prema Hi-kvadrat testu

Učinjena je i analiza haplotipova *IL10RA* (rs10892202, rs4252270, rs3135932, rs2228055, rs2229113, rs9610), *IL10RB* (rs999788, rs2834167, rs1058867) i *IL22RA* (rs16829204, rs3795299). Prilikom analize svih ispitanika (SEL i kontrolna grupa, N=202) uočen je blok haplotipa *IL10RA*. Kod ispitanika sa SEL uočen je blok haplotipa između rs10892202 i rs4252270 ($D'=1$, $r^2=1$) i između polimorfizama rs22296110 i rs9610 ($D'=0.98$, $r^2=0,42$). Takođe, u kontrolnoj grupi nađen je blok haplotipa između polimorfizma rs10892202 i rs4252270 ($D'=1$, $r^2=1$). Nije nađena značajna razlika u učestalosti sledećih haplotipova između SLE ispitanika i onih u kontrolnoj grupi: GCAAGA (47,1% vs 48,4%), GCAAAG (19% vs 17,2%), GCGAAG (16,4% vs 10,6%), CTAAGG (7,3% vs 9,1%), GCAGGG (5,3% vs 7,6%) i GCAAGG (4,3% vs 6,6%).

Analiza haplotipova za *IL10RB* je pokazala blok haplotipa između rs999788 i rs2834167 polimorfizama u SLE ispitanika. Vrednosti D' i r^2 su prikazane na Grafikonu 4. Učestalost haplotipova CAA, CAG, TGA, TGG, CGA i CGG u SLE ispitanika je bila redom 42,7%, 30,1%, 12,2%, 7,2%, 6,3%, 1,1%, u kontrolnoj grupi 39,4%, 30,7%, 12,5%, 7,6%, 4,5%, 4,2%, 1,1%. *IL10RB* CAA haplotip je značajno češće bio prisutan u SLE ispitanika nego u kontrolnoj grupi (42,7% vs 30,7%, $p=0,027$).



Grafikon 4. Šematski prikaz LD (linkage disequilibrium) sa predstavljanim D' (normalizovani LD koeficijent) i r^2 (koeficijent korelacije) vrednostima (u procentima, redom) među analiziranim polimorfizama gena za *IL10RB* (rs999788, rs2834167, rs1058867) kod obolelih od SLE (a,b) i u kontrolnoj grupi (c,d). Legenda: Odnos boja na grafiku koje predstavljaju vrednosti D' : Intenzivno crevena boja odgovara vrednostima $D'=100\%$, pri vrednosti $LOD>2$, smanjivanje inteziteta crvene boje odgovara smanjivanju vrednosti D' . Odnos boja na grafiku koje predstavljaju vrednosti r^2 : Pri vrednosti $r^2=100\%$ polja su prebojena crnom bojom, smanjivanje inteziteta crne boje odgovara smanjivanju vrednosti r^2 .

Nije uočen blok haplotipa između *IL22RA* polimorfizama (rs16829204, rs3795299; $D'=0,8$, $r^2=0,07$). Učestalosti haplotipova GC, CC, GT i CT u SLE ispitanika su bile 49,3%, 32,2%, 16,2% and 2,2%, redom, a u kontrolnoj grupi učestalost haplotipova GC, CC i GT je iznosila redom 48%, 39,4%, i 12,6%. Nije postojala statistički značajna razlika u učestalosti ovih haplotipova između SLE ispitanika i onih u kontrolnoj grupi.

4.5 Udruženost markera EBV infekcije i polimorfizama gena za *IL10RA*, *IL10RB* i *IL22RA* receptore sa SEL

U univarijantnoj analizi prisustvo anti-VCA IgM, anti-EA(D) IgG, i anti-EA(D) IgM antitela, kao i viši titar anti-VCA IgM i anti-EA(D) IgG antitela, aktivna EBV infekcija i prisutvo G alela *IL10RB* rs1058867 su bili potencijalno udruženi sa SEL. Međutim u multivarijantnom regresionom modelu samo prisustvo anti-EA(D) IgG antitela ($OR=14,144$, 95%CI $OR=1,21-164,72$, $p=0,034$) je bio nezavisan faktor udružen sa SEL. Ispitanici koji su imali pozitivna anti-EA(D) IgG antitela imali su čak 14 puta veću verovatnoću da imaju SEL (Tabela 9.).

Tabela 9. Virusološki i genski faktori udruženi sa SEL

Prediktor	Univarijantna regresija		logistička	Multivarijantna regresija		logistička
	OR	95% CI OR	p*	OR	95% CI OR	p*
Anti-VCA IgM pozitivnost	10,805	3,15-37,05	<0,001			
Anti-VCA IgM titar	3,914	1,79-8,57	0,001			
Anti-EBV-EA(D) IgG pozitivnost	9,676	3,60-25,98	<0,001	14,144	1,21-164,72	0,034
Anti-EBV-EA(D) IgG titar	1,030	1,01-1,05	<0,001			
Anti-EBV-EA(D) IgM pozitivnost	3,090	1,30-7,32	0,010			
Aktivna EBV infekcija	7,087	3,22-15,61	<0,001			
IL10RB rs1058867 alel G	0,690	0,51-0,94	0,018			

*za nivo značajnosti 0,05

4.6 Uticaj EBV infekcije na kliničke manifestacije i aktivnost SEL

Pacijenti sa aktivnom EBV infekcijom imali su značajno viši ukupni serumski IgG ($p=0,041$) i CRP ($p=0,012$), kao i značajno češće pozitivan RF (32% vs. 11%, $p=0,015$) (Tabela 10.). Takođe, SLE ispitanici sa aktivnom EBV infekcijom su značajno češće koristili neki od imunosupresivnih lekova (azatioprin, metotreksat, mikofenolat mofetil, ciklofosfamid) (37% vs 19%, $P=0,047$), ali se nisu razlikovali u odnosu na učestalost primene kortikosteroida.

Tabela 10. Analiza udruženosti kliničkih i laboratorijskih manifestacija SEL i statusa EBV infekcije

Karakteristika, n (%)	Aktivna EBV infekcija n=43	Latentna EBV infekcija n=60	p*
Kožne manifestacije	14 (32,6)	19 (31,7)	0,924
Alopecija	15 (34,9)	25 (41,7)	0,486
Mukozalne ulceracije	7 (16,3)	5 (8,3)	0,215
Lupus nefritis	6 (14,0)	9 (15,0)	0,882
Tenosinovitis	13 (30,2)	17 (28,3)	0,834
Artritis	15 (34,9)	18 (30,0)	0,600
Leukopenija	6 (14,0)	8 (13,3)	0,928
Neutropenija	4 (10,0)	9 (15,3)	0,448
Limfopenija	20 (48,8)	30 (50,8)	0,839
Trombocitopenija	5 (11,6)	6 (10,2)	0,815
Pozitivna anti-dsDNK	10 (23,3)	20 (33,3)	0,267
Pozitivna aCL IgG	6 (14,6)	9 (15,3)	0,932
Pozitivna aCL IgM	7 (17,1)	7 (11,9)	0,460
Pozitivna anti-SSA	20 (46,5)	23 (41,1)	0,588
Pozitivna anti-Sm	8 (19,0)	14 (23,7)	0,574
Pozitivan RF	13 (31,7)	6 (11,3)	0,015
Snižen C3 i/ili C4	25 (58,1)	34 (56,7)	0,882

*za nivo značajnosti 0,05

Status EBV infekcije nije bio udružen sa aktivnošću lupusa bez obzira na primenjeni instrument merenja (SLEDAI2K $p=0,691$, serološki SLEDAI2K $p=0,689$, klinički SLEDAI2K $p=0,770$, PGA $p=0,806$, LFA-REAL Clin RO $p=0,513$). Takođe, nije utvrđena značajna razlika u stepenu zamora procenjenim FACIT-F skalom u zavisnosti od statusa EBV infekcije ($p=0,190$).

Ispitanici sa SEL kod kojih je dokazano prisustvo EBNA1 gena značajno su češće imali lupus nefritis (36% vs. 12%, $p=0,030$) i limfopeniju (80% vs. 47%, $p=0,047$). Poređenjem ostalih manifestacija SEL (kliničkih i imunoloških) i primenjene terapije nije uočena značajna razlika u odnosu na prisustvo EBNA1 gena.

Udruženost anti-EBV antitela sa kliničkim manifestacijama i aktivnošću SEL smo ispitali primenom regresione analize. Nijedan od ispitivanih seroloških markera EBV infekcije nije bio udružen sa prisustvom kožnih manifestacija, artritisa, mukozalnih ulceracija, lupus nefritisa, leukopenije i aktivnosti SEL. Viši titar anti-VCA IgG antitela je bio prediktor alopecije kod ispitanika sa SEL (OR=1,018, 95%CI OR=1,00-1,04, $p=0,046$) (Tabela 11).

Tabela 11. Faktori udruženi sa alopecijom

Prediktor	Univarijantna regresija		logistička	Multivarijantna regresija		logistička
	OR	95% CI	OR	OR	95% CI	OR
Anti-VCA IgG titar	1,020	1,01-1,04	0,018	1,018	1,00-1,04	0,046

*za nivo značajnosti 0,05

U univarijantnoj regresiji viši titar anti-EBV-EA(D) IgG i niži titar anti-EBV-EA(D) IgM antitela bili su udruženi sa limfopenijom. U multivarijantnom regresionom modelu samo viši titar anti-EBV-EA(D) IgG antitela je bio prediktor limfopenije (OR=1,040, 95%CI OR=1,01-1,08, p=0,032) (Tabela 12).

Tabela 12. Faktori udruženi sa limfopenijom

Prediktor	Univarijantna regresija		logistička	Multivarijantna regresija		logistička
	OR	95% CI	OR	OR	95% CI	OR
Anti-EA(D) IgG titar	1,012	1,01-1,02	0,011	1,040	1,01-1,08	0,032
Anti-(D) IgM titar	0,537	0,31-0,92	0,023			

*za nivo značajnosti 0,05

Viši titar anti-VCA IgM antitela je u univarijantnoj regresiji bio potencijalno udružen sa prisustvom trombocitopenije (OR=1,653, 95%CI OR=1,01-2,71, p=0,046), ali u modelu multivarijante regresije ova udruženost nije potvrđena.

Analizirali smo da li titar anti-EBV antitela korelira sa odabranim laboratorijskim parametrima, aktivnošću SEL i stepenom zamora. Titar anti-EA(D) IgG pokazao je statistički značajnu blagu korelaciju sa vrednostima CRP ($\rho=0,231$, $p=0,023$), brojem leukocita ($\rho=0,218$, $p=0,028$) i limfocita ($\rho=0,197$, $p=0,049$). Nije nađena korelacija anti-EBV antitela i ostalih odabranih laboratorijskih parametara (CRP, SE, broj leukocita, neutrofila, limfocita, trombocita, NRL). U odnosu na parametre aktivnosti lupusa, nađena je statistički značajna ali blaga korelacija SLEDAI2K i serološkog SLEDAI2K sa titrom anti-EA(D) IgG antitela ($\rho=0,198$, $p=0,045$; $\rho=0,207$, $p=0,036$, redom). Nije utvrđena korelacija ostalih parametara aktivnosti lupusa (PGA, LFA Clin Ro A), kao ni FACIT-F skora sa titrom anti-EBV antitela.

4.7 Udruženost seroloških markera EBV infekcije i imunoseroloških markera SEL

Analizirali smo da li titar anti-EBV antitela korelira sa titrom ANA i anti-dsDNK antitela, kao i sa koncentracijom anti-Sm, anti-SSA, aCL IgM, aCL IgG, RF i ukupnim serumskim IgG. Statistički značajna pozitivna umerena korelacija nađena je između titra anti-VCA IgM antitela i

RF, dok su ostale statistički značajne korelacije bile blagog stepena. U Tabeli 13. su prikazani rezultati Spirmanove korelacije.

Tabela 13. Korelacija anti-EBV antitela i odabranih imunoloških parametara SEL

Varijabla	anti-EBNA1	anti-VCA IgG	anti-VCA IgM	anti-EA(D) IgG	anti-EA(D) IgM
rho, p					
ANA	0,519, 0,102	0,664, 0,102	0,139, 0,102	0,194, 0,051	0,006, 0,955
dsDNK	0,923, 0,103	0,691, 0,103	0,230, 0,130	0,091, 0,359	-0,014, 0,886
Sm	0,007, 0,941	-0,046, 0,651	0,169, 0,090	0,133, 0,185	0,098, 0,332
SSA	0,147, 0,147	0,066, 0,516	0,016, 0,873	0,061, 0,552	-0,015, 0,881
aCL IgG	-0,161, 0,109	0,042, 0,687	0,094, 0,353	0,261, 0,009	0,083, 0,414
aCL IgM	-0,168, 0,096	0,185, 0,066	0,165, 0,100	-0,005, 0,959	0,168, 0,094
RF	0,016, 0,876	0,167, 0,109	0,355, <0,001	0,208, 0,044	-0,078, 0,453
C3	0,526, 0,103	-0,021, 0,831	0,083, 0,402	-0,231, 0,019	0,101, 0,103
C4	0,200, 0,103	0,006, 0,950	-0,084, 0,401	0,077, 0,440	0,017, 0,863
uk.IgG	0,065, 0,518	-0,094, 0,353	0,254, 0,011	0,210, 0,036	0,198, 0,048

*za nivo značajnosti 0,05

4.8 Povezanost analiziranih polimorfizama gena za *IL10RA*, *IL10RB* i *IL22RA0* receptore sa manifestacijama SEL

Analizirali smo povezanost prisustva polimorfizama gena *IL10RA*, *IL10RB* i *IL22RA* sa glavnim kliničkim i imunološkim karakteristikama ispitanika sa SEL, kao i u odnosu na postojanje najčešćih pridruženih autoimunih bolesti – Sjogrenovog sindroma i Hashimoto thyroiditisa (HT). Značajna udruženost nađena je pre svega sa hematološkim manifestacijama SEL. U univarijantnoj logističkoj regresionoj analizi nađeno da je ispitanici sa SEL koji su nosioci *IL22RA* rs3795299 G alela imaju 4,5 puta veću šansu da razviju neku od hematoloških manifestacija SEL, i 3,8 puta veću šansu za pojavu limfopenije. Nosioci *IL10RA* rs10892202 C alela i *IL10RA* rs4252270 T alela imali su skoro 11,6 puta veću šansu za pojavu autoimune hemolizne anemije. Takođe, nađena je značajna udruženost sa kožnim manifestacijama SEL, i to sa pojavom malarnog raša. Nosioci *IL10RA* rs10892202 GG genotipa i *IL10RA* rs4252270 CC genotipa imali su 4,4 puta veću šansu pojave malarnog raša. U Tabeli 14. prikazani su one rezultate univarijantne regresione analize koji su pokazali statistički značajnu udruženost sa ispitivanim polimorfizmima.

Tabela 14. Povezanost polimorfizama gena za *IL10RA*, *IL10RB* i *IL22RA* receptore sa manifestacijama SEL

Manifestacija	Prediktor	Univarijantna logistička regresija		
		OR	95% CI OR	P*
Sjogrenov sindrom	rs3135932 AA genotip	2,74	1,048-7,176	0,036
	rs3795299 CC genotip	3,87	1,080-13,869	0,029
Hashimoto thyroiditis	rs9610 GG genotip	3,22	1,106-9,382	0,027
	rs3795299 C alel	4,35	1,165-16,238	0,002
	rs16829204 CC genotip	5,0	1,074-23,274	0,026
Fotosenzitivnost	rs2229113 GG genotip	2,60	1,024-6,605	0,041
Malarni raš	rs10892202 GG genotip	4,37	1,268-15,091	0,019
	rs4252270 CC genotip	4,375	1,268-15,091	0,013
	rs999788 CC genotip	2,3	1,007-5,251	0,046
	rs2834167 AA genotip	2,61	1,161-5,886	0,019
	rs9610 G alel	3,6	0,947-13,679	0,048
Hematološki poremećaji**	rs3795299 G alel	4,53	1,302-15,785	0,018
Limfopenija	rs3795299 G alel	3,85	0,975-15,168	0,042
Hemolizna anemija	rs10892202 C alel	11,591	1,740-77,203	0,018
	rs4252270 T allele	11,591	1,740-77,203	0,018
	rs3795299 GG genotip	NP	NP	0,014
Alopecija	rs9610 A alel	2,9	1,110-7,585	0,026
Neuropsihijatrijske manifestacije***	rs1058867 AA genotip	NP	NP****	0,011
Anti-Sm antitela	rs16829204 T alel	1,64	1,014-2,640	0,040

*za nivo značajnosti 0.05; **leukopenija i/ili limfopenija i/ili autoimuna hemolizna anemija i/ili trombocitopenija; ***epilepsija i/ili psihoza i/ili mononeuropatija i/ili polineuropatija; ****NP-nije primenljivo

U odnosu na postojanje pridruženog Sjogrenovog sindroma, ispitanici koji su nosioci *IL10RA* rs3135932 AA genotipa i *IL22A* rs3795299 CC genotipa imali su 2,7 odnosno 3,9 puta veću šansu pridruženog Sjogrenovog sindroma. Hashimoto thyroiditis je jedna najčešćih organ-

specifičnih autoimunskih bolesti značajno je češće prisutan kod obolelih od SEL u odnosu na opštu populaciju, pri čemu se pretpostavlja značajan uticaj genetičkih faktora (176). U našem ispitivanju, ispitanici sa SEL nosioci *IL10RA* rs9610 GG genotipa, *IL22RA* rs3795299 C alela i *IL22RA* rs16829204 CC genotipa imali su redom 3,2, 4,3 i 5 puta veću šansu pridruženog HT. Dodatno, analizom povezanosti između rs16829204, rs3795299 i HT u obe grupe ispitanika (SEL i kontrolna grupa, n=202) potvrđeno je da nosioci rs16829204 CC genotipa imaju značajno češće HT u odnosu na nosioce T alela (20,4% vs 5,1%, OR=4,79, 95%CI OR=1,399-16,407, p=0,007), a nosioci rs3795299 C alela značajno češće u odnosu na nosioce GG genotipa (23,5% vs 4,9%, OR=6,0, 95%CI OR=2,016-17,853, p<0,001). Ova povezanost ostaje značajna i nakon primene multivarijantne regresione analize.

