

Epidemiološka obilježja bolesnika sa sistemskim eritemskim lupusom liječenih ciklofosamidom

Tečer, Josip

Master's thesis / Diplomski rad

2020

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:733784>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-23**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Josip Tečer

**Epidemiološka obilježja bolesnika sa sistemskim eritemskim
lupusom liječenih ciklofosamidom**

Diplomski rad



Zagreb, 2020.

Ovaj diplomski rad izrađen je u Zavodu za kliničku imunologiju i reumatologiju Klinike za unutarnje bolesti Kliničkog bolničkog centra Zagreb pod vodstvom doc.dr.sc. Mislava Cerovca i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2019./2020.

Popis kratica

SLE – sistemski eritemski lupus (*engl. systemic lupus erythematosus*)

GWAS – cjelogenomske asocijacijske studije (*engl. genome-wide association study*)

HLA – humani leukocitni antigen

IFN – interferon

NFκB – nuklearni faktor κB

NADPH – nikotinamid adenin dinukleotid fosfat (*engl. nicotinamid adenin dinucleotide phosphate*)

ROS – reaktivni oblici kisika (*engl. reactive oxygen species*)

EBV – Epstein-Barr virus

VCA – virusni kapsidni antigen (*engl. virus capsid antigen*)

EA – rani antigen (*engl. early antigen*)

EBNA – Epstein-Barrin nuklearni antigen

UV – ultraljubičasto (*engl. ultraviolet*)

IgA – imunoglobulin A

IL – interleukin

LDG – granulociti male gustoće (*engl. low-density granulocytes*)

NET – neutrofilna ekstracelularna zamka (*engl. neutrophil extracellular trap*)

pDC – plazmacitoidne dendritičke stanice (*engl. plasmacytoid dendritic cells*)

BCR – B-stanični receptor (*engl. B-cell receptor*)

TLR – Toll-like receptor

RAG – rekombinacijski aktivacijski geni (*engl. recombination activating genes*)

Treg – regulacijski limfociti T

BAFF – B-limfocitni aktivirajući faktor iz TNF obitelji

(*engl. B-cell activating factor belonging to the TNF family*)

TCR – T-stanični receptor (*engl. T-cell receptor*)

NPSLE – neuropsihijatrijski sistemski eritemski lupus

mm – milimetar

μL – mikrolitra

ACR – Američko udruženje reumatologa (*engl. American College of Rheumatology*)

TIA – tranzitorna ishemijska ataka

ANA – antinuklearna protutijela (*engl. antinuclear antibodies*)

IIF – indirektna imunofluorescencija

DNA – deoksiribonukleinska kiselina (*engl. deoxyribonucleic acid*)

ds DNA – DNA s dvostrukom uzvojnicom (*engl. double stranded DNA*)

RNP – ribonukleoprotein

snRNP- mali jezgreni ribonukleoproteini (*engl. small nuclear ribonucleoproteins*)

ELISA – s enzimom povezan imunosorbentski test (*engl. enzyme-linked immunosorbent assay*)

SE – sedimentacija eritrocita

CRP – C-reaktivni protein

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

MMF – mikofenolat-mofetil

NIH – Nacionalni institut zdravstva (*engl. National Institute of Health*)

HPV – humani papiloma virus

KBC – klinički bolnički centar

WHO – Svjetska zdravstvena organizacija (*engl. World health organisation*)

ISN – Međunarodno neurološko društvo (*engl. International society of neurology*)

RPS – Društvo renalne patologije (*engl. Renal pathology society*)

g – gram

CIN I – cervikalna intraepitelna neoplazija prvog stupnja

CIN III – cervikalna intraepitelna neoplazija trećeg stupnja

CYC – ciklofosfamid

SMR – standardizirani mortalitetni omjer (*engl. standardized mortality ratio*)

