

# Razina serumskog kalprotektina u bolesnika sa sistemskim eritemskim lupusom

---

Vrkić, Karla

Master's thesis / Diplomski rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, School of Medicine / Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:171:074909>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-23**



Repository / Repozitorij:

[MEFST Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**MEDICINSKI FAKULTET**

**Karla Vrkić**

**RAZINA SERUMSKOG KALPROTEKTINA U BOLESNIKA SA**  
**SISTEMSKIM ERITEMSKIM LUPUSOM**

**Diplomski rad**

**Akadska godina**

**2022./2023.**

**Mentor:**

**izv. prof. prim. dr. sc. Daniela Marasović Krstulović**

**Split, srpanj 2023.**

## ZAHVALA

*Beskrajno hvala mojoj predivnoj mentorici, izv.prof.dr.sc. Danieli Marasović Krstulović, na njenoj podršci, susretljivosti i motivaciji u pisanju ovog diplomskog rada. Hvala joj što mi je kroz svoj klinički i akademski rad pružila uzor kojim želim graditi svoj vlastiti put.*

*Hvala mojoj divnoj obitelji, mami, tati i bratu, što su bili tu uz mene ovih dugih šest godina i što su me bodrili u svim teškim trenutcima. Bez vas ovo ništa ne bi bilo moguće. Hvala vam što ste od najranijih dana vjerovali u mene.*

*Hvala mojim najdražim i najboljim prijateljima na svijetu, Karmen i Petru, za sve najljepše trenutke koje smo proveli skupa ovih šest godina, kao i za one teške u kojima smo si bili najveća podrška. Veselim se što nas čeka još bezbroj novih trenutaka koje ćemo proživjeti zajedno.*

*Hvala mome prijatelji Luki, čija je nesebičnost i dobrota nemjerljiva, na pomoći u pisanju ovoga diplomskoga rada.*

*Hvala cijeloj mojoj rodbini i svim mojim dragim prijateljima što su me poticali i vjerovali u mene.*

*Hvala svim mojim dragim kolegama i drugim zaposlenicima Zavoda za reumatologiju i kliničku imunologiju KBC-a Split na nesebičnoj pomoći pri prikupljanju podataka za pisanje ovoga diplomskog rada.*

# SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
1.1. Definicija .....	2
1.2 Epidemiologija.....	2
1.3 Etiologija .....	2
1.4 Patogeneza .....	4
1.5. Kliničke manifestacije .....	5
1.5.1. Opći simptomi.....	6
1.5.2. Mišićno-koštane manifestacije.....	6
1.5.3. Kožne manifestacije .....	7
1.5.4. Limfadenopatija .....	9
1.5.5. Lupus serozitis .....	10
1.5.6. Lupus nefritis .....	10
1.5.7. Hematološke manifestacije .....	12
1.5.8. Neuropsihijatrijske manifestacije .....	13
1.5.9. Gastrointestinalne manifestacije .....	14
1.5.10. Vaskulitis.....	15
1.5.11. Imunološke promjene .....	16
1.5.12. Kardiovaskularne manifestacije .....	17
1.5.13. Plućne manifestacije.....	19
1.6. Klasifikacijski kriteriji.....	20
1.7. Antifosfolipidni sindrom .....	22
1.8. Sjögrenov sindrom .....	22
1.9. Miješana bolest vezivnog tkiva.....	23
1.10. Utjecaj SLE-a na trudnoću i reproduktivno zdravlje žene .....	24
1.11. Sistemske infekcije i cjepiva .....	24
1.12. Osteoporoza i avaskularna nekroza.....	25
1.13. Malignitet.....	26
1.14. Lupus izazvan lijekovima .....	26
1.15. Serumski kalprotektin.....	27
1.16. Stupanj aktivnosti bolesti .....	28
1.17. Liječenje .....	31
2. CILJ ISTRAŽIVANJA .....	2
3. ISPITANICI I POSTUPCI .....	37

3.1. Opis istraživanja.....	39
3.2. Ispitanici .....	39
3.3. Provedeni postupci.....	39
3.4. Statistički postupci .....	40
4. REZULTATI .....	39
5. RASPRAVA.....	42
6. ZAKLJUČCI .....	53
7. LITERATURA.....	59
8. SAŽETAK.....	57
9. SUMMARY.....	71
10. ŽIVOTOPIS.....	72

## POPIS OZNAKA I KRATICA

- SLE – Sistemski eritemski lupus (engl. *systemic lupus erythematosus*)
- MHC – Glavni kompleks tkivne kompatibilnosti (engl. *major histocompatibility complex*)
- PTPN22 – Protein tirozin nereceptorska fosfataza 22 (engl. *protein tyrosin phosphatase non-receptor type 22*)
- PDCD1 – Gen za programiranu staničnu smrt (engl. *programmed cell death*)
- CTLA4 – Citotoksični antigen 4 povezan s T-limfocitima (engl. *cluster of differentiation*)
- INF – interferon
- IG – imunoglobulin
- UV – ultraljubičasto (engl. *ultraviolet*)
- TLR – Tolični receptori (engl. *Toll-like receptors*)
- KDM6a – Lizinska demetilaza (engl. *lysine demethylase*)
- CXorf21 – (engl. *chromosome X open reading frame*)
- IRAK1 – Kinaza povezana s receptorom za interleukin (engl. *interleukin-1 receptor-associated kinase 1*)
- EBV – Epstein barr virus
- HERV – Humani endogeni retrovirus
- CMV – Citomegalovirus
- DNA – deoksiribonukleinska kiselina (engl. *deoxyribonucleic acid*)
- Treg – regulatorne T stanice (engl. *regulatory T-cells*)
- IL – interleukin
- ANA – antinuklearna antitijela (engl. *antinuclear antibodies*)
- Anti-dsDNA – anti dvolančana DNA (engl. *anti-double stranded DNA*)
- Anti-Sm – anti-Smith
- AKL – akutni kožni lupus
- ACE – angiotenzin konvertirajući enzim (engl. *angiotensin-converting enzyme*)
- SE – sedimentacija eritrocita
- LN – lupus nefritis
- ESRD – završni stadij bubrežne bolesti (engl. *end-stage renal disease*)
- KBB – kronična bubrežna bolest
- G-CSF – čimbenik rasta granulocitopoeze (engl. *granulocyte colony-stimulating factor*)

AIHA – autoimuna hemolitička anemija

Anti-GPIIb/IIIa – protutijela usmjerena na komplekse IIb/IIIa na trombocitima (engl. *anti-platelet glycoprotein IIb/IIIa antibodies*)

Anti-TPOR – protutijela usmjerena na trombopoetinski receptor (eng. *trombopoetin receptor autoantibodies*)

ITP – idiopatska trombocitopenijska purpura

HUS – hemolitičko uremijski sindrom

TTP – trombotička trombocitopenijska purpura

NPSLE – neuropsihijatrijski sistemski eritemski lupus

aPL – antifosfolipidna protutijela (engl. *antiphospholipid antibodies*)

NMDA – N-metil-D-aspartat

NSAID – nesteroidni protuupalni lijekovi (engl. *non-steroidal anti-inflammatory drugs*)

IPP – inhibitori protonske pumpe

RP – Raynaudov fenomen (engl. *Raynaud's phenomenon*)

RNA – ribonukleinska kiselina (engl. *ribonucleic acid*)

RBP – RNA vežući proteini (engl. *RNA binding proteins*)

ENA – ekstraktibilni jezgrini antigeni (engl. *extractable nuclear antigens*)

MCTD – miješana bolest vezivnog tkiva (engl. *mixed connective tissue disease*)

SSc – sistemska skleroza (engl. *systemic sclerosis*)

KVB – kardiovaskularna bolest

LDL – lipoprotein male gustoće (engl. *low density lipoprotein*)

HDL – lipoprotein velike gustoće (engl. *high density lipoprotein*)

ILD – intersticijska plućna bolest (engl. *interstitial lung disease*)

SLS – sindrom stisnutih pluća (engl. *shrinking lung syndrom*)

CT – kompjuterizirana tomografija (engl. *computerized tomography*)

DLCO – difuzijski kapacitet ugljikovog monoksida (engl. *diffusing capacity of carbon monoxide*)

ACR – Američko društvo za reumatologiju (engl. *American College of Rheumatology*)

SLICC – engl. *Systemic lupus International Collaborating Clinics*

EULAR – Europska liga protiv reumatizma (engl. *European League Against Rheumatism*)

APS – antifosfolipidni sindrom (engl. *antiphospholipid syndrom*)

PM – polimiozitis

DM – dermatomiozitis

SELENA – engl. *The Safety of Estrogen in Lupus Erythematosus, National Assessment*

OHK – oralna hormonska kontracepcija

DIL – lupus izazvan lijekovima (engl. *drug induced lupus*)

TNF – čimbenik tumorske nekroze (engl. *tumor necrosis factor*)

MRP – protein povezan s mijeloidom (engl. *myeloid related protein*)

RAGE – receptor za krajnji produkt glikacije (engl. *receptor for advance glycation end*)

CRP – C-reaktivni protein

RA – reumatoidni artritis

PsA – psorijatični artritis

AS – ankilozni spondilitis

JIA – juvenilni idiopatski artritis

SLEDAI – engl. *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Indeks*

PGA – engl. *Physician Global Assessment*

HCQ – hidroksiklorokin

OCT – optička koherentna tomografija (engl. *optic coherence tomography*)

DMARD – lijekovi koji mijenjaju tijek bolesti (engl. *disease modifying antirheumatic drugs*)

AZA – azatioprin

MTX – metotreksat

MMF – mikofenolat mofetil

IVIG – intravenski imunoglobulini

BAFF – čimbenik aktivacije B stanica (engl. *B-cell activating factor*)

RTX – rituksimab

CD20 – kluster diferencijacije 20 (engl. *cluster of differentiate 20*)

KBC – Klinički bolnički centar

ELISA – enzimski imunosorbentni test (engl. *enzyme-linked immunosorbent assay*)

SD – standardna devijacija

ITM – indeks tjelesne mase

BD – Behçetova bolest (engl. *Behçet disease*)



AAV – ANCA povezani vaskulitisi (engl. *ANCA associated vasculitis*)

SpA – spondiloartritis

DORIS – engl. *Disease Activity in Systemic Lupus Erythematosus Responder Index for Use in Clinical Trials*

APC – aktivirani protein C

## **1. UVOD**

## 1.1. Definicija

Sistemska eritematski lupus (engl. *systemic lupus erythematosus*, SLE) kronična je upalna bolest koju mnogi smatraju prototipom autoimune bolesti. SLE se manifestira multisistemska i obilježen je stvaranjem različitih autoantitijela. Kliničke značajke, kao i prisutnost spomenutih autoantitijela, heterogene su u bolesnika. Simptomatologija varira, od one blaže pa sve do teške, životno ugrožavajuće. Bolest se klasično manifestira periodima remisije i relapsa (1).

## 1.2 Epidemiologija

SLE pokazuje predilekciju za žene generativne dobi. U dobi od 15-44 godine omjer zahvaćenih žena i muškaraca doseže čak 13:1. U djece i gerijatrijske populacije spomenuti omjer je mnogo niži, tek 2:1. SLE se viđa u svih etničkih skupina ali je češći u ne-bijelaca. Geografski, incidencija je visoka u Europi i Sjevernoj Americi, a bolest se iznimno rijetko viđa u Africi. Zanimljiva je činjenica da je bolest češća i ima gori ishod u Afroamerikanaca nego u Amerikanaca bijele rase (2). Tako Afroamerikanke imaju čak tri puta viši rizik obolijevanja od SLE-a i razvijanja teške kliničke slike u ranijoj životnoj dobi od Amerikanki bijele rase (3).

## 1.3 Etiologija

Etiologija bolesti još uvijek je nepoznata, ali studije pokazuju blisku vezu između utjecaja genetike i okoliša na pojavu SLE-a (4). Studije iz genetike pokazale su visok obiteljski rizik za razvoj SLE-a. Stopa pojave bolesti u monozigotnih blizanaca je čak 24-58%, za razliku od dizigotnih dvojaka u kojih je ta brojka mnogo niža (2-5%). Veliki broj gena povezuje se sa SLE-om, uključujući gene unutar glavnog kompleksa tkivne histokompatibilnosti (engl. *major histocompatibility complex*, MHC) i gene koji kodiraju komponente komplekta, Fc $\gamma$  receptore, protein tirozin nerekceptor fosfataze tipa 22 (engl. *protein tyrosin phosphatase non-receptor type 22*, PTPN22), gena za programiranu staničnu smrt 1 (engl. *programmed cell death*, PDCD1) i citotoksičnog antigena 4 povezanog s T-limfocitima (engl. *cluster of differentiation*, CTLA4). Nadalje, danas je sve više dokaza da interferon  $\alpha$  (IFN $\alpha$ ) igra važnu ulogu u patogenezi SLE-a jer približno 50% bolesnika sa SLE-om ima prekomjernu ekspresiju

gena induciranih IFN-om  $\alpha$ . Pokazano je također da i stupanj spomenute prekomjerne ekspresije korelira s aktivnošću i težinom bolesti. Ovaj obrazac ekspresije gena naziva se "potpis interferona  $\alpha$ "(1).

Upravo u svjetlu ovih najnovijih otkrića koja predlažu potpis interferona  $\alpha$  kao središnji patogenetski mehanizam pokretanja bolesti, razvijeno je najnovije ljudsko monoklonsko IgG1  $\kappa$  protutijelo, anifrolumab, koji inhibira receptor interferona, i to njegovu A podjedinicu, time onemogućavajući signaliziranje preko sva tri tipa interferona I –  $\alpha$ ,  $\beta$  i  $\gamma$ . Anifrolumab je indiciran kao dodatna terapija odraslih bolesnika koji unatoč primjeni standardne terapije i dalje imaju umjereno tešku i tešku bolest (5).

Čimbenici okoliša koju utječu na razvoj SLE-a su raznoliki. Dobro je poznat učinak ultraljubičastog (engl. *ultraviolet*, UV) zračenja koji može biti pokretač bolesti, ali i izazivati relapse i pogoršanje kliničke slike. Upravo zato je od iznimne važnosti naglasiti bolesnicima da redovito primjenjuju zaštitu od sunca i da se ne izlažu prejakom suncu (6).

Danas postoji veliki broj dokaza koji pokazuju da je pušenje rizičan čimbenik za razvoj SLE-a. Taj rizik značajno pada četiri do pet godina nakon prestanka pušenja. Jedna studija je pokazala kako je rizik pronalaska pozitivnog anti-dsDNA protutijela (čija prisutnost ukazuje na aktivnu bolest ali i povišen rizik za pojavu lupus vaskulitisa i lupus nefritisa) čak duplo viši u pušača (7).

Utjecaj estrogena i njegovih receptora na poticanje cijelog autoimunog procesa vjerojatno objašnjava višu prevalenciju SLE-a u žena generativne dobi. Imunološki gledano, estrogen potiče diferencijaciju T limfocita u Th17 podtip, a i aktivacija dendritičkih stanica i već spomenuti potpis IFN-a modulirani su putem TLR-7 i TLR-9 (engl. *toll like receptor*, TLR) receptora pomoću estrogena ili njegovog receptora. Ovi učinci vode do aktivacije imunskog sustava. Razine spolnih hormona mijenjaju se tokom menstrualnog ciklusa no nije dokazan povećan rizik od relapsa bolesti u određenoj fazi ciklusa. Jedno veliko i nedovoljno odgovoreno pitanje je i sigurnost uporabe oralne hormonske kontracepcije i hormonskog nadomjesnog liječenja u žena sa SLE-om. U brojnim europskim centrima preporučuje se primjena kontracepcijskih metoda (pilule ili intrauterinog uložka) koji sadrže isključivo progesteron, upravo kako bi se izbjegao protrombogeni učinak estrogena. Niske razine testosterona (hipoandrogenizam) dovode se u vezu s pojavom SLE-a u muškaraca. Postoji sve veći broj istraživanja o utjecaju X kromosoma na višu pojavnost autoimunskih poremećaja u žena. Dokaz tome je viša incidencija SLE-a u bolesnika sa Klinefelterovim

sindromom (kariotip 47 XXY) kao i žena sa kariotipom 47 XXX. X kromosom kodira veći broj gena od Y kromosoma, a X-vezani geni kao što su KDM6a (engl. *lysine demethylase 6A*), TLR-7, CXorf21 (engl. *chromosome X open reading frame*) i IRAK1 (engl. *interleukin-1 receptor-associated kinase 1*) su generalno govoreći prekomjerno izraženi u žena s raznim autoimunskim poremećajima (8).

Hormonske promjene u trudnoći također utječu na tijek bolesti. U trudnoći može doći do relapsa bolesti osobito u žena koje imaju aktivnu bolest u trenutku začeća ili su imale bubrežnu bolest u anamnezi. To može dovesti do brojnih komplikacija trudnoće uključujući gubitak fetusa, preeklampsiju, prijevremeni porod i rođenja djeteta male težine za gestacijsku dob (9).

Konačno, postoji i veza između virusnih infekcija i pokretanja autoimunosti. Dokazana je uloga određenih virusa u indukciji ili egzacerbaciji SLE-a u genetski predisponiranih bolesnika. Postoji jaka veza između infekcije Epstein-Barr virusom (EBV), parvovirusom B19 i humanim endogenim retrovirusi (HERV). Spominje se i citomegalovirusna (CMV) infekcija koja vjerojatno igra manje važnu ulogu. Provedena je jedna studija u kojoj su na prisutnost antitijela na EBV i same virusne deoksiribonukleinske kiseline (engl. *deoxyribonucleic acid*, DNA) testirani mladi ljudi i djeca oboljela od SLE-a. U 99% ispitanika pronađena su protutijela na EBV, a u 100% njih pronađen je EBV DNA (10). Načini međudjelovanja virusa i domaćina te utjecaj virusa na sami tijek bolesti još su nejasni (11).

#### **1.4 Patogeneza**

Patogeneza SLE-a uključuje složenu interakciju okoliša i genoma. Dolazi do epigenetskih promjena koje utječu na ekspresiju određenih gena zaslužnih za pojavu bolesti. Izloženost okolišnim čimbenicima vodi do gubitka imunološke tolerancije u genetski predisponiranih pojedinaca što na koncu pokreće autoimuni proces. Tako vlastiti antigeni bivaju izloženi imunološkim stanicama što potiče proizvodnju autoantitijela i stvaranje imunokompleksa, mobilizaciju velikog broja autoreaktivnih T i B stanica i aktivaciju sustava komplementa. Svi ovi procesi pokreću stvaranje velikog broja citokina što rezultira oštećenjem tkiva i kliničkom pojavom bolesti (12).

Dendritičke osiguravaju mikrookoliš koje pomaže diferencijaciji imunoloških stanica. Interferon tipa 1 koji proizvode stanice prirođenog imunološkog sustava ima glavnu ulogu u

inicijaciji sustavne autoimunosti. On aktivira B i T stanice. B-stanice potiču dendritične stanice da i dalje proizvode velike količine interferona čime se stvara pozitivna povratna sprega koja povezuje i prirođeni i stečeni imunološki sustav i održava aktivnim autoimuni proces (13). T-limfociti također imaju važnu ulogu u patogenezi bolesti. Oni potiču lučenje proupalnih citokina i stimuliraju B-limfocite na daljnju stvaranje autoantitijela (14).

Postoje i regulatorne T stanice (engl. *regulatory T cell*, Treg), podskupina T limfocita, koje normalno inhibiraju imunološki odgovor. Odgovorne su za toleranciju vlastitih antigena jer u zdravih pojedinaca. suprimiraju autoreaktivne limfocite i usmjeravaju ih prema staničnoj apoptozi. Aktivnost interleukina (IL) 2 utječe na stvaranje Treg. U SLE-u vidimo niske razine IL-2 čije odsustvo onemogućava adekvatan razvoj i funkciju Treg stanica. Disfunkcionalnost Treg omogućava nesmetan nastavak autoimune kaskade događaja (15).

Najvažniji imunološki poremećaj u bolesnika sa SLE-om je proizvodnja autoantitijela usmjerenih na vlastite molekule u jezgri, citoplazmi i na antigene s membrane stanica. Osim na stanicu, mogu biti i usmjerena i na neke topive molekule izvanstanične tekućine, poput IgG-a (engl. *immunoglobulin*, Ig) i čimbenika zgrušavanja. Antinuklearna protutijela (ANA) prisutna su u više od 95% bolesnika. Anti-dvolančana DNA (engl. *anti-double stranded DNA*, anti-dsDNA) i anti-Smith (anti-Sm) antitijela patognomonična su za bolesnike sa SLE. Titar anti-dsDNA antitijela često varira te korelira s aktivnošću bolesti, a razine anti-Sm antitijela obično su konstantne. Postoje i druga protutijela koja mogu biti pozitivna u bolesnika sa SLE-om. Zanimljivo je da je dokazana korelacija između određenih kliničkih obilježja bolesti i prisutnosti specifične vrste autoantitijela u krvi. Primjer je povezanost psihoze sa anti-ribosomskim P protutijela i uloga anti-Ro protutijela u nastupu kongenitalnog srčanog bloka i subakutnog kožnog lupusa. Točne imunološke mehanizmi koji povezuju specifično tkivno oštećenje s prisutnošću određenog protitijela još treba razjasniti (16).

## **1.5. Kliničke manifestacije**

Bolesnici oboljeli od SLE-a prezentiraju se najrazličitijim kliničkim slikama koje variraju od blagih, kao što su artritis i kožne promjene, ali i teških koje mogu biti životno ugrožavajuće, poput zahvaćanja bubrega, hematološkog sustava i središnjeg živčanog sustava. Upravo ta klinička heterogenost i manjak patognomoničnih testova otežava dijagnostiku i komplicira liječenje SLE-a. Bolesnici se mogu prezentirati s izoliranim simptomima koji se

često preklapaju sa simptomima drugih autoimunih, infektivnih i onkoloških bolesti. O prisutnosti, odnosno odsutnosti nekih kliničkih obilježja ovisi i samo liječenje bolesti (17).

### **1.5.1. Opći simptomi**

Većina bolesnika oboljelih od SLE-a prijavljuje različito teške opće simptome bolesti. To su u prvom redu umor, febrilitet i gubitak na tjelesnoj težini. Umor je vrlo čest opći simptom, prisutan u čak 80-100% bolesnika. Ne postoji jasna korelacija između aktivnosti bolesti i pojave umora, ali se on češće viđa u bolesnika čiju bolest prati i fibromijalgija, depresija i poremećaji spavanja (18).