Analiza haplotipova je pokazala da *IL10RA* GCGAAG haplotip značajno češći kod SLE ispitanika bez pridruženog SS (21,9% vs 7%, p=0,007). Takođe, SEL ispitanici bez pridruženog HT imali su značajno češće *IL10RA* GCAAGA i *IL22RA* GT haplotipove u odnosu na one sa pridruženim HT (50,6% vs 29,4%, p=0,024 i 19,6% vs 0%, p=0,016, redom). S druge strane, SEL ispitanici sa pridruženim HT imali češće *IL22RA* CC haplotip (44,1% vs 29,4%, p=0,047). Analiza učestalosti haplotipova u odnosu na kliničke manifestacije pokazala je udruženost sa mukokutanim manifestacijama. Ispitanici sa malarnim rašem ređe su imali *IL10RA* CTAAGG, *IL10RB* TGG i *IL22RA* GC haplotipove (p=0,009, p=0,031, p=0,049, redom), dok je *IL10RA* GCAAGA haplotip bio češći u ispitanika sa alopecijom (56,2% vs 41,3%, p=0,036). Oralne ulceracije češće su bile prisutne kod ispitanika sa *IL10RB* CAA haplotipom (54,3% vs 38,9%, p=0,038). *IL10RB* CGA haplotip je bio udružen sa prisustvom trombocitopenije (12,5% vs 4,3%, p=0,045) i lupus nefritisa (13,0% vs 4,2%, p=0,030). S druge strane, ovaj haplotip je bio protektivan u odnosu na postojanje artritisa (20% vs 4,8%, p=0,008).

4.9 Analiza markera EBV infekcije u pacijenata sa aktivnim SEL tokom perioda praćenja

U grupi ispitanika sa SEL 51 ispitanik je imao aktivnu formu bolesti. Ovi ispitanici su praćeni tokom perioda od šest meseci. Dva pacijenta su preminula pa je konačna analiza obuhvatila 49 ispitanika. Najčešće kliničke manifestacije u ovoj podgrupi bile su mukokutane (78%), mišićno-skeletne (74%) i hematološke (69%), koje su se nakon šest meseci i primene odgovarajuće terapije značajno redukovale ili u potpunosti povukle. Zabeleženo je značajno smanjenje vrednosti svih primenjivanih skorova i indeksa aktivnosti SEL (SLEDAI 2K, PGA, LFA Clin RO) nakon šest meseci (p<0,001 za sva tri skora). Prosečna redukcija SLEDAI 2K skora je iznosila 6,0 (0-29), PGA skora za 0,81 (0,06-2,28). Ukupni SLEDAI 2K skor ≤ 4 je postiglo 55,1%, a PGA skor ≤ 1 75,5% ispitanika. Doza prednizona je redukovana na ≤ 10 mg u 54,3% ispitanika, a prosečna redukcija doze iznosila je 17,62 (0-65) mg. Zabeležen je međutim značajan porast indeksa oštećenja SLICC/ACR DI (0,82 vs 0,89, p=0,003). U Tabeli 15. su prikazane glavne kliničke, laboratorijske i terapijske karakteristike ispitanika sa aktivnim SEL tokom perioda praćenja.

Tabela 15. Karakteristike ispitanika sa aktivnim SEL tokom perioda praćenja

Karakteristika	Inicijalna evaluacija	Nakon šest meseci	p*
Klinička manifestacija, n (%)			
Kožne manifestacije	28 (54,9)	15 (30,6)	0,001
Artritis	32 (62,7)	13 (27,1)	<0,001
Broj otečenih i bolnih zglobova, med (min-max)	5,82 (0-23)	1,29 (0-15)	<0,001
Tenosinovitis	29 (56,9)	7 (14,3)	<0,001
Mukozalne ulceracije	11 (21,6)	2 (4,2)	0,021
Alopecija	29 (56,9)	16 (32,7)	<0,001
Serozitis	3 (5,9)	0	1,000
Aktivni lupus nefritis	15 (29,4)	6 (12,5)	0,004
Aktivni NPSLE	3 (5,9)	0 (0)	1,000
Leukopenija	11 (21,6)	5 (10,2)	0,180
Neutropenija	9 (18,8)	6 (12,5)	0,727
Limfopenija	33 (67,3)	27 (56,3)	0,180
Trombocitopenija	8 (15,7)	4 (8,2)	0,125
Imunološki parametri			
ANA titar	640 (80-640)	640 (80-640)	0,185
anti-ds DNA pozitivnost	19 (37,3)	17 (35,4)	1,000
anti-SSA pozitivnost	27 (54,0)	11 (73,3)	0,500
anti-Sm pozitivnost	19 (37,3)	5 (35,7)	0,250
aCL IgM pozitivnost	7 (14,0)	2 (8,0)	0,250
aCL IgG pozitivnost	8 (16,0)	3 (12,0)	0,289
snižen C3 and/or C4	39 (79,6)	20 (40,8)	<0,001
C3 (g/l)	0,71 (0,1-1,4)	0,86 (0,29-1,43)	0,002
C4 (g/l)	0,12 (0,02-0,87)	0,15 (0,02-2,40)	<0,001
RF pozitivnost	13 (27,7)	5 (10,6)	0,227
IgG (g/l)	15,09 (4,4-31,6)	13,06 (4,5-22,3)	0,054
Markeri zapaljenja			
SE (mm/h)	40,38 (4-125)	20,52 (2-90)	0,01
CRP (mg/L)	4,04 (0,2-87,5)	2,20 (0,01-41,6)	0,039
Aktivnost SEL			
SLEDAI 2K	11,14 (6-29)	4,84 (0-16)	<0,001
klinički SLEDAI 2K	8,67 (4-25)	3,25 (0-12)	<0,001
PGA	1,42 (0,75-2,34)	0,65 (0-1,86)	<0,001
LFA Real Clin RO	117,2 (36-248)	54,09 (0-241)	p<0,001
Terapija SEL			
Prednizon (dnevna doza mg)	26,4 (0-80)	12,3 (2,5-30)	0,001
Imunosupresivna terapija (AZA, MTX, MMF, CYC)*	16 (31,7)	30 (63,8)	<0,001
Pulsna kortikosteroidna terapija	11 (22)	2 (4,1)	0,012

*za nivo značajnosti 0,05; Skraćenice: RF – reumatoidni faktor, AZA – azatioprin, MTX – metotreksat, MMF – mikofenolat mofetil, CYC – ciklofosfamid, SE – sedimentacija, CRP – C-reaktivni protein, NLR – odnos neutrofila prema limfocitima

Prilikom uključivanja u ispitivanje, aktivnu EBV infekciju je imalo 45% ispitanika sa aktivnim SEL, od koji je u 77% slučajeva nastala latentna EBV infekcija nakon šest meseci ($p < 0,001$). Od ukupno 24 ispitanika koju su na inicijalnom testiranju imali aktivnu EBV infekciju, samo pet je i dalje bilo aktivno nakon šest meseci, a tri pacijenta sa inicijalno znacima latentne EBV infekcije su nakon šest meseci prešli u aktivnu EBV infekciju (Tabela 16.). Na prelazak iz aktivne u latentnu EBV infekciju nije uticala primenjena terapija (doza prednizona, pulsna kortikosteroidna terapija, primena imunosupresiva), niti prisustvo pridruženih autoimunskih bolesti (Sjogrenovog sindroma, antifosfolipidnog sindroma, autoimunog tiroiditisa).

Tabela 16. Promena statusa infekcije EBV nakon šest meseci u grupi ispitanika sa aktivnim SEL

Status EBV infekcije, n (%)	Aktivna inicijalno (n=22)	Latentna inicijalno (n=27)
Aktivna posle 6 meseci (n=8)	5 (22,7)	3 (11,1)
Latentna posle 6 meseci (n=41)	17 (77,3)	24 (88,9)

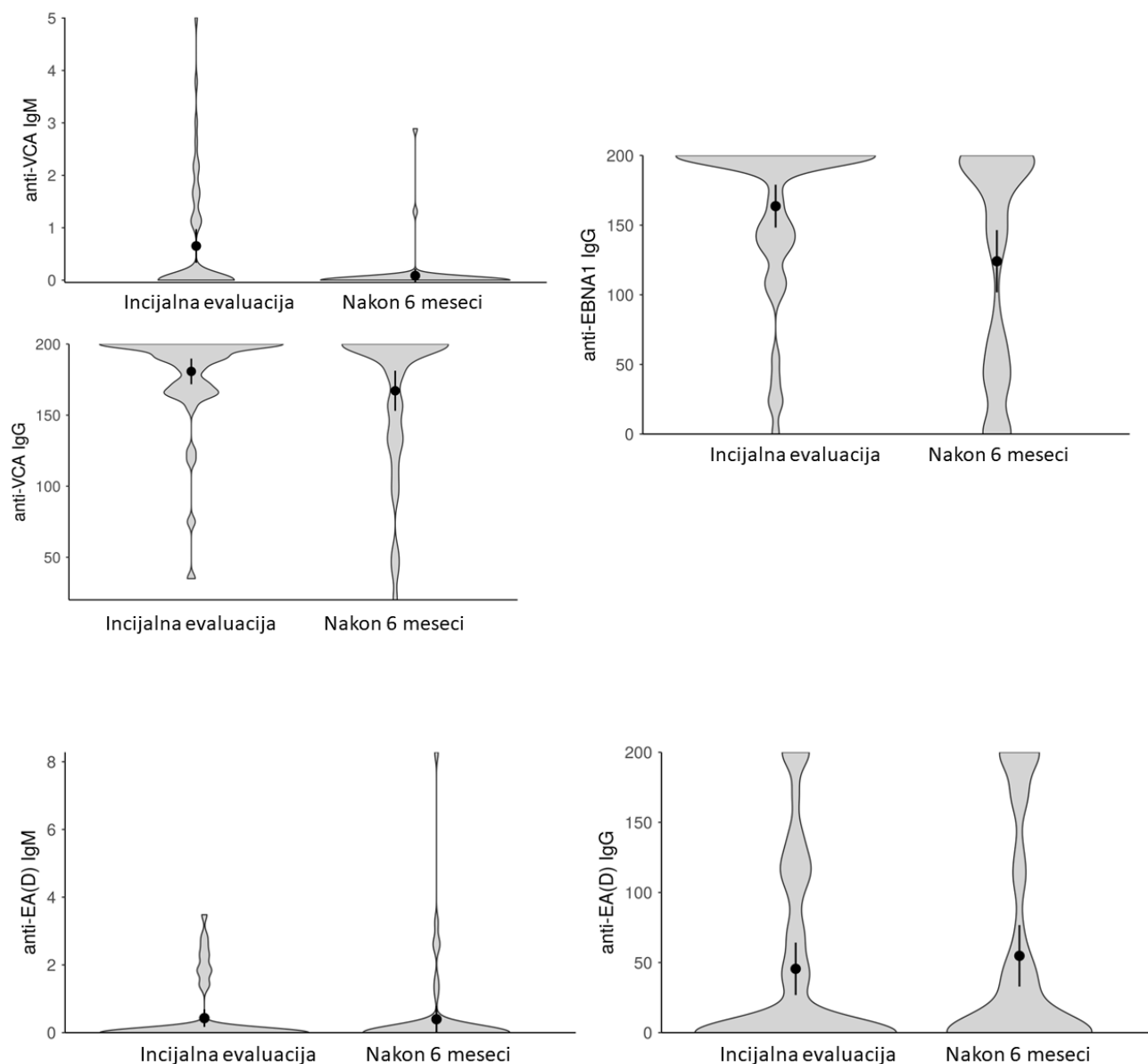
Virusna DNK (EBNA 1 i/ili LMP1) je bila pozitivna kod 9/51 (17,6%) ispitanika inicijalno. Među uzorcima je bilo 8 (15,7%) koji su bili pozitivni za EBNA1 gen, a 5 (9,8%) je bilo pozitivno za LMP1 gen. Kod samo jednog pacijenta koji je inicijalno bio pozitivan za EBNA1 gen, pozitivnost se održala i nakon šest meseci ($p = 0,219$), a jedan pacijent je postao de novo pozitivan. Svi uzorci koji su inicijalno bili pozitivni za LMP1 gen, bili su negativni nakon šest meseci.

Nakon šest meseci kod ispitanika su zabeležene promene u seroprevalenci i titru pojedinih anti-EBV antitela. Seroprevalenca anti-EBNA1 IgG i anti-VCA IgM antitela se značajno smanjila nakon šest meseci (Tabela 17.). Od ukupno 10 ispitanika koji su inicijalno imali anti-EA(D) IgM antitela, dva su i dalje bila pozitivna, a četiri ispitanika koja su na prvom testiranju bila negativna, postali su pozitivni za anti-EA(D) IgM antitela nakon šest meseci. Poređenje titra anti-EBV antitela pokazalo je značajnu redukciju titra anti-EBNA1 IgG ($p < 0,001$) i anti-VCA IgM ($p = 0,001$), kao i značajan porast titra anti-EA(D) IgG ($p = 0,043$) antitela. Nije bilo značajne razlike u titru anti-EA(D) IgM ($p = 0,778$) i anti-VCA IgG ($p = 0,093$) antitela (Grafikon 5.).

Tabela 17. Seroprevalenca anti-EBV antitela tokom perioda praćena ispitanika sa aktivnim SEL

N (%)	Inicijalna evaluacija	Nakon šest meseci	p *
anti-EBNA 1	50 (98)	42 (85,7)	$p = 0,031$
anti-VCA IgG	51 (100)	49 (100)	NP**
anti-VCA IgM	16 (31,4)	2 (4,1)	$p < 0,001$
anti-EAD IgG	21 (41,2)	24 (49,0)	$p = 0,227$
anti-EAD IgM	10 (19,6)	6 (12,2)	$p = 0,388$

*za nivo značajnosti 0,05; **NP -nije primenjivo



Grafikon 5. Promena titra anti-EBV antitela nakon 6 meseci praćenja ispitanika sa aktivnim lupusom

Potom smo analizirali dobijene rezultate u odnosu na postizanje remisije/LLDAS nakon šest meseci. Nije nađena značajna razlika u postizanju ($p=0,308$) u zavisnosti od prelaska iz aktivne u latentnu EBV infekciju. Dodatno nijedna od virusnih varijabli (seroloških ili molekularnih), niti njihova promena nakon šest meseci, nije bila udružena sa postizanjem remisije/LLDAS.

Dalja analiza obuhvatila je podgrupe ispitanika sa SEL u zavisnosti od kliničke prezentacije bolesti. U model logističke regresione analize uključene su laboratorijske, imunološke i virusološke varijable. U podgrupi ispitanika sa mukokutanom manifestacijama (alopecija, mukozalne ulceracije, kožne manifestacije), titar anti-EA(D) IgM antitela je bio nezavisan

prediktor remisije/LLDAS (OR=2,694, 95%CI OR=1,04-7,01, p=0,042). Analizom samo pacijenata sa kožnim manifestacijama leukopenija (OR=26,313, 95%CI OR 1,65-973,87, p=0,021) i prisustvo anti-EA(D) IgM antitela (OR=40,097, 95%CI OR=1,65-973,87, p=0,023) bili su nezavisni prediktori ulaska u remisiju/LLDAS. Prisustvo RF bilo je nezavisan prediktor remisije/LLDAS u podgrupi pacijenata sa alopecijom (OR=12,081, 95%CI OR=1,48-98,28, p=0,020). Rezultati univarijantne i multivarijante regresione analize su prikazani u Tabeli 18.

Analiza podgrupa ispitanika sa SEL sa mišićnoskeletnim i hematološkim manifestacijama, aktivnim lupus nefritisom, pozitivnim anti-dsDNA, anti-ENA, anti-Sm i anti-SSA autoantitelima nije ukazala na potencijalne faktore udružene sa postizanjem remisije/LLDAS.

Tabela 18. Faktori udruženi sa postizanjem remisije/LLDAS u ispitanika sa mukokutanim manifestacijama SEL

Faktori udruženi sa:	Univarijantna logistička regresija			Multivarijantna logistička regresija		
	OR	95%CI OR	p*	OR	95%CI OR	p*
Mukokutanim manifestacijama						
Anti-EBV-EA(D) IgM	2,875	1,12-7,38	0,028	2,694	1,04-7,01	0,042
Anti-EBV-EA(D) IgM pozitivnost	6,650	1,16-38,19	0,034			
RF	1,026	0,99-1,05	0,049	1,027	0,99-1,06	0,110
Kožnim manifestacijama						
Leukopenija	10,714	1,05-109,78	0,046	26,313	1,65-419,27	0,021
Anti-EBV-EA(D) IgM pozitivnost	10,714	1,05-109,78	0,046	40,097	1,65-973,87	0,023
Alopecijom						
Pušački status	0,143	0,02-0,83	0,031	0,242	0,03-1,96	0,184
RF pozitivnost	11,375	1,65-78,38	0,014	12,081	1,48-98,28	0,020
RF	1,057	1,01-1,11	0,019			

* - za nivo značajnosti 0,05

Analizirali smo da li su kliničke i imunoserološke karakteristike ispitanika sa SEL udružene sa prelaskom iz aktivne u latentnu EBV infekciju primenom modela regresione analize. Prisustvo limfopenije, viši titar ANA i pozitivna anti-dsDNA antitela bili su negativni, a prisustvo

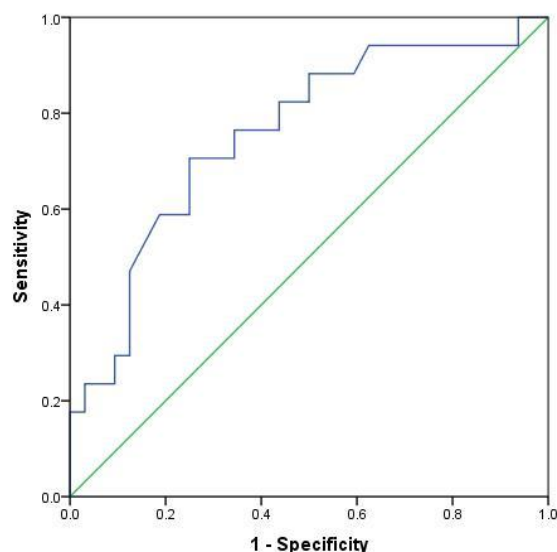
više koncentracije C3 pozitivni prediktori prelaska u latentnu EBV infekciju u univarijantnom modelu. Međutim, u multivarijantnoj regresionoj analizi, samo niži titar ANA i viša koncentracija C3 su bili nezavisni prediktori prelaska iz aktivne u latentnu EBV infekciju (RR=0,996, 95%CI RR=0,99-0,99, p=0,036; RR=36,441, 95%CI OR=2,48-536,32, p=0,027). U Tabeli 19. su prikazani rezultati univarijante i multivarijantne regresione analize.

Tabela 19. Prediktori prelaska iz aktivne u latentnu EBV infekciju u ispitanika sa SEL

Varijabla	Univarijantna logistička regresija			Multivarijantna logistička regresija Backward Wald metod 4 rd step		
	RR	CI 95%	p*	RR	CI 95%	p*
Limfopenija	0,227	0,06-0,83	0,025			
Hashimoto tiroiditis	6,042	1,03-35,55	0,047			
Broj leukocita	2,315	1,12-4,80	0,024			
ANA titar	0,996	0,99-0,99	0,019	0,996	0,99-0,99	0,036
Anti-dsDNA pozitivnost	0,214	0,05-0,89	0,034			
Koncentracija C3	36,441	2,48-536,32	0,009	26,954	1,45-500,34	0,027
Koncentracija RF	6,205	1,46-26,43	0,014			

* - za nivo značajnosti 0,05

Mogućnost primene koncentracije C3 u serumu kao markera prelaska iz aktivne u latentnu EBV infekciju analizirali smo primenom ROC (eng. receiver operating characteristics) krive. Površina ispod ROC krive za koncentraciju C3 u serumu iznosila 0,756 (p=0,003), što ukazuje da bi ovaj imunološki parameter mogao biti koristan marker u identifikaciji onih pacijenata sa aktivnim SEL koji će preći iz aktivne u latentnu EBV infekciju (Grafikon 6.). Nađena cut-off vrednost za C3 koncentraciju iznosila je 0,780 g/l (Sn=70,6%, Sp=75,0%).