Sadržaj

1. Sažetak.....	
2. Summary.....	
3. Uvod	1
3.1. Epidemiologija	1
3.2. Etiopatogeneza	2
3.3 Klinička slika	4
3.4. Laboratorijski testovi	7
3.5. Klasifikacijski kriteriji.....	9
3.6. Liječenje	9
3.7. Ciklofosfamid u liječenju sistemskog eritemskog lupusa	10
4. Ciljevi rada i hipoteza	12
5. Ispitanici i metode	12
6. Rezultati.....	16
6.1. Broj bolesnika, podjela u podskupine, raspodjela prema spolu.....	16
6.2. Dob pri postavljanju dijagnoze SLE-a.....	16
6.3. Vrijeme praćenja nakon postavljanja dijagnoze SLE-a	17
6.4. Broj primjena ciklofosfamida i patohistološki tipovi lupusnog nefritisa	18
6.5. Dob pri primjeni ciklofosfamida i vrijeme proteklo od postavljanja dijagnoze SLE-a do primjene ciklofosfamida	20
6.6. Vrijeme praćenja nakon prve primjene ciklofosfamida.....	21
6.7. Primijenjeni protokoli terapije ciklofosfamidom.....	22
6.8. Kumulativna doza ciklofosfamida	23
6.9. Patohistološke dijagnoze zloćudnih novotvorina i podjela po organima/organskim sustavima	24
6.10. Dob pri postavljanju dijagnoze zloćudne novotvorine, vrijeme proteklo od postavljanja dijagnoze SLE-a i vrijeme proteklo od primjene ciklofosfamida do postavljanja dijagnoze zloćudne novotvorine	24
7. Rasprava	27
7.1. Raspodjela prema spolu	27
7.2. Dob pri postavljanju dijagnoze SLE-a.....	27
7.3. Dob pri prvoj primjeni ciklofosfamida	28
7.4. Patohistološke dijagnoze lupusnog nefritisa	29
7.5. Zloćudne novotvorine.....	30
7.6. Povezanost kumulativne doze ciklofosfamida i produljenog upalnog stanja s razvojem zloćudne novotvorine.....	31

7.7. Dob pri dijagnozi, vrijeme proteklo od postavljanja dijagnoze SLE-a i primjene ciklofosfamida do postavljanja dijagnoze zloćudne novotvorine	32
7.8. Cervikalna intraepitelna neoplazija	33
8. Zaključak	35
8. Zahvale	37
9. Literatura	38
10. Životopis	48

1. Sažetak

Epidemiološka obilježja bolesnika sa sistemskim eritemskim lupusom liječenih ciklofosfamidom

Josip Tečer

Sistemski eritemski lupus (SLE) kronična je sistemska, upalna, nezarazna bolest nepoznate etiologije koja zahvaća različite organske sustave s posljedičnom velikim varijacijama u kliničkoj prezentaciji. Tijek bolesti je karakteriziran fazama egzacerbacija i remisija. Ciklofosfamid, alkilirajući, citotoksični lijek u liječenju bolesnika sa SLE-om primjenjuje se u teškim egzacerbacijama bolesti s potencijalnim oštećenjem organa, najčešće u liječenju lupusnog nefritisa (LN). Cilj ove studije bio je opisati epidemiološke karakteristike bolesnika oboljelih od SLE-a liječenih ciklofosfamidom, način primjene ciklofosfamida i podatke vezane uz pojavu zloćudnih novotvorina (zbog malignog potencija ciklofosfamida) te dobivene podatke usporediti s dostupnom literaturom. U ovoj deskriptivno-epidemiološkoj retrospektivnoj studiji iz baze podataka oboljelih od SLE-a Zavoda za kliničku imunologiju i reumatologiju Klinike za unutrašnje bolesti Medicinskog fakulteta u Zagrebu i KBC-a Zagreb izdvojeno je 128 bolesnika liječenih ciklofosfamidom čija je sva dostupna medicinska dokumentacija pregledana (ambulantni kartoni, povijesti bolesti i podatci iz bolničkog informatičkog sustava). Zatim je izdvojena konačna skupina od 109 bolesnika liječenih ciklofosfamidom zbog LN-a. Uz epidemiološka obilježja bolesnika, tipove LN-a, podatke o primjeni ciklofosfamida, analizirani su podatci vezani za zloćudne novotvorine te je skupina podijeljena u podskupinu s dijagnozom zloćudne novotvorine nakon primjene ciklofosfamida koja je brojila 10 bolesnika te podskupinu bez navedene dijagnoze koja je brojila 99 bolesnika. Omjer žena i muškaraca (3,54:1), prosječna dob pri postavljanju dijagnoze SLE-a ($29,44 \pm 13,80$ god.), dob pri prvoj primjeni ciklofosfamida ($32,92 \pm 13,96$ god.) te vrijeme proteklo između dijagnoze SLE-a i primjene ciklofosfamida (49,47 % u istoj godini) slični su podatcima podudarajućih europskih studija. Očekivano je najzastupljeniji patohistološki tip LN-a bio tip IV s 67,57 % dijagnoza po WHO klasifikaciji i 73,91 % po ISN/RPS klasifikaciji, a udjeli pojedinih PHD-a podudaraju se s podatcima europskih istraživanja. Od ukupno 12 dijagnosticiranih zloćudnih novotvorina u skupini, 5/12 (41,67 %) bile su novotvorine koje su prema literaturi učestalije u oboljelih od SLE-a u odnosu na opću populaciju, te 4/12 (33,33 %) novotvorine koje se povezuju s malignim djelovanjem ciklofosfamida. Prosječna kumulativna doza ciklofosfamida u skupini koja je razvila neku od zloćudnih bolesti ($10,54 \pm 4,20$ g) nije bila znatno veća od kumulativne doze u podskupini bolesnika koji nisu oboljeli od maligne bolesti ($8,45 \pm 5$ g), a 80 % bolesnika u podskupini s novotvorinom primilo je više od 6 g, naspram 66,7 % u podskupini bez novotvorine. Iako se epidemiološke karakteristike i podatci o zloćudnim novotvorinama slažu sa sličnim studijama i podatcima o povećanom riziku od određenih malignoma u oboljelih od SLE-a i malignomima povezanih s ciklofosfamidom, za jasnije zaključke o ovoj skupini bolesnika u Republici Hrvatskoj potrebna je studija s podatcima i iz drugih velikih reumatoloških centara u Republici Hrvatskoj.