Vrlo čest opći simptom je i povišena tjelesna temperatura koji često prati relaps bolesti. Febrilitet u SLE uvijek se mora shvatiti jako ozbiljno. Visoki febrilitet može se pojaviti kao inicijalni simptom bolesti ili u sklopu relapsa, ali može značiti i prisustvo infekcije. U liječenju SLE-a služimo se širokom paletom lijekova, od kojih gotovo svi imaju immunosupresivni učinak. Imunosupresivni učinak terapije omogućava nam dobru kontrolu bolesti, ali nažalost smanjuje i otpornost domaćina prema najrazličitijim mikroorganizmima. Zato febrilitet kao simptom zahtjeva maksimalan oprez i obvezno isključivanje infekcije. Osim visokog febriliteta, brojni bolesnici žale se i na subfebrilnost (19).

Variranje u tjelesnoj težini vidamo često u bolesnika sa SLE-om. Aktivnu bolest često prati gubitak tjelesne težine dok porast tjelesne težine može biti nuspojava terapije kortikosteroidima, ali i rezultat retencije tekućine uslijed nefritičkog sindroma (20).

### **1.5.2. Mišićno-koštane manifestacije**

Zahvaćanje zglobova jedna je od čestih manifestacija SLE-a. Simptomatologija je izrazito heterogena i varira od blagih artralgijskih do teških, erozivnih oblika artritisa. U nekim slučajevima artritis može biti i prvi simptom bolesti, pa se bolesnici nerijetko vode pod dijagnozom reumatoidnog artritisa duži niz godina, sve dok se ne pojave drugi simptomi koji dovode do konačne dijagnoze SLE-a (21).

Povremene artralgije viđaju se gotovo u svih bolesnika. U nekim slučajevima, dolazi do deformacije zglobova koji nalikuju reumatoidnom artritisu. To se naziva Jaccoud artropatija,

a zahvaća tetive oko zglobova koje onda postaju pretjerano elastične. Tako nastale deformacije lako se manualno reponiraju. Oboljeli od SLE-a mogu razviti i deformacije tipa „labuđeg jezera“ i ulnarnu devijaciju. Spomenute deformacije vremenom mogu postati trajne (22).

Upalne promjene na tetivama mogu dovesti i do rupture istih. Artritis u sklopu SLE-a može zahvatiti sve zglobove, ali najčešće zahvaća ruke i koljena. Kao posljedica primjene visokih doza kortikosteroida, u ovih bolesnika češće vidimo i osteonekrozu, najčešće koljena i kuka. U određenog, na sreću manjeg broja bolesnika, pojavljuju se i potkožne kalcifikacije te artropatije uslijed odlaganja kristala (23, 24).



**Slika 1.** Jaccoud artropatija

Izvor: Cruz Whitley J, Aronowitz P. Jaccoud's Arthropathy. J Gen Intern Med. 2018;33:1583.

### **1.5.3. Kožne manifestacije**

SLE gotovo uvijek zahvaća kožu. Razlikujemo akutni kožni lupus, subakutni kožni lupus i kronični kožni lupus.

Najčešći u kliničkoj praksi je akutni kožni lupus (AKL), koji se pojavljuje se u čak 95% slučajeva zajedno s povišenjem anti-dsDNA te korelira s aktivnošću bolesti. Riječ je o leptirastom eritemu koji pokriva obraze i korijen nosa. Može zahvatiti čelo i prednju regiju vrata, ali nazolabijalne brazde su uvijek pošteđene. Crveno-ljubičaste je boje, a može biti blago edematozan, uz prisutne teleangiektazije, erozije i dispigmentacije. Treba ga razlikovati od



leptirastog osipa prisutnog u dermatomiozitisu te osipa u sklopu seboroičnog dermatitisa koji u pravilu ne štete nazolabijalne brazde. AKL se može pojaviti i kao fotosenzitivni osip na bilo kojem dijelu tijela poslije izlaganja suncu. Traje nekoliko dana ili tjedana, a cijeli bez ožiljkavanja. Postoji također i generalizirani oblik AKL koji se javlja kao makulopapulozni osip po cijelome tijelu, najčešće nakon izlaganja suncu (25-29).



© MAYO FOUNDATION FOR MEDICAL EDUCATION AND RESEARCH. ALL RIGHTS RESERVED.

**Slika 2.** Leptirasti osip

Izvor: Lupus - Symptoms and causes [Internet]. Mayo Clinic. Dostupno na:  
<http://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/lupus/symptoms-causes/syc-20365789>

Subakutni kožni lupus tipično se prezentira kao psorijaziformni, eritematozni, anularni plakovi na vratu, prsima, nadlaktici i ramenima. Nalikuju kožnim promjena koje nastaju kao nuspojava primjene inhibitora angiotenzin konvertirajućeg enzima (engl. *angiotensin-converting enzyme*, ACE), blokatora kalcijevih kanala, hidroklortiazida i terbinafina pa je važno da ih razlikujemo od navedenih. Kronični kožni lupus najčešće se prezentira kao diskoidni lupus, eritematozni plakovi ili papule koji ožiljkavaju s centralnom atrofijom ili depigmentacijom. Pojavljuju se najčešće na licu, vratu i gornjim ekstremitetima. U nekih

bolesnika mogu biti jedini znak bolesti. U slučaju da su oboljeli nemaju pozitivna antinuklearna antitijela (engl. *antinuclear antibodies*, ANA) samo će 10% njih razviti sistemsku bolest. ANA pozitivnost i citopenija značajno povišuju tu vjerojatnost (22, 30).



**Slika 3.** Subakutni kožni lupus

Izvor: Subacute Cutaneous Lupus Erythematosus (SCLE) [Internet]. Dermatology Advisor. 2019. Dostupno na: <https://www.dermatologyadvisor.com/home/decision-support-in-medicine/dermatology/subacute-cutaneous-lupus-erythematosus-scle/>

Postoje i druge forme kroničnog lupusa, poput lupusa panikulitisa, tumidusa i chill blain lupusa. Lupus panikulitis označava kroničnu relapsno-remitirajuću upalu potkožnog tkiva, koju biopsijom treba razlučiti od potkožnog limfoma. Prezentira se kao potkožni čvor bolan na pritisak, a može dovesti i do lipodistrofije. Lupus tumidus je anularni plak po tipu urtikarije koji ima vrlo oštre granice, a cijeli s ožiljkavanjem. Chill blain lupus manifestira se ljubičastim, bolnim plakovima na regijama izloženim hladnoći, najčešće prstima, praćenima ulceracijama kože. Chill blain lupus češće se viđa u pušača (30, 31).

#### **1.5.4. Limfadenopatija**

Uvećanje limfnih čvorova benigna je promjena koju često vidamo u bolesnika oboljelih od SLE-a. Javlja se kao reakcija na sistemski upalni proces u organizmu. Nešto češće je vidamo u bolesnika mlađe životne dobe, posebice onih s izraženim općim simptomima i zahvaćanjem kože. Ova skupina bolesnika u pravilu odlično odgovara na terapiju kortikosteroidima. Biopsija limfnih čvorova najčešće pokazuje reaktivnu hiperplaziju. Važno je naglasiti da u bolesnika s pridruženim Sjögrenovim sindromom postoji povišen rizik od limfoma, pa limfadenopatija u ovakvih slučajeva zahtjeva veći oprez i praćenje te potencijalno i detaljniju obradu (32).

### **1.5.5. Lupus serozitis**

Serozitis je često prisutan u sklopu SLE-a, a manifestira se kao pleuritis, perikarditis ili, rijetko, peritonitis. Klinička slika može biti blaga i asimptomatska, ali i teška (33). Prevalencija serozitisa u SLE-u varira od 11% pa sve do 54%, a viša je u muškaraca, vjerojatno uslijed konstitucijskih razloga (34). Teže oblike prati izljev u serozne šupljine. Aspiracijom i analizom izljeva možemo vidjeti da se radi o sterilnom upalnom eksudatu s dominacijom neutrofila ili limfocita (31).

Rizik od serozitisa raste s aktivnošću bolesti, febrilitetom i nalazom viših razina D-dimera u laboratorijskim nalazima krvi. Niske razine komponente C4 komplementa kao i visoke razine sedimentacije eritrocita (SE) dovode se u vezu s povišenim rizikom perikarditisa (35).

### **1.5.6. Lupus nefritis**

Lupus nefritis (LN) je česta i ozbiljna manifestacija SLE-a. Javlja se u 30-60% oboljelih od SLE-a (36). Tijekom vremena je došlo do smanjenja ukupne stope mortaliteta i poboljšanja prognoze same bolesti, no postotak bolesnika koji napreduju u završni stadij bubrežne bolesti (engl. *end stage renal disease*, ESRD) ostao je stalan unatoč primjeni najmodernije terapije (37).

Poremećaj bubrežne funkcije može se manifestirati kao glomerularna, tubulointersticijska ili vaskularna lezija (38). Klinička slika LN izrazito je heterogena. Simptomi variraju od onih blagih kao što su asimptomatska hematurija ili proteinurija, do teških poput nefritičkog ili nefrotskog sindroma, brzoprogresivnog glomerulonefritisa pa sve

do naglog nastupa kroničnog bubrežnog zatajenja (39). Pojavu i aktivnost bubrežne bolesti možemo pratiti kroz pojavu proteinurije sa ili bez povišenja koncentracije serumskog kreatinina, pojavu abnormalnog sedimenta u urinu ili pad klirensa kreatinina (40).

Konačna dijagnoza LN postavlja se biopsijom bubrega koja ostaje zlatni standard za preciznu dijagnostiku i ispravno liječenje. Indikacije za biopsiju bubrega su proteinurija viša od 1 g na dan, proteinurija viša od 0.5 g na dan ako uz to postoji hematurija sa eritrocitnim cilindrima te neobjašnjivi porast serumskog kreatinina (41).

Svjetska zdravstvena organizacija klasificirala je LN u šest klasa. Klasa I je minimalni mezangijski LN gdje je jedina promjena nalaz imunoloških depozita u mezangiju, vidljivih elektronskim i imunofluorescentnim mikroskopom. Klasa II je mezangijski proliferativni LN gdje se na elektronskom i imunofluorescentnom mikroskopu vidi hipercelularnost stanica, a u analizi urina nalaz mikroskopske hematurije sa ili bez proteinurije. Prva i druga klasa ne zahtijevaju terapiju, iako u klase II bolesnici s proteinurijom većom od 0.5g/dan mogu imati koristi od uzimanja ACE inhibitora. Klasa III je fokalni LN koji može biti aktivan i kroničan, proliferativni i sklerozirajući. Zahvaća manje od 50% glomerula, uz prisutnu hipercelularnost i nalaz imunokompleksa u subendotelnom prostoru i mezangiju. U serumu se vidi povišen kreatinin, a analiza urina pokazuje proteinuriju i hematuriju. Aktivnu klasu III prati konzumacija komplementa i povišena anti-dsDNA antitijela. Bolesnici su često hipertenzivni, a uslijed gubitka proteina i pada onkotskog tlaka viđaju se edemi ekstremiteta. U ovoj klasi nužna je primjena lijekova. Za kontrolu bubrežne bolesti najčešće se koriste kortikosteroidi, mikofenolat mofetil, ciklofosfamidom i rituksimab. Klasa IV, difuzni LN, nastavak je klase III, ovaj put s zahvaćanjem više od 50% glomerula. Klasa V je membranozni LN kojega prati veliki gubitak proteina i izraženi edemi. U ovih je bolesnika nalaz kreatinina u serumu, razina komplementa i vrijednost anti-dsDNA u granicama normalnih vrijednosti. U subepitelnom prostoru prisutni su imunodepoziti. Bolest završava klasom VI koja označava glomeruloskleroza više od 90% glomerula. U ovoj klasi bolest više nije aktivna, bolesnici se liječe dijalizom te je jedina konačna terapija transplantacija bubrega. Glavni čimbenici rizika za razvoj kronične bubrežne bolesti (KBB) su hipertenzija i loša kontrola kardiovaskularnih čimbenika rizika, proteinurija u nefrotskom rasponu, mlađa dob, anemija, povišen kreatinin u serumu za vrijeme biopsije i neadekvatno imunosupresivno liječenje (36).

### 1.5.7. Hematološke manifestacije

Glavne hematološke manifestacije SLE-a su anemija, trombocitopenija i leukopenija. S obzirom na veliki broj antigena u stijenci krvnih žila, visoka prevalencija hematoloških manifestacija ne iznenađuje. Te se promjene nekad viđaju izolirano, bez drugih manifestacija SLE-a. Kada su hematološke manifestacije prvi simptom bolesti, dijagnoza se, posebice u mladih žena, postavlja s velikim zakašnjenjem (41,43).

Leukopenija se definira kao vrijednost leukocita niža od  $<4000/\text{mL}$  u dva ili više mjerenja. Osim same patogeneze bolesti, leukopenija može nastati i kao rezultat primjene imunosupresivne terapije. Leukopenija se najčešće viđa u užem smislu kao neutropenija koju definiramo kao pad broja neutrofila ispod  $<1500$  stanica/ $\text{mL}$  (44,45). Nastaje kao rezultat jednog od tri navedenih mehanizama; povećane periferne destrukcije granulocita uslijed cirkuliranja antineutrofilnih protutijela, promjene u splanhičnom bazenu i/ili smanjene proizvodnja od strane koštane srži (46). Neutropenija u SLE-u je srećom najčešće blaga i ne zahtjeva nikakvo posebno liječenje. Bolesnici u kojih se javi ozbiljna klinička slika neutropenije uspješno se liječe primjenom čimbenika rasta granulocitopoeze (engl. *granulocyte colony-stimulating factor*, G-CSF) (45).

Limfopenija podrazumijeva pad broja limfocita ispod  $<1500$  limfocita/ $\text{mL}$  u dva ili više mjerenja (47). Intenzitet pada broja limfocita i vrijednosti antilimfocitarnih antitijela koreliraju s aktivnošću bolesti. Spomenuta protutijela imaju sposobnost vezanja i in vitro lize limfocita. Osim njih, anti Ro antitijela također se dovode u vezu s pojavom limfopenije. Specifična terapija nije indicirana, no u slučaju povišenog rizika od oportunističkih infekcija u obzir dolazi profilaktična primjena antibiotika (45, 48, 49).

Najčešće anemija u sklopu SLE-a je anemija kronične bolesti. Osim nje, često se javlja autoimuna hemolitička anemija (AIHA) (44). AIHA se dokazuje pozitivnim Coombsovim testom i jedan je od dijagnostičkih kriterija SLE-a. Uzrok je ozbiljne anemije u bolesnika sa SLE-om, a s obzirom na heterogenost kliničke slike i prisutnost u različitim autoimunim bolestima zahtjeva oprez. Dijagnoza se postavlja postepeno. Povišenje haptoglobina, laktat dehidrogenaze i neizravnog bilirubina i retikulocitoza govori u prilog hemolitičnoj anemije. Nužno je imati pozitivan Coombsov test te utvrditi prisustvo i vrstu autoimunih protutijela koja se vežu na eritrocite. Postoje topla i hladna antitijela ovisno o idealnoj temperaturi vezanja kompleksa antigen-antitijelo. 10% oboljelih od SLE-a ima pozitivan nalaz anti-eritrocitnih protutijela koja su topla protutijela klase IgG. U bolesnika s AIHA javljaju se opći simptomi

bolesti zajedno sa simptomima anemije, u smislu umora i zaduhe pri naporu. AIHA se može pojaviti zajedno s trombocitopenijom, što se onda naziva Evansov sindrom (45).

SLE se može manifestirati i trombocitopenijom, koja najčešće nije teška, a učestalost joj se kreće od 20% do 40%. Definira se kao pad broja trombocita ispod vrijednosti od 150000/mL krvi nakon isključenja svih drugih potencijalnih uzroka iste. Najčešće je riječ o autoimunoj trombocitopeniji uzrokovanoj autoantitijelima protiv površinskih glikoproteina na trombocitima (engl. *anti-platelet glycoprotein IIb/IIIa antibody*, anti GPIIb/IIIa) ili protutijelima usmjerenima na trombopoetinski receptor (engl. *trombopoetin receptor autoantibodies*, anti-TPOR). Potonja slabo odgovara na primjenu imunosupresivne terapije. Antitrombocitna protutijela prisutna u SLE-u vidamo i u idiopatske trombocitopenijske purpure (ITP). Trombocitopenija može biti prisutna i u hemolitičko uremijskog sindroma (HUS) ili trombotičke trombocitopenijske purpure (TTP) koji mogu koegzistirati zajedno sa SLE-om. Trombocitopenija također može biti posljedica liječenja SLE-a azatioprinom, metotreksatom, mikofenolat mofetilom ili rjeđe, hidroksiklorokinom. Blaža trombocitopenija ( $>50 \times 10^9/L$ ) ne zahtjeva liječenje (45, 47, 50).

U nekih se bolesnika viđa i pancitopenija. Ona može biti rezultat reverzibilne mijelofibroze koštane srži s hipocelularnosti stanica, toksičnog učinka neke od imunosupresivne terapije koju koristimo u liječenju ili, rjeđe, pridruženog hemofagocitnog sindroma (31).

### **1.5.8. Neuropsihijatrijske manifestacije**

Bolesnici sa SLE-om često imaju niz neuroloških i psihijatrijskih simptoma koji se zajednički nazivaju neuropsihijatrijski sistemski eritemski lupus (NPSLE). Patogeneza NPSLE uključuje upalne, trombotske i vaskularne incidente, a povezana je s visokim morbiditetom i mortalitetom. Nakon dijagnosticiranja i utvrđivanja uzroka, liječenje se prilagođava vrsti neuropsihijatrijskih manifestacija, aktivnosti SLE-a i samoj težini kliničke slike (51).

NPSLE može biti žarišni ili difuzni, a sama težina kliničke slike varira. U blažim slučajevima javlja se samo blaga kognitivna disfunkcija. U teškim slučajevima može doći do akutnih stanja konfuzije, epileptičkih napadaja i nastupa akutne psihoze. Glavobolje, anksioznost, poremećaji raspoloženja i kognitivni poremećaji najčešće su neuropsihijatrijske manifestacije SLE-a (51, 52).

Incidencija moždanog udara i tranzitorne ishemijske atake povišena je u bolesnika sa SLE-om, a vjerojatnost pojave cerebrovaskularnih incidenata povezana je s prisustvom antifosfolipidnih (engl. *antiphospholipid antibodies*, aPL) autoantitijela (53, 54). Važno je naglasiti da u čak 60% bolesnika analizom cerebrospinalnog likvora u oboljelih od NPSLE možemo pronaći oligonukleotidne lance u cerebrospinalnom likvoru, anti neuronska protutijela i povišene razine IgG-a. U bolesnika s pozitivnim anti Ro protutijelima češće vidamo demijelinizacijske promjene na magnetskoj rezonanci, ali i pozitivna anti-akvaporin 4 protutijela koje mogu dovesti do optičkog neuromijelitisa. Sve navedene promjene mogu biti izolirane, povezane s određenim lijekovima, ali se mogu pojaviti u sklopu preklapanja SLE-a i multiple skleroze. U NPSLE se mogu pojaviti i protutijela na receptor za N-metil-D-aspartat (NMDA) koja se povezuju s neurokognitivnom disfunkcijom (55).

Od psihijatrijskih poremećaja najučestalija je depresija, čija se incidencija kreće čak do 65% i povezana s uzimanjem prednizona, koji se u dozama višima od 20 mg smatra izoliranim čimbenikom rizika. Nalaz pozitivnih anti-ribosomalnih P protutijela može upozoravati na povišen rizik obolijevanja od psihoze (31, 56).

### **1.5.9. Gastrointestinalne manifestacije**

Gastrointestinalne manifestacije SLE-a nisu rijetke, iako se u svakodnevnoj praksi često previde. Anoreksija, mučnina i povraćanje viđaju se u čak 50% bolesnika, a uzrok im može biti sama bolest, popratna uremija ili korištenje lijekova. Najčešće zahvaća oralnu sluznicu, ali nije rijedak ni vaskulitis gastrointestinalnih organa koji nosi visoki rizik od smrti. Na oralnoj sluznici mogu biti prisutne diskoidne i eritematozne lezije uz prateće petehije, edeme i ulceracije. Čak 57% ovih lezija bolesnici prijavljuju kao bolne (57, 58).

Oboljeli od SLE-a pod povišenim su rizikom obolijevanja od ulkusne bolesti. Ulkusna bolest u ovih je bolesnika najčešće rezultat sinergističkog učinka nesteroidnih protuupalnih lijekova (engl. *non-steroidal anti-inflammatory drugs*, NSAID) i kortikosteroida koji povisuju rizik obolijevanja od iste. Prema istraživanju Musaeva i suradnika postoje podatci koje govore da sam SLE može biti izolirani uzrok nastanka ulkusa (59). U primjeni je antirefluksna terapija kao mjera zaštite, najčešće inhibitori protonske pumpe (IPP). Još jedna potencijalna manifestacija SLE-a je intestinalni vaskulitis, čija simptomatologija u varira od one blaže u smislu postprandijalne napuhnutosi, anoreksije, abdominalne boli i proljeva, ali pa sve do

dramatične slike masivnog gastrointestinalnog krvarenja, perforacije i peritonitisa. Važno je napomenuti da se u ovih bolesnika zbog uzimanja imunosupresivne terapije klinička slika peritonitisa često ne razvija u cijelosti. Zbog toga je važno ozbiljno shvatiti svaku pojavu hipotenzije, acidoze, distenzije abdomena i radiološki vidljive distenzije crijeva (57).