Grafikon 6. Analiza ROC krive koncentracije C3 u serumu u diferenciranju prelaska iz aktivne u latentnu EBV infekciju

5. Diskusija

Uloga EBV u pokretanju autoimunosti kod genetski predisponiranih osoba je odavno prepoznata. Brojna saznanja upućuju na ulogu EBV kako u indukciji, tako i u progresiji i pogoršanju SEL. Dodatno, neadekvatna kontrola EBV infekcije usled imunske disregulacije u SEL, doprinosi čestim reaktivacijama virusa. Obzirom na složenost odnosa između EBV i domaćina, kao i raznolikosti rezultata dosadašnjih istraživanja, veza između reaktivacije virusa i SEL još uvek nije u potpunosti razjašnjena.

U ovoj prospektivnoj kohortnoj studiji sprovedena je detaljna evaluacija seroloških i molekularnih parametara EBV infekcije u ispitanika sa SEL, kao i uticaja genetičke osnove u nastanku i fenotipskoj ekspresiji SEL. Takođe, u cilju boljeg razumevanja odnosa reaktivacije EBV i aktivnosti SEL, kohorta ispitanika sa aktivnim SEL je praćena tokom perioda od šest meseci, tokom kojeg je učinjena detaljna evaluacija statusa EBV infekcije, uz analizu kliničkih, laboratorijskih i imunoloških parametara lupusa. Prema našim saznanjima, ovo je prva studija koja se prospektivno bavila sveobuhvatnom analizom uloge EBV infekcije u ispitanika sa SEL.

Obzirom na širok spektar kliničkih manifestacija i značajne varijacije u aktivnosti SEL najpre je učinjena analiza osnovnih demografskih, kliničkih i imunoloških karakteristika ispitanika. Takođe, u cilju boljeg definisanja aktivnosti bolesti primenili smo i međusobno uporedili nekoliko indeksa i skala za merenje aktivnosti SEL, uključujući i procenu aktivnosti bolesti i stepena zamora od strane samog pacijenta. U skadu sa podacima iz literature, najveći broj naših ispitanika (91,3%) su bile žene, a prosečna starost ispitanika iznosila je 45,42 ($\pm 12,9$) godina (1,177). Najveći broj ispitanika ispunio je šest ACR kriterijuma za klasifikaciju SEL, i imao je trajanje bolesti od 5 godina. Skoro 38% ispitanika je imalo pridružen Sjogrenov sindrom, a 9% sekundarni antifosfolipidni sindrom. Učestalost Sjogrenovog sindroma u naših ispitanika sa SEL viša je u odnosu na druge populacije u kojima je zabeležena učestalost Sjogrenovog sindroma 14 - 17,8% (178,179). S druge strane, zabeležili smo manju učestalost sekundarnog antifosfolipidnog sindroma u odnosu na druge populacije u kojima je učestalost 11,9-23,1% (180). Čak 60% ispitanika su bili pušači, što je značajno više nego u drugim ispitivanim populacijama (181,182). Imajuću u vidu da je nekoliko istraživanja, uključujući i meta-analizu iz 2020. godine pokazalo da pušenje povećava rizik od nastanka SEL (OR 1,54, 95% CI 1,06–2,25), ali utiče i na tok bolesti i odgovor na terapiju, neophodno je savetovanje o štetnosti pušenja implementirati u svakodnevnu praksu u radu sa pacijentima sa SEL (183,184). U odnosu na aktuelnu kliničku prezentaciju bolesti, najčešće ispoljene manifestacije su bile limfopenija (50%), alopecija (38,8%), kožne manifestacije lupusa (32%), artritis/artralgijske (32%) i leukopenija (32%). Samo jedan ispitanik imao je ispoljenu klinički sliku neuropsihijatrijskog lupusa, dok je 14,6% ispitanika imalo aktivan lupus nefritis. Nijedan ispitanik nije imao ispoljenu kliničku sliku autoimune hemolizne anemije. Ovi rezultati su u skladu sa podacima iz literature za osobe bele rase koji pokazuju da su kožno-zglobne i hematološke manifestacije lupusa jedne od najčešćih u pacijenata sa SEL (8,35,180,185). Analiza imunoseroloških karakteristika pokazala je da su anti-SSA (43%) i anti-

dsDNA (29%) antitela najzastupljenija u naših ispitanika sa lupusom, dok su nešto ređe registrovana anti-Sm (21%), RF (20%) i antifosfolipidna antitela (7-14%). Više od polovine ispitanika imalo je snižene vrednosti C3 i/ili C4. Pri tome, ispitanici sa aktivnim lupusom češće su imali pozitivna anti-dsDNA, anti-Sm, RF, i značajno nižu koncentraciju C3 i C4. Dok je učestalost većine imunoseroloških pokazatelja u skladu sa literaturnim podacima, nije u potpunosti jasna niska učestalost antifosfolipidnih antitela (186). Naime, veći broj ispitivanja pokazao je učestalost antifosfolipidnih antitela od 30 do 40% (187). Moguće objašnjenje ovakvog rezultata može biti različitoj u genetičkoj osnovi ali i činjenica da nismo određivali prisustvo lupus antikoagulansa. Takođe, analiza je obuhvatila samo jedan uzorak krvi, ali ne i prisustvo antifosfolipidnih antitela bilo kada tokom trajanja bolesti.

Premda postoji više instrumenata za utvrđivanje aktivnosti SEL, svaki od njih pokazuje izvesna ograničenja. Jedan od najčešće korišćenih indeksa, kako u praksi, tako i u kliničkim studijama – SLEDAI-2K, premda relativno jednostavan za primenu, ne obuhvata sva kliničke manifestacije bolesti, ne podrazumeva stepenovanje težine neke manifestacije, i manje je senzitivna na promenu tokom vremena. Globalna ocena lekara obuhvata procenu svih manifestacija koje lekar smatra da su nastale usled aktivnosti lupusa, ali u svakodnevnoj praksi pokazuje značajne varijacije u zavisnosti od edukacije procenjivača i ne može da da podatak o promenama u pojedinačnim organima i organskim sistemima (99). Novorazvijeni LFA-REAL sistem koji obuhvata ne samo procenu aktivnosti od strane lekara, već i viđenje aktivnosti lupusa od strane samih pacijenata, prevazilazi mnoge nedostatke ovih i drugih instrumenata za procenu aktivnosti lupusa. Prednosti ovog sistema su relativna jednostavnost primene koja ne zahteva posebnu obuku procenjivača i mogućnost sagledavanja aktivnosti i njenog stepenovanja u svakom zahvaćenom domenu. Ovaj sistem je po prvi put primenjen u proceni aktivnosti SEL u našoj zemlji. Našli smo značajnu jaku pozitivnu korelaciju LFA-REAL Clin RO sa ostalim indeksima: SLEDAI-2K, kliničkim SLEDAI-2K i PGA ($\rho=0,836$, $p<0,001$; $\rho=0,879$, $p>0,001$; $\rho=0,947$, $p>0,01$, redom). Prema rezultatima istraživanja sprovedenog u Peruanskoj Almenara kohorti pacijenata sa SEL nađena je umerena do jaka pozitivna korelacija svih navedenih indeksa, pri čemu je, slično kao u našem ispitivanju najbolja korelacija nađena sa PGA (99). Ovo je donekle i očekivan rezultat obzirom da se i LFA-REAL sistem i PGA zasnivaju na vizuelno-analognom skali. Međutim, jednako je važna i dobra korelacija sa SLEDAI-2K indeksom koji je još uvek najčešće primenjivan indeks aktivnosti lupusa. Može se zaključiti da LFA-REAL Clin RO predstavlja novi koristan instrument potreban u boljem sagledavanju aktivnosti SEL u našoj populaciji. Tokom prethodnih decenija razvijani su različiti načini za sagledavanje ishoda bolesti od strane samog pacijenta. Većina je pokazala vrlo slabu korelaciju sa ishodima koje procenjuju lekari. Da li je ovakav nalaz posledica neslaganja lekara i pacijenta u proceni težine pojedinačnog simptoma ili se pacijenti fokusiraju na druge aspekte bolesti od onih koje lekari smatraju relevantnim nije u potpunosti jasno. LFA-REAL sistem obuhvata i LFA-REAL PRO koji je koncipiran na sličan način kao i skala koju ocenjuje lekar. Tako je domen zglobnih manifestacija podeljen na tri poddomena (bolovi, oticanje, ukočenost) koji se prvo ocenjuju, a tek potom daje globalna procena domena zglobnih manifestacija. Ovakva koncepcija istovremeno edukuje pacijenta da zglobne manifestacije sagledava slično lekaru, a u slučaju neslaganja omogućava da se brzo uoči koji aspekt ove manifestacije pacijent drugačije procenjuje. Primenom ovog instrumenta u naših ispitanika uočili smo značajnu slabu do umerenu korelaciju sa LFA-REAL Clin Ro, SLEDAI-2K, kliničkim SLEDAI-2K i PGA. Slično ispitivanje sprovedeno u Peruanskoj Almenara kohorti pacijenata sa SEL pokazalo je slabu korelaciju LFA-REAL PRO sa indeksima koje ocenjuje lekar (99). Detaljnijom analizom i podelom pacijenata u odnosu na aktivnost SLE prema

vrednostima SLEDAI-2K, autori su pokazali da se korelacija održava samo u grupi pacijenata kod kojih je SLE u remisiji (SLEDAI-2K =0). Nameće se zaključak da je percepcija čak i istih simptoma lupusa od strane lekara i pacijenta drugačija, te da je potrebno sagledati oba stanovišta. To je posebno važno kada su u pitanju manifestacije koje lekar teško može proceniti kao što je zamor. Zamor je česta manifestacija SLE, ne samo tokom aktivne faze bolesti, već je prisutan i kod značajnog broja pacijenata kod kojih prema proceni lekara bolest u remisiji ili LLDAS. Pored procene stepena zamora u okviru LFA-REAL PRO gde je zamor predstavljen zasebnim poddomenom, primenili smo i poseban instrument za procenu zamora validiran za primenu u pacijenata sa SEL - FACIT-F skale (108). Prosečna vrednost FACIT-S skora u naših ispitanika iznosila je 35,52 ($\pm 12,05$). Postojala je statistički značajna negativna korelacija FACIT-S skora samo sa skalama LFA-REAL sistema, s tim da je značajno bolja korelacija postojala sa LFA-REAL PRO. Skoro su identični rezultati sveobuhvatne analize primene LFA-REAL sistema tokom faze III kliničkog ispitivanja efikasnosti ustekinumaba u pacijenata sa SEL koji su takođe pokazali značajnu umerenu negativnu korelaciju FACIT-F i LFA-REAL PRO (188). Ovaj nalaz je očekivan imajući u vidu da je procena stepena zamora jedan od poddomena LFA-REAL PRO, i ukazuje da bi primena ovakvog instrumenta u proceni aktivnosti lupusa potencijalno bila korisna i lekarima i pacijentima. Neophodna je međutim longitudinalna evaluacija LFA-REAL sistema u klinički i etnički raznovrsnim kohortama.

Kako bismo što preciznije odredili status infekcije EBV analiziran je kompletan serološki profil i prisustvo virusne DNK u uzorcima krvi. Utvrđeno je da ispitanici sa SEL (41,7%) imaju značajno češće aktivnu EBV infekciju u odnosu na kontrolnu grupu (9,2%). Premda je prevalenca aktivne EBV infekcije bila viša u ispitanika sa aktivnim lupusom (47,1%) u odnosu na one u remisiji/LLDAS (36,5%), ta razlika nije bila statistički značajna. U odnosu na pojedinačne serološke i molekularne parametre EBV infekcije nađen je značajno viši titar i seroprevalenca anti-VCA IgM (25,2% vs 3%), anti-EA(D) IgG (34% vs 5,1%) i anti-EA(D) IgM (21,4% vs 8,1%) antitela u odnosu na kontrolnu grupu. Međutim, nije bilo razlike u odnosu na prevalencu virusne DNK u plazmi. Ovaj nalaz je u skladu sa podacima nekoliko ranijih studija koje su pokazale povećanu prevalencu reaktivacije EBV i izmenjen humoralni imunski odgovor na EBV u pacijenata sa SEL u odnosu na kontrolnu grupu (144,150,152,153,163,189,190). Franca i saradnici su utvrdili prevalencu EBV reaktivacije od 46,65% u odnosu na 25,92% u ispitanika sa reumatoidnim artritisom (149). Slični su i podaci studije Han i saradnika iz 2018. godine koji našli 39,66% prevalencu EBV reaktivacije u pacijenata sa SEL u odnosu na 10,53% u kontrolnoj grupi zdravih ispitanika (163). Međutim, učestalost reaktivacije EBV u SEL u nekim studijama se kreće i do 78,2% (u odnosu na takođe visoku prevalencu od 62% u kontrolnoj grupi) (150). Na ovakvu raznolikost podataka utiče više faktora, a pre svega metodologija određivanja statusa EBV infekcije. Primetno je da je većina studija koristila ograničen serološki panel, određujući status infekcije EBV samo na osnovu prisustva anti-VCA IgM i/ili anti-EA(D) IgG i/ili IgM antitela, dok je svega nekoliko studija analiziralo sveobuhvatan panel anti-EBV antitela (191–193). Rezultati studija koje su se bazirale na određivanju virusne DNK pokazuju još veće varijacije u prevalenci reaktivacije EBV. Prema rezultatima meta-analize iz 2019. godine kod 55,1% ispitanika sa SEL je nađena pozitivna EBV DNK u odnosu na 20,7% u kontrolnoj grupi (144). Nedavna studija iz Poljske je analizirala prisustvo EBV DNK u monocitima periferne krvi, pri čemu je čak 74,3% ispitanika sa lupusom imalo pozitivan nalaz (194). S druge strane, studija iz Turske, nije utvrdila prisustvo virusne DNK ni u jednom uzorku seruma ispitanika sa juvenilnom formom lupusa (195). Ovakva raznolikost rezultata različitih studija uslovljena je različitošću ispitivanih uzoraka

i primenjenom metodom, kao i vremenom uzorkovanja u odnosu na početak reaktivacije virusa. Zbog toga je vrlo važno biti oprezan u interpretaciji dobijenih rezultata i donošenju zaključaka.

Pretpostavlja se da imunska disregulacija koja je posebno izražena tokom pogoršanja lupusa utiče i na kontrolu EBV infekcije. Gross i saradnici su u svojoj studiji 2005. utvrdili da ispitanici sa lupusom koji su imali pogoršanje bolesti tokom prethodna tri meseca i SLEDAI skor preko 4 imaju značajno višu učestalost virusom inficiranih B limfocita u odnosu na pacijente sa neaktivnim lupusom tokom prethodnih 12 meseci (196). U navedenoj studiji nije nađena veza između učestalosti EBV inficiranih B limfocita i primene imunosupresivne terapije, s tim da je većina uzorka uzeta pre eventualne eskalacije imunosupresije. Kod sedam pacijenata koji su praćeni tokom prosečnog perioda 9-17 meseci, uočene su značajne varijacije učestalosti inficiranih B limfocita, značajno više nego u zdravih ispitanika. Ove fluktuacije su bile udružene sa promenama aktivnosti bolesti, ali ne i sa promenom imunosupresivne terapije. Međutim, mali broj ispitanika onemogućava donošenje preciznijih zaključaka. Interesantno, u istom ispitivanju CMV DNK nije nađena u uzorcima monocita periferne krvi, što ukazuje da je imunska disregulacija u SEL verovatno specifična za EBV. U našem istraživanju na većem broju ispitanika nije nađena udruženost aktivnosti lupusa i reaktivacije EBV infekcije, kao ni postizanja remisije/LLDAS i prelaska virusa u latentnu fazu. Ovaj rezultat je uslovljen većim brojem faktora. Naime, značajan broj pacijenata u našoj kohorti imao je znake LLDAS, dok je manji broj ispunjavao kriterijume za remisiju SEL, čime je otežana diferencijacija u odnosu na pacijente sa aktivnim lupusom. Takođe, moguće je da je na ovaj nalaz uticala i heterogenost kohorte, kao i razlike u vremenu nastanka pogoršanja lupusa i reaktivacije EBV infekcije i način utvrđivanja aktivne EBV infekcije (serum/plazma vs limfociti).

Prisustvo anti-EA(D) IgG antitela u serumu koji se smatraju znakom skorije reaktivacije EBV infekcije bilo je nezavisan prediktor SEL u našem istraživanju. Ispitanici kod kojih su nađena anti-EA(D) IgG antitela imali su čak 14 puta veću šansu da imaju SEL. Ovaj nalaz je u saglasnosti sa do sada jedinom prospektivnom studijom koja je tokom 6 godina pratila serološke markere EBV infekcije u 463 srodnika pacijenata sa SEL, pokazavši da su povišeni anti-VCA IgG (OR=1,28, 95%CI 1,07-1,53, p=0,007) i anti-EA IgG (OR=1,43, 95%CI 1,06-1,93, p=0,02) udruženi sa razvojem SEL. Autori spekuliraju da genetička predispozicija srodnika obolelih od lupusa, još uvek nepoznatim mehanizmom povećava rizik od reaktivacije EBV, povećavajući time i rizik od razvoja SEL (123). Studije na većem broju ispitanika, homogenijeg fenotipa, uz duže vreme praćenja i serijske evaluacije statusa EBV infekcije mogle bi dati odgovor na višedecenijsku dilemu – da li je EBV neophodni faktor u nastanku lupusa ili pak imunska disregulacija na terenu SEL uslovljava poremećaj regulacije EBV infekcije.

Rezultati našeg istraživanja pokazali su da ispitanici koji su EBV DNK pozitivni, češće imaju lupus nefritis i limfopeniju. Takođe, u regresionom modelu, viši titar anti-VCA IgG antitela bio je prediktor alopecije, a anti-EA(D) IgG antitela limfopenije. U odnosu na imunoserološke karakteristike ispitanika, nađena je umerena pozitivna korelacija titra anti-VCA IgM antitela i RF. U prethodnoj studiji iz 2009. godine nađena je udruženost višeg titra anti-EA IgG antitela sa kutanim manifestacijama lupusa i prisustvom anti-Ro antitela, kao i višeg titra anti-VCA IgG antitela i zglobnih manifestacija (197). Slični su i rezultati studije iz 2016. godine koji su pokazali udruženost višeg titra anti-EA(D) IgG antitela i prisustva anti-Ro52 i anti-Ro60, dok je studija iz 2017. godine pokazala udruženost anti-EA seropozitivnosti i anti-SSA, anti-Sm, i anti-Sm/RNP antitela (151,189). Međutim, naši rezultati nisu pokazali udruženosti nijednog od ispitivanih

autoantitela sa serološkim markerima EBV infekcije, kao ni sa prisustvom EBV DNK, sem umerene pozitivne korelacije anti-VCA IgG i RF. Ovi rezultati mogu biti posledica različite genetičke i geografske pozadine. S druge strane, slično našim rezultatima, u nekoliko studija pokazana je inverzna korelacija anti-EA(D) IgG antitela i broja limfocita (153). Ovi rezultati sugerišu moguću vezu između reaktivacije EBV i limfopenije u SEL ispitanika.