Ključne riječi: sistemski eritemski lupus, ciklofosfamid, lupusni nefritis, zloćudne novotvorine

2. Summary

Epidemiologic characteristic of patients with systemic lupus erythematosus treated with cyclophosphamide

Josip Tečer

Systemic lupus erythematosus (SLE) is chronic, systemic, inflammatory, uninfected disease of unknown etiology that affects various organ systems leading to diverse signs and symptoms. It is characterized by relapses and remissions. Cyclophosphamide, alkylating, cytotoxic agent is used to treat organ threatening SLE flares, most commonly lupus nephritis. The goal of this study was to analyze epidemiologic characteristics of SLE patients treated with cyclophosphamide, cyclophosphamide administration, malignant neoplasms data (because of cyclophosphamide's malignant potential) and to compare collected data to available literature. In this descriptive-epidemiologic retrospective study 128 patients treated with cyclophosphamide were selected from SLE database of Clinical immunology and rheumatology department of University Hospital Centre Zagreb. After medical history of these patients was examined, final group of 109 patients treated with cyclophosphamide because of lupus nephritis was selected. Epidemiologic characteristics, lupus nephritis classes, cyclophosphamide administration and malignant neoplasms related data were analyzed and group was divided in subgroup diagnosed with malignancy after cyclophosphamide administration consisting of 10 patients and subgroup of 99 patients without malignancy diagnosis. Female to male ratio (3.54:1), average age at SLE diagnosis (29.44 ± 13.80 years), average age at first cyclophosphamide administration (32.92 ± 13.96 god.) and time passed between SLE diagnosis and cyclophosphamide administration (in 49.47 % in the same year) were similar to matching literature. As expected most common lupus nephritis class was class IV with 67.57 % diagnosed by WHO classification and 73.91 % by ISN/RPS classification. Percentages of all classes were similar to data found in literature. Twelve malignancies and one premalignant lesion (CIN I) were diagnosed. Five (41.67 %) of those 12 (non-Hodgkin lymphoma, lung cancer and three CIN III cases) coincide with malignancies shown to be more common in SLE patients than in general population and four (33.33 %) were malignancies linked with cyclophosphamide (bladder carcinoma and three nonmelanoma skin cancers). Average cyclophosphamide cumulative dose in subgroup with malignancies (10.54 ± 4.20 g) wasn't very different from subgroup with no malignancies (8.45 ± 5 g). In subgroup with malignancy 80 % of patients were administered more than 6 g versus 66.7 % in subgroup without malignancy. Epidemiologic characteristics and malignancy related data were similar to matching studies and coincide with data about higher risk of certain malignancies in SLE patients and data about malignancies following cyclophosphamide administration. However, to make stronger conclusions about this population in Croatia, study including data from other large rheumatology centers in Croatia with use of inferential statistics is needed.

Key words: systemic lupus erythematosus, cyclophosphamide, lupus nephritis, malignant neoplasms

3. Uvod

Sistemska eritemski lupus (SLE, prema *engl. Systemic Lupus Erythematosus*) kronična je sistemska, upalna, neinfektivna bolest nejasne etiologije. Budući da zahvaća različite organske sustave, karakterizirana je raznolikom kliničkom slikom. Tijek bolesti je varijabilan, te je obilježen egzacerbacijama i remisijama.