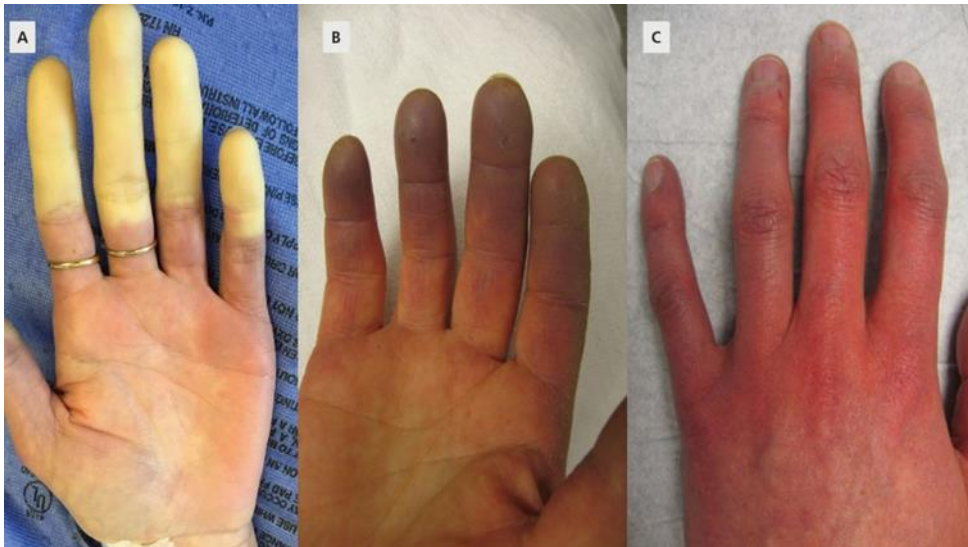
#### **1.5.10. Vaskulitis**

Incidencija vaskulitisa u bolesnika sa SLE-om varira od 11% pa sve do 36%. Vaskulitis može zahvatiti krvne žile svih veličina. Najčešće se manifestira na malim krvnim žilama u koži. Može zahvatiti i veće krvne žile te se prezentirati kao mezenterijski vaskulitis, plućna hemoragija ili mononeuritis multipleks. Takvi oblici vaskulitisa mogu biti opasni po život. Zanimljiva je informacija da se vaskulitis javlja neovisno o stupnju aktivnosti bolesti. Prema jednoj studiji, bolesnici oboljeli od vaskulitisa bili su češće muškarci u kojih je bolest trajala duže i koji su od nje oboljeli u mlađoj životnoj dobi. Primijećena je veća incidencija vaskulitisa u bolesnika s pridruženim antifosfolipidnim sindromom (60).

Raynaudov fenomen (engl. *Raynaud's phenomenon*, RP) stanje je u kojem vidimo epizodični vazospazam digitalnih krvnih žila kao rezultat povišenog tonusa krvnih žila. Porast vaskularnog tonusa rezultat je endotelne disfunkcije i/ili povišenog stvaranja endogenih vazokonstriktora, poput endotelina-1 i angiotenzina-2, ali i sniženog stvaranja vazodilatatora, odnosno dušikovog oksida i prostaciklina. Ovaj patofiziološki mehanizam se klinički manifestira epizodičkim promjenama boje prstiju, najčešće nakon izlaganja hladnoći ili emocionalnom stresu. Trijada događanja koja se tipično viđa u RP-a je bljedoća uslijed vazokonstrukcije, potom cijanoza uslijed zarobljavanja deoksigenirane krvi te na koncu crvenilo kao rezultat reperfuzije. Raynaudov fenomen dijeli se na primarni i sekundarni. Primarni je prisutan u većine bolesnika, njih čak 80-90%, idiopatski je, češće bilateralan i bezbolan te se rijetko povezuje s komplikacijama. Sekundarni je puno rjeđi, povezan je sa nekom sistemskom reumatološkom bolešću, gotovo uvijek se javlja zajedno s pozitivnim ANA protutijelima, često je asimetričan i bolan. Za razliku od bolesnika s primarnim RP-om, u bolesnika sa sekundarnim RP-om mogu se pojaviti perzistentna digitalna ishemija, ulceracije i gangrena. Svaki Raynaudov fenomen indikacija je za reumatološku obradu, u smislu traganja za autoantitijelima i izvođenjem kapilaroskopije, vrijedne metode za razdvajanje primarnog od sekundarnog RP. Sekundarni RP zahtjeva daljnju reumatološku obradu. Nefarmakološko liječenje, poput održavanja topline ekstremiteta, indicirano je u svih osoba s RP. Postoji



učinkovita farmakoterapija za liječenje neugodnih i nerijetko bolnih simptoma RP, a blokatori kalcijevih kanala prva su terapijska linija. Koriste se i inhibitori fosfodiesteraze tipa 5. Prostanoidi (npr. iloprost) terapijska su opcija za refraktorne, teške slučajeve RP koji se kompliciraju ishemijskim incidentima (61).



**Slika 4.** Raynaudov fenomen

Izvor: Shapiro SC, Wigley FM. Treating Raynaud phenomenon: Beyond staying warm. *Cleveland Clinic Journal of Medicine*. 2017;84:797–804.

### 1.5.11. Imunološke promjene

SLE je prototip autoimune bolesti i obilježen je stvaranjem velikog broja autoantitijela. Navedena protutijela vežu se za razne jezgrine, citoplazmatske i membranske molekule, a neka od njih se vežu i za cirkulirajuće lipide i proteine. Najbrojnija među navedenima su antinuklearna antitijela (engl. *antinuclear antibodies*, ANA) (62).

Napredak molekularne biologije zaslužan je što danas ANA možemo podijeliti u dvije podvrste, od kojih prvi tip uključuje autoantijela na molekulu DNA (anti-DNA) i srodne komponente jezgre poput histona i DNA-histonskih kompleksa. Druga podvrsta uključuje protutijela usmjerena na ribonukleinsku kiselinu (engl. *ribonucleic acid*, RNA) i njene vežuće proteine (engl. *RNA binding proteins*, RBP). Ta se protutijela još nazivaju protutijela na jezgrin

antigen koji se može ekstrahirati (engl. *extractable nuclear antigen*, ENA). Autoantitijela na RBP vežu se na veliki niz RNA veznih proteina (Sm, U1-RNP, Ro, La) (63).

Protutijela na dvolančanu DNA (anti dsDNA) visoko su specifična za SLE, zbog čega čine jedan dijagnostičkih kriterija. Suprotno tome, antitijela na RBP pokazuju različiti obrazac ekspresije u brojnim reumatološkim bolestima povezanim s autoantitijelima. Dok su antitijela na Sm antigen također visoko specifična za SLE, antitijela na ribonukleoproteinski (RNP) antigen imaju širu distribuciju, ali važna je njihova visoka specifičnost za miješanu bolest vezivnog tkiva (engl. *mixed connective tissue disease*, MCTD) u kojoj postoji preklapanje SLE-a, sistemske skleroze (engl. *systemic sclerosis*, SSc) i upalnih miozitisa. U bolesnika sa SLE-om, anti-Sm i anti-RNP obično koegzistiraju. Antitijela na Ro52 i anti Ro60 (anti SSA) i La (anti SSB) također imaju širu distribuciju jer pokazuju ekspresiju u SLE-u, Sjögrenovom sindromu, reumatoidnom artritisu i upalnim miozitisima (u kojih je najčešće prisutan izolirani porast anti Ro52). Od svih nabrojanih anti-RBP-a, anti-Sm antitijela su, zahvaljujući svojoj specifičnosti, zajedno s anti-dsDNA jedan od dijagnostičkih kriterija SLE-a. Važno je naglasiti da serumske vrijednosti anti-Sm antitijela, za razliku od anti-dsDNA, ne koreliraju s aktivnošću bolesti (64, 65).

Smatra se da terminalnu, a time i odlučujuću ulogu u pokretanju upalne reakcije koja dovodi do tkivnih oštećenja u SLE-u ima aktivacija klasičnog puta komplementa. Važno je napomenuti da na razine komplementa u krvi utječe i njihovo stvaranje u stanju akutne upale te genska varijabilnost u ekspresiji gena i sintezi proteina sustava komplementa. Niske razine C3 i C4 komponente komplementa čine jedan od dijagnostičkih kriterija SLE-a, upravo zbog razloga što je konzumacija komplementa koju u nalazu vidimo kao nisku serumsku razinu istih, znak pojačane aktivnosti bolesti. Postoji također sve veći broj dokaza da je aktivnost komplementa snažno povezana s trombotskim incidentima kako u SLE-u, tako i u antifosfolipidnom sindromu (66).

U SLE-u često vidimo i poremećaje stvaranja imunoglobulina, od kojih je najčešća hipergamaglobulinemija. Prema jednom istraživanju, hipergamaglobulinemija se javila u 15/83 (18,1%) bolesnika. Selektivni manjak IgA utvrđen je u 2/83 (2,4%), smanjene razine IgG u 7/83 (8,4%), a smanjene razine IgM u 14/83 (16,9%). Hipergamaglobulinemija nije specifična za SLE; vidimo je primjerice i u Sjögrenovom sindromu (67).

### **1.5.12. Kardiovaskularne manifestacije**

SLE se može manifestirati zahvaćanjem svih anatomskih dijelova srca kroz najrazličitije patogenetske mehanizme. Autoantitijela prisutna u SLE-u uključena su u stvaranje i odlaganje imunokompleksa koji započinju upalni proces i dovode do nastupa Libman-Sacksovog verukoznog endokarditisa, miokarditisa i perikarditisa. Perikarditis u sklopu SLE-a može biti blag ili, rjeđe, dramatičan s hemodinamskim kolapsom. Klinička slika perikarditisa u SLE-u slična je klasičnoj prezentaciji akutnog perikarditisa u smislu tipične prekordijalne odnosno substernalne boli u prsima čiji se intenzitet mijenja ovisno o položaju tijela (ublažava se uspravnim sjedenjem). Bol može biti praćena vrućicom, zaduhom i/ili tahikardijom uz slabije čujne srčane tonove. Elektrokardiogram može pokazati ST elevaciju i PR depresiju s recipročnim promjenama u aVR, ali se često vide samo nespecifične promjene T-valova ili ST spojnice (68, 69).

Antifosfolipidna protutijela, često pozitivna u SLE-u, povezana su s pojavom tromboze u koronarnim arterijama, zahvaćanju srčanih zalistaka i pojavi intramiokardijalne vaskulopatije. Navedeno se pojavljuje u primarnom i sekundarnom obliku antifosfolipidnog sindroma. Protutijela anti-SSA/Ro i anti-SSB/La utječu na provodni sustav srca i mogu dovesti do nastanka neonatalnog lupusnog sindroma s nastupom srčanog bloka u novorođenčeta majke koja ima pozitivna navedena protutijela. Također su usko povezana s nastupom endokardijalne fibroelastoze (69).

SLE nosi značajan rizik preuranjenog obolijevanja od kardiovaskularnih bolesti (KVB). SLE se javlja u premenopausalnih žena koje bi kao takve estrogen u značajnoj mjeri trebao štiti od razvitka kardiovaskularnih bolesti. Etiologija KVB u SLE-u nije u potpunosti razjašnjena, ali je u podlozi vjerojatno upalna priroda same bolesti pri čemu sistemska upala može dovesti do abnormalnog lipidnog profila. Tako često vidimo povišene trigliceride, povišen ukupni kolesterol i lipoprotein niske gustoće (engl. *low density lipoprotein*, LDL). Protektivni lipoprotein visoke gustoće (engl. *high density lipoprotein*, HDL) nerijetko je disfunkcionalan pa njegove normalne vrijednosti u krvi ne znače i adekvatnu funkciju. Upalna priroda SLE-a osigurava uvjete u organizmu koji dovode do endotelne disfunkciju i ozljede stijenke krvne žile, što su već poznati rani koraci nastanka i napredovanja aterosklerotske bolesti. Unatoč nedostatku ciljanih lijekova, rana dijagnostika subkliničke aterosklerotske bolesti u ovoj populaciji omogućava probir visoko rizičnih bolesnika. Ovaj pomak značajan je s obzirom da su kardiovaskularne komplikacije SLE-a jedan od najvećih krivaca za visoku stopu morbiditeta i mortaliteta ove bolesti. Hidroksiklorokin, jedan od lijekova kojega široko

primjenjujemo gotovo u svih oboljelih od SLE-a, povezan je s poboljšanjem lipidnog profila ovih bolesnika (70).

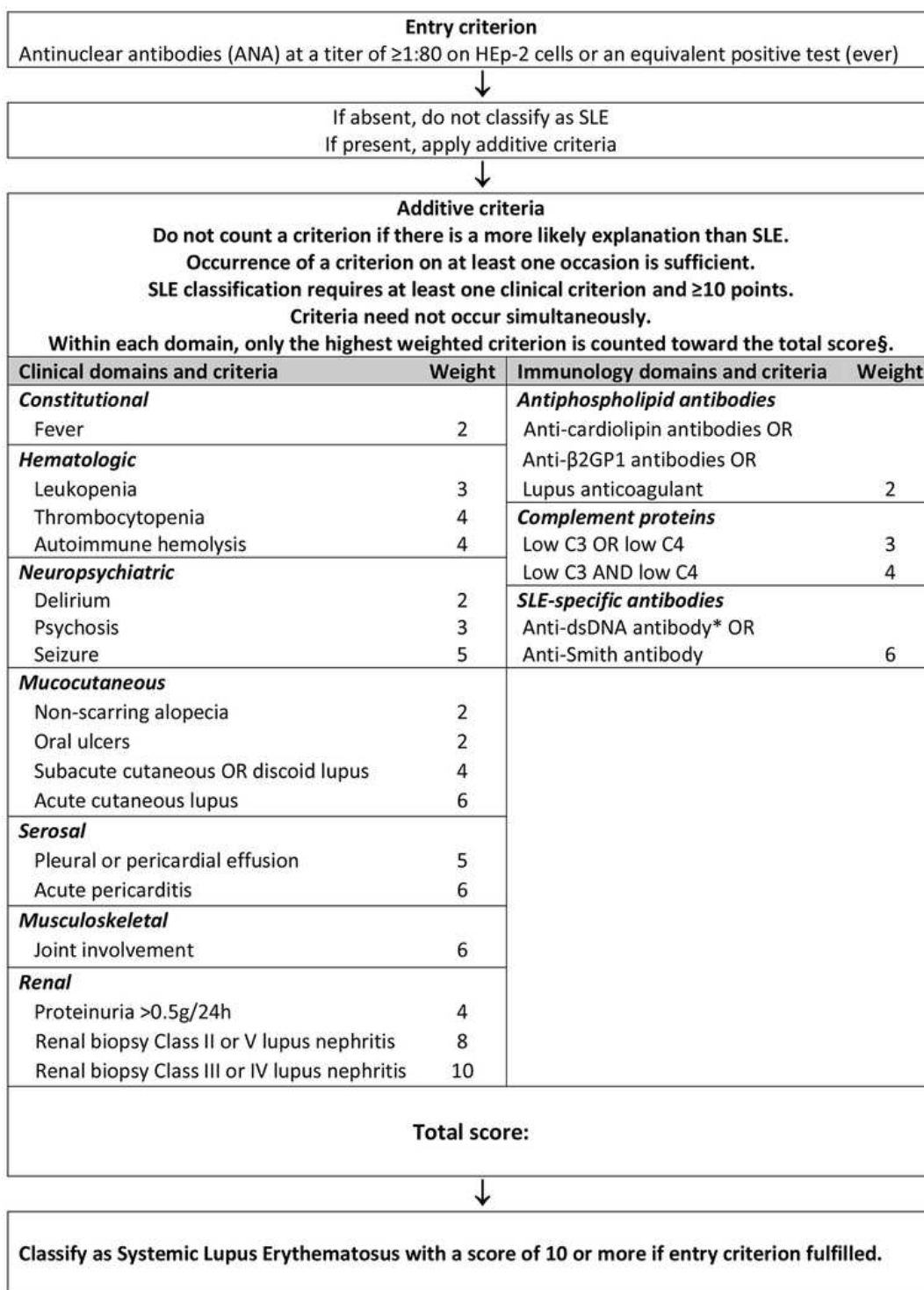
### 1.5.13. Plućne manifestacije

Plućne manifestacije vidamo u čak 50 do 70% bolesnika sa SLE-om, a u 4 do 5% bolesnika one su glavna manifestacija bolesti. Nakon samo 10 godina od postavljanja dijagnoze, čak će 12% oboljelih imati trajna oštećenja pluća. Sama paleta plućnih komplikacija je jako šarolika i uključuje pleuritis sa ili bez pleuralnog izljeva, intersticijsku plućnu bolest (engl. *interstitial lung diseases*, ILD), plućnu tromboembolijsku bolest, plućnu hipertenziju te pojavu oportunističkih infekcija dišnog sustava kao posljedicu smanjene obrambene sposobnosti domaćina uslijed uzimanja imunosupresivne terapije. Simptomi variraju od asimptomatskih i blagih kao što je pleuralni izljev, ali i teških poput akutnog lupus pneumonitisa ili difuznog alveolarnog krvarenje koji mogu ugrožavati život. U bolesnika sa SLE-om može se pojaviti disfunkcija dijafragme pa se kao posljedica toga viđa atelektaza pluća. ILD i plućnu hipertenziju vidamo i u drugih autoimunih reumatoloških bolesti, a kad se pojavljuju u sklopu SLE-a, simptomi su blaži s boljom prognozom. Primjena imunosupresivnih lijekova, posebice metotreksata, također nosi rizik od nuspojava od strane dišnog sustava (71, 72).

Jedan zanimljivi klinički entitet koji se viđa u SLE-u je i sindrom stisnutih pluća (engl. *shrinking lung syndrom*, SLS). Riječ je o sindromu koji se javlja kada dođe do izrazite mišićne slabosti dišne muskulature uključujući i samu dijafragmu, pri čemu ona gubi svoju pomičnost i biva podignuta prema gore. To dovodi od restriktivnih smetnji ventilacije u smislu gubitka volumena pluća što izaziva simptome zaduhe i pleuralne boli. SLS se najčešće pojavljuje u SLE-u, iako postoje slučajevi gdje je opisan u reumatskom artritisu, sistemske sklerozi i Sjögrenovom sindromu. Važno je naglasiti da se dijagnoza SLS postavlja isključivanjem drugih dijagnoza nakon detaljne obrade koja uključuje i prikaz toraksa kompjuteriziranom tomografijom (engl. *computerized tomography*, CT) i plućne funkcionalne testove (spirometriju, difuzijski kapacitet ugljikovog monoksida (engl. *diffusing capacity of the lungs for carbon monoxide*, DLCO) i šestominutni test slobodnog hoda (73).

## 1.6. Klasifikacijski kriteriji

Prve kriterije za postavljanje dijagnoze SLE-a donijelo je 1997. godine Američko društvo za reumatologiju (engl. *American College of Rheumatology*, ACR). Navedeni kriteriji imali su osjetljivost 82.8%, a specifičnost 93.4%. Internacionalna skupina liječnika (engl. *Systemic Lupus International Collaborating Clinics*, SLICC) predložila je 2012. godine revidirane kriterije kojima je osjetljivost porasla na 96.7%, a specifičnost na 83.7%. Danas su u uporabi najnoviji klasifikacijski kriteriji koje su 2019. godine donijeli ACR i Europske liga protiv reumatizma (engl. *European League Against Rheumatism*, EULAR) koji za početak uključuje pozitivan ANA test u barem jednom navratu kao obvezni ulazni kriterij. Pozitivan ANA test mora biti praćen dodatnim kriterijima grupiranim u 7 kliničkih (konstitucijska, hematološka, neuropsihijatrijska, mukokutana, serozna, mišićno-koštana, bubrežna bolest) i 3 imunoloških (pozitivan nalaz aPL, snižene vrijednosti komponentni komplementa u serumu i nalaz SLE-specifičnih protutijela) domena, te ocjenjenim u rasponu od 2 do 10. Ispunjenjem kriterija dostatnih za dijagnozu SLE-a smatra se rezultat od 10 i više bodova. Najnoviji kriteriji imaju osjetljivost od 96,1% i specifičnost od 93,4% (74).



**Slika 6.** Klasifikacijski kriteriji za SLE iz 2019. godine

Izvor: Aringer M, Costenbader K, Daikh D, Brinks R, Mosca M, Ramsey-Goldman R. i sur. 2019 European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology Classification Criteria for Systemic Lupus Erythematosus. Arthritis & Rheumatology [Internet]. 2019 6;71:1400–12.

## 1.7. Antifosfolipidni sindrom

SLE i antifosfolipidni sindrom (engl. *antiphospholipid syndrom*, APS) često proučavamo kao dvije jako bliske autoimune bolesti. Veliki broj bolesnika sa SLE-om, njih čak 40%, pozitivno je na aPL protutijela, a značajan udio bolesnika s primarnim APS-om (izraz primaran odnosi se na APS bez pridruženog SLE-a ili drugih autoimunih bolesti) ima pozitivna cirkulirajuća ANA i anti dsDNA protutijela. Zanimljivo je da bolesnici s primarnim APS-om ne razviju SLE čak ni nakon 10 godina praćenja. Unatoč tome što dijele neke zajedničke gene i cirkulirajuća protutijela, SLE i APS ipak su različiti klinički entiteti unutar širokog spektra autoimunih bolesti (75, 76, 77).

APS dovodi do hiperkoagulabilnosti krvi. Manifestira se trombozom koja može biti arterijska, venska ili mikrovaskularna i komplikacijama u trudnoći u smislu pobačaja, kasne intrauterine fetalne smrti i nastanka teškog oblika preeklampsije. Postoje tri različita aPL protutijela koja ulaze u klasifikacijske kriterije, a to su lupus antikoagulans, antikardiolipin i anti-beta 2 glikoprotein I, od kojih je lupus antikoagulans povezan s najvišim rizikom za trombozu. Kao preventivne metode sprječavanja tromboze u APS-u koriste se niske doze aspirina i hidroksiklorokina. Nakon doživljenja epizode tromboze preporučena je dugotrajna antikoagulacijska terapija (78).

## 1.8. Sjögrenov sindrom

Sjögrenov sindrom (SS) kronična je autoimuna bolest nepoznatog uzroka, a upalni proces najčešće zahvaća doušnu žlijezdu, suzne žlijezde i žlijezde slinovnice iako bolest može zahvatiti sve organske sustave. Razlikujemo primarni (pSS) i sekundarni oblik bolesti (sSS). Potonji se javlja u sklopu drugih autoimunih bolesti, obično uz SLE (15-36%), reumatoidni artritis (20-32%) i sistemska skleroza (11-24%). Nešto rjeđe se pojavljuje u sklopu multiple skleroze te autoimunog hepatitisa i tireoiditisa. Pojam "sekundarni" ne odnosi se na kronološki slijed javljanja bolesti – sSS se može pojaviti prije, nakon i zajedno s pratećom autoimunom bolešću. Primarni i sekundarni oblik bolesti imaju različitu prognozu i liječenje stoga je važnost točne dijagnostike neosporna (79, 80).