Poznato je da je genetička predispozicija važan faktor koji određuje odgovor organizma na delovanje različitih faktora sredine, pa i virusa, modifikujući način interakcije organizma i virusa. Opisana je uloga IL-10 u imunomodulaciji (198). Tokom litičke faze EBV infekcije sintetiše se virusni homolog IL-10 koji vezujući se za humani IL-10R deluje kao kompetitivni inhibitor humanog IL-10. Vezivanjem vIL-10 inhibiše se sinteza inflamatornih citokina, stimuliše proliferacija i diferencijacija B limfocita, i produkcija imunoglobulina (124). Ispitanici sa SEL imaju povišenu koncentraciju IL-10 u krvi i ona koreliše sa stepenom aktivnosti bolesti (199). Takođe, nađeno je da polimorfizmi IL-10 gena utiču na njegovu ekspresiju (200). Velika prospektivna studija Jog i saradnika iz 2019. godine pokazala je po prvi put vezu između anti-EBV antitela i polimorfizama u okviru gena za IL-10 i CD40. Prema rezultatima ove studije nađena je značajna interakcija između nivoa anti-VCA IgG i CD40 rs4810485 ($p=0,009$), kao anti-VCA IgA i IL10 rs3024493 ($p=0,008$) sa razvojem SEL (123). Delovanje IL-10 se ostvaruje vezivanjem za *IL10R*, koji predstavlja heterotetramer koji se sastoji iz dve *IL10RA* i dve *IL10RB* podjedinice (201). *IL10RA* podjedinica je specifična za *IL10R*, dok je *IL10RB* podjedinica deo receptorskih kompleksa *IL22R*, *IL28R* i *IL29R* (202). Aktivacija *IL10R* pokreće JAK1-TIK2-STAT3 signalni put suprimirajući sintezu proinflamatornih citokina, aktivnost makrofaga i ekspresiju kostimulatornih molekula na APC. S druge strane, IL-10 na nivou B limfocita, IL-10 stimuliše preživljavanje, proliferaciju, diferencijaciju i produkciju antitela (201). Dokazi ukazuju da je poremećena regulacija interakcije IL-10 i *IL10R* udružena sa nastankom više autoimunskih bolesti (203). Međutim, svega nekoliko studija se bavilo ispitivanjem uticaja polimorfizama u okviru gena za *IL10R* na rizik od nastanka lupusa (204,205). U našem ispitivanju analizirano je šest polimorfizama za *IL10RA*, tri za *IL10RB* i dva za *IL22RA* i ispitana njihova udruženost sa nastankom SEL i kliničkim manifestacijama. Nijedan od ispitivanih polimorfizama gena za *IL10RA*, niti *IL10RA* haplotipova nije bio udružen sa razvojem SEL. Ispitanici sa SEL su ređe bili nosioci *IL10RB* rs1058867 G alela u odnosu na kontrolnu grupu (51,5% vs 38,8%). Analiza haplotipova za *IL10RB* je pokazala blok haplotipa između rs999788 i rs2834167 polimorfizma u SLE ispitanika, pri čemu je *IL10RB* CAA haplotip bio značajno češće bio prisutan u SLE ispitanika nego u kontrolnoj grupi. Pretragom literature identifikovane samo dve studije koje su se bavile ovim pitanjem. Peng i saradnici su istraživali polimorfizam *IL10RB* rs2834167 u SEL, a Hermann i saradnici polimorfizam gena za *IL10RA* rs3135932 i rs2229113 (204,205). Prema rezultatima studije Hermana i saradnika oba ispitivana polimorfizma gena za *IL10RA* su zapravo "loss of function" varijante koje dovode do redukcije prenosa signala preko ovih receptora. Pri tome, u istoj studiji, *IL10RA* rs2229113 je bio udružen sa pojavom reumatoidnog artritisa i SEL (204). Za razliku od naše analize, Peng i saradnici su našli udruženost *IL10RB* rs2834167 alela A sa pojavom SEL (205). Ovaj rezultat se može objasniti razlikama u genetičkoj osnovi kineske populacije u odnosu na Evropljane. U naših SEL ispitanika pak, *IL10RB* CAA haplotip je bio značajno češći nego u kontrolnoj grupi. Obzirom na značajnu udruženost *IL10RB* rs1058867 alela A sa SEL, moguće je da je upravo ovaj polimorfizam razlog značajne udruženosti celog haplotipa sa SEL. Ipak, zbog relativno malog broja ispitanika, uticaj druga dva polimorfizma ovog haplotipa ne može biti utvrđen.

Takođe, ispitivali smo uticaj *IL10RA*, *IL10RB* i *IL22RA* polimorfizama na kliničke manifestacije lupusa. Ispitanici sa *IL10RA* rs10892202 i rs4252270 polimorfizmom, i GC haplotipom, češće su imali malarni raš, dok su nosioci *IL10RA* rs2229113 GG genotipa češće imali fotosenzitivnost. Nosioci *IL10RA* rs9610 alela G češće su imali artritis kao manifestaciju lupusa. U kineskoj studiji iz 2017. godine nađena je udruženost *IL10RA* rs9610 alela A i reumatoidnog artrisa (206). Direktno poređenje ovih studija nije moguće, pre svega zbog razlika u genetičkoj osnovi kineske i evropske populacije, ali i razlika u patogenezi artritisu u lupusu i reumatoidnom artritisu. Hemolizna anemija je čak 11,59 puta bila češća kod nosioca *IL10RA* rs10892202 alela C i rs4252270 alela T. Ipak zbog malog broja ispitanika sa hemoliznom anemijom potrebno je potvrditi ovaj nalaz u studijama sa većim brojem SEL ispitanika. Na osnovu uvida u literaturne podatke, nijedna studija do sada nije analizirala udruženost *IL10RB* polimorfizama i kliničkog ispoljavanja lupusa. Nosioci *IL10RB* rs2834167 AA genotipa i rs999788 CC genotipa, češće su imali malarni raš. Prethodno je nađena udruženost ova dva genotipa sa sistemskom sklerozom (207). Prema našim saznanjima nijedna studija do sada nije analizirala polimorfizme *IL22RA* gena u autoimunskim bolestima. Oba ispitivana polimorfizma, *IL22RA* rs3795299 i rs16829204 su tzv. "missense" varijante što odražava na funkciju samog receptora (208). SEL ispitanici koji su nosioci *IL22RA* rs3795299 G alela imali su 4,5 puta veći rizik da razviju neku od hematoloških manifestacija, i 3,8 puta veći rizik za pojavu limfopenije. Po prvi put je uočena i udruženost *IL22RA* rs16829204 alela T i prisustva anti-Sm antitela.

Nekoliko autoimunskih obolenja je često udruženo sa postojanjem SEL, posebno SS, antifosfolipidni sindrom i HT. U univarijantnoj regresionoj analizi, nosioci *IL10RA* rs3135932 AA genotipa i *IL22A* rs3795299 CC genotipa češće su imali pridružen SS. Ova udruženost može biti posledica zajedničkih imunopatogenetskih mehanizama ove dve autoimunske bolesti, pogotovo imajući u vidu da između 14% i 17,8% SEL ispitanika ima sekundarni SS, kao i da prisustvo SS utiče na kliničko i imunoserološko ispoljavanje lupusa (179). Nekoliko ispitivanih polimorfizama bilo je udruženo sa postojanjem HT u SEL ispitanika, koji je bio češći kod nosioca *IL10RA* rs9610 GG genotipa, *IL22RA* rs3795299 C alela i *IL22RA* rs16829204 CC genotipa. Pri tome, analiza svih ispitanika zajedno (SEL i kontrolna grupa) pokazala je šest odnosno pet puta veću učestalost HT u nosioca *IL22RA* rs3795299 alela C (23,5% vs 4,9%) i rs16829204 genotipa CC (20,4% vs 5,1%). I nakon multivarijantne regresione analize ova udruženost je ostala značajna. Prethodno objavljeni rezultati ukazali su da su varijante IL-22 gena udružene sa pojavom autoimunske bolesti tiroidne žlezde (209). Takođe, od ranije su poznata imunomodulatorna svojstva tiroksina i trijodtironina (210). I dok je većina istraživača ukazivala da SEL pacijenti imaju češće HT, skoro objavljena populaciona studija je pokazala da postoji i obrnuti odnos, te da prethodna dijagnoza HT značajno povećava rizik od SEL (211). Moguće je da je ova udruženost bar jednim delom posledica izmenjenog odgovora *IL22RA*. Zbirno gledano, naši rezultati ukazuju da polimorfizmi gena za *IL10RA*, *IL10RB* i *IL22RA* utiču na pojavu lupusa, kao i na kliničko i imunoserološko ispoljavanje bolesti.

Jedan od ciljeva ovog istraživanja je i prospektivna evaluacija parametara EBV infekcije u pacijenata sa aktivnim SEL tokom šestomesečnog perioda praćenja, što je ujedno i prvo takvo istraživanje prema našim saznanjima. Inicijalno registrovana visoka učestalost aktivne EBV infekcije (45%) u pacijenata sa aktivnim SEL, značajno je opala nakon šest meseci, te je u 77% ispitanika nakon perioda praćenja nastala latentna EBV infekcija. Paralelno je registrovano značajno smanjenje aktivnosti SEL. Prevalenca i titar anti-EBNA-1 IgG i anti-VCA IgM antitela su se značajno smanjili, a titar anti-EA(D) IgG antitela je značajno porastao nakon perioda praćenja.

U odnosu na prisustvo EBV DNK (EBNA1 i LMP1) u uzorcima nije bilo značajne promene u učestalosti pozitivnosti. Međutim na ovaj rezultat je uticala i relativno niža učestalost pozitivnosti za EBV DNK inicijalno. Postoji dosta nepoznanica o tome šta su okidači reaktivacije EBV infekcije u pacijenata sa SEL, ali i tome koje su eventualne posledice ove reaktivacije. Jedna od pretpostavki je da imunski poremećaji u vezi sa SEL, a pre svega poremećaji na nivou B limfocita otežavaju kontrolu EBV infekcije, omogućavajući ponavljanju reaktivaciju EBV infekcije u pacijenata sa SEL. Imajući u vidu značaj povećane aktivacije interonskog puta u SEL, moguće je da stimulacija interferonskog puta tokom reaktivacije EBV utiče na aktivnost SEL, ali i obrnuto. U nekoliko studija nađena je veza između reaktivacije EBV infekcije i stepena aktivnosti SEL (152,212,213). U cilju boljeg razjašnjenja ovog odnosa u našem istraživanju je učinjena sveobuhvatna analiza seroloških i molekularnih markera EBV infekcije kod ispitanika sa aktivnim SEL koji su praćeni tokom šest meseci. Premda je najveći broj ispitanika prešao u latentnu EBV infekciju, identifikovali smo 22,7% pacijenata sa znacima hronično aktivne EBV infekcije, dok je u 11,1% pacijenata sa inicijalno latentnom infekcijom nastala aktivna EBV infekcija. Premda nije bilo značajne promene ni titra ni seroprevalence anti-EA(D) IgM antitela, većina pozitivnih pacijenata nakon šest meseci je zapravo de novo razvila anti-EA(D) IgM antitela, ukazujući na novu reaktivaciju. Ovaj nalaz ukazuje da su u pacijenata sa aktivnim SEL reaktivacije EBV infekcije česte i da verovatno predstavljaju odraz imunске disregulacije u osnovi SEL. Međutim nije jasno da li je reaktivacija EBV infekcije samo odraz individualne sposobnosti da kontrolišu EBV infekciju ili na nju utiče i dinamika aktivnosti samog lupusa. Opisana je tzv. hipoteza lančane reakcije koja podrazumeva poliklonsku stimulaciju B limfocita tokom pogoršanja lupusa, sa posledičnom reaktivacijom EBV infekcije koja dalje doprinosi aktivnosti SEL (142). U našoj kohorti ispitanika sa aktivnim lupusom, premda je većina prešla iz aktivne u latentnu EBV infekciju, nije bilo razlike u pogledu postizanja remisije/LLDAS nakon šest meseci. Treba međutim imati u vidu da je na ovaj rezultat verovatno uticala heterogenost kohorte, kao i varijacije u početku pogoršanja lupusa. Detaljnim pretraživanjem literature nismo identifikovali nijedno ispitivanje koje je prospektivno evaluiralo status EBV infekcije u pacijenata sa SEL, kako bismo uporedili dobijene rezultate. Svakako, neophodna je potvrda ovih rezultata u većoj kohorti pacijenata sa lupusom.

Ranija istraživanja ukazala su na mogućnost da EBV ima ulogu u određenim fenotipovima SEL, pre svega u kožno-zglobnoj formi bolesti (149,150). Rezultati našeg ispitivanja su po prvi put ukazali da je viši titar anti-EA(D) IgM antitela pozitivan prediktor remisije/LLDAS u SLE ispitanika sa aktivnim kožnim manifestacijama bolesti, i to sa RR=40,097. Uloga anti-EA(D) IgM antitela u lupusu do sada nije intezivno ispitivana. Prema rezultatima meta-analize iz 2019. godine, koja je obuhvatila tri studije o seroprevalenci anti-EA(D) IgM antitela, zbirni OR iznosio je 4,21 u odnosu na kontrolnu grupu zdravih (144). Anti-EA(D) antitela se smatraju serološkim markerom litičke faze EBV ciklusa. Usmerena su na kompleks ne-strukturnih proteina koji nastaje rano tokom litičkog ciklusa, tzv. rani antigen (eng. early antigen, EA) kodiran BMRF-1 genom. Funkcionalno, EA(D) je kofaktor virusne RNK polimeraze, neophodne u inicijaciji litičke replikacije virusa (154). Imajući u vidu naglašen anti-EA(D) IgG imunski odgovor u pacijenata sa SEL, pojedini naučnici smatraju da analogno molekulske mimikrije između SLE autoantigena i EBNA1 proteina virusa, postoji mimikrija i sa proteinima EA kompleksa (214). U prilog tome govore i rezultati istraživanja koja su pokazala udruženost anti-EA(D) IgG antitela sa prisustvom anti-ENA antitela i Raynaud-ovim fenomenom, i sa kožno-zglobnim manifestacijama lupusa i anti-Ro antitelima (197,214). Eksperimentalna istraživanja na životinjama potvrđuju ovu pretpostavku. Naime, u ovim ispitivanjima na miševima nađeno je da peptidi poreklom od EA i

LMP1 povećavaju učestalost pozitivnosti ANA, anti-SmB i anti-SmE antitela, a da EA4 (takođe peptid poreklom od EA) povećava učestalost pozitivnosti anti-SmB i anti-Ro antitela. Pri tome nađena je pozitivna korelacija titra anti-EA4 antitela sa vrednostima SLEDAI skora, sugerirajući da bi ova antitela mogla biti koristan biomarker težine lupusa (160). Međutim, nijedna studija do sada nije ispitala ulogu anti-EA(D) IgM antitela. Potrebna su dalja ispitivanja kako bi se utvrdila uloga anti-EA (D) IgM antitela kao prediktora remisije/LLDAS u ispitanika sa kutanim manifestacijama lupusa.

Pretpostavlja se da faktori povezani sa SEL utiču na prelazak iz aktivne u latentnu EBV infekciju. Pokazali smo, primenom multiple logističke regresione analize da je viša koncentracija C3 u serumu nezavisni prediktor prelaska u latentnu EBV infekciju nakon šest meseci u ispitanika sa aktivnim lupusom. Naime, SEL ispitanici sa višom koncentracijom C3 imali su 26 puta veću šansu prelaska u latentnu fazu infekcije. Analizom ROC krive, serumska koncentracija $C3 \geq 0,780$ g/L sa senzitivnošću od 70,6% i specifičnošću od 75%, je razlikovala ispitanike koji su prešli u latentnu fazu od onih koji su i dalje bili aktivni. Nekoliko studija ukazalo je na ulogu sistema komplementa u EBV infekciji (215,216). Tokom aktivacije komplementa nastaje C3d, produkt razgradnje C3, koji se vezuje za receptor za complement CR2 (CD21), koji ujedno predstavlja i receptor za EBV na B limfocitima. Ovo vezivanje je omogućeno visokim stepenom homologije između virusnog glikoproteina gp350 i C3d (217). Dodatno, i EBV i prečišćeni gp350 mogu da aktiviraju alternativni put komplementa (218,219). Produkti razgradnje C3 i C4 se vezuju za EBV u pokušaju da neutrališu infektivnost virusa i da omoguće vezivanje za CR1 receptor na fagocitima. Međutim, EBV pokazuje još jedan mehanizam izbegavanja imunskog odgovora. Prečišćeni EBV deluje kao kofaktor faktora I, te reguliše aktivaciju komplementa i olakšava razgradnju C3b vezanog za virus u inaktivnu formu iC3b, kao i razgradnju C4b u iC4b (219). Obzirom da je poznato da pacijenti sa lupusom često imaju sniženu koncentraciju C3, posebno tokom aktivne bolesti, pretpostavlja se i da teže održavaju kontrolu EBV infekcije. Nedavno je jedno ispitivanje u pacijenata sa Sjogrenovim sindromom, uključujući i meta-analizu podataka iz literature pokazalo inverznu udruženost između koncentracije C3 i C4 i titra anti-EA (D) IgG antitela (220). Budući da se anti-EA (D) IgG antitela smatraju indikatorom čestih reaktivacija EBV, autori sugerišu da snižene koncentracije C3 i C4 zapravo predstavljaju posledicu iscrpljivanja imunskog sistema usled česte virusom indukovane aktivacije sistema komplementa. Rezultati našeg i navednih ispitivanja ukazuju na mogućnost da pacijenti koji bolje kompezuju povećanu potrošnju C3, imaju i bolju kontrolu EBV infekcije. Ukoliko naredna ispitivanja potvrde ovu hipotezu, razvoj lekova sa delovanjem na sistem komplementa bi mogao da bude nova terapijska strategija u SEL.

Naše istraživanje predstavlja prvo prospektivno ispitivanje sveobuhvatnih seroloških i molekularnih markera EBV infekcije i genetičkih faktora u ispitanika sa SEL, koje je sprovedeno sa ciljem boljeg rasvetljavanja specifičnosti odnosa EBV infekcije, i nastanka i kliničkog ispoljavanja SEL, kao i mehanizama regulacije EBV infekcije u lupusu. Identifikovali smo markere EBV infekcije koji bi se u kombinaciji sa imunoserološkim parameterima mogli koristiti u predikciji rizika od nastanka SEL kod genetski predisponiranih osoba, a kod osoba sa dijagnozom SEL u predikciji kliničkog toka bolesti i ulaska u remisiju/LLDAS. Po prvi put se identifikovani polimorfizmi gena za *IL10R* i *IL22R* koji bi mogli uticati na rizik od nastanka SEL, ali i na način kliničkog manifestovanja ove bolesti. Ovo je ujedno i prva analiza genetičke osnove SEL u našoj populaciji. Prikazana saznanja mogu pomoći u razvoju novih dijagnostičkih i skrining protokola

ali i personalizovanog pristupa pacijentu sa SEL, sa ciljem ranog prepoznavanja i adekvatnog lečenja ove bolesti.