3.1. Epidemiologija

Epidemiološka istraživanja, kako za druge bolesti, tako i za SLE bitna su radi razumijevanja shvaćanja same bolesti u cjelini - njezine pojavnosti, etiopatogeneze, rizičnih faktora povezanih s bolesti i slično. Raznolika klinička slika SLE-a može predstavljati problem i u epidemiološkim istraživanjima, zbog čega su kao pomoć osmišljeni klasifikacijski kriteriji Američkog društva za reumatologiju iz 1982. koji su omogućili ujednačavanje kriterija za uključivanje bolesnika u epidemiološke studije(1).

Incidencija SLE-a u svijetu procjenjuje se na 0,3 do 23,7 na 100 000 stanovnika. Znatna razlika među državama vjerojatno se može objasniti razlikom u dobi, spolu, etničkoj/rasnoj pripadnosti i različitim okolišnim čimbenicima(2). Tako lupusni registar Michigana s ukupno 2139 oboljelih pokazuje incidenciju od 5,5 na 100 000 osoba-godina s razlikom među crnom rasom (7,9 na 100 000) i bijelom rasom (3,7 na 1000)(3). Što se Europe tiče postoje brojne studije za različite države i njihove pokrajine. Arnaud i sur. prijavljuju incidenciju u Francuskoj od 3,32, dok je Danska studija pokazala incidenciju od 2,35 na 100 000 osoba-godina(4, 5). Rees i sur. su u svojoj studiji u UK pokazali statistički značajan pad incidencije od 1999. do 2012. za 1,8% na godinu(6).

Najviša prevalencija u svijetu zabilježena je u Sjevernoj Americi s 241 slučaj na 100 000 stanovnika, u Njemačkoj je ona 36,7, dok je u Tajvanu 43,5 na 100 000 stanovnika(2).

SLE je značajno češći u žena od muškaraca osobito u reproduktivnoj dobi kada je omjer oboljelih žena naspram muškaraca 8-15:1. U predpubertetskom razdoblju i lupusu s kasnim početkom taj je omjer manji. 2-8:1(7).

Sistemska eritemski lupus se može pojaviti u bilo kojoj dobi i zahvatiti oba spola. Ipak, najčešće je to u reproduktivnoj dobi (15-45 god.) u žena. SLE dječje i adolescentske dobi, u usporedbi s onim u odraslih, obilježen je većom aktivnosti, osobito lupusnog nefritisa. S druge strane oboljeli nakon 50. godine imaju manju aktivnost bolesti te rjeđe bubrežne i neuropsihijatrijske manifestacije(8-10). Petogodišnje preživljenje oboljelih od SLE-a značajno se povećalo od 1950-ih do 2000-ih sa 74,8% na 94,8%(11). Unatoč tome standardizirani mortalitetni omjer za SLE je 2,6-3,0 puta veći od opće populacije, ponajprije zbog veće stope mortaliteta od kardiovaskularnih, bubrežnih bolesti te

infekcija(2, 12).

3.2. Etiopatogeneza

Glavni patogenetski mehanizmi sistemskog eritemskog lupusa su stvaranje auto-protutijela, odlaganje imunokompleksa te poremećena regulacija sustavnog imunskog odgovora. Navedeni imunološki poremećaji dovode do upalnog oštećenja različitih tkiva. Etiologija ovih procesa nije u potpunosti razjašnjena, ali povezuje se s genetskim, hormonskim i okolišnim čimbenicima(13). Na genetsku ulogu ukazuju studije o pojavi SLE-a u obitelji prema kojima je povećani rizik među braćama i sestrama ljudi oboljelih od lupusa u odnosu na opću populaciju te studije s blizancima (14-16). Velika populacijska studija u Tajvanu, koja je uključila oko 23 milijuna ljudi procjenjuje ulogu nasljednosti u SLE-u na 43,9 %(15). Zahvaljujući Cjelogenetskim studijama povezonosti (*GWAS*, prema eng. *Genome Wide Association*) dosad je identificirano preko 100 lokusa povezanih s razvojem SLE-a, od kojih je većina u nekodirajućoj regiji. Iako se brojni od stotinjak navedenih lokusa nalaze u HLA kompleksu (15,79 %), ipak se većina nalazi izvan tog kompleksa(17). Među navedenim pronađeni su i lokusi uzročno povezani s poznatim patogenetskim mehanizmima SLE-a: geni koji sudjeluju u funkciji IFN tipa 1 puta, NFκB puta, signaliziranju B i T limfocita, procesu odstranjenja imunokompleksa, NADPH-oksidaza-ovisan ROS puta(18).