Važno je naglasiti da se SS, kao i SLE, mnogo češće javlja u žena; omjer oboljelih muškaraca i žena kreće se od 9:1, do čak 19:1. Najčešća dob pojavljivanja pSS je 56 godina,

ali postoji i vršak pojavnosti koji obuhvaća dob od 20 do 40 godina. Bolest se najčešće manifestira kao kserostomija i kseroftalmija te limfocitnim upalnim infiltratom i uvećanjem doušnih žlijezda, žlijezda slinovnica i suznih žlijezda. Uz to se mogu javiti opći simptomi subfebrilnosti i umora, artralgijske ili artritisa, intersticijska plućna bolest, tubulointersticijski nefritis, mononeuritis multiplex, perikarditis, purpura, najčešće na donjim udovima, ali i različite druge manifestacije. SS karakterizira nalaz anti Ro i anti La protutijela u krvi, zajedno s pojavom hipergamaglobulinemijom. Bolesnici su pod povećanim rizikom od nastanka limfoma, pa je izrazito važno redovno praćenje i detaljna obrada u slučaju sumnje na limfom (81).

### 1.9. Miješana bolest vezivnog tkiva

Miješana bolest vezivnog tkiva je kronična autoimuna bolest koji ima karakteristike SLE-a, SSc i upalnih miozitisa odnosno polimiozitisa (PM) i dermatomiozitisa (DM), a ne zadovoljava kriterije ni jedne zasebne bolesti. Za nju je karakterističan nalaz anti-U1RNP autoantitijela. Neke od kliničkih manifestacija koje možemo uočiti u MCTD su Raynaudov fenomen, natečeni i podbuhli prsti i ruke (engl. *puffy fingers*), artritis i intersticijska plućna bolest. U velikom broju slučajeva MCTD ima dobru prognozu i uspješno se liječi niskim dokaza kortikosteroida (82, 83, 84).



**Slika 6.** Podbuhli prsti (engl. *puffy fingers*)



### **1.10. Utjecaj SLE-a na trudnoću i reproduktivno zdravlje žene**

SLE nema direktnog učinka na plodnost, no primjena ciklofosfamida koji je alkilirajući agens u liječenju bolesti može dovesti do zatajenja gonada, češće u starijih žena, ali i u oboljelih muškaraca. Ovaj učinak ovisan je o primijenjenoj dozi. Provedena je studija SELENA (engl. *The Safety of Estrogen in Lupus Erythematosus, National Assessment, SELENA*) koja je obuhvaćala 183 bolesnice sa SLE-om koje su uzimale oralnu hormonsku kontracepcije (OHK) i u toj studiji nije dokazana povezanost uzimanja OHK i povišenog rizika od tromboze. Važno je naglasiti da je ova studija uzela bolesnice s niskom aktivnošću bolesti i niskim ili negativnim titrovima aPL protutijela. Druga studija je proučavala primjenu estrogensko-progestinske postmenopauzalne hormonske terapije i pokazala je povećanje rizika od tromboze i aktivnosti bolesti u bolesnica sa APS-om. Tableta koja sadrži sam progesteron smatra se sigurnom u bolesnica sa SLE-om i APS-om te se preporučuje kao kontracepcijska metoda (85).

Pozitivni ishodi trudnoće bolesnica sa SLE-om vjerojatniji su u žena koje su bile u remisiji šest mjeseci prije začeća. Pokazano je također da hidrosiklorokin smanjuje rizik aktivacije SLE-a tijekom same trudnoće. Za sve bolesnice oboljele od SLE-a preporučuje se preventivna primjena aspirina od 81 mg dnevno kako bi se smanjila stopa preeklampsije i ponovljenih pobačaja (86, 87).

### **1.11. Sistemske infekcije i cjepiva**

Pojava sistemskih infekcija još uvijek je jedan od vodećih uzroka smrtnosti u bolesnika sa SLE-om. Disfunkcija T i B limfocita u sklopu same bolesti dovodi do onemogućava adekvatno funkcioniranje obrambenih mehanizama oboljelih bolesnika, na što se dodatno nadovezuje primjena imunosupresivne terapija koja u većoj ili manjoj mjeri inhibira spomenute mehanizme. Nadalje, dijagnostički problem predstavlja i razlikovanje relapsa bolest i pojave infekcije, jer nedostaje dobar biomarker koji bi rano i precizno razlikovao navedena stanja koja zahtijevaju potpuno različiti pristup i liječenje. Bolesnici sa SLE-om obolijevaju od klasičnih bakterijskih, virusnih i gljivičnih infekcija koje mogu imati tipičnu i atipičnu kliničku sliku. Česte su i oportunističke infekcije. Klinička slike infekcije se često ne razvija u cijelosti upravo

zbog primjene immunosupresivne terapije pa je kašnjenje u dijagnostici i liječenju često. Pod povećanim su rizikom bolesnici koji imaju aktivnu bolest, uzimaju više od 7.5-10 mg metilprednizolona ili prednizona na dan te oni na terapiji ciklofosfamidom. Zbog toga je poželjno da kronična terapija kortikosteroidima ne prelazi 5 mg dnevno (88).

Primjena cjepiva je sigurna u bolesnika sa SLE-om, iako je važno je naglasiti da je primjena živog atenuiranog cjepiva kontraindicirana u svih bolesnika na immunosupresivnoj terapiji. Preporučuje se također primjena cjepiva za virus gripe i pneumomoka (88, 89).

### **1.12. Osteoporoza i avaskularna nekroza**

Bolesnici oboljeli od SLE-a pod povišenim su rizikom od gubitka mineralne gustoće kostiju i obolijevanja od osteoporoze. Osteoporoza može dovesti do patoloških prijeloma koji povisuju stopu morbiditeta i mortaliteta u ovih bolesnika. Iako sam mehanizam još uvijek nije dovoljno jasan, u oboljelih od SLE-a nalazimo niže vitamina D u usporedbi sa zdravom populacijom iste dobi što je u direktnoj vezi s gubitkom mineralne gustoće kostiju (90).

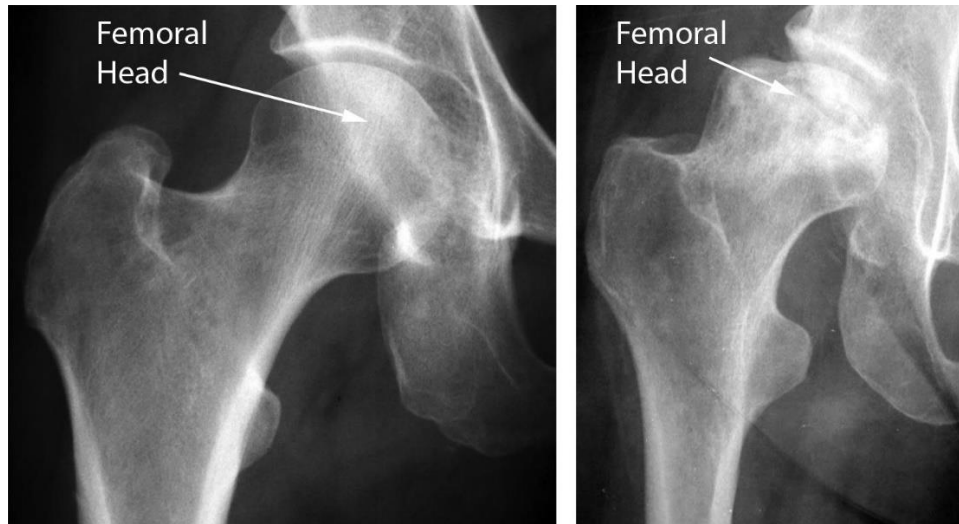
Primjena kortikosteroida (prednizona ili ekvivalenta) u dozi višoj od 2.5 mg na dan dovodi se u vezu s padom mineralne gustoće kostiju i nastankom osteoporoze, odnosno povišenim rizikom od patoloških prijeloma. Ovaj se rizik snižava nakon prestanka uzimanja lijeka, osim u bolesnika koji su terapiju uzimali duži niz godina (91).

Avaskularna nekroza kosti teška je komplikacija ove bolesti koja dovodi do značajnog morbiditeta. Kompromitirana cirkulacija u arteriji koja hrani kost dovodi do subhondralne nekroze te iste kosti što rezultira pojavom jake boli, otežanim kretanjem i potencijalnim razvojem invaliditeta. Može zahvatiti različite kosti, ali ima predilekciju za glavu femura (92).

Primjena glukokortikoida smatra se izoliranim čimbenikom rizika za nastanak avaskularne nekroze, a kao dodatni čimbenici koji potencijalno kompromitiraju arterijsku opskrbu kosti spominju se vaskulitis, odnosno vaskulopatija, Raynaud fenomen te prisustvo aPL antitijela (1, 92).

Zbog rizika od osteoporoza i avaskularne nekroze, svim oboljelima od SLE-a preporučuje se profilaktična primjena vitamina D i kalcija. Redovito mjerenje mineralne gustoće kostiju, denzitometrija, trebala bi biti obavezna ne samo oboljelima od SLE-a, već i svima na glukokortikoidnoj terapiji. Liječenje bifosfonatima je nužno u slučaju osteoporoze,

ali terapijski problem predstavlja teratogenost lijeka i činjenica da najveći broj oboljelih čine upravo žene generativne dobi (1).



**Slika 7.** Rentgenski prikaz avaskularna nekroze glave femura. Lijeva slika prikazuje zdravi femur, desna slika prikazuje osteonekrozu glave femura.

Izvor: Osteonecrosis of the Hip - OrthoInfo - AAOS [Internet]. [www.orthoinfo.org](http://www.orthoinfo.org). Dostupno na: <https://orthoinfo.aaos.org/en/diseases--conditions/osteonecrosis-of-the-hip/>

### 1.13. Malignitet

U oboljelih od SLE-a postoji povišen rizik malignih bolesti. Najčešće se govori o povišenom riziku obolijevanja od ne-Hodgkinovog limfoma, Hodgkinovog limfoma, leukemije, multiplog mijeloma, ne melanomskog raka kože, karcinoma orofarinksa, larinksa, pluća, jetre, rodnice, stidnice i štitne žlijezde, bubrega, mjehura, jednjaka i želudca. U SLE je uočen niži rizik obolijevanja od raka prostate i melanoma. Nije uočena povezanost između SLE-a i nastanka raka dojke, maternice, gušterače, kolorektalnog karcinoma i tumora mozga. Zanimljivo je da je rizik pada s duljinom trajanja bolesti; najviši je u prvim godinama nakon postavljanja dijagnoze (93).

### 1.14. Lupus izazvan lijekovima

Lupus izazvan lijekovima (engl. *drug induced lupus*, DIL) zaseban je klinički entitet u kojem postoji slabije ili jače izražena klinička slika lupusa koja je nastala nakon primjene nekoga lijeka. Najčešće se javlja s odgodom od par mjeseci ili čak godina nakon primjene lijeka, iako u rijetkim slučajevima klinička slika nastupa već nakon nekoliko dana ili tjedana. Predloženi su neki kriteriji koji predlažu postavljanje dijagnoze DIL-a pod uvjetima da je osoba dovoljno dugo bila izložena dovoljno visokim dozama lijeka, da postoji barem jedan simptom SLE-a, da prije primjene okrivljenog lijeka nije imala nikakvih simptoma niti znakova SLE-a i da se simptomi u potpunosti povlače kroz tjedne ili mjesece nakon ukidanja spornoga lijeka. Neki predloženi kriteriji naglašavaju važnost pozitivnog ANA testa, dok drugi tvrde da negativan ANA test nikako ne može isključiti dijagnozu, posebice u slučaju prisutnih kliničkih znakova i simptoma SLE-a (94).

DIL uključuje širok spektar lijekova koji mogu imati različite kliničke i serološke manifestacije koji u mnogočemu nalikuju SLE-u, osim već spomenute činjenice da se bolesnici oboljeli od DIL-a nakon dokidanja spornog lijeka u potpunosti oporavljaju. Postoji čak 40-ak lijekova koji se povezuju s nastupom DIL-a (95). Najčešće se spominju hidralazin, prokainamid, izoniazid, minociklin i u novije vrijeme inhibitori čimbenika tumorske nekroze  $\alpha$  (engl. *tumor necrosis factor  $\alpha$* , TNF- $\alpha$ ). Od svih nabrojanih, prokainamid i hidralazin povezani su s najvišim rizikom indukcije SLE; 30% odnosno 5% do 10%. Zanimljivo je da inhibitori TNF- $\alpha$  i prokainamid u nekih bolesnika izazivaju izolirano povišenje ANA, dok se u pojedinih razvijaju osip, artralgijske i/ili serozitis. Potencijalni mehanizmi samog nastanka DIL-a još uvijek nisu do kraja poznati, ali se vjerojatno radi o zajedničkom djelovanju genetske predispozicije, biotransformacije lijeka i epigenetskih promjena u imunološkim stanicama (96, 97).

### **1.15. Serumski kalprotektin**

Kalprotektin (S100A8/A9 ili mijeloidni protein 8/14 – MRP8/14) je heterodimerni kompleks kojeg čine dva S100 proteina koja vežu kalcij. To su protein 8 povezan s mijeloidom (engl. *myeloid related protein*, MRP-8 ili S100A8) i protein 14 povezan s mijeloidom MRP-14 (ili S100A9). Riječ je o proupalnom proteinu koji je prisutan i u zdrave populacije u vrijednostima od 1-6 mg/L. Stvaraju ga granulociti i makrofazi kao odgovor na različite upalne i infektivne procese u organizmu pri čemu njegova koncentracija u serumu raste. Potiče upalni proces vežući se na receptore za krajnje produkte glikacije (engl. *receptor for advanced*

*glycation end*, RAGE) i TLR4 na leukocitima i endotelnim stanicama, čime dovodi do imunološke kaskade koja rezultira otpuštanjem različitih upalnih citokina, u prvome redu IL-1 $\beta$ , IL-6 i TNF-a  $\alpha$  (98).

Visoka koncentracija kalprotektina nađena je u sinovijalnoj tekućini izoliranoj iz zglobova bolesnika s reumatoidnim artritismom, dok je, suprotno tome, u bolesnika oboljelih od osteoartroze pronađena niska koncentracija istog. Zbog svoje niske molekularne težine (36,5 kDa) kalprotektin može lako difundirati iz upaljenih zglobova u cirkulaciju pa njegove vrijednosti možemo mjeriti u plazmi. Unatoč kratkom poluživotu od samo 5 sati, mnogi ga autori smatraju važnim biomarkerom aktivnosti bolesti u najrazličitijih autoimunih reumatskih bolesti, potencijalno čak osjetljivijim od C-reaktivnog proteina (CRP-a) i sedimentacije eritrocita (SE) (99).

Brojna israživanja pokazala su da promjene razine kalprotektina koreliraju s aktivnošću bolesti u bolesnika s reumatoidnim artritismom (RA), Stillovom bolešću, ankiloznim spondilitisom (AS), psorijatičnim artritismom (PsA), pSS., juvenilnim idiopatskim artritismom (JIA) i SLE-om. Također je povišen i koristan u dijagnostici i praćenju upalnih bolesti crijeva, odnosno Crohnove bolesti i ulceroznog kolitisa (99).

### **1.16. Stupanj aktivnosti bolesti**

Danas postoje korisni alati za brzu procjenu aktivnosti bolest primjenjivi u svakodnevnoj kliničkoj praksi. Jedan od njih je SLEDAI (engl. *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index*) zbroj (100).

SLEDAI je deskriptivni bodovni indeks koji se koristi gotovo 30 godina. Viša vrijednost SLEDAI-a sugerira višu aktivnost bolesti, odnosno zahvaćenost više organa i na koncu viši mortalitet. Izvorni SLEDAI korigiran je više puta, te su danas najčešće u upotrebi SLEDAI 2K i SELENA SLEDAI. SELENA SLEDAI uključuje 24 manifestacije bolesti, među kojima je 16 kliničkih i 8 laboratorijskih. Ukupan broj bodova može biti od 0-105. SLEDAI 0 znači da nema aktivnosti bolesti, SLEDAI 1-5 sugerira blažu aktivnost bolesti, SLEDAI 6-10 govori o umjerenoj aktivnosti bolesti, SLEDAI 11-19 znači jaku aktivnost bolesti, a vrijednost >20 je vrlo jaka aktivna bolest. SLEDAI vrijednost već preko 6 smatra se aktivnom bolešću koja aktivnije zahtjeva liječenje (101).

Sve tri varijante SLEDAI-a daju jednako bodova za pojedinu kliničku manifestaciju i oštećenje organa, ali postoje neke razlike u definiraju istih. Uvijek se uzimaju laboratorijski nalazi i simptomi prisutni zadnjih 10 dana. Jedna od mana ovoga indeksa je što ne možemo mjeriti težinu neke manifestacije, pa je tako trombocitopenija  $<1000/\mu\text{l}$  i trombocitopenija  $<90000/\mu\text{l}$  ocjenjena jednako. (102)

**Tablica 1. Selena sledai (Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Indeks)**

BODOVI	MANIFESTACIJA	DEFINICIJA
8	EPILEPTIČKI NAPAD	Nedavno nastali, obavezno isključiti metaboličke, infektivne i lijekovima uzrokovane napade
8	PSIHOZA	Disfunkcionalnost u svakodnevnom životu uslijed značajnog poremećaja percepcije stvarnosti. Uključuje halucinacije, bizarna, katanonička, neorganizirana ponašanja, nelogična razmišljanja, nesuvislost i slično. Važno isključiti uremiju i psihozu izazvanu lijekovima.
8	ORGANSKI MOŽDANI SINDROM	Poremećaj mentalne funkcije, poremećaj oštećenom orijentacijom, pamćenja i drugih intelektualnih funkcija. Nejasne spoznaje sa smanjenom sposobnosti fokusiranja i nesposobnosti zadržavanja pažnje na okolini i barem dvije od navedenih obilježja: poremećaji u opažanju, nepovezan govor, nesanica ili dnevna pospanost, povećana ili smanjena psihomotorna aktivnost. Važno isključiti metaboličke uzroke, infekciju ili uzimanje lijekova
8	SMETNJE VIDA	Retinalne i očne promjene, dokaz citoidnih tjelešaca, krvarenja retine, serozni eksudat ili krvarenja u žilnici, optički neuritis, skleritis ili

		episkleritis. Važno je isključiti hipertenziju, infekcije ili uzimanje lijekova kao uzrok navedenih
8	OŠTEĆENJE KRANIJALNIH ŽIVACA	Novonastala senzorna i motorna neuropatija
8	LUPUS GLAVOBOLJA	Ozbiljna perzistentna glavobolja, može biti migrensko tipa, uvjet je da ne odgovara na analgetike
8	CEREBROVASKULARNI INCIDENTI	Novonastali događaji središnjeg živčanog sustava kojima ateroskleroza nije uzrok
8	VASKULITIS	Ulceracije, gangrene, bolni digitalni noduli, periungualna krvarenja, splinter hemoragije, biopsijom ili angiografijom dokazan vaskulitis
4	ARTRITIS	2 ili više zglobova koji su bolni, natečeni ili s dokazanim izljevom
4	MIOZITIS	Slabost proksimalnih mišića koju prati povišenje kreatinina, aldolase, fosfokinaze ili promjene na elektromiogramu kompatibilne miozitisom ili biopsijom dokazan miozitis
4	CILINDURIJA	Nalaz eritrocitnih ili granularnih cilindra.
4	HEMATURIJA	Nalaz više od 5 eritrocita na vidnom polju velikog povećanja. Isključiti kamenac, infekciju i druge potencijalne uzroke.
4	PROTEINURIJA	Novonastali/nedavni nalaz >0.5g/dan proteina u urinu
4	PIURIJA	Nalaz više od 5 leukocita u vidnom polju velikog povećanja. Isključiti infekciju kao uzrok.

2	MUKOKUTANE ULCERACIJE	Novonastale ili rekurentne oralne ili nazalni ulceracije
2	ALOPECIJA	Novonastali ili rekurentni gubitak kose
2	OSIP	Novonastali ili rekurentni osip upalnog tipa
2	PLEURITIS	Pleuralna bol s fizikalnim nalazom pleuralnog trenja, pleuralnog izljeva ili zadebljanja pleure.
2	PERIKARDITIS	Perikardijalna bol s barem jednim od sljedećeg: perikardijalno trenje, izljev ili nalaz elektrokardiograma koji potvrđuje perikarditis
2	NIZAK KOMPLEMENT	Trošenje komponentni komplementa CH50, C3, C4 odnosno njihova pad njihove vrijednosti ispod donje granice
2	PORAST ANTI dsDNA	> 25% na temelju metode Farr assay ili iznad normalne vrijednosti za određeni laboratorij.
1	FEBRILITET	> 38 C. Isključiti infekciju.
1	TROMBOCITOPENIJA	< 100,000 trombocita/ $\mu$ l
1	LEUKOPENIJA	< 3,000 leukocita/ $\mu$ l. Isključiti uzimanje lijekova
	UKUPNO BODOVA	

### 1.17. Liječenje

Liječenje SLE-a kompleksno je i uključuje brojne terapijske opcije. Radi se o kroničnoj bolesti s periodima relapsa i remisije pa je liječenje dugotrajno, najčešće i cjeloživotno. Jednom nakon što se inducira remisija bolesti, važno je da se ista održava, jer je postizanje potpune remisije ili niske aktivnosti bolesti povezano s dugotrajnim boljim ishodom ovih bolesnika. Cilj liječenja je odsustvo simptoma i znakova bolesti, prevencija oštećenja organa i dovođenje



potencijalnih štetnih učinaka lijekova na najniže moguće razine. Potpuna remisija bolesti je rijetka, pa je najčešći cilj postizanje niske aktivnosti bolesti (103).

Glukokortikoidi su prva terapijska linija u SLE-u. Većina bolesnika uzima dugotrajnu glukokortikoidnu terapiju za lupus arthritis i kožni lupus u niskim dozama od 5-20 mg prednizona dnevno. Srednje doze, od 30-60 mg prednizona dnevno, rezervirane su kao početna doza u slučaju lupus miozitisa, serozitisa, miokarditisa ili hematološkog lupusa. Kroz dva do tri mjeseca ova početna doza se postupno snižava na nisku dozu prednizona, paralelno s uvođenjem neke druge terapije održavanja. Pulsne intravenske doze metilprednizolona (250 mg-1 g dnevno) daju su tri do pet dana, te se potom nastavlja s prednizonom u dozi od 0.5 mg-1 mg/kg tjelesne težine koji se, opet postupno kroz dva do tri mjeseca, spušta do niskih doza prednizona. Ovakav terapijski model rezerviran je za najteže, životno ugrožavajuće manifestacije bolesti, poput alveolarne hemoragije, akutnog LN i NPSLE. Dugotrajne posljedice uzimanja glukokortikoida su brojne, poput razvoja jatrogenog Cushingovog sindroma, arterijske hipertenzije, šećerne bolesti, mrežnice, pretilosti, strija, hiperlipidemije, depresije, osteoporoze i brojnih drugih. Vječno je pitanje kolike su doze glukokortikoida sigurne za dugotrajnu primjenu. Neka istraživanja doze jednake ili niže od 7.5 mg prednizona ili ekvivalenta definiraju dugoročno sigurnima, no najnovija istraživanja govore kako i doze niže od 5 mg dnevno mogu biti štetne (103, 104).