6. Zaključci

Na osnovu rezultata ovog istraživanja mogu se izvesti sledeći zaključci:

1. Aktivna EBV infekcija je značajno češće prisutna u ispitanika sa SEL (41.7%) u odnosu na kontrolnu grupu (9.2%). U skladu sa ovim nalazom ispitanici sa SEL imaju višu prevalencu i titar anti-VCA IgM, anti-EA(D) IgG i anti-EA(D) IgM antitela u odnosu na kontrolnu grupu. Premda je prevalenca aktivne EBV infekcije u ispitanika sa aktivnim SEL (47.1%) bila viša u odnosu na ispitanike u remisiji/LLDAS (36.5%), ova razlika nije bila statistički značajna. Prevalenca EBV DNK u plazmi je bila niska i nije se značajno statistički razlikovala u odnosu na ispitanike u kontrolnoj grupi. Prisustvo anti-EA(D) IgG antitela je nezavisan prediktor SEL. Ispitanici kod koji su nađena ova antitela imali su čak 14 puta veću verovatnoću da imaju SEL.
2. Kod ispitanika sa lupus nefritisom i limfopenijom češće je prisutna EBV DNK. Viši titar anti-VCA IgG antitela je prediktor alopecije, a anti-EA(D) IgG antitela limfopenije u ispitanika sa SEL.
3. Titar anti-VCA IgM antitela je umereno pozitivno korelisao sa koncentracijom RF. Nije nađena udruženost markera EBV infekcije sa drugim ispitivanim imunoserološkim markerima.
4. Ispitanici sa SEL su ređe bili nosioci *IL10RB* rs1058867 G alela u odnosu na kontrolnu grupu (51.5% vs 38.8%). Nosioci *IL22RA* rs3795299 G alela imali su 4.5 puta veći rizik da razviju hematološke manifestacije SEL, i 3.8 puta veću rizik za pojavu limfopenije. Nosioci *IL10RA* rs10892202 C alela i *IL10RA* rs4252270 T alela imali su skoro 11.6 puta veću šansu za pojavu autoimune hemolizne anemije. Malarni raš se 4.4 puta češće javljao kod nosioca *IL10RA* rs10892202 GG i *IL10RA* rs4252270 CC genotipa. Pridruženi SS je bio češći kod nosioca *IL10RA* rs3135932 AA i *IL22A* rs3795299 CC genotipa. Hashimoto tiroiditis je češći kod nosioca *IL10RA* rs9610 GG genotipa, *IL22RA* rs3795299 C alela i *IL22RA* rs16829204 CC genotipa
5. Praćenjem ispitanika sa aktivnim SEL uočeno je da 77% ispitanika sa aktivnom EBV infekcijom prelazi u latentnu nakon šest meseci. Na prelazak u latentnu EBV infekciju nisu uticali primenjena terapija za SEL i prisustvo pridruženih autoimunskih bolesti. Nakon šest meseci zabeležena je značajna redukcije seroprevalence i titra anti-EBNA1 IgG i anti-VCA IgM antitela, i porasta titra anti-EA(D) IgG antitela. Prisustvo anti-EA(D) IgM antitela inicijalno nezavisan je prediktor remisije/LLDAS u ispitanika sa kožnim manifestacijama SEL.
6. Među ispitivanim imunoserološkim markerima SEL, viša koncentracija C3 u serumu je pozitivni prediktor prelaska u iz aktivne u latentnu EBV infekciju nakon šest meseci.

7. Literatura

1. Fava A, Petri M. Systemic lupus erythematosus: Diagnosis and clinical management. *J Autoimmun.* 2019;96:1–13.
2. Danchenko N, Satia JA, Anthony MS. Epidemiology of systemic lupus erythematosus: a comparison of worldwide disease burden. *Lupus.* 2006;15(5):308–18.
3. Arnaud L, Fagot JP, Mathian A, Paita M, Fagot-Campagna A, Amoura Z. Prevalence and incidence of systemic lupus erythematosus in France: A 2010 nation-wide population-based study. *Autoimmun Rev.* 2014 Nov 1;13(11):1082–9.
4. Deafen D, Escalante A, Weinrib L, Horwitz D, Bachman B, Roy-Burman P, et al. A revised estimate of twin concordance in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1992;35(3):311–8.
5. Hochberg MC. The application of genetic epidemiology to systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 1987;14(5):867–9.
6. Lintner KE, Wu YL, Yang Y, Spencer CH, Hauptmann G, Hebert LA, et al. Early components of the complement classical activation pathway in human systemic autoimmune diseases. *Front Immunol.* 2016;7:36.
7. Lood C, Gullstrand B, Truedsson L, Olin AI, Alm G V., Rönnblom L, et al. C1q inhibits immune complex-induced interferon-alpha production in plasmacytoid dendritic cells: a novel link between C1q deficiency and systemic lupus erythematosus pathogenesis. *Arthritis Rheum.* 2009;60(10):3081–90.
8. Rahman A, Isenberg DA. Systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med.* 2008;28;358(9):929–39.
9. Han JW, Zheng HF, Cui Y, Sun LD, Ye DQ, Hu Z, et al. Genome-wide association study in a Chinese Han population identifies nine new susceptibility loci for systemic lupus erythematosus. *Nat Genet.* 2009;41(11):1234–7.
10. Armstrong DL, Zidovetzki R, Alarcón-Riquelme ME, Tsao BP, Criswell LA, Kimberly RP, et al. GWAS identifies novel SLE susceptibility genes and explains the association of the HLA region. *Genes Immun.* 2014;15(6):347–54.
11. Namjou B, Kothari PH, Kelly JA, Glenn SB, Ojwang JO, Adler A, et al. Evaluation of the TREX1 gene in a large multi-ancestral lupus cohort. *Genes Immun.* 2011;12(4):270–9.
12. Gateva V, Sandling JK, Hom G, Taylor KE, Chung SA, Sun X, et al. A large-scale replication study identifies TNIP1, PRDM1, JAZF1, UHRF1BP1 and IL10 as risk loci for systemic lupus erythematosus. *Nat Genet.* 2009;41(11):1228–33.
13. Ghodke-Puranik Y, Niewold TB. Immunogenetics of Systemic Lupus Erythematosus: A

Comprehensive Review. *J Autoimmun.* 2015;64:125.

14. Salloum R, Franek BS, Kariuki SN, Rhee L, Mikolaitis RA, Jolly M, et al. Genetic variation at the IRF7/PHRF1 locus is associated with autoantibody profile and serum interferon-alpha activity in lupus patients. *Arthritis Rheum Dis.* 2010;62(2):553–61.
15. Hagberg N, Joelsson M, Leonard D, Reid S, Eloranta ML, Mo J, et al. The STAT4 SLE risk allele rs7574865[T] is associated with increased IL-12-induced IFN- γ production in T cells from patients with SLE. *Ann Rheum Dis.* 2018;77(7):1070–7.
16. Niewold TB, Kelly JA, Flesch MH, Espinoza LR, Harley JB, Crow MK. Association of the IRF5 risk haplotype with high serum interferon-alpha activity in systemic lupus erythematosus patients. *Arthritis Rheum.* 2008;58(8):2481–7.
17. Walter MR. The molecular basis of IL-10 function: from receptor structure to the onset of signaling. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2014;380:191–212.
18. Dudakov JA, Hanash AM, Brink MRM van den. Crack band approach to model 3D hydraulic fracturing of gas shale stratum. *Interleukin-22 Immunobiol Pathol.* 2015;747–785.
19. James JA, Neas BR, Moser KL, Hall T, Bruner GR, Sestak AL, et al. Systemic lupus erythematosus in adults is associated with previous Epstein-Barr virus exposure. *Arthritis Rheum.* 2001;44(5):1122–6.
20. Barbhaiya M, Costenbader KH. Environmental exposures and the development of systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Rheumatol.* 2016;28(5):497–505.
21. Costa MF, Said NR, Zimmermann B. Drug-induced lupus due to anti-tumor necrosis factor alpha agents. *Semin Arthritis Rheum.* 2008;37(6):381–7.
22. Costenbader KH, Kim DJ, Peerzada J, Lockman S, Nobles-Knight D, Petri M, et al. Cigarette smoking and the risk of systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. *Arthritis Rheum.* 2004;50(3):849–57.
23. Cooper GS, Parks CG. Occupational and environmental exposures as risk factors for systemic lupus erythematosus. *Curr Rheumatol Rep.* 2004;6(5):367–74.
24. Kevin Spelman, Jj Burns, Douglas Nichols, Nasha Winters, Steve Ottersberg MT. Modulation of cytokine expression by traditional medicines: a review of herbal immunomodulators. *Altern Med Rev.* 2006;11(12):128–50.
25. Burger RA, Torres AR, Warren RP, Caldwell VD, Hughes BG. Echinacea-induced cytokine production by human macrophages. *Int J Immunopharmacol.* 1997;19(7):371–9.
26. Song H, Fang F, Tomasson G, Arnberg FK, Mataix-Cols D, De La Cruz LF, et al. Association of Stress-Related Disorders With Subsequent Autoimmune Disease. *JAMA.* 2018;319(23):2388–400. A
27. Roberts AL, Malspeis S, Kubzansky LD, Feldman CH, Chang SC, Koenen KC, et al. Association of trauma and posttraumatic stress disorder with incident systemic lupus erythematosus (SLE) in a longitudinal cohort of women. *Arthritis Rheumatol (Hoboken, NJ)* 2017;69(11):2162.
28. Quaglia M, Merlotti G, De Andrea M, Borgogna C, Cantaluppi V. *Viral Infections and Systemic*

Lupus Erythematosus: New Players in an Old Story. *Viruses*. 2021;13(2).

29. Doaty S, Agrawal H, Bauer E F DE. Infection and Lupus: Which Causes Which? *Curr Rheumatol Rep*. 2016;18(3):13.
30. Pan Q, Liu Z, Liao S, Ye L, Lu X, Chen X, et al. Current mechanistic insights into the role of infection in systemic lupus erythematosus. *Biomed Pharmacother*. 2019;117.
31. Kanduc D, Shoenfeld Y. From Anti-EBV Immune Responses to the EBV Disease via Cross-reactivity. *Glob Med Genet*. 2020;7(2):051–63.
32. Rigante D, Esposito S. Infections and Systemic Lupus Erythematosus: Binding or Sparring Partners? *Int J Mol Sci*. 2015;16(8):17331–43.
33. Naoto Koyanagi YK. Evasion of the Cell-Mediated Immune Response by Alpha herpesviruses. *Viruses*. 2020;12(12):1354.
34. Kontaki E, Boumpas DT. Innate immunity in systemic lupus erythematosus: sensing endogenous nucleic acids. *J Autoimmun*. 2010;35(3):206–11.
35. Fava A, Petri M. Systemic lupus erythematosus: Diagnosis and clinical management. *J Autoimmun*. 2019;96:1–13.
36. Rönnblom L, Alm G V., Eloranta ML. The type I interferon system in the development of lupus. *Semin Immunol*. 2011 Apr;23(2):113–21.
37. Rönnblom L, Pascual V. The innate immune system in SLE: Type I interferons and dendritic cells. *Lupus*. 2008;17(5 SPEC. ISS.):394–9.
38. Baechler EC, Batliwalla FM, Karypis G, Gaffney PM, Ortmann WA, Espe KJ, et al. Interferon-inducible gene expression signature in peripheral blood cells of patients with severe lupus. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(5):2610–5.
39. Kirou KA, Lee C, George S, Louca K, Papagiannis IG, Peterson MGE, et al. Coordinate overexpression of interferon-alpha-induced genes in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2004;50(12):3958–67.
40. Postal M, Vivaldo JF, Fernandez-Ruiz R, Paredes JL, Appenzeller S, Niewold TB. Type I interferon in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Immunol*. 2020;67:87–94.
41. Kaplan MJ, Radic M. Neutrophil extracellular traps: double-edged swords of innate immunity. *J Immunol*. 2012;189(6):2689–95.
42. Garcia-Romo GS, Caielli S, Vega B, Connolly J, Allantaz F, Xu Z, et al. Netting neutrophils are major inducers of type I IFN production in pediatric systemic lupus erythematosus. *Sci Transl Med*. 2011;3(73).
43. Lande R, Ganguly D, Facchinetti V, Frasca L, Conrad C, Gregorio J, et al. Neutrophils Activate Plasmacytoid Dendritic Cells by Releasing Self-DNA–Peptide Complexes in Systemic Lupus Erythematosus. *Sci Transl Med*. 2011;3(73):73ra19.
44. Guiducci C, Gong M, Xu Z, Gill M, Chaussabel D, Meeker T, et al. TLR recognition of self nucleic acids hampers glucocorticoid activity in lupus. *Nature*. 2010;465(7300):937–41.

45. Schlee M, Hartmann G. Discriminating self from non-self in nucleic acid sensing. *Nat Rev Immunol.* 2016;16(9):566–80.
46. Païdassi H, Tacnet-Delorme P, Garlatti V, Darnault C, Ghebrehiwet B, Gaboriaud C, et al. C1q binds phosphatidylserine and likely acts as a multiligand-bridging molecule in apoptotic cell recognition. *J Immunol.* 2008;180(4):2329–38.
47. Smith CK, Kaplan MJ. The role of neutrophils in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Rheumatol.* 2015;27(5):448–53.
48. Berthelot JM, Le Goff B, Neel A, Maugars Y, Hamidou M. NETosis: At the crossroads of rheumatoid arthritis, lupus, and vasculitis. *Jt bone spine.* 2017;84(3):255–62.
49. Lood C, Blanco LP, Purmalek MM, Carmona-Rivera C, De Ravin SS, Smith CK, et al. Neutrophil extracellular traps enriched in oxidized mitochondrial DNA are interferogenic and contribute to lupus-like disease. *Nat Med.* 2016;22(2):146–53.
50. Kahlenberg JM, Carmona-Rivera C, Smith CK, Kaplan MJ. Neutrophil extracellular trap-associated protein activation of the NLRP3 inflammasome is enhanced in lupus macrophages. *J Immunol.* 2013;190(3):1217–26.
51. Pan L, Lu MP, Wang JH, Xu M, Yang SR. Immunological pathogenesis and treatment of systemic lupus erythematosus. *World J Pediatr.* 2020;16(1):19–30.
52. Liu CP, Lin WJ, Huang M, Kappler JW, Marrack P. Development and function of T cells in T cell antigen receptor/CD3 zeta knockout mice reconstituted with Fc epsilon RI gamma. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997;94(2):616–21.
53. Barber DF, Bartolomé A, Hernandez C, Flores JM, Redondo C, Fernandez-Arias C, et al. PI3Kgamma inhibition blocks glomerulonephritis and extends lifespan in a mouse model of systemic lupus. *Nat Med.* 2005;11(9):933–5.
54. Suárez-Fueyo A, Rojas JM, Cariaga AE, García E, Steiner BH, Barber DF, et al. Inhibition of PI3Kδ reduces kidney infiltration by macrophages and ameliorates systemic lupus in the mouse. *J Immunol.* 2014;193(2):544–54.
55. Jones BM, Liu T, Wong RWS. Reduced in vitro Production of Interferon-Gamma, Interleukin-4 and Interleukin-12 and Increased Production of Interleukin-6, Interleukin-10 and Tumour Necrosis Factor-Alpha in Systemic Lupus Erythematosus. Weak Correlations of Cytokine Production with Disease Activity. *Autoimmunity.* 2009;31(2):117–24.
56. Koga T, Ichinose K, Tsokos GC. T cells and IL-17 in Lupus Nephritis. *Clin Immunol.* 2017;185:95.
57. Yang J, Chu Y, Yang X, Gao D, Zhu L, Yang X, et al. Th17 and natural Treg cell population dynamics in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2009;60(5):1472–83.
58. Ma J, Yu J, Tao X, Cai L, Wang J, Zheng SG. The imbalance between regulatory and IL-17-secreting CD4+ T cells in lupus patients. *Clin Rheumatol.* 2010;29(11):1251–8.
59. Choi JY, Ho JHE, Pasoto SG, Bunin V, Kim ST, Carrasco S, et al. Circulating follicular helper-like T cells in systemic lupus erythematosus: association with disease activity. *Arthritis Rheumatol (Hoboken, NJ).* 2015;67(4):988–99.

60. Groom JR, Fletcher CA, Walters SN, Grey ST, Watt S V., Sweet MJ, et al. BAFF and MyD88 signals promote a lupuslike disease independent of T cells. *J Exp Med.* 2007;204(8):1959–71.
61. Yanaba K, Bouaziz JD, Haas KM, Poe JC, Fujimoto M, Tedder TF. A regulatory B cell subset with a unique CD1dhiCD5+ phenotype controls T cell-dependent inflammatory responses. *Immunity.* 2008;28(5):639–50.
62. Blair PA, Noreña LY, Flores-Borja F, Rawlings DJ, Isenberg DA, Ehrenstein MR, et al. CD19(+)CD24(hi)CD38(hi) B cells exhibit regulatory capacity in healthy individuals but are functionally impaired in systemic Lupus Erythematosus patients. *Immunity.* 2010;32(1):129–40.
63. Wang L, Zhao P, Ma L, Shan Y, Jiang Z, Wang J, et al. Increased interleukin 21 and follicular helper T-like cells and reduced interleukin 10+ B cells in patients with new-onset systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 2014;41(9):1781–92.
64. Walling H, Sontheimer R. Cutaneous lupus erythematosus: issues in diagnosis and treatment. *Am J Clin Dermatol.* 2009;10(6):365–81.
65. Hejazi EZ, Werth VP. Cutaneous Lupus Erythematosus: An Update on Pathogenesis, Diagnosis and Treatment. *Am J Clin Dermatol.* 2016;17(2):135–46.
66. Kudsi M, Nahas LD, Alsawah R, Hamsho A, Omar A. The prevalence of oral mucosal lesions and related factors in systemic lupus erythematosus patients. *Arthritis Res Ther.* 2021;23(1):1–5.
67. Grossman JM. Lupus arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2009;23(4):495–506.
68. Petri M. Musculoskeletal complications of systemic lupus erythematosus in the Hopkins Lupus Cohort: an update. *Arthritis Care Res.* 1995;8(3):137–45.
69. Zollars ES, Hyer M, Wolf B, Chapin R. Measuring lupus arthritis activity using contrasted high-field MRI. Associations with clinical measures of disease activity and novel patterns of disease. *Lupus Sci Med.* 2018;5(1).
70. Wolfe F, Petri M, Alarcón GS, Goldman J, Chakravarty EF, Katz RS, et al. Fibromyalgia, systemic lupus erythematosus (SLE), and evaluation of SLE activity. *J Rheumatol.* 2009;36(1):82–8.
71. Fayyaz A, Igoe A, Kurien BT, Danda D, James JA, Stafford HA, et al. Haematological manifestations of lupus. *Lupus Sci Med.* 2015;2(1):e000078–e000078.
72. Bastian HM, Roseman JM, McGwin G, Alarcón GS, Fessler BJ, Reveille JD. Systemic lupus erythematosus in three ethnic groups. XII. Risk factors for lupus nephritis after diagnosis. *Lupus.* 2002;11(3):152–60.
73. Bernatsky S, Boivin JF, Joseph L, Manzi S, Ginzler E, Gladman DD, et al. Mortality in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2006;54(8):2550–7.
74. Wakasugi D, Gono T, Kawaguchi Y, Hara M, Koseki Y, Katsumata Y, et al. Frequency of class III and IV nephritis in systemic lupus erythematosus without clinical renal involvement: an analysis of predictive measures. *J Rheumatol.* 2012;39(1):79–85.

75. Markowitz GS, D'Agati VD. The ISN/RPS 2003 classification of lupus nephritis: An assessment at 3 years. *Kidney Int.* 2007;71(6):491–5.
76. Bajema IM, Wilhelmus S, Alpers CE, Bruijn JA, Colvin RB, Cook HT, et al. Revision of the International Society of Nephrology/Renal Pathology Society classification for lupus nephritis: clarification of definitions, and modified National Institutes of Health activity and chronicity indices. *Kidney Int.* 2018;93(4):789–96.
77. Shea-Simonds P, Cairns TD, Roufosse C, Cook T, Vyse TJ. Lupus podocytopathy. *Rheumatology (Oxford).* 2009;48(12):1616–8.
78. Descombes E, Droz D, Drouet L, Grünfeld JP, Lesavre P. Renal vascular lesions in lupus nephritis. *Medicine (Baltimore).* 1997;76(5):355–68.
79. Petri M, Orbai AM, Alarcón GS, Gordon C, Merrill JT, Fortin PR, et al. Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2012;64(8):2677–86.
80. Hermosillo-Romo D, Brey RL. Diagnosis and management of patients with neuropsychiatric systemic lupus erythematosus (NPSLE). *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2002;16(2):229–44.
81. Miller DH, Buchanan N, Barker G, Morrissey SP, Kendall BE, Rudge P, et al. Gadolinium-enhanced magnetic resonance imaging of the central nervous system in systemic lupus erythematosus. *J Neurol.* 2004 Aug;239(8):460–4.
82. Kozora E, Ellison MC, West S. Reliability and validity of the proposed American College of Rheumatology neuropsychological battery for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Care Res.* 2004 Oct 15;51(5):810–8.
83. Lahita RG (Robert G. Systemic lupus erythematosus. 2011;1134.
84. Lau CS, Ying SKY. Prognostically distinct clinical patterns of systemic lupus erythematosus identified by cluster analysis. *Lupus.* 2009;18(14):1267–75.
85. Cervera R, Khamashta MA, Font J, Sebastiani GD, Gil A, Lavilla P, Doménech I, Aydintug AO, Jedryka-Góral A, de Ramón E et al. Systemic lupus erythematosus: clinical and immunologic patterns of disease expression in a cohort of 1,000 patients. The European Working Party on Systemic Lupus Erythematosus. *Med.* 1993;72(2):113–24.
86. Bertsias GK, Ioannidis JPA, Aringer M, Bollen E, Bombardieri S, Bruce IN, et al. EULAR recommendations for the management of systemic lupus erythematosus with neuropsychiatric manifestations: report of a task force of the EULAR standing committee for clinical affairs. *Ann Rheum Dis.* 2010;69(12):2074–82.
87. Aringer M, Costenbader K, Daikh D, Brinks R, Mosca M, Ramsey-Goldman R, et al. 2019 European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis.* 2019;78(9):1151–9.
88. Van Vollenhoven RF, Mosca M, Bertsias G, Isenberg D, Kuhn A, Lerstrøm K, et al. Treat-to-target in systemic lupus erythematosus: recommendations from an international task force. *Ann Rheum Dis.* 2014;73(6):958–67.

89. El-Sherbiny YM, Md Yusof MY, Psarras A, Hensor EMA, Kabba KZ, Dutton K, et al. B Cell Tetherin: A Flow Cytometric Cell-Specific Assay for Response to Type I Interferon Predicts Clinical Features and Flares in Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis Rheumatol* [Internet]. 2020 May 1 [cited 2022 Dec 20];72(5):769–79.
90. Yusof MYM, Psarras A, El-Sherbiny YM, Hensor EMA, Dutton K, Ul-Hassan S, et al. Prediction of autoimmune connective tissue disease in an at-risk cohort: prognostic value of a novel two-score system for interferon status. *Ann Rheum Dis*. 2018;77(10):1432.
91. Jack Arnold, Edward M Vital, Shouvik Dass, Aamir Aslam, Andy C Rawstron, Sinisa Savic, Paul Emery MYMY. A Personalized Rituximab Retreatment Approach Based on Clinical and B-Cell Biomarkers in ANCA-Associated Vasculitis. *Front Immunol*. 2022;12(12):803175.
92. Capecchi R, Puxeddu I, Pratesi F, Migliorini P. New biomarkers in SLE: from bench to bedside. *Rheumatology*.2020;59(Supplement_5):v12–8.
93. Mikdashi J, Nived O. Measuring disease activity in adults with systemic lupus erythematosus: the challenges of administrative burden and responsiveness to patient concerns in clinical research. *Arthritis Res Ther*. 2015;17(1):183.
94. Gladman DD, Ibañez D, Urowltz MB. Systemic lupus erythematosus disease activity index 2000. *J Rheumatol*. 2002;29(2):288–91.
95. Koelmeyer R, Nim HT, Nikpour M, Sun YB, Kao A, Guenther O, et al. High disease activity status suggests more severe disease and damage accrual in systemic lupus erythematosus. *Epidemiology and outcomes*. *Lupus Sci Med*. 2020;7:372.
96. Isenberg DA, Rahman A, Allen E, Farewell V, Akil M, Bruce IN, et al. BILAG 2004. Development and initial validation of an updated version of the British Isles Lupus Assessment Group’s disease activity index for patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology*. 2005 Jul;44(7):902–6.
97. Fanouriakis A, Kostopoulou M, Alunno A, Aringer M, Bajema I, Boletis JN, et al. 2019 update of the EULAR recommendations for the management of systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis*. 2019;78(6):736–45.
98. Piga M, Chessa E, Morand EF, Ugarte-Gil MF, Tektonidou M, van Vollenhoven R, et al. Physician Global Assessment International Standardisation CONsensus in Systemic Lupus Erythematosus: the PISCOS study. *Lancet Rheumatol*. 2022 Jun 1;4(6):e441–9.
99. Ugarte-Gil MF, Gamboa-Cardenas RV, Reátegui-Sokolova C, Pimentel-Quiroz VR, Zeña-Huancas P, Elera-Fitzcarrald C, et al. Evaluation of the LFA-REAL clinician-reported outcome (ClinRO) and patient-reported outcome (PRO): data from the Peruvian Almenara Lupus Cohort. *Lupus Sci Med*. 2020;7(1).
100. Askanase AD, Daly RP, Okado M, Neville K, Pong A, Hanrahan LM, et al. Development and content validity of the Lupus Foundation of America rapid evaluation of activity in lupus (LFA-REAL™): a patient-reported outcome measure for lupus disease activity. *Health Qual Life Outcomes*. 2019;17(1).
101. Askanase A, Li X, Pong A, Shum K, Kamp S, Carthen F, et al. Preliminary test of the LFA rapid evaluation of activity in lupus (LFA-REAL): an efficient outcome measure correlates with validated instruments. *Lupus Sci Med*. 2015;2(1).

102. Gladman D, Ginzler E, Goldsmith C, Fortin P, Liang M, Urowitz M, et al. The development and initial validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology damage index for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1996;39(3):363–9.
103. Wan Ghazali WS, Mohd Daud SM, Mohammad N, Wong KK. Slicc damage index score in systemic lupus erythematosus patients and its associated factors. *Medicine (Baltimore).* 2018;97(42).
104. Cornet A, Andersen J, Myllys K, Edwards A, Arnaud L. Living with systemic lupus erythematosus in 2020: a European patient survey. *Lupus Sci Med.* 2021;8(1).
105. Mckinley PS, Ouellette SC, Winkel GH. The contributions of disease activity, sleep patterns, and depression to fatigue in systemic lupus erythematosus. A proposed model. *Arthritis Rheum.* 1995;38(6):826–34.
106. B Wang, D D Gladman MBU. Fatigue in lupus is not correlated with disease activity. *J Rheumatol.* 1998;25(5):892–5.
107. Azizoddin DR, Gandhi N, Weinberg S, Sengupta M, Nicassio PM, Jolly M. Fatigue in systemic lupus: the role of disease activity and its correlates. *Lupus.* 2019 Feb 1;28(2):163–73.
108. Kawka L, Schlencker A, Mertz P, Martin T, Arnaud L. Fatigue in Systemic Lupus Erythematosus: An Update on Its Impact, Determinants and Therapeutic Management. *J Clin Med.* 2021;10(17).
109. Arnaud L, Gavand PE, Voll R, Schwarting A, Maurier F, Blaison G, et al. Predictors of fatigue and severe fatigue in a large international cohort of patients with systemic lupus erythematosus and a systematic review of the literature. *Rheumatology (Oxford).* 2019;58(6):987–96.
110. Ruiz-Pablos M, Paiva B, Montero-Mateo R, Garcia N, Zabaleta A. Epstein-Barr Virus and the Origin of Myalgic Encephalomyelitis or Chronic Fatigue Syndrome. *Front Immunol.* 2021 Nov 15;12:4637.
111. Kerr JR. Epstein-Barr virus induced gene-2 upregulation identifies a particular subtype of chronic fatigue syndrome/myalgic encephalomyelitis. *Front Pediatr.* 2019;7(MAR).
112. Mertz P, Schlencker A, Schneider M, Gavand PE, Martin T, Arnaud L. Towards a practical management of fatigue in systemic lupus erythematosus. *Lupus Sci Med.* 2020;7(1).
113. van Vollenhoven RF, Bertias G, Doria A, Isenberg D, Morand E, Petri MA, et al. 2021 DORIS definition of remission in SLE: final recommendations from an international task force. *Lupus Sci Med.* 2021;8(1).
114. Franklyn K, Lau CS, Navarra S V., Louthrenoo W, Lateef A, Hamijoyo L, et al. Definition and initial validation of a Lupus Low Disease Activity State (LLDAS). *Ann Rheum Dis.* 2016;75(9):1615–21.
115. Ugarte-Gil MF, Wojdyla D, Pons-Estel GJ, Catoggio LJ, Drenkard C, Sarano J, et al. Remission and Low Disease Activity Status (LDAS) protect lupus patients from damage occurrence: data from a multiethnic, multinational Latin American Lupus Cohort (GLADEL). *Ann Rheum Dis.* 2017;76(12):2071–4.

116. Amanda J Steiman, Dafna D Gladman, Dominique Ibañez MBU. Outcomes in patients with systemic lupus erythematosus with and without a prolonged serologically active clinically quiescent period. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2012;64(4):511–8.
117. Noémi Györi, Ioanna Giannakou, Katerina Chatzidionysiou, Laurence Magder, Ronald F van Vollenhoven MP. Disease activity patterns over time in patients with SLE: analysis of the Hopkins Lupus Cohort. *Lupus Sci Med*. 2017;4(1):e000192.
118. Epstein MA, Achong BG, Barr YM. VIRUS PARTICLES IN CULTURED LYMPHOBLASTS FROM BURKITT'S LYMPHOMA. *Lancet*. 1964;283(7335):702–3.
119. Kutok JL, Wang F. Spectrum of Epstein-Barr virus-associated diseases. *Annu Rev Pathol*. 2006;1:375–404.
120. Bar-Or A, Banwell B, Berger JR, Lieberman PM. Guilty by association: Epstein-Barr virus in multiple sclerosis. *Nat Med*. 2022;28(5):904–6.
121. Bjornevik K, Cortese M, Healy BC, Kuhle J, Mina MJ, Leng Y, et al. Longitudinal analysis reveals high prevalence of Epstein-Barr virus associated with multiple sclerosis. *Science*. 2022;375(6578):296–301.
122. Draborg AH, Duus K, Houen G. Epstein-Barr virus and systemic lupus erythematosus. *Clin Dev Immunol*. 2012;2012:370516.
123. Jog NR, Young KA, Munroe ME, Harmon MT, Guthridge JM, Kelly JA, et al. Association of Epstein-Barr virus serological reactivation with transitioning to systemic lupus erythematosus in at-risk individuals. *Ann Rheum Dis*. 2019 Sep 1;78(9):1235–41.
124. Jog NR, James JA. Epstein Barr Virus and Autoimmune Responses in Systemic Lupus Erythematosus. *Front Immunol*. 2021;11.
125. Young LS, Arrand JR, Murray PG. EBV gene expression and regulation. *Hum Herpesviruses Biol Ther Immunophyl*. 2007;461–89.
126. Hammerschmidt W, Sugden B. Identification and characterization of oriLyt, a lytic origin of DNA replication of Epstein-Barr virus. *Cell*. 1988;55(3):427–33.
127. Niller HH, Wolf H, Minarovits J. Regulation and dysregulation of Epstein-Barr virus latency: implications for the development of autoimmune diseases. *Autoimmunity*. 2008;41(4):298–328.
128. Kanegane H, Wakiguchi H, Kanegane C, Kurashige T, Tosato G. Viral interleukin-10 in chronic active Epstein-Barr virus infection. *J Infect Dis*. 1997;176(1):254–7.
129. Henderson S, Huen D, Rowe M, Dawson C, Johnson G, Rickinson A. Epstein-Barr virus-coded BHRF1 protein, a viral homologue of Bcl-2, protects human B cells from programmed cell death. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993;90(18):8479–83.
130. Adler B, Schaadt E, Kempkes B, Zimmer-Strobl U, Baier B, Bornkamm GW. Control of Epstein-Barr virus reactivation by activated CD40 and viral latent membrane protein 1. *Proc Natl Acad Sci*. 2002;99(1):437–42.
131. Thorley-Lawson DA. Epstein-Barr virus: exploiting the immune system. *Nat Rev Immunol*. 2001;1(1):75–82.

132. Steven NM, Annels NE, Kumar A, Leese AM, Kurilla MG, Rickinson AB. Immediate early and early lytic cycle proteins are frequent targets of the Epstein-Barr virus-induced cytotoxic T cell response. *J Exp Med.* 1997;185(9):1605–17.
133. Setsuda J, Teruya-Feldstein J, Harris NL, Ferry JA, Sorbara L, Gupta G, et al. Interleukin-18, Interferon- γ , IP-10, and Mig Expression in Epstein-Barr Virus-Induced Infectious Mononucleosis and Posttransplant Lymphoproliferative Disease. *Am J Pathol.* 1999;155(1):257.
134. Jones JF, Straus SE. Chronic Epstein-Barr virus infection. *Annu Rev Med [Internet].* 1987 [cited 2022 Dec 16];38:195–209.
135. Middeldorp JM. Epstein-barr virus-specific humoral immune responses in health and disease. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2015 Oct 1;391:289–323.
136. Abusalah MAH, Gan SH, Al-hatamleh MAI, Irekeola AA, Shueb RH, Yean CY. Recent Advances in Diagnostic Approaches for Epstein-Barr Virus. *Pathog (Basel, Switzerland).* 2020;9(3).
137. Balfour HH, Dunmire SK, Hogquist KA. Infectious mononucleosis. *Clin Transl Immunol.* 2015;4(2):e33.
138. Lang D, Vornhagen R, Rothe M, Hinderer W, Sonneborn HH, Plachter B. Cross-reactivity of Epstein-Barr virus-specific immunoglobulin M antibodies with cytomegalovirus antigens containing glycine homopolymers. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2001;8(4):747–56.
139. Hess RD. Routine Epstein-Barr virus diagnostics from the laboratory perspective: still challenging after 35 years. *J Clin Microbiol.* 2004;42(8):3381–7.
140. M DP, P C. Serological diagnosis of Epstein-Barr virus infection: Problems and solutions. *World J Virol.* 2012;1(1):31.
141. Wohlrabe P, Färber I, Wutzler P UR. Antibodies to Epstein-Barr virus-induced early antigens in blood donors. *Acta Virol.* 1989;33(4):344–8.
142. Moon UY, Park SJ, Oh ST, Kim WU, Park SH, Lee SH, et al. Patients with systemic lupus erythematosus have abnormally elevated Epstein-Barr virus load in blood. *Arthritis Res Ther.* 2004;6(4).
143. Kang I, Quan T, Nolasco H, Park S-H, Hong MS, Crouch J, et al. Defective control of latent Epstein-Barr virus infection in systemic lupus erythematosus. *J Immunol.* 2004;172(2):1287–94.
144. Li ZX, Zeng S, Wu HX, Zhou Y. The risk of systemic lupus erythematosus associated with Epstein-Barr virus infection: a systematic review and meta-analysis [Internet]. Vol. 19, *Clinical and Experimental Medicine.* Springer-Verlag Italia s.r.l.; 2019. p. 23–36.
145. Larsen M, Sauce D, Deback C, Arnaud L, Mathian A, Miyara M, et al. Exhausted Cytotoxic Control of Epstein-Barr Virus in Human Lupus. *PLoS Pathog.* 2011;7(10):1002328.
146. Berner BR, Tary-Lehmann M, Yonkers NL, Askari AD, Lehmann P V., Anthony DD. Phenotypic and functional analysis of EBV-specific memory CD8 cells in SLE. *Cell Immunol.* 2005;235(1):29–38.