Antimalarik hidroksiklorokin (HCQ) daje se gotovo svim oboljelima od SLE-a. Osnova je liječenja mišićno koštane i kožne bolesti. HCQ je učinkovit u održavanju remisije u SLE i dokazano smanjuje broj relapsa bolesti. Dodatna je prednost što poboljšava lipidni profil snižavajući razine kolesterola u krvi, ima antitrombotski učinak i ne samo što je siguran za primjenu u trudnoći već i smanjuje vjerojatnost relapsa za vrijeme iste. Nije ga potrebno prestati uzimati u slučaju infekcije ili cijepljenja. Najčešće nuspojave su mu kožni osip i gastrointestinalne smetnje. Dugogodišnje uzimanje viših doza HCQ može djelovati toksično na makulu i izazvati ireverzibilnu retinopatiju. Rizik od razvoja retinopatije iznosi 10% nakon uzimanja lijeka 20 godina. Ovaj je učinak ovisan o dozi i trajanju liječenja. Rizik je viši u bolesnika s bubrežnom bolešću i preegzistirajućom makulopatijom. Važan je redoviti oftalmološki pregled bolesnika koji se liječe HCQ-om, obavezno prije uvođenja lijeka i potom godišnji pregled vidnog polja i godišnja optička koherentna tomografija (engl. *optic coherence tomography*, OCT) (105).

Imunosupresivi koji mijenjaju tijek bolesti (engl. *disease modifying antirheumatic drugs*, DMARDs) imaju široku primjenu u terapiji SLE-a. Koriste se azatioprin (AZA), metotreksat (MTX), mikofenolat mofetil (MMF), ciklofosfamid, ciklosporin, takrolimus i leflunomid. Nakon što se glukokortikoidima inducira remisija bolesti, u slučaju da HCQ nije dostatan za održavanje remisije, indicirana je primjena DMARD-ova. Široko se primjenjuju u bolesnika s artritisom, miozitisom, serozitisom, nefritisom, kožnim, hematološkim i neuropsihijatrijskim lupusom (106).

Azatioprin, purinski antimetabolit, učinkovit je u liječenju SLE-a, posebno u slučaju lupus miozitisa, artritisa, kožnog lupusa i serozitisa. Siguran je za korištenje čak i u trudnoći, ali se ne smije koristiti za vrijeme laktacije. Važno je naglasiti da se prije uvođenja ovog lijeka mora testirati vrijednost tiopurin metiltransferaze, enzima koji metabolizira azatioprin, jer je do 0.5% populacije homozigot za ovaj enzim i nema aktivnost istog. Zbog toga može doći do jake toksičnosti azatioprina i supresije koštane srži. U slučaju homozigotnosti, azatioprin je kontraindiciran (107).

MTX, antagonist folne kiseline, ima sličan terapijski učinak kao AZA. MTX je teratogen, stoga je kontraindiciran u trudnoći. Najčešće izaziva gastrointestinalne nuspojave, mukozitis i gubitak kose, a toksičnost na koštanu srž smanjuje se redovitim uzimanjem folne kiseline 24 sata nakon primjene lijeka. Kontraindiciran je u slučaju teže bubrežne bolesti, a s obzirom da može izazvati pneumonitis, ne smije se davati u prisutstvu intersticijske plućne bolesti koja je simptomatska i zahtjeva liječenje (108).

MMF je antimetabolit koja inhibira T i B limfocite. Kao i ciklofosfamid, učinkovit je za LN i toj se indikaciji koristi kao terapija održavanja. Za mišićno koštane manifestacije je inferioran u odnosu na MTX i AZA te nema učinka u neuropsihijatrijskom lupusu. Izaziva najčešće gastrointestinalne nuspojave i ako su one izražene preporučuje se primjena mikofenolne kiseline koja ima istu učinkovitost, ali rjeđe dovodi do gastrointestinalnih smetnje (109).

Leflunomid se koristi u bolesnika s kožnim i mišićno koštanim manifestacijama SLE-a u slučaju neučinkovitosti MTX, AZA i MMF. Ciklofosfamid je alkilirajući agens. Učinkovit je za liječenje najtežih manifestacija bolesti, poput lupus cerebritisa, lupus nefritisa, refraktorne trombocitopenije, intersticijske plućne bolesti i vaskulitisa središnjeg živčanog sustava. Primjenjuje se intravenski u dozama od 0.5-1g/m<sup>2</sup> u šest ciklusa. CYC je citotoksičan, može izazvati gonadalnu disfunkciju i hemoragijski cistitis, a i povećava rizik obolijevanja od

malignoma mokraćnog mjehura. Zbog toksičnog učinka na reproduktivni sustav, u slučaju potrebe za njegovom primjenom u mlađoj populaciji, važno je dobro izvagati rizike i prednosti (103).

Intravenski imunoglobulini (IVIG) rezervirani su za teške oblike hematološkog lupusa, poput teške imunološki posredovane trombocitopenije, autoimune hemolitičke anemije i imunološki posredovane neutropenije. Intravenski imunoglobulini terapija su izbora u slučaju potrebe za akutnim liječenjem relapsa u bolesnika koji imaju sistemska infekciju zbog koje je opasna primjena imunosupresivne terapije (110).

U liječenju SLE-a danas se primjenjuje i biološka terapija, belimumab i rituksimab, monoklonalna protutijela usmjerena na B limfocite. Belimumab je potpuno ljudsko monoklonsko protutijelo usmjereno protiv stimulatora limfocita (BLyS), odnosno čimbenika aktivacije B stanica (engl. *B-cell activating factor*, BAFF). BAFF je kostimulator za preživljavanje i funkciju B-stanica. Belimumab treba razmotriti u slučaju izvanbubrežne bolesti s neadekvatnom kontrolom, odnosno čestim relapsima. Podupire se njegova primjena u slučaju bolesti ovisne o glukokortikoidima (doza se ne može spustiti do 7.5 mg i niže dnevno bez da se izazove relaps). Bolesnici s perzistentnom bolešću mogu imati koristi od belimumaba pa je njegov terapijski učinak najizraženiji u bolesnika s visokom aktivnošću bolesti (npr. SLEDAI >10), onih na dnevnoj dozi prednizona višoj od 7,5 mg/dan, bolesnika sa serološki aktivnom bolešću (niski C3/C4, visoki titri anti-dsDNA) te bolesnika s kožnim i mišićno-koštanim manifestacijama.

Rituksimab (RTX) je kimerično monoklonsko protutijelo, visoko učinkovito u teških i refraktornih manifestacija bolesti, uključujući artritis, serozitis, miozitis i nefritis, trombocitopenije, hemolitičke anemija i APS. RTX se veže na površinski antigen CD20 (engl. *cluster of differentiate 20*, CD20) na B limfocitima, čime u inhibira njihovu aktivnost, bez učinka na plazma stanice. Standardna doza je 2 g, koja se daje u dvije odvojene doze od 1 g u razmaku od dva tjedna. Bolesnik je imunosuprimiran idućih šest mjeseci, a vrijednosti limfocita B počinju se oporavljati tek nakon četiri mjeseca. Poslije šest mjeseci se, ukoliko je indicirano, terapija ponavlja, a ako kliničar procjeni da se aktivnost bolesti smanjila, mogu se primijeniti niže doze, primjerice 1 g podijeljen u dvije doze od 500 mg koje se daju u razmaku od dva tjedna. RTX se koristi u bolesnika s teškom hematološkom bolešću ili NPSLE koji su refraktorni na drugu imunosupresivnu terapiju. U pravilu primjeni RTX-a treba prethoditi neefiksna primjena barem jedne imunosupresivne terapije, no u slučajevima teške hemolitičke

anemije ili imunološki posredovane trombocitopenije RTX se može primijeniti i kao prva linija. U LN RTX se obično razmatra nakon bezuspješnog liječenja ciklofosfamidom i MMF-om (111).

## **1. CILJ ISTRAŽIVANJA**

Serumski kalprotektin potencijalni je biomarker koji može pomoći u procjeni aktivnosti bolesti u SLE. Cilj ovoga istraživanja bio je istražiti vrijednosti serumskog kalprotektina u bolesnika koji se liječe na Zavodu za reumatologiju i kliničku imunologiju Kliničkog bolničkog centra (KBC-a) Split pod dijagnozom SLE-a te usporediti dobivene vrijednosti s onima u zdravih pojedinaca kao i utvrditi neke čimbenike SLE-a koji mogu uvjetovati vrijednost kalprotektina.

#### **HIPOTEZE:**

1. Vrijednost serumskog kalprotektina viša je u oboljelih od SLE-a u odnosu na kontrolnu skupinu zdravih ispitanika.
2. Vrijednost serumskog kalprotektina viša je u bolesnika s aktivnim SLE-om.
3. Vrijednost serumskog kalprotektina u bolesnika sa SLE-om koji su u remisiji ne razlikuje se od vrijednosti serumskog kalprotektina u zdravih ispitanika.
4. Vaskularni događaji u bolesnika oboljelih od SLE-a povezani su s višim vrijednostima serumskog kalprotektina.
5. Vrijednost SLEDAI-a korelira s vrijednošću serumskog kalprotektina.

## **2. ISPITANICI I POSTUPCI**

### 3.1. Opis istraživanja

Proveli smo opservacijsko, primijenjeno istraživanje. Naše istraživanje odobrilo je Etičko povjerenstvo KBC-a u Splitu. Prije početka istraživanja bolesnici su potpisali informirani pristanak u kojem su bili detaljno obaviješteni o cilju istraživanja, upoznati s pravilima o povjerljivosti podataka te im je dan broj i email koji mogu kontaktirati u slučaju dodatnih pitanja. Istraživanje je provedeno u skladu sa sedmom revizijom Helsinške deklaracije.

### 3.2. Ispitanici

U istraživanju je sudjelovalo 27 bolesnika koju boluju od SLE-a, a liječe se na Zavodu za reumatologiju i kliničku imunologiju KBC-a Splitu. Dijagnoza SLE-a svima je dana u skladu s kriterijima ACR i EULAR-a iz 2019. Svi su ispitanici bili punoljetni, odnosno stariji od 18 godina. Ispitali smo vrijednosti serumskog kalprotektina i u 13 zdravih, također punoljetnih, dobrovoljaca koji su činili kontrolnu skupinu.

### 3.3. Provedeni postupci

U svibnju i lipnju 2023. godine ispitanicima je analiziran serum dobiven iz uzorka venske krvi uzetog u Dnevnoj bolnici reumatologije i kliničke imunologije KBC-a Split. Osim uzorka krvi, uzeli smo i antropometrijske podatke o dobi, spolu, tjelesnoj visini i tjelesnoj težini bolesnika. Uzorci su uzimani kronološkim redoslijedom dolazaka ispitanika u Dnevnu bolnicu. Iz medicinske dokumentacije uzeli smo posljednju vrijednost SLEDAI kao alata kojim smo mjerili aktivnosti bolesti.

Vrijednosti serumskog kalprotektina iz uzoraka venske krvi dobivene su u laboratoriju Zavoda za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Split. Kvantitativno određivanje razine kalprotektina u serumu provedeno je koristeći reagense B-KSCAL-R1 i B-KSCAL-R2, proizvođača Bühlmann Laboratories Schönenbuch, Švicarska, koristeći enzimski imunosorbentni test (engl. *enzyme-linked immunosorbent assay*, ELISA). Koristeći Bühlmann sCAL dijagnostički test, analizirali smo uzorke bez dodatnih koraka razrjeđivanja. Uzorci su se inkubirali s reakcijskim puferom i zatim su se miješali s polistirenskim nanočesticama koje su obložene antitijelima specifičnima za kalprotektin (imunočesticama). Kalprotektin dostupan



u uzorku posredovao je aglutinaciji imunočestica. Mutnoća uzorka, koju smo mjerili svjetlošću apsorbanacija, povećavala se stvaranjem kompleksa kalprotektin-imunočestice te je bila proporcionalna koncentraciji kalprotektina u serumu. Detektirana svjetlost apsorbanacija omogućila nam je kvantifikaciju koncentracije kalprotektina putem interpolacije na unaprijed utvrđenoj kalibracijskoj krivulji.

### **3.4. Statistički postupci**

Za statističku analizu podataka koristili smo statistički program MedCalc v22.007. Proveli smo obradu podataka u skladu sa statističkim pravilima. Koristili smo Shapiro Wilk test za procjenu normalnosti distribucije. Kvantitativne varijable koje su imale normalnu raspodjelu prikazali smo kao srednju vrijednost  $\pm$  standardna devijacija (SD). Kvantitativne vrijednosti koji nisu imale normalnu raspodjelu prikazali smo kao medijan i interkvartilni raspon. Kategorijske varijable prikazali smo kao cijele brojeve i postotke. Za testiranje razlike između skupina za numeričke varijable je korišten Kruskal-Wallis test. Za testiranje razlike između skupina za kategorijske varijable korišten je Hi-kvadrat test. Za analizu korelacije između numeričkih varijabli korišten je Spearmanov koeficijent korelacije. Vrijednosti  $P < 0.05$  uzete su kao statistički značajne.

## **4. REZULTATI**

Naše istraživanje uključivalo je 27 bolesnika s dijagnozom SLE-a, od čega 13 aktivnih i 14 u remisiji, također i 13 zdravih ispitanika koji su sačinjavali kontrolnu skupinu. Tablica 2. prikazuje opće značajke ispitanika, vrijednosti serumskog kalprotektina, manifestacije bolesti i duljinu trajanja iste.

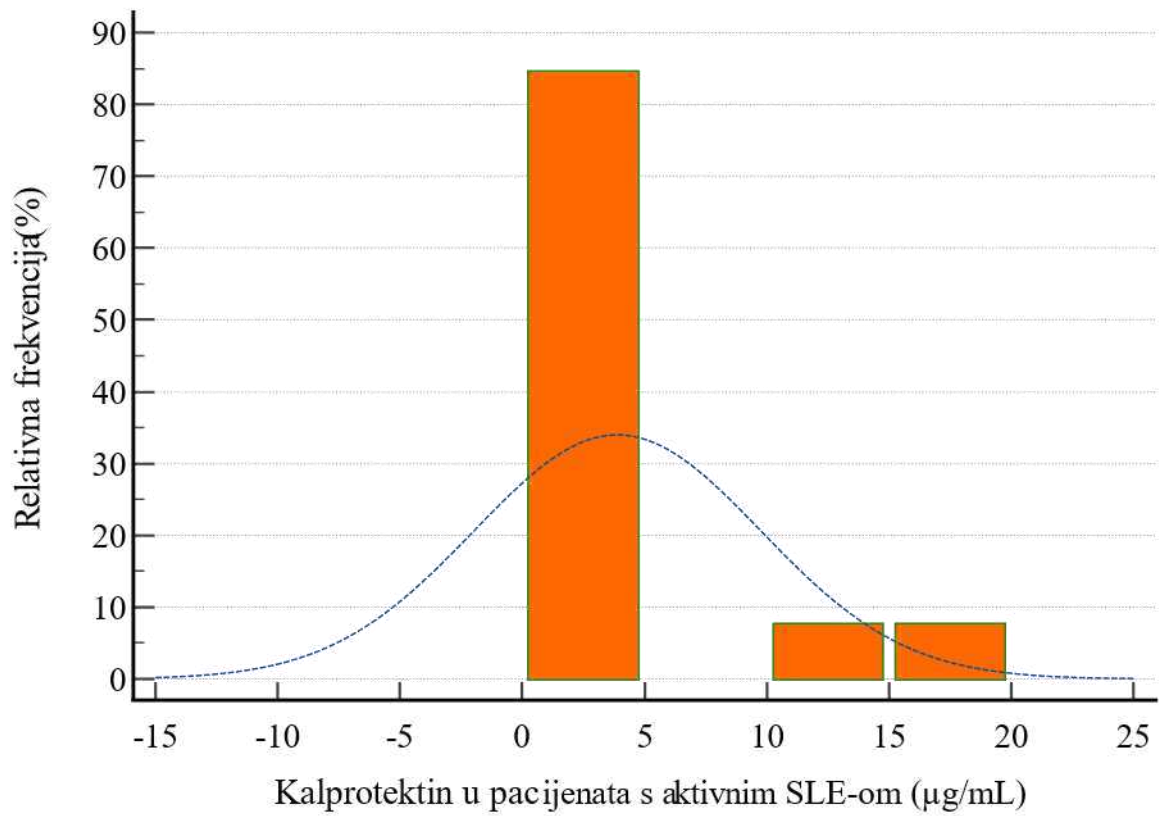
**Tablica 2.** Opće karakteristike ispitanika. Podaci su prikazani kao aritmetička sredina i standardna devijacija ili medijan i interkvartilni raspon. Kratice: APS-antifosfolipidni sindrom, SLEDAI-engl. Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity index, ITM-indeks tjelesne mase, np -nije primjenjivo

	<b>Bolesnici s aktivnim SLE-om</b>	<b>Bolesnici sa SLE-om u remisiji</b>	<b>Zdravi ispitanici</b>	<i>P</i>
	<b>N=13</b>	<b>N=14</b>	<b>N=13</b>	
<b>Spol; N(%)</b>				
Žene	5 (38,5)	12 (85,7)	10 (76,9)	
Muškarci	8 (61,5)	2 (14,3)	3 (23,1)	
<b>Dob (godine)</b>	<b>50 (35-58)</b>	<b>39 (35-53)</b>	<b>25 (24-26)</b>	<b>&lt;0,001</b>
<b>Masa (kg)</b>	<b>80 (75-84)</b>	<b>67,5 (62-90)</b>	<b>60 (53-69)</b>	<b>0,006</b>
<b>Visina (cm)</b>	<b>182 (173-188)</b>	<b>167 (165-173)</b>	<b>171,77±9,81</b>	<b>0,005</b>
<b>ITM (kg/m<sup>2</sup>)</b>	<b>25,06 (22,52-27,15)</b>	<b>23,14 (21,72-25,98)</b>	<b>20,62 (19,11-22,11)</b>	<b>0,006</b>
<b>Serumski kalprotektin (µg/mL)</b>	<b>1,6 (1,1-3,0)</b>	<b>0,8 (0,2-1,4)</b>	<b>0,7 (0,38-1,1)</b>	<b>0,003</b>
<b>SLEDAI</b>	<b>14 (7-21)</b>	<b>3,5 (2-4)</b>	<b>Np</b>	<b>&lt;0,001</b>

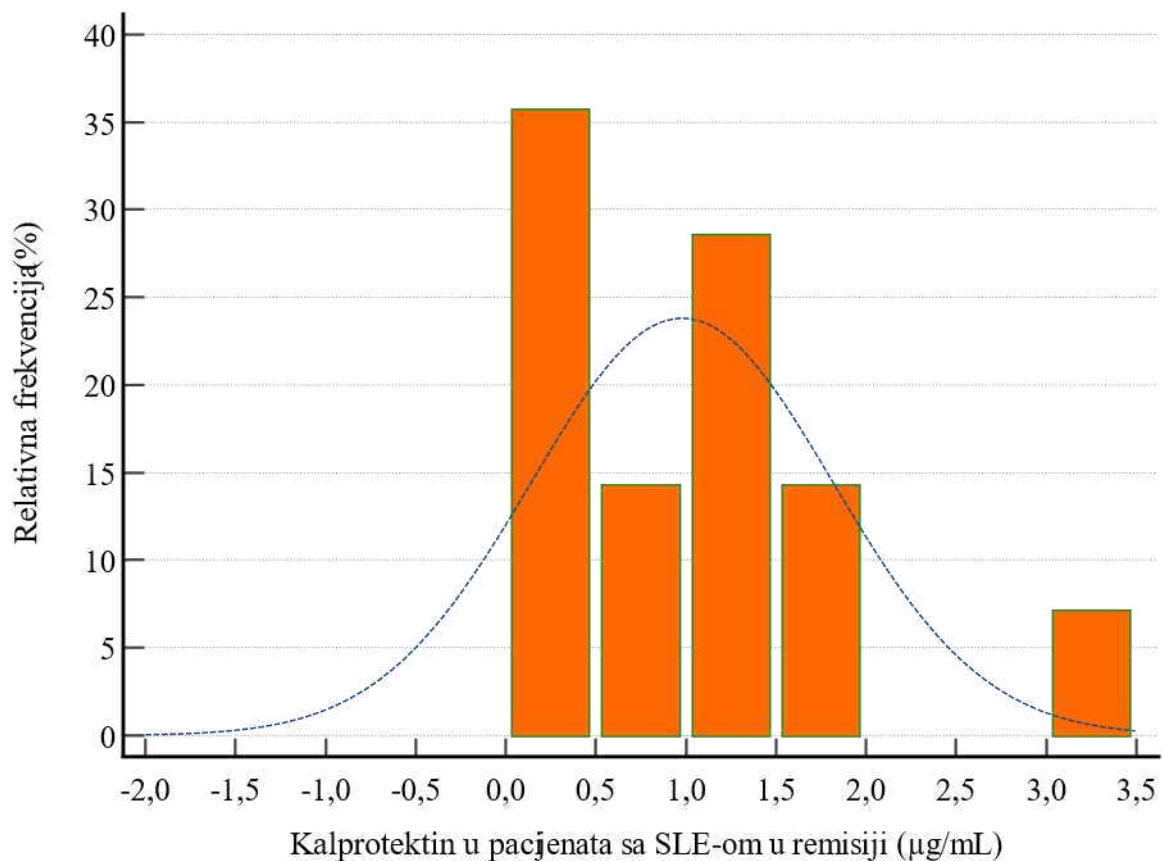
**Broj bolesnika sa  
specifičnim  
manifestacijama**

N(%)

<b>Vaskularne</b>	<b>10 (76,9)</b>	<b>2 (14,3)</b>	<b>Np</b>	<b>0,001</b>
Bubrežne	6 (42,9)	8 (57,1)	Np	0,176
<b>Zglobno-mišićne</b>	<b>9 (69,2)</b>	<b>10 (71,4)</b>	<b>Np</b>	<b>0,902</b>
<b>Neuropsihijatrijske</b>	<b>7 (53,8)</b>	<b>2 (14,3)</b>	<b>Np</b>	<b>0,032</b>
Serozitis	1 (7,7)	1 (7,1)	Np	0,957
APS	4 (30,8)	2 (14,3)	Np	0,312
<b>Hematološke</b>	<b>5 (38,5)</b>	<b>2 (14,3)</b>	<b>Np</b>	<b>0,159</b>
Kožne	4 (30,8)	8 (57,1)	Np	0,176
<b>Konstitucijski simptomi</b>	<b>5 (38,5)</b>	<b>7 (50)</b>	<b>Np</b>	<b>0,554</b>
<b>Trajanje bolesti</b>	<b>8,85 ± 6,26</b>	<b>5,21 ± 2,78</b>	<b>Np</b>	<b>0,007</b>