147. Su R, Li Z, Wang Y, Liu Y, Zheng X, Gao C, et al. Imbalance between th17 and regulatory T cells in patients with systemic lupus erythematosus combined with EBV/CMV viraemia. *Clin Exp Rheumatol*. 2020;38(5):864–73.
148. Draborg A, Iزارzugaza JMG, Houen G. How compelling are the data for Epstein-Barr virus being a trigger for systemic lupus and other autoimmune diseases? Vol. 28, *Current Opinion in Rheumatology*. Lippincott Williams and Wilkins; 2016. p. 398–404.
149. França SA de S, Viana JBG de O, Góes HCA, Fonseca RR de S, Laurentino RV, Costa IB, et al. Epidemiology of the Epstein-Barr Virus in Autoimmune Inflammatory Rheumatic Diseases in Northern Brazil. *Viruses*. 2022;14(4).
150. Chougule D, Nadkar M, Rajadhyaksha A, Pandit-Shende P, Surve P, Dawkar N, et al. Association of clinical and serological parameters of systemic lupus erythematosus patients with Epstein-Barr virus antibody profile. *J Med Virol*. 2018;90(3):559–63.
151. Rasmussen NS, Nielsen CT, Houen G, Jacobsen S. Humoral markers of active Epstein-Barr virus infection associate with anti-extractable nuclear antigen autoantibodies and plasma galectin-3 binding protein in systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2016;25(14):1567–76.
152. Wood RA, Guthridge L, Thurmond E, Guthridge CJ, Kheir JM, Bourn RL, et al. Serologic markers of Epstein-Barr virus reactivation are associated with increased disease activity, inflammation, and interferon pathway activation in patients with systemic lupus erythematosus. *J Transl Autoimmun*. 2021;4.
153. Rasmussen N, Draborg A, Nielsen C, Jacobsen S, Houen G. Antibodies to early EBV, CMV, and HHV6 antigens in systemic lupus erythematosus patients. *Scand J Rheumatol*. 2015;44(2):143–9.
154. Draborg AH, Jørgensen JM, Müller H, Nielsen CT, Jacobsen S, Iversen L V., et al. Epstein-Barr virus early antigen diffuse (EBV-EA/D)-directed immunoglobulin A antibodies in systemic lupus erythematosus patients. *Scand J Rheumatol*. 2012;41(4):280–9.
155. Csorba K, Schirmbeck LA, Tuncer E, Ribi C, Roux-Lombard P, Chizzolini C, et al. Anti-C1q Antibodies as Occurring in Systemic Lupus Erythematosus Could Be Induced by an Epstein-Barr Virus-Derived Antigenic Site. *Front Immunol*. 2019;10.
156. James JA, Robertson JM. Lupus and Epstein-Barr. Vol. 24, *Current Opinion in Rheumatology*. 2012. p. 383–8.
157. Yadav P, Tran H, Ebegbe R, Gottlieb P, Wei H, Lewis RH, et al. Antibodies elicited in response to EBNA-1 may cross-react with dsDNA. *PLoS One*. 2011;6(1).
158. McClain MT, Heinlen LD, Dennis GJ, Roebuck J, Harley JB, James JA. Early events in lupus humoral autoimmunity suggest initiation through molecular mimicry. *Nat Med*. 2005;11(1):85–9.
159. Sundar K, Jacques S, Gottlieb P, Villars R, Benito ME, Taylor DK, et al. Expression of the Epstein-Barr virus nuclear antigen-1 (EBNA-1) in the mouse can elicit the production of anti-dsDNA and anti-Sm antibodies. *J Autoimmun*. 2004;23(2):127–40.
160. Tu J, Wang X, Geng G, Xue X, Lin X, Zhu X, et al. The possible effect of B-cell epitopes of Epstein-Barr virus early antigen, membrane antigen, latent membrane protein-1, and -2A

on systemic lupus erythematosus. *Front Immunol.* 2018;9(FEB):187.

161. Harley JB, Chen X, Pujato M, Miller D, Maddox A, Forney C, et al. Transcription factors operate across disease loci, with EBNA2 implicated in autoimmunity. *Nat Genet.* 2018;50(5):699–707.
162. Peters AL, Stunz LL, Meyerholz DK, Mohan C, Bishop GA. Latent membrane protein 1, the EBV-encoded oncogenic mimic of CD40, accelerates autoimmunity in B6.Sle1 mice. *J Immunol.* 2010;185(7):4053–62.
163. Han L, Zhang Y, Wang Q, Xin M, Yang K, Lei K, et al. Epstein–Barr virus infection and type I interferon signature in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2018;27(6):947–54.
164. Miskovic R, Banko A RS. The role of Epstein-Barr virus in systemic lupus erythematosus. *Med Podml.* 2023;74(3).
167. Zen M, Iaccarino L, Gatto M, Saccon F, Larosa M, Ghirardello A, et al. Lupus low disease activity state is associated with a decrease in damage progression in Caucasian patients with SLE, but overlaps with remission. *Ann Rheum Dis.* 2018;77(1):104–10.
168. Tsang-A-Sjoe MWP, Bultink IEM, Heslinga M, Voskuyl AE. Both prolonged remission and Lupus Low Disease Activity State are associated with reduced damage accrual in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford).* 2017;56(1):121–8.
169. Banko A, Lazarevic I, Stevanovic G, Cirkovic A, Karalic D, Cupic M, et al. Analysis of the Variability of Epstein-Barr Virus Genes in Infectious Mononucleosis: Investigation of the Potential Correlation with Biochemical Parameters of Hepatic Involvement. *J Med Biochem.* 2016;35(3):337.
170. Banko A, Lazarevic I, Cupic M, Stevanovic G, Boricic I, Jovanovic T. Carboxy-terminal sequence variation of LMP1 gene in Epstein-Barr-virus-associated mononucleosis and tumors from Serbian patients. *J Med Virol.* 2012;84(4):632–42.
171. Lorenzetti MA, Altchek J, Moroni S, Moscatelli G, Chabay PA, Preciado MV. EBNA1 sequences in Argentinean pediatric acute and latent Epstein-Barr virus infection reflect circulation of novel South American variants. *J Med Virol.* 2010;82(10):1730–8.
172. Li DJ, Bei JX, Mai SJ, Xu JF, Chen LZ, Zhang RH, et al. The dominance of China 1 in the spectrum of Epstein-Barr virus strains from Cantonese patients with nasopharyngeal carcinoma. *J Med Virol.* 2009;81(7):1253–60.
173. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.* 1988;16(3):1215–1215.
174. Barrett JC, Fry B, Maller J, Daly MJ. Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics.* 2005;21(2):263–5.
175. Hewlett S, Dures E, Almeida C. Measures of fatigue: Bristol Rheumatoid Arthritis Fatigue Multi-Dimensional Questionnaire (BRAFMQ), Bristol Rheumatoid Arthritis Fatigue Numerical Rating Scales (BRAFNRS) for severity, effect, and coping, Chalder Fatigue Questionnaire (CFQ), Checklist Individual Strength (CIS20R and CIS8R), Fatigue Severity Scale (FSS), Functional Assessment Chronic Illness Therapy (Fatigue) (FACIT-F), Multi-

- Dimensional Assessment of Fatigue (MAF), Multi-Dimensional Fatigue Inventory (MFI), Pediatric Quality. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2011;63 Suppl 11(SUPPL. 11).
176. Klionsky Y, Antonelli M. Thyroid Disease in Lupus: An Updated Review. *ACR Open Rheumatol*. 2020;2(2):74.
 177. Lisnevskaja L, Murphy G, Isenberg D. Systemic lupus erythematosus. *Lancet*. 2014;384(9957):1878–88.
 178. Alani H, Henty JR, Thompson NL, Jury E, Ciurtin C. Systematic review and meta-analysis of the epidemiology of polyautoimmunity in Sjögren’s syndrome (secondary Sjögren’s syndrome) focusing on autoimmune rheumatic diseases. *Scand J Rheumatol*. 2018;47(2):141–54.
 179. Pasoto SG, Martins VA de O, Bonfa E. Sjögren’s syndrome and systemic lupus erythematosus: links and risks. *Open Access Rheumatol Res Rev*. 2019;11:33.
 180. Riancho-Zarrabeitia L, Martínez-Taboada V, Rúa-Figueroa I, Alonso F, Galindo-Izquierdo M, Ovalles J, et al. Antiphospholipid syndrome (APS) in patients with systemic lupus erythematosus (SLE) implies a more severe disease with more damage accrual and higher mortality. *Lupus*. 2020;29(12):1556–65.
 181. Yan Chua MH, Ting Ng IA, Cheung MWL, Mak A. Association Between Cigarette Smoking and Systemic Lupus Erythematosus: An Updated Multivariate Bayesian Metaanalysis. *J Rheumatol*. 2020;47(10):1514–21.
 182. Hahn J, Leatherwood C, Malspeis S, Liu X, Lu B, Roberts AL, et al. Associations Between Smoking and Systemic Lupus Erythematosus-Related Cytokines and Chemokines Among US Female Nurses. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2021;73(11):1583–9.
 183. Parisi D, Bernier C, Chasset F, Arnaud L. Impact of tobacco smoking upon disease risk, activity and therapeutic response in systemic lupus erythematosus: A systematic review and meta-analysis. *Autoimmun Rev*. 2019 Nov 1;18(11):102393.
 184. Raymond WD, Hamdorf M, Furfaro M, Eilertsen GO, Nossent JC. Smoking associates with increased BAFF and decreased interferon- γ levels in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus Sci Med*. 2021;8(1).
 185. Newman K, Owlia MB, El-Hemaidi I, Akhtari M. Management of immune cytopenias in patients with systemic lupus erythematosus - Old and new. *Autoimmun Rev*. 2013;12(7):784–91.
 186. Cozzani E, Drosera M, Gasparini G, Parodi A. Serology of Lupus Erythematosus: Correlation between Immunopathological Features and Clinical Aspects. *Autoimmune Dis*. 2014;2014.
 187. Ünlü O, Zuily S, Erkan D. The clinical significance of antiphospholipid antibodies in systemic lupus erythematosus. *Eur J Rheumatol*. 2016;3(2):75.
 188. Askanase AD, Tang W, Zuraw Q, Gordon R, Brotherton B, Merrill JT. Evaluation of the LFA-REAL clinician-reported outcome (ClinRO) and patient-reported outcome (PRO): prespecified analysis of the phase III ustekinumab trial in patients with SLE. *Lupus Sci Med*. 2023;10(1).

189. Vista ES, Weisman MH, Ishimori ML, Chen H, Bourn RL, Bruner BF, et al. Strong viral associations with SLE among Filipinos. *Lupus Sci Med*. 2017;4(1):e000214.
190. Hanlon P, Avenell A, Aucott L, Vickers MA. Systematic review and meta-analysis of the sero-epidemiological association between Epstein-Barr virus and systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther*. 2014;16(1).
191. Huggins ML, Todd I, Powell RJ. Reactivation of Epstein-Barr virus in patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatol Int*. 2005;25(3):183–7.
192. Das P, Minz RW, Saikia B, Sharma A, Anand S, Singh H, et al. Association of Human Leucocyte Antigen Class II, with viral load and immune response to Epstein-Barr virus in adult and pediatric Systemic lupus erythematosus patients. *Lupus*. 2022;31(9):1054–66.
193. Sternbæk L, Draborg AH, Østerlund MT, Iversen L V., Troelsen L, Theander E, et al. Increased antibody levels to stage-specific Epstein–Barr virus antigens in systemic autoimmune diseases reveal a common pathology. *Scand J Clin Lab Invest*. 2019;79(1–2):7–16.
194. Truszevska A, Wirkowska A, Gala K, Truszevski P, Krzemień-Ojak Ł, Mucha K, et al. EBV load is associated with cfDNA fragmentation and renal damage in SLE patients. *Lupus*. 2021;30(8):1214–25.
195. Aygun D, Kuskucu MA, Sahin S, Adrovic A, Barut K, Yıldız M, et al. Epstein-Barr virus, cytomegalovirus and BK polyomavirus burden in juvenile systemic lupus erythematosus: correlation with clinical and laboratory indices of disease activity. *Lupus*. 2020;29(10):1263–9.
196. Gross AJ, Hochberg D, Rand WM, Thorley-Lawson DA. EBV and Systemic Lupus Erythematosus: A New Perspective. *J Immunol*. 2005;174(11):6599–607.
197. Zandman-Goddard G, Berkun Y, Barzilai O, Boaz M, Blank M, Ram M, et al. Exposure to Epstein-Barr virus infection is associated with mild systemic lupus erythematosus disease. *Ann N Y Acad Sci*. 2009;1173:658–63.
198. Biswas S, Bieber K, Manz RA. IL-10 revisited in systemic lupus erythematosus. *Front Immunol*. 2022;13.
199. Csiszár A, Nagy G, Gergely P, Pozsonyi T, Pócsik É. Increased interferon-gamma (IFN- γ), IL-10 and decreased IL-4 mRNA expression in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) from patients with systemic lupus erythematosus (SLE). *Clin Exp Immunol*. 2000;122(3):464.
200. Liu P, Song J, Su H, Li L, Lu N, Yang R, et al. IL-10 gene polymorphisms and susceptibility to systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. *PLoS One*. 2013;8(7).
201. Peng H, Wang W, Zhou M, Li R, Pan HF, Ye DQ. Role of interleukin-10 and interleukin-10 receptor in systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol*. 2013;32(9):1255–66.
202. Saraiva M, Saraiva M, Vieira P, Vieira P, Vieira P, O’Garra A, et al. Biology and therapeutic potential of interleukin-10. *J Exp Med*. 2020;217(1):1–19.
203. Ouyang W, Rutz S, Crellin NK, Valdez PA, Hymowitz SG. Regulation and functions of the IL-

- 10 family of cytokines in inflammation and disease. *Annu Rev Immunol*. 2011;29:71–109.
204. Hermann J, Gruber S, Neufeld JB, Grundtner P, Graninger M, Graninger WB, et al. IL10R1 loss-of-function alleles in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Rheumatol*. 2009;27(4):603–8.
205. Peng H, Liu CY, Zhou M, Wen PF, Zhang M, Qiu LJ, et al. IL-10RB rs2834167 (A/G) polymorphism is associated with the susceptibility to systemic lupus erythematosus: evidence from a study in Chinese Han population. *Inflammation*. 2013;36(6):1218–24.
206. Yang XK, Li P, Li S, Zhang C, Li BZ, Leng RX, et al. Genetic variant of IL-10RA and susceptibility to rheumatoid arthritis in a Chinese population. *Clin Rheumatol*. 2017;36(4):825–30.
207. Hikami K, Ehara Y, Hasegawa M, Fujimoto M, Matsushita M, Oka T, et al. Association of IL-10 receptor 2 (IL10RB) SNP with systemic sclerosis. *Biochem Biophys Res Commun*. 2008 Aug 29;373(3):403–7.
208. Sherry ST, Ward MH, Kholodov M, Baker J, Phan L, Smigielski EM, et al. dbSNP: the NCBI database of genetic variation. *Nucleic Acids Res*. 2001;29(1):308.
209. Song RH, Li Q, Wang W, Yao QM, Shao XQ, Zhang JA. Variants of Interleukin-22 Gene Confer Predisposition to Autoimmune Thyroid Disease. *Int J Endocrinol*. 2017;2017.
210. De Vito P, Incerpi S, Pedersen JZ, Luly P, Davis FB, Davis PJ. Thyroid hormones as modulators of immune activities at the cellular level. *Thyroid*. 2011;21(8):879–90.
211. Lin HC, Chang HM, Hung YM, Chang R, Chen HH, Wei JCC. Hashimoto's thyroiditis increases the risk of new-onset systemic lupus erythematosus: a nationwide population-based cohort study. *Arthritis Res Ther*. 2023;25(1):1–23. A
212. Han L, Zhang Y, Wang Q, Xin M, Yang K, Lei K, et al. Epstein–Barr virus infection and type I interferon signature in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2018;27(6):947–54.
213. Brito-Zerón P, Acar-Denizli N, Zeher M, Rasmussen A, Seror R, Theander E, et al. Influence of geolocation and ethnicity on the phenotypic expression of primary Sjögren's syndrome at diagnosis in 8310 patients: a cross-sectional study from the Big Data Sjögren Project Consortium. *Ann Rheum Dis*. 2017;76(6):1042–50.
214. Esen BA, Yilmaz G, Uzun S, Özdamar M, Aksözek A, Kamali S, et al. Serologic response to Epstein-Barr virus antigens in patients with systemic lupus erythematosus: a controlled study. *Rheumatol Int*. 2012;32(1):79–83.
215. Mold C, Bradt BM, Nemerow GR, Cooper NR. Epstein-Barr virus regulates activation and processing of the third component of complement. *J Exp Med*. 1988;168(3):949.
216. JONDAL M, KLEIN G, OLDSTONE MBA, BOKISH V, YEFENOF E. Surface markers on human B and T lymphocytes. VIII. Association between complement and Epstein-Barr virus receptors on human lymphoid cells. *Scand J Immunol*. 1976;5(4):401–10.
217. Nemerow GR, Mold C, Schwend VK, Tollefson V, Cooper NR. Identification of gp350 as the viral glycoprotein mediating attachment of Epstein-Barr virus (EBV) to the EBV/C3d

receptor of B cells: sequence homology of gp350 and C3 complement fragment C3d. *J Virol.* 1987;61(5):1416–20.

218. McConnell I, Klein G, Lint TF, Lachmann PJ. Activation of the alternative complement pathway by human B cell lymphoma lines is associated with Epstein-Barr virus transformation of the cells. *Eur J Immunol.* 1978;8(7):453–8.
219. C Mold, B M Bradt, G R Nemerow NRC. Activation of the alternative complement pathway by EBV and the viral envelope glycoprotein, gp350. *J Immunol.* 1988;140(11):3867–74.
220. Xuan J, Ji Z, Wang B, Zeng X, Chen R, He Y, et al. Serological Evidence for the Association Between Epstein-Barr Virus Infection and Sjögren’s Syndrome. *Front Immunol.* 2020 Oct 30;11:2826.