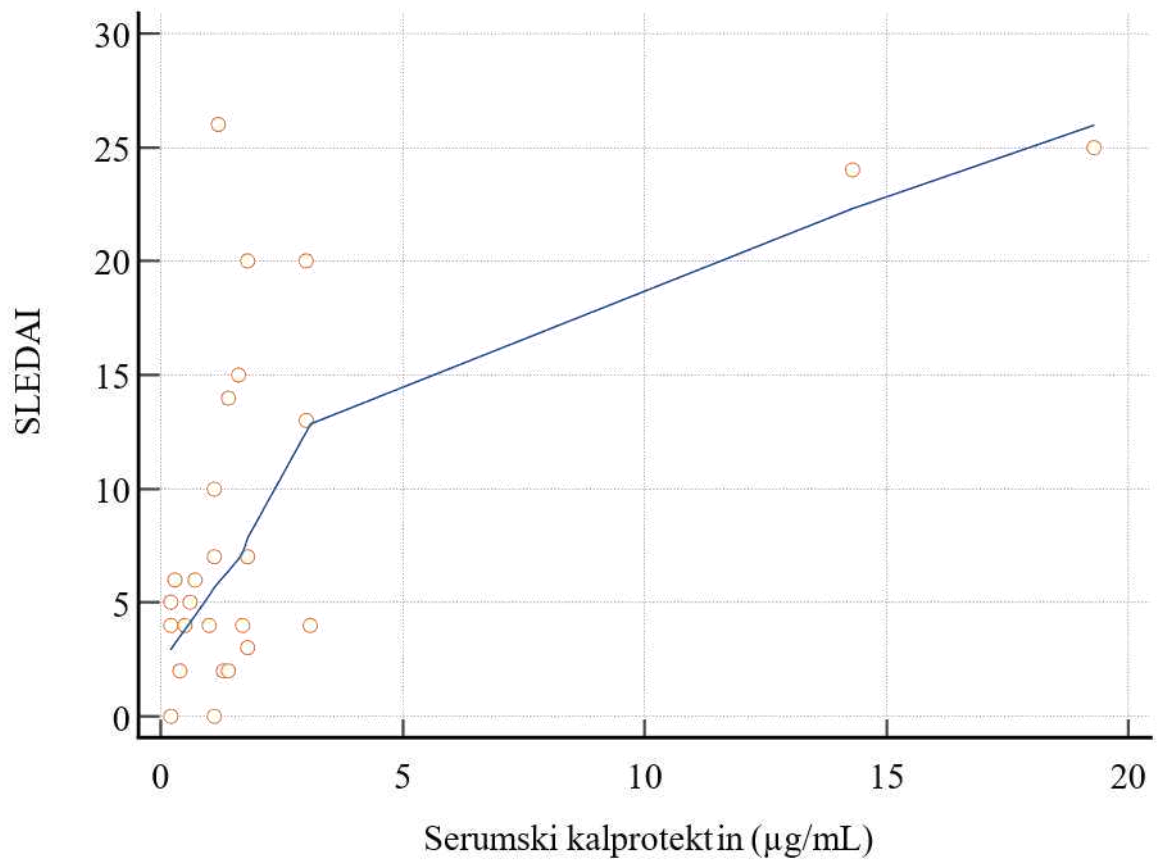


Slika 8. Vrijednosti serumskog kalprotektina u oboljelih od SLE-a s aktivnom bolešću



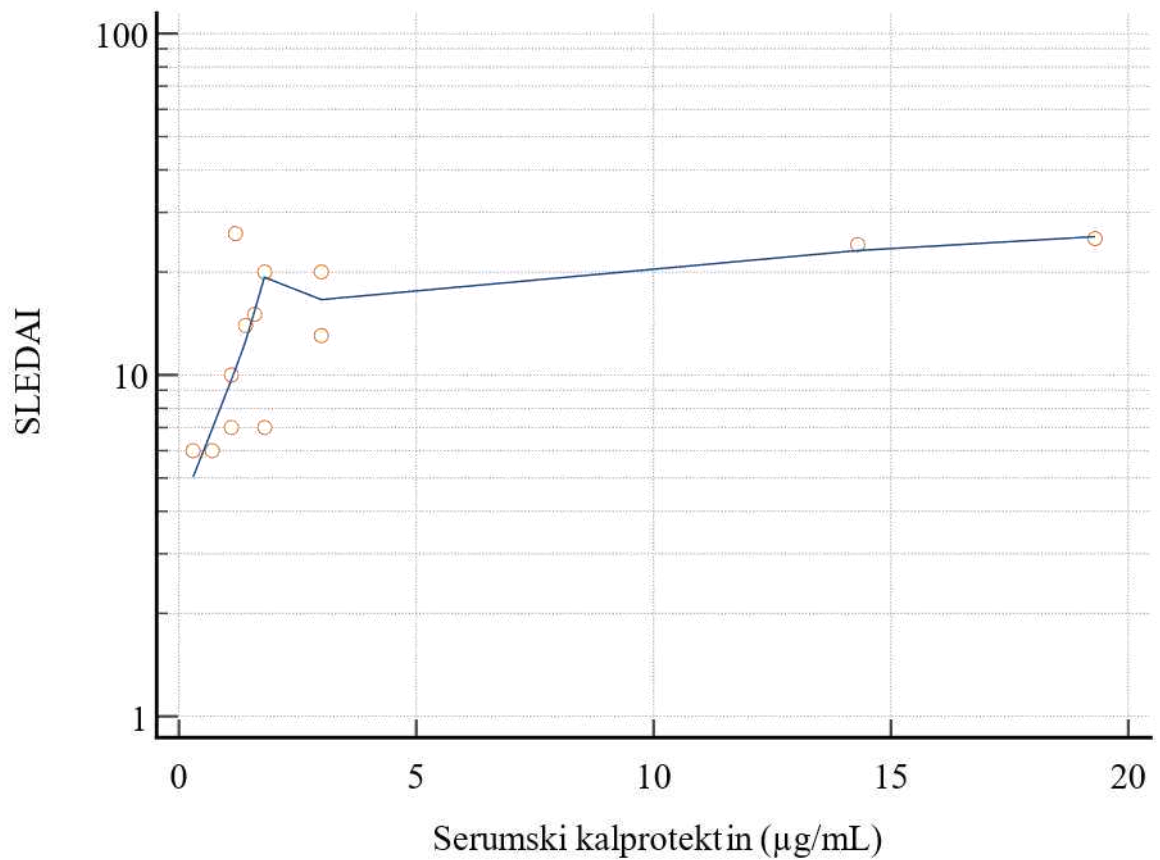
**Slika 9.** Vrijednosti serumskog kalprotektina u oboljelih od SLE-a koji su bili u remisiji

Postoji statistički značajna pozitivna korelacija ( $\rho=0,532$   $P=0,004$ ) između vrijednosti serumskog kalprotektina i SLEDAI-a u oboljelih od SLE-a.



**Slika 10.** Korelacija serumskog kalprotektina sa SLEDAI-om u oboljelih od SLE-a. Postoji statistički značajna pozitivna korelacija ( $\rho=0,532$   $P=0,004$ ).

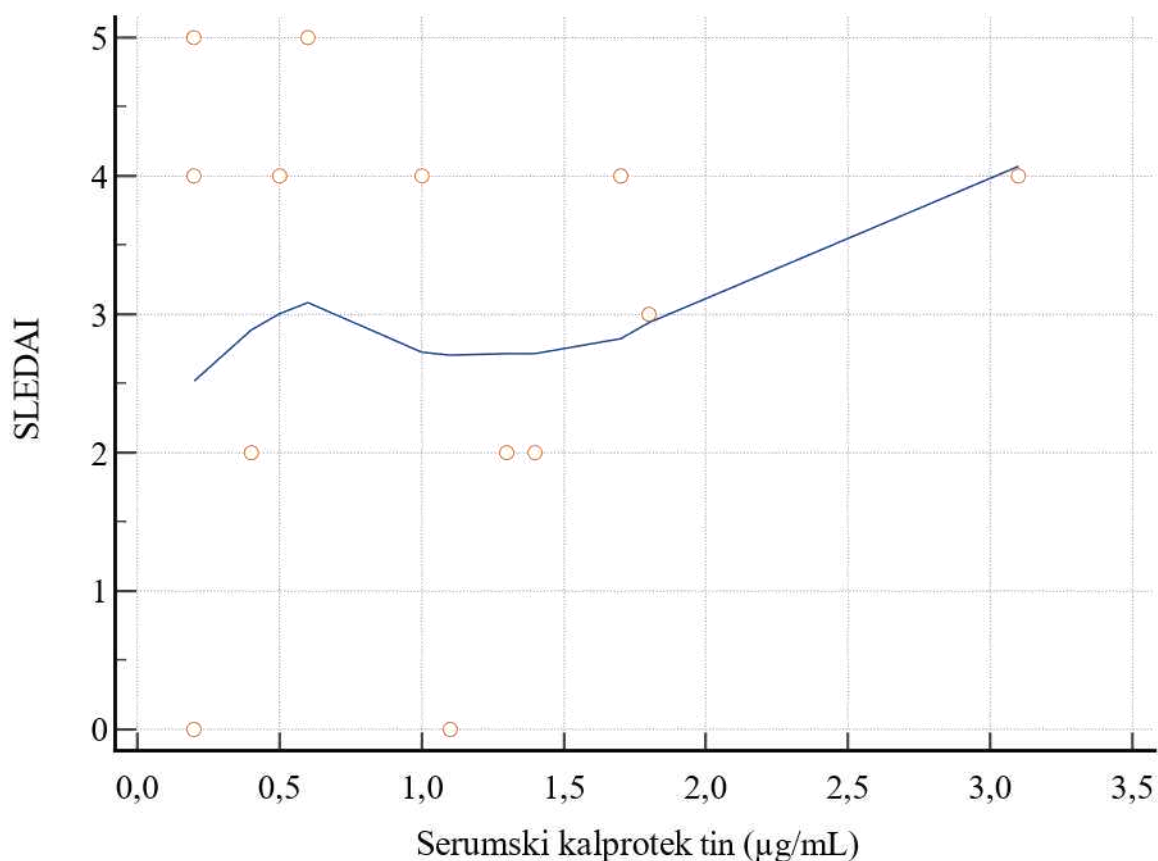
Postoji statistički značajna pozitivna korelacija ( $\rho=0.673$   $P=0.012$ ) između vrijednosti SLEDAI-a i serumskog kalprotektina u bolesnika s aktivnim SLE-om.



**Slika 11.** Korelacija vrijednosti serumskog kalprotektina sa SLEDAI -om u oboljelih od SLE-a s aktivnom bolešću. Postoji statistički značajna pozitivna korelacija ( $\rho=0.673$   $P=0.012$ ).

Ne postoji statistički značajna korelacija između vrijednosti SLEDAI-a i serumskog kalprotektina u bolesnika sa SLE-om u remisiji ( $\rho=0.0678$   $P=0.818$ ).

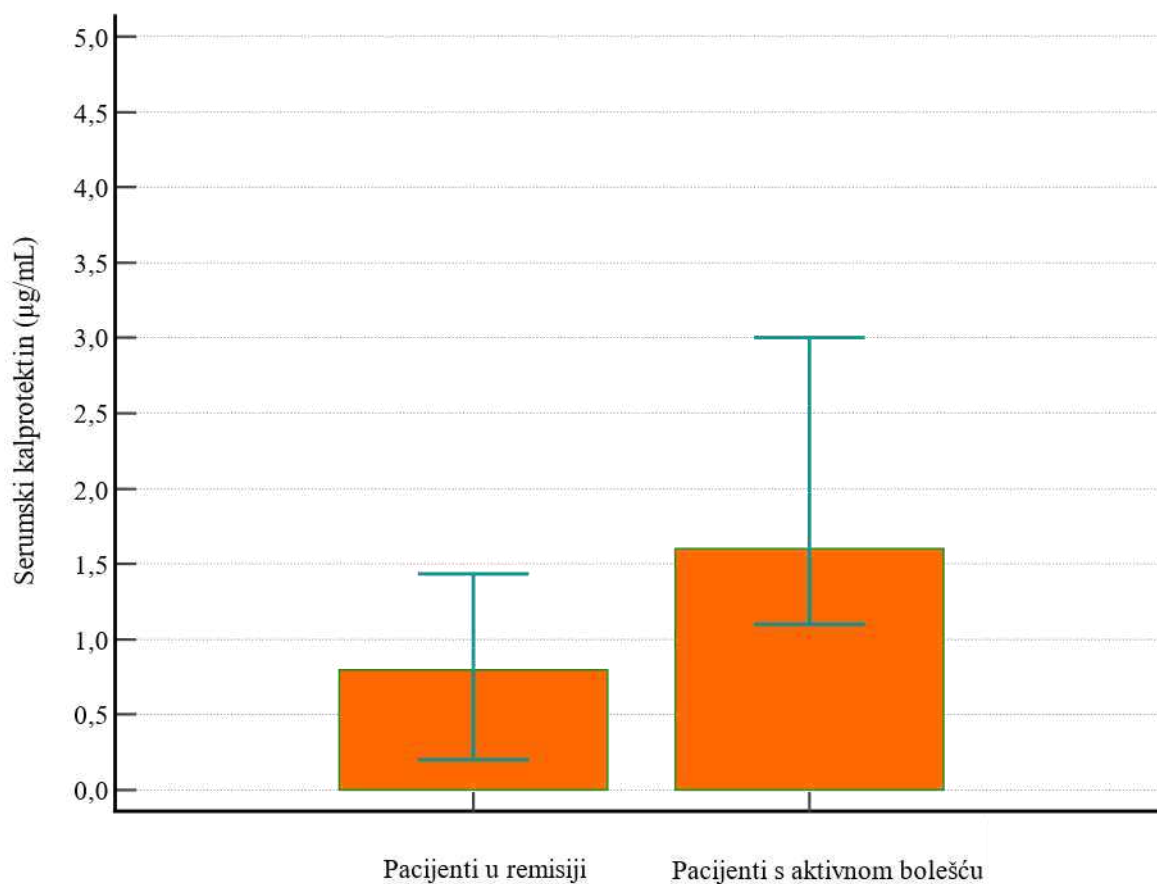




**Slika 12.** Korelacija vrijednosti serumskog kalprotektina sa SLEDAI-om u oboljelih od SLE-a u remisiji. Ne postoji statistički značajna pozitivna korelacija ( $\rho=0.0678$   $P=0.818$ ).

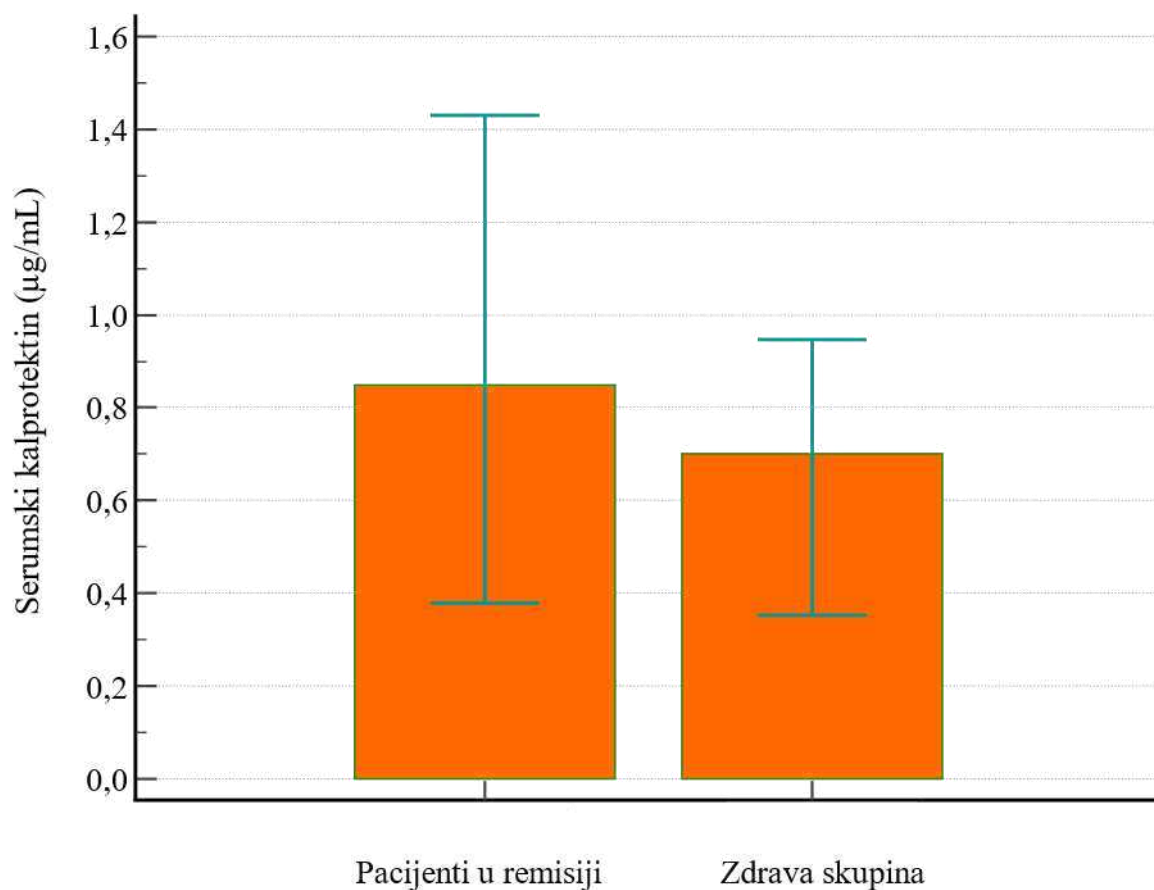
Medijan i interkvartilni raspon u skupini oboljelih od SLE-a iznosi 1,1 (0,53-1,8). Medijan i interkvartilni raspon u kontrolnoj skupini zdravih ispitanika iznosi 0,7 (0,38-1,1). Vrijednost serumskog kalprotektina statistički se značajno razlikuje među skupinama ( $P=0,02$ ).

Medijan i interkvartilni raspon u skupini s aktivnom bolešću iznosi 1,6 (1,1-3,0). Medijan i interkvartilni raspon u skupini ispitanika u remisiji iznosi 0,8 (0,2-1,4). Vrijednost serumskog kalprotektina statistički se značajno razlikuje među skupinama ( $P=0,02$ ).



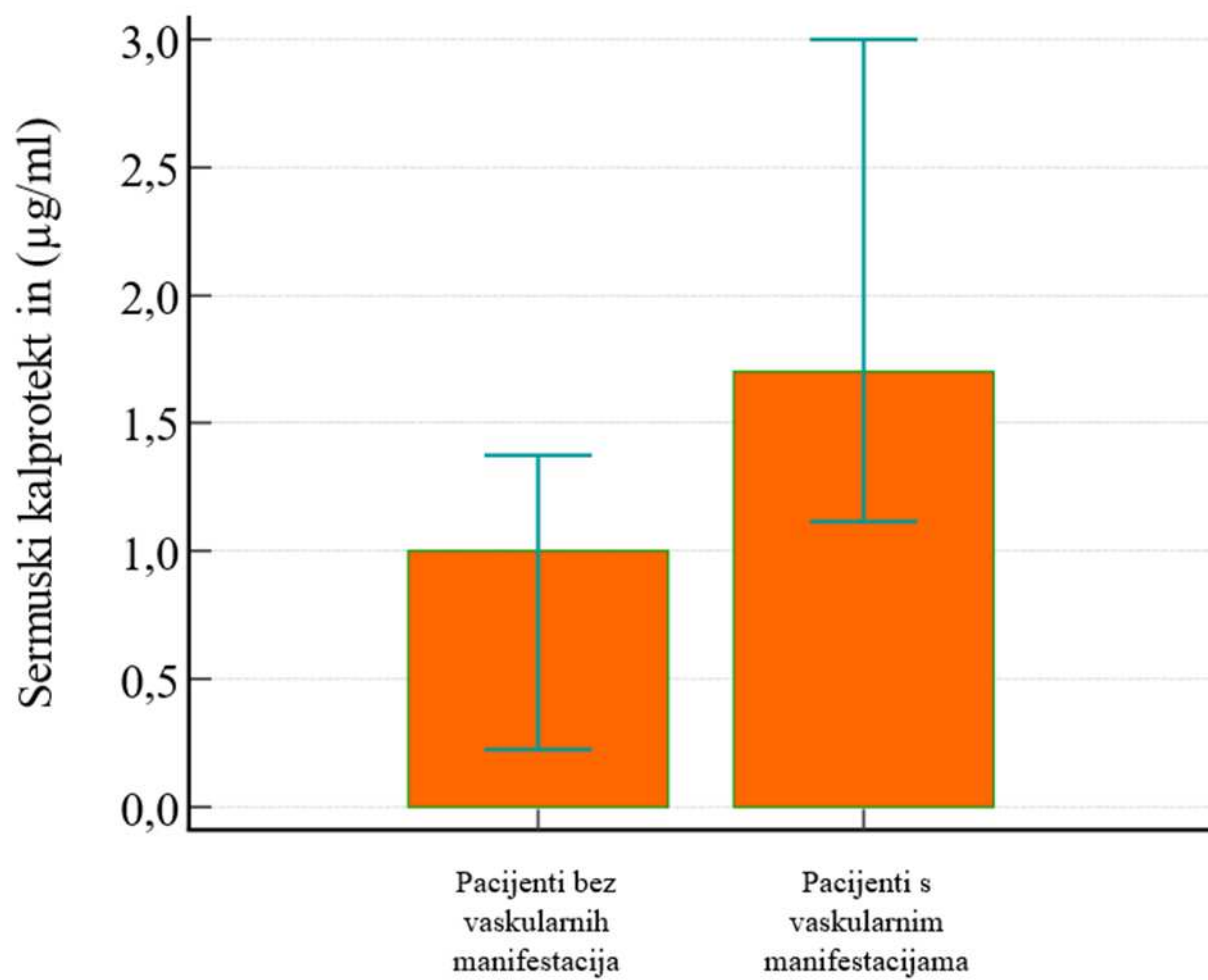
**Slika 13.** Vrijednosti serumskog kalprotektina u bolesnika u remisiji u odnosu na bolesnike s aktivnom bolešću

Medijan i interkvartilni raspon serumskog kalprotektina u skupini s remisijom iznosi 0,85 (0,4-1,4). Medijan i interkvartilni raspon u skupini zdravih ispitanika iznosi 0,7 (0,38-0,93). Vrijednost serumskog kalprotektina statistički se značajno ne razlikuje među ispitivanim skupinama ( $P=0,330$ ).