Lista skraćenica korišćenih u tekstu:

aCL – antikardiolipinska antitela

ACR – (eng. American College of Rheumatology)

AIM – akutni infarkt miokarda

ANA – antinuklearna antitela

AP – angina pectoris

AZA – azatioprin

BAFF – (eng. B cell activating factor of TNF family)

Blys – B limfocitni stimulator

BILAG – (eng. British Isles Lupus Assessment Group)

β2-GPI – β2 – glikoprotein I

BMI – (eng. body mass index)

CRP – C-reaktivni protein

CYC – ciklofosfamid

CMV – citomegalo virus

CVI – cerebrovaskularni insult

DC – dendritična ćelija

ds-DNK – dvolančana deoksiribonukleinska kiselina

DORIS – (eng. Definition of remission in SLE)

DI – (eng. Damage Index)

EBV – Epštajn Bar virus

EULAR – (eng. European League Against Rheumatism)

ECLAM – (eng. European Consensus Lupus Activity Measurement)

EBER – EBV male nekodirajuće RNK

EBNA – EBV nuklearni antigen

EA – rani antigen

EDTA – etilen-diamino-tetrahlorna kiselina

ELISA – (eng. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)

FACIT-F – (eng. Functional Assessment of Chronic Illness Therapy-Fatigue)

GWAS – (eng. Genome Wide Associations Study)
Gly-Ala – glicin-alanin
gp – glikoprotein
HLA – (eng. Human Leukocyte Antigen)
HIV – (eng. Human Immunodeficiency Virus)
HERV – (eng. Human Endogenous Retrovirus)
HHV4 – Humani herpes virus 4
IL – interleukin
IFN – interferon
IFNAR – interferon receptor tip I
IM – infektivna mononukleoza
LFA-REAL – (eng. Lupus Foundation of America Rapid Evaluation of Activity in Lupus)
Clin RO – (eng. Clinician Reported Outcome)
PRO – (eng. Patient Reported Outcome)
LD – (eng. linkage disequilibrium)
LLDAS – (eng. Lupus Low Disease Activity)
LMP – latentni membranski protein
MA – membranski antigen
MHC – (eng. Major Histocompatibility Complex)
MMF – mikofenolat mofetil
MTX – metotreksat
NLR – (eng. Neutrophil to Lymphocyte Ratio)
NETs – (eng. Neutrophil Extracellular Traps)
NMR – nuklearna magnetna rezonanca
NPSLE – neuropsihijatrijski lupus
PCR – (eng. polymerase chain reaction)
PGA – (eng. Physician Global Assessment)
RNP – ribonukleoprotein
RF – reumatoidni faktor
SE – sedimentacija

SEL – sistemski eritemski lupus

Sm – (eng. Smith)

SSA/SSB – (eng. Sjogren Syndrome A/Sjogren Syndrome B)

SLEDAI – (eng. SLE Disease Activity Index)

SLICC – (eng. Systemic Lupus International Collaborating Clinics)

SNP – (eng. Single Nucleotide polymorphism)

TIA – tranzitorni ishemijski atak

TLR – (eng. Toll-like Receptor)

T2T –(eng. Treat to Target)

TNF – faktor nekroze tumora

UV – ultravioletno

VCA – (eng. Viral Capsid Antigen)

Spisak publikovanih radova proisteklih iz rada na doktorskoj disertaciji:

1. Miskovic, R.; Cirkovic, A.; Miljanovic, D.; Jeremic, I.; Grk, M.; Basaric, M.; Lazarevic, I.; Stojanovic, M.; Plavsic, A.; Raskovic, S.; Banko, A. Epstein–Barr Virus Reactivation as a New Predictor of Achieving Remission or Lupus Low Disease Activity State in Patients with Systemic Lupus Erythematosus with Cutaneous Involvement. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 6156. doi.org/10.3390/ijms24076156
2. Miskovic R, Banko A, Raskovic S. The role of Epstein-Barr virus in systemic lupus erythematosus. *Medicinski podmladak*.2023, 74(3). doi.10.5937/mp74-41512
3. Miskovic R, Miljanovic D, Dimic Cumic M, Lazarevic I and Banko A. "Epstein–Barr virus positive gastric adenocarcinoma with systemic EBV reactivation in a patient with persistently active systemic lupus erythematosus" *Oncologie*, vol. 25, no. 1, 2023, pp. 93-97. doi.org/10.1515/oncologie-2022-1010

Biografija

Dr Rada Mišković (rođ. Delić) rođena je 11.08.1980.godine, u Trebinju, Bosna i Hercegovina. Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu upisala je 1999. godine, a završila 2005. godine sa prosečnom ocenom 9.66. Tokom fakulteta radila je kao demonstrant na predmetu Histologija sa embriologijom, a 2005. godine bila je među deset najboljih studenata generacije.

Od maja 2007. godine zaposlena je u Klinici za alergologiju i imunologiju Univerzitetskog kliničkog centra Srbije. Maja 2011. godine odbranila je završni rad specijalističkih akademskih studija iz oblasti imunologije: "Koncentracija vitamina D u serumu pacijenata sa sistemskim eritemskim lupusom: korelacija sa kliničkim manifestacijama i laboratorijskim pokazateljima" (mentor Prof. dr Jasna Bolpačić). Aprila 2014. godine položila specijalistički ispit iz interne medicine, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu (ocena odličan). U zvanje kliničkog asistenta za užu naučnu oblast interna medicina - alergologija na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu izabrana je aprila 2016. godine. Doktorske studije iz oblasti Zapaljenje i autoimunost je upisala školske 2016/2017. godine. Rad uže specijalizacije iz alergologije i kliničke imunologije pod naslovom "Uticaj kliničkih i imunoloških parametara na procenu kvaliteta života u pacijenata sa Sjögrenovim sindromom" je odbranila juna 2018. godine (mentor Prof.dr Sanvila Rašković).

Kao predavač je učestovala na više domaćih simpozijuma i domaćih kongresa sa međunarodnim učešćem. Učestvovala je u organizaciji i bila predavač na međunarodnom sastanku u okviru European Congress of Immunology (ECI2021), pod nazivom: Turkish-Serbian Rheumatology Day – an update in immune mechanism and novel therapeutic approaches in rheumatology, koji je održan 31.08.2021. godine. Kao istraživač i koordinator učestvuje u izvođenju kliničkih studija.

Autor je 17 stručno-naučnih radova publikovanih in extenso, i preko 50 izvoda u zbornicima sa međunarodnih i domaći sastanaka.

Član je Srpskog lekarskog društva, sekcije za alergologiju i kliničku imunologiju, Udruženja alergologa i kliničkih imunologa Srbije, Udruženja reumatologa Srbije, Društva imunologa Srbije, Srpske grupe za imunodeficijencije, kao i većeg broja međunarodnih udruženja – EAACI, AAAAI, WAO, SLEuro.

Aktivno se koristi engleskim i nemačkim jezikom.

Prilog 1.

SLEDAI2K (preuzeto iz Gladman i saradnici. 2002, (94))

SLEDAI-2K: DATA COLLECTION SHEET

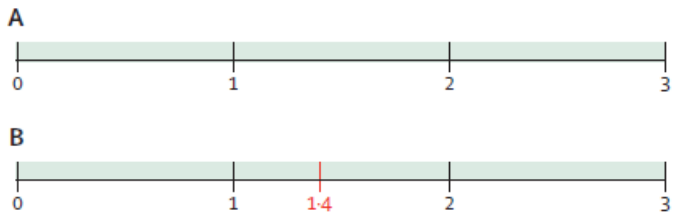
Study No.: _____ Patient Name: _____ Visit Date: _____
d m yr

(Enter weight in SLEDAI-2K Score column if descriptor is present at the time of the visit or in the preceding 30 days)

SLEDAI 2K Weight	SCORE	Descriptor	Definition
8	_____	Seizure	Recent onset, exclude metabolic, infectious or drug causes.
8	_____	Psychosis	Altered ability to function in normal activity due to severe disturbance in the perception of reality. Include hallucinations, incoherence, marked loose associations, impoverished thought content, marked illogical thinking, bizarre, disorganized, or catatonic behavior. Exclude uremia and drug causes
8	_____	Organic brain syndrome	Altered mental function with impaired orientation, memory, or other intellectual function, with rapid onset and fluctuating clinical features, inability to sustain attention to environment, plus at least 2 of the following: perceptual disturbance, incoherent speech, insomnia or daytime drowsiness, or increased or decreased psychomotor activity. Exclude metabolic, infectious, or drug causes.
8	_____	Visual disturbance	Retinal changes of SLE. Include cytoid bodies, retinal hemorrhages, serous exudate or hemorrhages in the choroid, or optic neuritis. Exclude hypertension, infection, or drug causes.
8	_____	Cranial nerve disorder	New onset of sensory or motor neuropathy involving cranial nerves.
8	_____	Lupus headache	Severe, persistent headache; may be migrainous, but must be nonresponsive to narcotic analgesia.
8	_____	CVA	New onset of cerebrovascular accident(s). Exclude arteriosclerosis.
8	_____	Vasculitis	Ulceration, gangrene, tender finger nodules, periungual infarction, splinter hemorrhages, or biopsy or angiogram proof of vasculitis.
4	_____	Arthritis	≥ 2 joints with pain and signs of inflammation (i.e., tenderness, swelling or effusion).
4	_____	Myositis	Proximal muscle aching/weakness, associated with elevated creatine phosphokinase/aldolase or electromyogram changes or a biopsy showing myositis.
4	_____	Urinary casts	Heme-granular or red blood cell casts.
4	_____	Hematuria	>5 red blood cells/high power field. Exclude stone, infection or other cause.
4	_____	Proteinuria	>0.5 gram/24 hours
4	_____	Pyuria	>5 white blood cells/high power field. Exclude infection.
2	_____	Rash	Inflammatory type rash.
2	_____	Alopecia	Abnormal, patchy or diffuse loss of hair.
2	_____	Mucosal ulcers	Oral or nasal ulcerations.
2	_____	Pleurisy	Pleuritic chest pain with pleural rub or effusion, or pleural thickening.
2	_____	Pericarditis	Pericardial pain with at least 1 of the following: rub, effusion, or electrocardiogram or echocardiogram confirmation.
2	_____	Low complement	Decrease in CH50, C3, or C4 below the lower limit of normal for testing laboratory
2	_____	Increased DNA binding	Increased DNA binding by Farr assay above normal range for testing laboratory.
1	_____	Fever	>38° C. Exclude infectious cause.
1	_____	Thrombocytopenia	<100,000 platelets / x10 ⁹ /L, exclude drug causes.
1	_____	Leukopenia	< 3,000 white blood cells / x10 ⁹ /L, exclude drug causes.
TOTAL SCORE		_____	

Prilog 3.

Globalna ocena lekara - PGA (preuzeto iz Piga i saradnici, 2022 (98))



Prilog 4.

SLICC/ACR indeks ostećenja (eng. SLE/ACR Damage Index) (preuzeto iz Gladman i saradnici, 1996) (102)

Table VIII. Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology (SLICC/ACR) Damage Index.

Score	Item
	Ocular (either eye, by clinical assessment)
0,1	Any cataract ever
0,1	Retinal change or optic atrophy
	Neuropsychiatric
0,1	Cognitive impairment (e.g. memory deficit, difficulty with calculation, poor concentration, difficulty in spoken or written language, impaired performance level) OR major psychosis
0,1	Seizures requiring therapy for 6 months
0,1,2	Cerebrovascular accident ever (score 2 if >1)
0,1	Cranial or peripheral neuropathy (excluding optic)
0,1	Transverse myelitis
	Renal
0,1	Estimated or measured glomerular filtration rate < 50%
0,1	Proteinuria > 3.5g/24h
or 3	OR End-stage renal disease (regardless of dialysis or transplantation)
	Pulmonary
0,1	Pulmonary hypertension (right ventricular prominence, or loud P2)
0,1	Pulmonary fibrosis (physical and radiograph)
0,1	Shrinking lung (radiograph)
0,1	Pleural fibrosis (radiograph)
0,1	Pulmonary infarction (radiograph)
	Cardiovascular
0,1	Angina OR coronary artery bypass
0,1,2	Myocardial infarction ever (score 2 if > 1)
0,1	Cardiomyopathy (ventricular dysfunction)
0,1	Valvular disease (diastolic murmur or systolic murmur > 3/6)
0,1	Pericarditis for 6 months, OR pericardectomy
	Peripheral vascular
0,1	Claudication for 6 months
0,1	Minor tissue loss (pulp space)
0,1,2	Significant tissue loss ever (e.g. loss of digit or limb)(score 2 if > 1 site)
0,1	Venous thrombosis with swelling, ulceration, OR venous stasis
	Gastrointestinal
0,1,2	Infarction or resection of bowel below duodenum, spleen, liver or gallbladder ever, for any cause (score 2 if > 1 site)
0,1	Mesenteric insufficiency
0,1	Chronic peritonitis
0,1	Stricture OR upper gastrointestinal tract surgery ever
0,1	Chronic pancreatitis
	Musculoskeletal
0,1	Muscle atrophy or weakness
0,1	Deforming or erosive arthritis (including reducible deformities, excluding avascular necrosis)
0,1	Osteoporosis with fracture or vertebral collapse (excluding avascular necrosis)
0,1,2	Avascular necrosis (score 2 if > 1)
0,1	Osteomyelitis
0,1	Tendon rupture
	Skin
0,1	Scarring chronic alopecia
0,1	Extensive scarring of panniculum other than scalp and pulp space
0,1	Skin ulceration (excluding thrombosis for > 6 months)
0,1	Premature gonadal failure
0,1	Diabetes (regardless of treatment)
0,1,2	Malignancy (exclude dysplasia) (score 2 if >1 site)


Prilog 5.

LFA-REAL PRO, preuzeto i adaptirano iz Ugart-Gil i saradnici, 2020 (99)

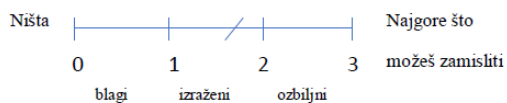
Identifikacioni broj: _____ Inicijali učesnika: _____ Datum: _____

LFA-REAL (brza procena aktivnosti u lupusu)

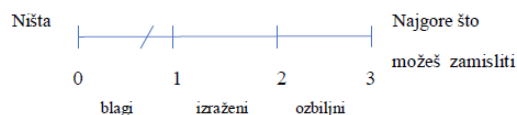
(izveštaj pacijenta)

Uputstva: Uzimajući u obzir prethodnih mesec dana, označite jednu crtu () bilo gde na svakoj od dole ponuđenih skala kako biste sto bolje opisali koliko je za vas bio ozbiljan svaki od navedenih simptoma lupusa. Fokusirajte se samo na aktuelne simptome usled aktivnosti vašeg lupusa. Ukoliko ste sigurni da vaš simptom nije posledica aktivnosti lupusa (npr. astma, povreda ili infekcija), nemojte ga prijavljivati. Ukoliko niste imali određeni simptom, označite 0 (ništa) za taj simptom. Ukoliko ste ranije popunjavali ovaj obrazac, pogledajte prethodni obrazac i označite crtom na skali uzimajući u obzir vaš progres tokom prethodnog meseca.

Umeren, ali ne sasvim ozbiljan simptom možete oceniti ovako:
ovako:

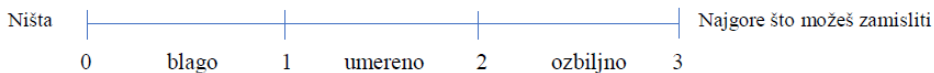


Blagi simptom, koji se poboljšava ovog meseca mogao bi izgledati



Koliko je tokom predhodnog meseca bio ozbiljan svaki od simptoma ?

Osip

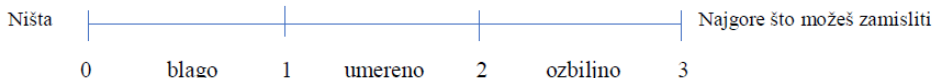


Samo za administrativnu upotrebu

_____ mm

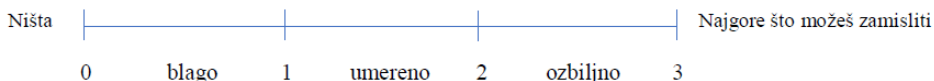
Simptomi artritisa

a. Bol u zglobovima



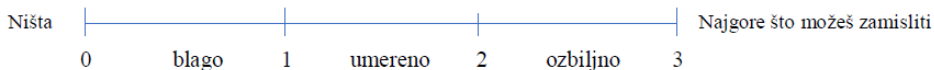
_____ mm

b. Oticanje zglobova



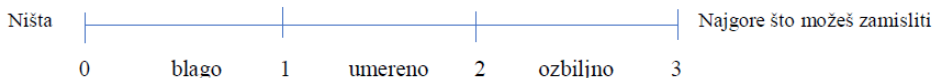
_____ mm

c. Ukočenost zglobova



_____ mm

Opšta ocena artritisa (uzeti u obzir bol u zglobovima, otoka i ukočenost zglobova zajedno)



_____ mm

LFA PRO a (0-1000) _____

LFA PRO b (0-1200) _____

Identifikacioni broj: _____ Inicijali učesnika: _____ Datum: _____

Koliko je tokom predhodnog meseca bio ozbiljan svaki od simptoma ?

Bol u mišićima

Ništa |-----| Najgore što možeš zamisliti
0 blago 1 umereno 2 ozbiljno 3

Zamor

Ništa |-----| Najgore što možeš zamisliti
0 blago 1 umereno 2 ozbiljno 3

Groznica

Ništa |-----| Najgore što možeš zamisliti
0 blago 1 umereno 2 ozbiljno 3

Gubitak (opadanje) kose

Ništa |-----| Najgore što možeš zamisliti
0 blago 1 umereno 2 ozbiljno 3

Telesni simptomi (obeležiti sve koje važe)

bol u grudima kratak dah oticanje nogu ostalo

Ništa |-----| Najgore što možeš zamisliti
0 blago 1 umereno 2 ozbiljno 3

Samo za
administrativnu
upotrebu

_____mm

_____mm

_____mm

_____mm

_____mm

Ukupan skor
_____mm

Imate li još nešto da prijavite. Iskoristite ovaj prostor da objasnite svoje odgovore ili da prijavite druge simptome.

LFA PRO a (0-1000) _____

LFA PRO b (0-1200) _____

Prilog 6.

FACIT-F, preuzeto i adaptirano iz Hewlett i saradnici, 2011 (175)

Ime pacijenta: _____ Datum: _____

Identifikacioni broj: _____ FACIT Fatigue skor: _____

Ime i prezime

SKALA ZA PROCENU ZAMORA - FACIT-FATIGUE SCALA

Zaokruživanjem jednog broja u svakom redu molim Vas označiti koliko je istinita za Vas bila svaka od ovih izjava u toku poslednjih 7 dana

	Nimalo	Malo	Donekle	Dosta	Veoma
mnogo					
Osećam se malaksalo	0	1	2	3	4
Osećam slabost u celom telu	0	1	2	3	4
Osećam se ravnodušno	0	1	2	3	4
Osećam se umorno	0	1	2	3	4
Teško započinjem stvari zbog zamora	0	1	2	3	4
Teško završavam stvari zbog zamora	0	1	2	3	4
Imam energije	0	1	2	3	4
U stanju sam da obavljam svoje uobičajene aktivnosti	0	1	2	3	4
Potrebno mi je da spavam tokom dana	0	1	2	3	4
Previše sam umoran da jedem	0	1	2	3	4
Potrebna mi je pomoć pri obavljanju uobičajenih aktivnosti	0	1	2	3	4
Frustriran sam što sam previše umoran da radim stvari koje želim	0	1	2	3	4
Moram da ograničim svoje društvene aktivnosti zato što sam umoran	0	1	2	3	4

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора Рада Мишковић

Број индекса 5092/2016

Изјављујем

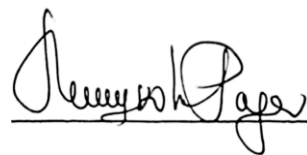
да је докторска дисертација под насловом

“Значај доказивања анти-Епштајн Бар вирусних антитела у пацијената са системским еритемским лупусом: удруженост са клиничким и имуносеролошким испољавањем болести”

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

Потпис аутора

У Београду, 15.05.2023.



Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Рада Мишковић

Број индекса 5092/2016

Студијски програм Запаљење и аутоимуност

Наслов рада **“Значај доказивања анти-Епштајн Бар вирусних антитела у пацијената са системским еритемским лупусом: удруженост са клиничким и имуносеролошким испољавањем болести”**

Ментори: Проф. др Санвила Рашковић и Проф. др Ана Банко

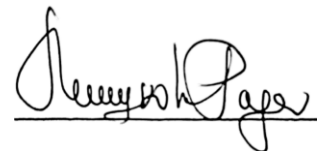
Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањивања у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду.**

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис аутора

У Београду, 15.05.2023



Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом: **“Значај доказивања анти-Епштајн Бар вирусних антитела у пацијената са системским еритемским лупусом: удруженост са клиничким и имуносеролошким испољавањем болести”**

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)

2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)

3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)

5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)

6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци. Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

Потпис аутора

У Београду, 15.05.2023