**Slika 14.** Vrijednosti serumskog kalprotektina u bolesnika u remisiji u odnosu na zdrave ispitanike

Medijan i interkvartilni raspon serumskog kalprotektina u skupini bolesnika koji su u anamnezi imali nekakav vaskularni incident u sklopu SLE-a iznosi 1,7 (1,15-3). Medijan i interkvartilni raspon u skupini oboljelih od SLE-a koji nisu imali nikakvu vaskularnu manifestaciju bolest ispitanika iznosi 1 (0,225-1,375). Postoji statistički značajna razlika između ove dvije skupine ( $P=0.015$ ).



**Slika 15.** Vrijednosti serumskog kalprotektina u bolesnika bez vaskularnih manifestacija SLE-a u odnosu na bolesnike s istima

## **5. RASPRAVA**

Svrha ovog istraživanja bila je istražiti kakve su serumske razine kalprotektina u bolesnika koji boluju od SLE-a i usporediti dobivene vrijednosti s onima u zdravih pojedinaca. U skupini bolesnika oboljelih od SLE-a cilj je bio istražiti postoje li razlike u vrijednosti serumskog kalprotektina s obzirom na aktivnost bolesti objektivno izmjerenu koristeći SLEDAI indeks. Nadalje, željeli smo istražiti postoji li razlika između vrijednosti kalprotektina u serumu zdravih ispitanika u odnosu na bolesnike sa SLE-om koji su u remisiji. Htjeli smo također utvrditi da li se vrijednosti serumskog kalprotektina viđaju češće u bolesnika kojima se bolest manifestirala kroz neki vaskularni incident. Zaključno, zanimalo nas je koreliraju li vrijednosti serumskog kalprotektina sa visinom SLEDAI indeksa aktivnosti lupusne bolesti.

Naša prva hipoteza bila je da su vrijednosti kalprotektina više u oboljelih od SLE-a u odnosu na kontrolnu skupinu zdravih. Medijan izmjerene vrijednosti kalprotektina u serumu oboljelih iznosio je 1,1 (0,53-1,8) dok je medijan i interkvartilni raspon u kontrolnoj skupini zdravih ispitanika iznosio 0,7 (0,38-1,1). Razlika je bila statistički značajna čime smo dokazali da je vrijednost serumskog kalprotektina viša u oboljelih od SLE-a. Ovaj rezultat ne iznenađuje s obzirom da je odavno poznato da se kalprotektin oslobađa iz neutrofila i monocita u tijeku upalnih procesa. Ometto i suradnici opisali su u svome istraživanju važnost kalprotektina u upalnim reumatskim bolestima te su zaključili da je kalprotektin točniji od CRP-a, jer može otkriti minimalno zaostalu upalu pa čak i predvidjeti recidiv bolesti u nekih autoimunih bolesti kao što su SLE, Behçetove bolest (engl. *Behçet disease*, BD) i ANCA-povezanim vaskulitisima (engl. *anca-associated vasculitis*, AAV). Prema njihovom istraživanju, više razine serumskog kalprotektina bile su povezane s lošijim strukturnim ishodima u RA i, u manjoj mjeri, u SpA, ali i s teškim manifestacijama bolesti vezivnog tkiva, kao što su glomerulonefritis u SLE i AAV i plućna fibroza u SSc. Nakon što se u budućnosti precizno definiraju granične razine serumskog kalprotektina za različite reumatske bolesti, kalprotektin bi mogao zamijeniti klasične markere sistemske upale (112).

Druga hipoteza imala je za cilj dokazati da se vrijednost kalprotektina razlikuju između samih bolesnika oboljelih od SLE-a ovisno o tome jesu li u aktivnoj fazi bolesti ili u remisiji. Svim bolesnicima uzeli smo SELENA SLEDAI kao objektivni indeks aktivnosti bolesti i dokazali da viša vrijednost SLEDAI-a korelira s višom aktivnošću serumskog kalprotektina. Vrijednost SLEDAI-a jednaku i višu od 6 uzeli smo kao graničnu vrijednost aktivne bolesti, u

uzoru na druga istraživanja, poput onoga Shamin i suradnika iz 2020. godine (113). Homa-Mlak i suradnici proveli su slično istraživanje, gdje su na uzorku od 59 oboljelih i 51 zdravih ispitanika također dokazali da vrijednost serumskog kalprotektina korelira s aktivnošću bolesti u SLE-u. Oni su otkrili da kalprotektin ima visoku osjetljivost (89,83%) i specifičnost (53,85%) u razlikovanju oboljelih od SLE-a od zdravih dobrovoljaca i da ima vrlo visoku osjetljivost, čak 100% i specifičnost (82,46%) u otkrivanju bolesnika s umjerenim i teškim SLE-om procijenjenim pomoću SLEDAI-a, što je u skladu s našom prvom i drugom hipotezom (114).

Naša treća hipoteza bila je da se vrijednosti kalprotektina u oboljelih od SLE-a koji su postigli klinički i laboratorijski inaktivnu bolest, odnosno imaju SLEDAI vrijednost nižu od 6, neće značajno razlikovati od vrijednosti kalprotektina u zdravih ispitanika. Logika te hipoteze bila je u tome što kalprotektin sugerira upalno stanje u organizmu, a korištenjem suvremene terapije u liječenju svih sistemskih autoimunih i upalnih reumatskih bolesti, pa tako i SLE-a, naše bolesnike dovodimo u stanje minimalne upale ili, idealno, u potpunu remisiju bolesti. Preporučena definicija remisije prema DORIS organizaciji (engl. *Disease Activity in Systemic Lupus Erythematosus Responder Index for Use in Clinical Trials*) iz 2021. uključuje SLEDAI vrijednosti 0, PGA<0,5 (0-3), dnevnu dozu prednizolona 5 mg/dan ili manje, i stabilnu primjenu antimalarika, imunosupresiva i bioloških lijekovi (115). Unatoč tome što je potpuna remisija cilj liječenja SLE-a u moderne reumatologije, u praksi je isto teško postići, pa smo za potrebe ovog istraživanja bolesnike koje su postigli remisiju odnosno inaktivnu bolest definirali kao one SLEDAI vrijednosti niže od 6. Naše istraživanje dokazalo je da se vrijednosti kalprotektina nisu statistički značajno razlikovale u zdravih pojedinaca i onih oboljelih od SLE-a u, uvjetno rečeno, remisiji bolesti. Slično nama, Fabregas i suradnici su 2018. također dokazali da se na njihovom uzorku od 148 bolesnika nije bilo statistički značajne razlike u izmjerenoj vrijednosti serumskog kalprotektina u bolesnika s inaktivnom bolešću i zdravih ispitanika. Također su uočili da su vrijednosti serumskog kalprotektina korelirale s višom vrijednošću anti dsDNA autoantitijela, koja su već otprije povezana s višom aktivnošću bolesti i s višom vrijednošću CRP-a, markera akutne upale, što potvrđuje i našu drugu hipotezu da vrijednost serumskog kalprotektina korelira s aktivnošću bolesti. Suprutno očekivanjima, u njihovom istraživanju vrijednost serumskog kalprotektina nije korelirala s visinom SLEDAI-a i hipokomplementemijom (116).

Četvrta hipoteza bila da vaskularni događaji povezani sa SLE-om rezultiraju višim vrijednostima kalprotektina. U našoj skupini oboljelih izdvojili smo bolesnike koji su u svojoj povijesti bolesti imali neki vaskularni incident u sklopu SLE-a kao osnovne bolesti. Klinički

rečeno, to su bili bolesnici s pridruženom dijagnozom APS-a i SLE-a, entiteta u kojih je mjesto događanja patofiziološkog procesa krvna žila. Patogeneza u APS-u je kompleksna i nerazjašnjena, no znamo da je tromboza inicijalno zbivanje, ali i da u kaskadi tog kompleksnog zbivanja glavnu ulogu igraju endotelne stanice, trombociti, monociti, neutrofil, komplement i koagulacijska kaskada. Neki od mehanizama djelovanja aPL protutijela je vezanje na receptore na ciljnim stanicama i aktivacija istih, što može dovesti do tromboze kroz stvaranje tkivnog faktora i aktivaciju endotela i komplementa. Ova protutijela također inhibiraju antikoagulantna svojstva aktiviranog proteina C (APC) i oštećuju fibrinolizu. Podaci dobiveni na životinjskim modelima pokazali su da se aPL može vezati na neurone, glijalne stanice i mijelin (117). Zanimljivo je istraživanje Shoefeldta i suradnika koji su ubrizgali su pročišćeni IgG iz seruma četiri bolesnika s APS-om. IgG jednog bolesnika vezao se za neuronske strukture u hipokampusu i cerebralnom korteksu, IgG dva druga bolesnika vezao se specifično za neurone mišjeg mozga. Miševi tretirani s IgG om iz seruma bolesnika s APS imali su oslabljenu izvedbu u Morrisovom vodenom labirintu u usporedbi s miševima kojima je ubrizgan kontrolni IgG. (118). Ova istraživanja govore u toga da se patogenetski mehanizmi u APS-u dovode u vezu s NPSLE-om. Cerebralna ishemija najčešća je manifestacija, no vidamo i brojne druge, poput kronične glavobolje, demencije, kognitivne disfunkcije, psihoze, transverzalnog mijelitisa, koreje, epileptičkih napada i bolesti nalik na multiplu sklerozu. Važno je jasno naglasiti da su ova neuropsihijatrijska zbivanja povezana i s APS-om i sa SLE-om (117).

Hoy i suradnici proveli su istraživanje koje je uključivalo 237 bolesnika, od kojih 113 s primarnim APS, 34 sa sekundarnim APS u sklopu SLE-a, 41 s pozitivnim nalazom aPL, ali bez zadovoljenih klasifikacijskih kriterija za APS te 38 bolesnika sa SLE-om bez aPL. Pronašli su povišene razine kalprotektina u bolesnika s primarnim i sekundarnim APS kao i u onih koji su imali samo nalaz pozitivnih aPL protutijela. Visoki kalprotektin pronađen je i u oboljelih od SLE-a, ali ne i u onih s venskom trombozom bez prisutnih aPL protutijela. Visoke vrijednosti kalprotektina bile su povezane s promjenama bijele tvari mozga, trombocitopenijom, višim CRP-om i nalazom proteinurije. Ovo istraživanje potvrdilo je vezu aPL protutijela, APS-a, SLE-a, promjena u središnjem živčanom sustavu i izmjerenih viših vrijednosti kalprotektina (119).

Istraživanje Cocco i suradnika iz 2023. na uzorku od 209 ljudi, uključujući 69 bolesnika oboljelih od SLE-a, 32 bolesnika s definiranim NPSLE-om i 82 zdrava ispitanika imalo je za cilj utvrditi koja su protutijela povezana s NPSLE. Podaci dobiveni ovom studijom pokazali su da bolesnici sa SLE-om i NPSLE-om mogu imati autoantitijela koja potencijalno reagiraju na



neuronske stanice i da se spomenuta protutijela javljaju s većom učestalošću i višim titrovima u NPSLE i rezultiraju širokim spektrom neuroloških simptoma. Dokazali su i da cijeli mozak, ali posebno korteks, hipokampus i mali mozak, mogu bi biti meta moždano reaktivnih autoantitijela uglavnom usmjerenih protiv nepoznatih antigena. Dokazali su i da jedno od aPL protutijela, anti- $\beta$ 2-glikoprotein I (anti- $\beta$ 2GPI), može biti dio autoimune reakcije koja se javlja na razini mozga. Ovo je istraživanje također potvrdilo vezu NPSLE-a i APS (120).

Naša posljednja hipoteza bila je da vrijednosti serumskog kalprotektina koreliraju s vrijednošću SLEDAI-a. Dokazali smo jaku pozitivnu korelaciju SLEDAI-a sa vrijednošću kalprotektina u oboljelih od SLE-a, a još viša korelacija bila je za bolesnike s aktivnom bolešću. U bolesnika u remisiji nije postojala pozitivna korelacija SLEDAI vrijednosti i izmjerenog kalprotektina. Goswami i suradnici već su 2021. istraživali kako korelira vrijednost serumskog kalprotektina sa SLEDAI indeksom i dokazali jaku pozitivnu korelaciju između navedenih varijabli (121). S obzirom da je riječ o dva objektivna parametra koja zajedno mogu dati važne informacije o aktivnosti bolesti, ne sumnjamo da možemo očekivati više istraživanja u ovome smjeru.

Nažalost, nijedno istraživanje do sada nije direktno proučavalo vezu serumskog kalprotektina i NPSLE-a, no ova istraživanja indirektno govore o tome kako možemo vjerovati da će se u budućnosti dokazati i direktna veza povišene vrijednosti kalprotektina u bolesnika s NPSLE, posebno u onih s pozitivnim aPL protutijelima u serumu.

Naše istraživanje jedno je od brojnih koja su pokušala dokazati povezanost aktivnosti bolesti u SLE-u i određenih kliničkih manifestacija, u prvom redu onih vaskularnih, s višim razinama serumskog kalprotektina. Ovo je „proof –of concept“ istraživanje kojim smo željeli ispitati moguću korist od ovog biomarkera u dijagnostici lupusne bolesti. S obzirom na potencijalnu korist kalprotektina kao biomarkera koji je specifičniji od CRP-a i SE, ali brži za dobivanje rezultata od anti dsDNA, nadamo se da će ćemo u budućnost ove hipoteze potvrditi na većem broju ispitanika i da će obuhvatiti ispitanike iz više od jednog kliničkog centra. Vjerujemo da će u budućnosti kalprotektin ući u redovnu kliničku praksu kao biomarker u SLE-u., obzirom na da je riječ o teškoj multisistemskoj bolesti i da postoji potreba za što boljom i pravovremenijom dijagnozom aktivne bolesti kako bi se sukladno tome terapija mogla prilagoditi čime se mogu izbjeći brojni negativni ishodi ovih bolesnika. Ostaje nam istražiti i koje to manifestacije SLE-a imaju jači utjecaj na porast serumskog kalprotektina.

Limitacije ovoga istraživanja bile su mali broj ispitanika i ispitivanje bolesnika u samo jednom KBC-u.

## **6. ZAKLJUČCI**

1. Izmjerene vrijednosti serumskog kalprotektina bile su više u skupini oboljelih od SLE-a u odnosu na kontrolnu skupinu zdravih ispitanika.
2. Izmjerene vrijednosti serumskog kalprotektina razlikovale su se između bolesnika sa SLE-om na način da su bolesnici s aktivnom bolešću imali više vrijednost od onih koji su imali inaktivnu bolest.
3. Vrijednosti serumskog kalprotektina u bolesnika sa SLE-om koji imaju inaktivnu bolest nije se značajno razlikovala od vrijednosti serumskog kalprotektina u zdravih ispitanika.
4. Bolesnicima koji su u svojoj anamnezi imali nekakav vaskularni incident koji je bio posljedica SLE-a kao osnovne bolesti izmjerili smo više razine kalprotektina u odnosu na one u čijoj anamnezi nisu bili ti događaji.
5. Postojala je snažna pozitivna korelacija između vrijednosti serumskog kalprotektina i SLEDAI-a u oboljelih od SLE-a, još više u bolesnika s aktivnom bolešću. Nije postojala pozitivna korelacija između SLEDAI-a i kalprotektina u bolesnika u remisiji.

## **7. LITERATURA**

1. Dall'Era M. Systemic Lupus Erythematosus. U: Stone JH., Current Diagnosis & Treatment in Rheumatology. 4. izdanje. New York, New York, USA: McGraw Hill/Medical; 2021. str. 1-18.
2. Fava A, Petri M. Systemic lupus erythematosus: Diagnosis and clinical management. *J Autoimmun.* 2019;96:1-13.
3. Danchenko N, Satia JA, Anthony MS. Epidemiology of systemic lupus erythematosus: a comparison of worldwide disease burden. *Lupus.* 2006;15:308-18
4. Ahamada MM, Jia Y, Wu X. Macrophage Polarization and Plasticity in Systemic Lupus Erythematosus. *Front Immunol.* 2021;12:734008.
5. Furie R, Khamashta M, Merrill JT. i sur. Anifrolumab, an Anti-Interferon- $\alpha$  Receptor Monoclonal Antibody, in Moderate-to-Severe Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis Rheumatol.* 2017;69:376-86.
6. Klein B, Kunz M. Current concepts of photosensitivity in cutaneous lupus erythematosus. *Front Med (Lausanne).* 2022;9:939594.
7. Speyer CB, Costenbader KH. Cigarette smoking and the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Expert Rev Clin Immunol.* 2018;14:481-87.
8. Kim JW, Kim HA, Suh CH, Jung JY. Sex hormones affect the pathogenesis and clinical characteristics of systemic lupus erythematosus. *Front Med (Lausanne).* 2022;9:906475.
9. Dao KH, Bermas BL. Systemic Lupus Erythematosus Management in Pregnancy. *Int J Womens Health.* 2022;14:199-211.
10. Rahman A, Isenberg DA. Systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med.* 2008;358:929–39
11. 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;13:277.
12. Ameer MA, Chaudhry H, Mushtaq J, Khan OS, Babar M, Hashim T. i sur. An Overview of Systemic Lupus Erythematosus (SLE) Pathogenesis, Classification, and Management. *Cureus.* 2022;15;14:e30330.
13. Wahren-Herlenius M, Dörner T. Immunopathogenic mechanisms of systemic autoimmune disease. *Lancet.* 2013;382:819-31.
14. Suárez-Fueyo A, Bradley SJ, Tsokos GC. T cells in Systemic Lupus Erythematosus. *Curr Opin Immunol.* 2016;43:32-38.

15. Giang S, La Cava A. Regulatory T Cells in SLE: Biology and Use in Treatment. *Curr Rheumatol Rep.* 2016;18:67.
16. Mok CC, Lau CS. Pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *J Clin Pathol.* 2003;56:481-490.
17. UpToDate [Internet]. [www.uptodate.com](http://www.uptodate.com). [citirano 6.7.2023]. Dostupno na: <http://www.uptodate.com/contents/clinical-manifestations-and-diagnosis-of-systemic-lupus-erythematosus-in-adults#>
18. 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;38:826-34.
19. Rovin BH, Tang Y, Sun J, i sur. Clinical significance of fever in the systemic lupus erythematosus patient receiving steroid therapy. *Kidney Int.* 2005;68:747-59.
20. Petri M. Monitoring systemic lupus erythematosus in standard clinical care. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2007;21:687-97.
21. Ceccarelli F, Perricone C, Cipriano E, i sur. Joint involvement in systemic lupus erythematosus: From pathogenesis to clinical assessment. *Semin Arthritis Rheum.* 2017;47:53-64.
22. West S. *Rheumatology secrets.* Philadelphia: Elsevier, Mosby; 2015. str. 137–40.
23. Cronin ME. Musculoskeletal manifestations of systemic lupus erythematosus. *Rheum Dis Clin North Am.* 1988;14:99-116.
24. Grossman JM. Lupus arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2009;23:495-506
25. Cooper EE, Pisano CE, Shapiro SC. Cutaneous Manifestations of "Lupus": Systemic Lupus Erythematosus and Beyond. *Int J Rheumatol.* 2021. 2021:6610509.
26. Walling HW, Sontheimer RD. Cutaneous lupus erythematosus: issues in diagnosis and treatment. *Am J Clin Dermatol.* 2009;10:365-81.
27. Okon LG, Werth VP. Cutaneous lupus erythematosus: diagnosis and treatment. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2013;27:391-404.
28. Vitali C, Doria A, Tincani A, i sur. International survey on the management of patients with SLE. I. General data on the participating centers and the results of a questionnaire regarding mucocutaneous involvement. *Clin Exp Rheumatol.* 1996; 16:S17-S22.
29. Patel LM, Lambert PJ, Gagna CE, Maghari A, Lambert WC. Cutaneous signs of systemic disease. *Clin Dermatol.* 2011;29:511-22.
30. Okon LG, Werth VP. Cutaneous lupus erythematosus: diagnosis and treatment. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2013;27:391–404.

31. Kapoor T, Mahadeshwar P. Systemic Lupus Erythematosus. U: Petros Eftihimiou. Absolute Rheumatology Review. 1. izdanje, New York, New York, USA: Springer; 2019. 195. str
32. Neto NS, Bonfiglioli KR, Milanez FM, de Macêdo PA, Levy-Neto M. Lymphadenopathy and systemic lupus erythematosus. Rev Bras Reumatol. 2010;50:96-101.
33. Man BL, Mok CC. Serositis related to systemic lupus erythematosus: prevalence and outcome. Lupus. 2005;14:822-26.
34. Gimeno-Torres L, Carrión-Barberà I, Durán X, Villegas E, Monfort J, Salman-Monte TC. Prevalence and risk factors for serositis in patients with systemic lupus erythematosus: A case-control study. Lupus. 2021;30:2095-101.
35. Liang Y, Leng RX, Pan HF, Ye DQ. The prevalence and risk factors for serositis in patients with systemic lupus erythematosus: a cross-sectional study. Rheumatol Int. 2017;37:305-11.
36. Gasparotto M, Gatto M, Binda V, Doria A, Moroni G. Lupus nephritis: clinical presentations and outcomes in the 21st century. Rheumatology (Oxford). 2020;59:v39-v51.
37. Ortega LM, Schultz DR, Lenz O, Pardo V, Contreras GN. Review: Lupus nephritis: pathologic features, epidemiology and a guide to therapeutic decisions. Lupus. 2010;19:557-74.
38. Davidson A. What is damaging the kidney in lupus nephritis? Nat Rev Rheumatol. 2016;12:143-53.
39. Balow JE. Clinical presentation and monitoring of lupus nephritis. Lupus. 2005;14(1):25-30.
40. Sprangers B, Monahan M, Appel GB. Diagnosis and treatment of lupus nephritis flares- an update. Nat Rev Nephrol. 2012;8:709-17.
41. Mittal B, Rennke H, Singh AK. The role of kidney biopsy in the management of lupus nephritis. Curr Opin Nephrol Hypertens. 2005;14:1-8.
42. Sasidharan PK, Bindya M, Sajeeth Kumar KG. Hematological Manifestations of SLE at Initial Presentation: Is It Underestimated?. ISRN Hematol. 2012;2012:961872.
43. Sasidharan PK, Bindya M, Sajeeth Kumar KG. Hematological Manifestations of SLE at Initial Presentation: Is It Underestimated? ISRN Hematol. 2012;2012:961872..
44. Keeling DM, Isenberg DA. Haematological manifestations of systemic lupus erythematosus. Blood Rev. 1993;7:199-207.



45. Fayyaz A, Igoe A, Kurien BT, Danda D, James JA, Stafford HA i sur. Haematological manifestations of lupus. *Lupus Sci Med*. 2015;2:e000078.
46. Starkebaum G, Price TH, Lee MY, Arend WP. Autoimmune neutropenia in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 1978;21:504-12.
47. Petri M, Orbai AM, Alarcón GS. i sur. Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2012;64:2677-86
48. Keser G, Sequeira J, Khamashta MA, Hughes GRV. Anti-Ro and Lymphopenia in SLE. *Lupus*. 1993;2:63.
49. Winfield JB, Mimura T. Pathogenetic significance of anti-lymphocyte autoantibodies in systemic lupus erythematosus. *Clin Immunol Immunopathol*. 1992;63:13-6.
50. Galanopoulos N, Christoforidou A, Bezirgiannidou Z. Lupus thrombocytopenia: pathogenesis and therapeutic implications. *Mediterr J Rheumatol*. 2017;28:20-6.
51. Sarwar S, Mohamed AS, Rogers S, i sur.. Neuropsychiatric Systemic Lupus Erythematosus: A 2021 Update on Diagnosis, Management, and Current Challenges. *Cureus*. 2021;13:e17969.
52. Jeltsch-David H, Muller S. Neuropsychiatric systemic lupus erythematosus: pathogenesis and biomarkers. *Nat Rev Neurol*. 2014;10:579-96.
53. Timlin H, Petri M. Transient ischemic attack and stroke in systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2013;22:1251-58.
54. Petri M, Orbai AM, Alarcón GS, i sur.. Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2012;64:2677-86.
55. Magro Checa C, Cohen D, Bollen EL, van Buchem MA, Huizinga TW, Steup-Beekman GM. Demyelinating disease in SLE: is it multiple sclerosis or lupus?. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2013;27:405-24
56. Bachen EA, Chesney MA, Criswell LA. Prevalence of mood and anxiety disorders in women with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2009;61:822-9.
57. Sultan SM, Ioannou Y, Isenberg DA. A review of gastrointestinal manifestations of systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)*. 1999;38:917-32.
58. Jonsson R, Heyden G, Westberg NG, Nyberg G. Oral mucosal lesions in systemic lupus erythematosus--a clinical, histopathological and immunopathological study. *J Rheumatol*. 1984;11:38-42.

59. Musaev S, Novikova A, Shershevskaia A, Klimanskaia E, Aksenova I. The morphometric and immunohistochemical characteristics of the gastric and duodenal mucosa in systemic lupus erythematosus. *Biull Eksp Biol Med.* 1991; 111:203-6.
60. Barile-Fabris L, Hernández-Cabrera MF, Barragan-Garfias JA. Vasculitis in systemic lupus erythematosus. *Curr Rheumatol Rep.* 2014;16:440.
61. Haque A, Hughes M. Raynaud's phenomenon. *Clin Med (Lond).* 2020;20:580-87.
62. Pisetsky DS. Evolving story of autoantibodies in systemic lupus erythematosus. *J Autoimmun.* 2020;110:102356.
63. Rekvig OP. The anti-DNA antibody: origin and impact, dogmas and controversies. *Nat Rev Rheumatol.* 2015;11:530–40.
64. Pisetsky DS. Anti-DNA antibodies - quintessential biomarkers of SLE. *Nat Rev Rheumatol.* 2016;12:102–10.
65. Ching KH, Burbelo PD, Tipton C, i sur.. Two major autoantibody clusters in systemic lupus erythematosus. *PloS one.* 2012;7:e32001
66. Weinstein A, Alexander RV, Zack DJ. A Review of Complement Activation in SLE. *Curr Rheumatol Rep.* 2021;23:16.
67. Cuadrado MJ, Calatayud I, Urquizu-Padilla M, Wijetilleka S, Kiani-Alikhan S, Karim MY. Immunoglobulin abnormalities are frequent in patients with lupus nephritis. *BMC Rheumatol.* 2019;3:30.
68. Dein E, Douglas H, Petri M, Law G, Timlin H. Pericarditis in Lupus. *Cureus.* 2019;11:e4166.
69. Tincani A, Rebaioli CB, Taglietti M, Shoenfeld Y. Heart involvement in systemic lupus erythematosus, anti-phospholipid syndrome and neonatal lupus. *Rheumatology (Oxford).* 2006;45:iv8-13.
70. Reiss AB, Jacob B, Ahmed S, Carsons SE, DeLeon J. Understanding Accelerated Atherosclerosis in Systemic Lupus Erythematosus: Toward Better Treatment and Prevention. *Inflammation.* 2021;44:1663-82.
71. Hannah JR, D'Cruz DP. Pulmonary Complications of Systemic Lupus Erythematosus. *Semin Respir Crit Care Med.* 2019;40:227-34.
72. Torre O, Harari S. Pleural and pulmonary involvement in systemic lupus erythematosus. *Presse Med.* 2011;40:e19-29.
73. Colquhoun M, Akram S. Shrinking Lung Syndrome. 2023. In: *StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023. PMID: 33760442.*

74. Aringer M, Costenbader K, Daikh D, i sur. 2019 European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology Classification Criteria for Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis Rheumatol.* 2019;71:1400-12.
75. Meroni PL, Tsokos GC. Editorial: Systemic Lupus Erythematosus and Antiphospholipid Syndrome. *Front Immunol.* 2019;10:199.
76. Tincani A, Andreoli L, Chighizola C, Meroni PL. The interplay between the antiphospholipid syndrome and systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity.* 2009;42:257–9.
77. Andreoli L, Pregnotato F, Burlingame RW, i sur.. Antinucleosome antibodies in primary antiphospholipid syndrome: a hint at systemic autoimmunity? *J Autoimmun.* 2008;30:51–7.
78. Petri M. Antiphospholipid syndrome. *Transl Res.* 2020;225:70-81.
79. Stefanski AL, Tomiak C, Pleyer U, Dietrich T, Burmester GR, Dörner T. The Diagnosis and Treatment of Sjögren's Syndrome. *Dtsch Arztebl Int.* 2017;114:354-61.
80. Tomiak C, Dorner T. Sjogren's syndrome. Current aspects from a rheumatological point of view. *Z Rheumatol.* 2006;65:505–17.
81. Westhoff G, Zink A. Epidemiology of primary Sjogren's syndrome. *Z Rheumatol.* 2010;69:41–9.
82. Liang R, Landry I, Saliuj M. Systemic Lupus Erythematosus vs. Mixed Connective Tissue Disease Disguised As Scabies. *Cureus.* 2022;14:e23621.
83. Gunnarsson R, Hetlevik SO, Lilleby V, Molberg Ø. Mixed connective tissue disease. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2016;30:95-111.
84. Alves MR, Isenberg DA. "Mixed connective tissue disease": a condition in search of an identity. *Clin Exp Med.* 2020;20:159-166.
85. Eftihimiou P. *Absolute Rheumatology Review*, 1. izdanje. New York University, New York, USA: Springer Cham; 2019. str. 209-10.
86. West S. *Rheumatology secrets*, 4. izdanje. Philadelphia: Elsevier, Mosby; 2015. str 137-40.
87. Hochberg MC. *Rheumatology*. 7. izdanje. Philadelphia: Mosby/ Elsevier; 2011.
88. Danza A, Ruiz-Irastorza G. Infection risk in systemic lupus erythematosus patients: susceptibility factors and preventive strategies. *Lupus.* 2013;22:1286-94.
89. Singh BK, Singh S. Systemic lupus erythematosus and infections. *Reumatismo.* 2020;72:154-69.

90. Salman-Monte TC, Torrente-Segarra V, i sur. Bone mineral density and vitamin D status in systemic lupus erythematosus (SLE): A systematic review. *Autoimmun Rev.* 2017;16:1155-9.
91. Romas E. Corticosteroid-induced osteoporosis and fractures. *Aust Prescr* 2008;31:45-9.
92. Mok MY, Farewell VT, Isenberg DA. Risk factors for avascular necrosis of bone in patients with systemic lupus erythematosus: is there a role for antiphospholipid antibodies? *Ann Rheum Dis.* 2000;59:462-7.
93. Song L, Wang Y, Zhang J, Song N, Xu X, Lu Y. The risks of cancer development in systemic lupus erythematosus (SLE) patients: a systematic review and meta-analysis. *Arthritis Res Ther.* 2018;20:270.
94. Borchers AT, Keen CL, Gershwin ME. Drug-induced lupus. *Ann N Y Acad Sci.* 2007;1108:166-82.
95. Rubin RL. Drug-induced lupus. *Toxicology.* 2005;209:135-47.
96. Vaglio A, Grayson PC, Fenaroli P. i sur.. Drug-induced lupus: Traditional and new concepts. *Autoimmun Rev.* 2018;17:912-8.
97. UpToDate [Internet]. Uptodate.com. 2019 [citirano 20.5.2019]. Dostupno na: <https://www.uptodate.com/contents/drug-induced-lupus>
98. Homa-Mlak I, Mazurek M, Majdan A, Mlak R, Majdan M, Melecka-Massalska T. Serum Calprotectin - a NET Product - as a Biomarker of Disease Activity in Patients with Systemic Lupus Erythematosus: A Single-Center Case-Control Study from Poland. *Med Sci Monit.* 2022;28:e936534.
99. Kopeć-Mędrak M, Widuchowska M, Kucharz EJ. Calprotectin in rheumatic diseases: A review. *Reumatologia.* 2016;54:306–9.
100. Ohmura K. Which is the best SLE activity index for clinical trials? *Mod Rheumatol.* 2021.;31:20-8.
101. Anić F. Povezanost aktivnosti i težine sistemskog eritemskog lupusa s brojem klasifikacijskih kriterija i duljinom trajanja bolesti : doktorski rad [Disertacija]. Rijeka: Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet; 2015 [pristupljeno 22.06.2023.]
102. Petri M, Kim MY, Kalunian KC, i sur. Combined oral contraceptives in women with systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2005;353:2550-8.
103. Fanouriakis A, Kostopoulou M, Alunno A, i sur. 2019 update of the EULAR recommendations for the management of systemic lupus erythematosus *Annals of the Rheumatic Diseases* 2019;78:736-45.

104. Mosca M, Tani C, Carli L, Bombardieri S. Glucocorticoids in systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Rheumatol*. 2011;29:126-9
105. Dima A, Jurcut C, Chasset F, Felten R, Arnaud L. Hydroxychloroquine in systemic lupus erythematosus: overview of current knowledge. *Ther Adv Musculoskelet Dis*. 2022;14:1759720X211073001.
106. Kuhn A, Bonsmann G, Anders HJ, Herzer P, Tenbrock K, Schneider M. The Diagnosis and Treatment of Systemic Lupus Erythematosus. *Dtsch Arztebl Int*. 2015;112:423-32.
107. Croyle L, Hoi A, Morand EF. Characteristics of azathioprine use and cessation in a longitudinal lupus cohort. *Lupus Sci Med*. 2015;2:e000105.
108. Sakthiswary R, Suresh E. Methotrexate in systemic lupus erythematosus: a systematic review of its efficacy. *Lupus*. 2014;23:225–35.
109. Dall'Era M. Mycophenolate mofetil in the treatment of systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Rheumatol*. 2011;23:454-83
110. Nieto-Aristizábal I, Martínez T, Urbano MA, I sur. Treatment with intravenous immunoglobulins in systemic lupus erythematosus: a single-center experience with 63 patients. *Lupus*. 2019;28:1566-70.
111. Wise LM, Stohl W. Belimumab and Rituximab in Systemic Lupus Erythematosus: A Tale of Two B Cell-Targeting Agents. *Front Med (Lausanne)*. 2020;7:303.
112. Ometto F, Friso L, Astorri D, i sur. Calprotectin in rheumatic diseases. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2017;242:859-73.
113. Shamim R, Farman S, Batool S, Khan SEA, Raja MKH. Association of systemic lupus erythematosus disease activity index score with clinical and laboratory parameters in pediatric onset systemic lupus erythematosus. *Pak J Med Sci*. 2020;36:467-72.
114. Homa-Mlak I, Mazurek M, Majdan A, Mlak R, Majdan M, Melecka-Massalska T. Serum Calprotectin - a NET Product - as a Biomarker of Disease Activity in Patients with Systemic Lupus Erythematosus: A Single-Center Case-Control Study from Poland. *Med Sci Monit*. 2022;28:e936534.
115. Van Vollenhoven RF, Bertsias G, Doria A, i sur. 2021 DORIS definition of remission in SLE: final recommendations from an international task force. *Lupus Sci Med*. 2021;8:e000538.
116. Serum Calprotectin in Systemic Lupus Erythematosus: Is It a Good Activity Biomarker? [Internet]. ACR Meeting Abstracts. [citirano 6.7.2023.]. Dostupno na: <https://acrabstracts.org/abstract/serum-calprotectin-in-systemic-lupus-erythematosus-is-it-a-good-activity-biomarker>

117. Man YL, Sanna G. Neuropsychiatric Manifestations of Antiphospholipid Syndrome-A Narrative Review. *Brain Sci.* 2022;12:91.
118. Shoenfeld Y., Nahum A., Korczyn A.D i sur.. Neuronal-binding antibodies from patients with antiphospholipid syndrome induce cognitive deficits following intrathecal passive transfer. *Lupus.* 2003;12:436442
119. Circulating Calprotectin: A Potential New Biomarker for “Non-Criteria” Clinical Manifestations of Antiphospholipid Syndrome [Internet]. ACR Meeting Abstracts. [citirano 6.7.2023]. Dostupno na: <https://acrabstracts.org/abstract/circulating-calprotectin-a-potential-new-biomarker-for-non-criteria/>
120. Cocco C, Manca E, Corda G, i sur. Brain-reactive autoantibodies in neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *Front Immunol.* 2023;14:1157149.
121. Goswami H, Kakati S. AB0839 A study of serum complement and serum calprotectin level in systemic lupus erythematosus. *Annals of the Rheumatic Diseases.* 2021;80:1443.2-1443.

## **8. SAŽETAK**

**Cilj:** Ispitati razine serumskog kalprotektina u bolesnika oboljelih od SLE-a i ustanoviti jesu li više u odnosu na zdrave ispitanike, ali i ovisi li o samoj aktivnosti bolesti, popratnim vaskularnim događajima te koreliraju li s vrijednostima SLEDAI-a.

**Ispitanici i metode:** U istraživanju je sudjelovalo ukupno 40 ispitanika, od čega 27 oboljelih od SLE-a i 13 zdravih ispitanika. Svi se naši bolesnici liječe u Zavodu za reumatologiju i kliničku imunologiju KBC-a Split. U Dnevnoj bolnici Zavoda ispitanicima je u svibnju i lipnju 2023. godine uzet uzorak venske krvi koji je potom analiziran koristeći Buhlmann sCAL dijagnostički test ELISA metodom u Zavodu za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Split. Koristeći SLEDAI indeks, odvojili smo naše bolesnike u one s aktivnom i inaktivnom bolešću, uzevši SLEDAI jednak i viši od 6 kao vrijednost aktivne bolesti. Proučavanjem medicinske dokumentacije definirali smo bolesnike u kojih se SLE manifestirao kroz neki vaskularni događaj, u kliničkom smislu kao definirani APS i NPSLE, i usporedili smo vrijednosti serumskog kalprotektina s onima u kojih se bolest nije manifestirala kroz vaskularni događaj.

**Rezultati:** Vrijednosti serumskog kalprotektina bile su više u bolesnika sa SLE-om u odnosu na kontrolu skupinu (1,1 (0,53-1,8) prema 0,7 (0,38-1,1),  $P=0,02$ ). Nadalje, vrijednost serumskog kalprotektina bila je viša u bolesnika s aktivnim SLE-om u odnosu na bolesnike u remisiji (1,6 (1,1-3,0) prema 0,8 (0,2-1,4),  $P=0,02$ ). Štoviše, vrijednost serumskog kalprotektina u bolesnika sa SLE-a koji su u remisiji nije se statistički značajno razlikovala od vrijednosti serumskog kalprotektina u zdravih ispitanika (0,85 (0,4-1,4) prema 0,7 (0,38-0,93),  $P=0,330$ ). Dokazali smo i da su vrijednosti serumskog kalprotektina u skupini bolesnika koji su u anamnezi imali nekakav vaskularni incident u sklopu SLE-a bile više u odnosu na one bolesnike u čijoj anamnezi nije bilo takvih zbivanja (1,7 (1,15-3) prema 1 (0,225-1,375),  $P=0,015$ ). Dokazali smo i da je postojala pozitivna korelacija između vrijednosti SLEDAI-a i serumskog kalprotektina u svih oboljelih od SLE-a ( $\rho=0,532$ ,  $P=0,0043$ ), još izraženija u aktivnih bolesnika ( $\rho=0,673$ ,  $P=0,0017$ ). Dokazali smo da nije bilo korelacije između vrijednosti SLEDAI-a i serumskog kalprotektina u bolesnika u remisiji ( $\rho=0,0678$ ,  $P=0,818$ ).

**Zaključak:** Naše istraživanje dokazalo je da su vrijednosti serumskog kalprotektina više u oboljelih od SLE-a, posebno u onih u aktivnoj bolesti, u odnosu na zdrave ispitanike. Dokazali smo i da postoji veza između vaskularnih manifestacija SLE-a i vrijednosti serumskog kalprotektina, kao i pozitivna korelacija SLEDAI-a i serumskog kalprotektina u



lupusnih bolesnika, izražena u skupine aktivnih bolesnika, a statistički beznačajna u onih u remisiji.

## **9. SUMMARY**

**Objective:** To examine the levels of serum calprotectin in patients with systemic lupus erythematosus and to determine whether they are higher in the patients compared to healthy subjects, but also whether they depend on the activity of the disease, vascular events and, lastly, to investigate their correlation with SLEDAI.

**Subjects and methods:** A total of 40 subjects participated in the study, of which 27 were SLE patients and 13 healthy subjects. Patients are treated at the Department of Rheumatology and Clinical Immunology of the Clinical Hospital Center in Split. In May and June 2023, a venous blood sample was taken from the subjects in the Daily Hospital of the Institute, which was later analyzed using the Buhlmann sCAL diagnostic test by ELISA method at the Institute for Medical Laboratory Diagnostics of the Clinical Hospital Center in Split. Using the SLEDAI index, we separated our patients into those with active and inactive disease, taking SLEDAI 6 as the cut-off value for active disease. By studying the medical records, we defined patients in whom SLE manifested through a vascular event, in the such as antiphospholipid syndrome and neuropsychiatric lupus, and we compared the values of serum calprotectin with those in whom the disease did not manifest through a vascular event.

**Results:** Serum calprotectin values were higher in patients with SLE compared to the control group (1.1 (0.53-1.8) vs. 0.7 (0.38-1.1),  $P=0.02$ ). Furthermore, the value of serum calprotectin was higher in patients with active SLE compared to patients in remission (1.6 (1.1-3.0) vs. 0.8 (0.2-1.4),  $P=0.02$ ). Moreover, the value of serum calprotectin in patients with SLE who were in remission was not statistically significantly different from the value of serum calprotectin in healthy subjects (0.85 (0.4-1.4) vs. 0.7 (0.38-0.93),  $P=0.330$ ). We also proved that the values of serum calprotectin in the group of patients who had a history of vascular incident as part of SLE were higher compared to those patients who had no history of such events (1.7 (1.15-3) according to 1 (0.225-1.375),  $P=0.015$ ). We also showed that there was a statistically significantly positive correlation between SLEDAI values and serum calprotectin in all SLE patients ( $\rho=0.532$ ,  $P=0.0043$ ), even more pronounced in active patients ( $\rho=0.673$ ,  $P=0.0017$ ). We showed that there was no statistically significantly correlation between SLEDAI values and serum calprotectin in patients in remission ( $\rho=0.0678$ ,  $P=0.818$ ).

**Conclusion:** Our research, although limited due to the small number of subjects and testing patients of one Clinical Center, proved that serum calprotectin values are higher in patients with SLE compared to healthy subjects and that patients with a more active disease,

objectively measured using SLEDAI, had higher serum calprotectin values compared to patients in remission (SLEDAI <6). We also proved that there is a connection between antiphospholipid syndrome and neuropsychiatric lupus, the most common vascular manifestations of SLE, and the value of serum calprotectin, because the patients with a higher values were precisely those who had a clinically evident vascular incident in their medical records. We also showed that there was a positive correlation between SLEDAI values and serum calprotectin in all SLE patients, especially in those with active disease. There was no correlation between SLEDAI values and serum calprotectin in patients in remission. Future research should confirm these hypotheses on a larger number of subjects.

## **10. ŽIVOTOPIS**

## **OPĆI PODATCI**

Ime i prezime: Karla Vrkić

Datum rođenja: [REDACTED].

Mjesto rođenja: [REDACTED]

Državljanstvo: [REDACTED]

Adresa stanovanja: [REDACTED]

E-mail: [REDACTED]

## **ŠKOLOVANJE**

2005. – 2013. Osnovna škola „Strožanac“, Podstrana

2013. – 2017. IV. gimnazija Marko Marulić, Split

2017. – 2023. Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu, studijski program medicina

## **JEZICI**

Hrvatski jezik (materinski)

Engleski jezik (aktivno korištenje)

Talijanski jezik (aktivno korištenje)

Francuski jezik (dobro poznavanje, DELF B1 - Diploma o poznavanju francuskog jezika)

## **STRUČNA PRAKSA**

Rujan 2021. – Listopad 2021. Zavod za reumatologiju, kliničku imunologiju, alergologiju i rijetke bolesti, Klinika za internu medicinu, Ospedale San Raffaele, Milano, Italija

Srpanj 2022. – Listopad 2022. Zavod za reumatologiju, kliničku imunologiju, alergologiju i rijetke bolesti, Università Vita Salute San Raffaele, Ospedale San Raffaele, Milano, Italija

Svibanj 2023. – Lipanj 2023. Zavod za reumatologiju i kliničku imunologiju, Università degli Studi di Padova, Azienda Ospedale – Università Padova, Padova, Italija