Znatno veća incidencija SLE-a među ženama usmjerava pažnju na možebitnu ulogu spolnih hormona u razvoju bolesti. Istraživanja uglavnom ukazuju na utjecaj estrogena, androgena i prolaktina na razvoj autoimunosti(19). Eksperimenti na životinjskim modelima pokazali su utjecaj estrogena i prolaktina na aktivaciju i produljeni život autoreaktivnih B-limfocita te utjecaj estrogena na ekspresiju kalcineurina, kao važnog medijatora aktivacije T-limfocita (20) (21). Značaj spolnih hormona na SLE u ljudi proučavan je kroz istraživanja o utjecaju hormonske kontracepcije i hormonske nadomjesne terapije u postmenopauzi. Istraživanja pokazuju da hormonska kontracepcija nema utjecaja na pojavu egzacerbacija bolesti (SELENA randomizirana klinička studija) ili je rizik blago povećan prema prospektivnim kohortnim studijama Costenbadera i Petrija (22-24). Istraživanja provedena u bolesnika sa SLE-om pokazuju da postoji povećani rizik od blagih i umjerenih, ali ne i teških egzacerbacija bolesti uz primjenu hormonske nadomjesne terapije (25).

Uz razvoj SLE-a veže se i nekoliko okolišnih čimbenika. Meta-analiza Chuae MHY i sur. ustvrdila je povećan rizik od SLE-a u aktivnih pušača, dok rizik nije povećan u bivših pušača(26). Za razliku od pušenja, umjerena konzumacija alkohola mogla bi imati zaštitnu ulogu(27). Odavno je prepoznata povezanost određenih lijekova s pojavom kliničke slike SLE-a te postoji i poseban klinički entitet poznat kao sistemski eritemski lupus uzrokovan lijekovima. Iako je do danas zabilježen veliki broj lijekova koji mogu inducirati SLE, najveća pojavnost bolesti je uz prokainamid i hidralazin(28). Među fizikalnim čimbenicima najzapaženiju ulogu ima ultraljubičasto zračenje kao jedan od

najprepoznatljivijih rizika za razvoj egzacerbacije bolesti (29-31). Od infekcijskih čimbenika najčešće se sa SLE-om povezuje Epstein-Barrin virus, na čiju ulogu upućuje i učestalija seropozitivnost na VCA, EA protutijela i EBNA IgA u pacijenata oboljelih od SLE-a u odnosu na zdrave kontrole(1, 32). Promjene u različitim komponentama i urođenog i adaptivnog imunosnog sustava sudjeluju u patogenezi SLE-a. Brojna istraživanja pokazala su bitne promjene u sustavu citokina, komplementa, funkciji neutrofila, antigen-prezentirajućih stanica, T-limfocita i B-limfocita(13). Među citokinima, interferoni tipa 1 imaju jednu od ključnih uloga u ranom stadiju razvoja SLE-a. Osim interferona tipa 1, promjene u su zapažane i u sintezi IL-2, IL-6, IL-10, IL-17-A, IL-21, IL-23, BAFF/APRIL(13). Granulociti niske gustoće (*engl. low-density granulocytes, LDGs*), karakteristični za oboljele od SLE-a proizvode više interferona tipa 1, a pri stvaranju neutrofilne izvanstanične zamke (*engl. neutrofil extracellular traps, NET*) izbacuju i više razine autoantigena i drugih imunostimulirajućih molekula(33). U skupini antigen-prezentirajućih osim poremećene funkcije običnih dendritičkih stanica, koje u oboljelih od SLE-a uzrokuju hiperstimulaciju T-limfocita zapažen je povećan broj plazmacitoidnih dendritičkih stanica (*engl. plasmacitoid dendritic cells, pDC*)(34-36) koje su odgovorne za proizvodnju IFN tipa 1 kao odgovor na imunokomplekse nukleinskih kiselina izloženih nakon apoptičke ili nekrotične smrti drugih stanica(37, 38). Središnje obilježje SLE-a su auto-protutijela uz čiji nastanak je naravno vezan i poremećaj stanica koje ih sintetiziraju, B-limfocita. Za SLE su karakteristična protutijela usmjerena protiv dijelova jezgre kao što su DNA, histoni i drugi. Način djelovanja ovih protutijela je stvaranje imunokompleksa koji uzrokuju upalu vezanjem na Fc receptore i aktiviranjem komplementa(13, 30). Osim toga protutijela mogu imati i izravan učinak na bolest mijenjajući funkciju stanica poput T-limfocita i neurona vežući se izravno na njihove receptore(39, 40). Uočeno je više promjena u funkciji B-limfocita koje dovode do gubitka tolerancije, odnosno razvitka navedenih auto-protutijela. Za centralnu toleranciju bitnim su se pokazali signalni putevi receptora B-limfocita (*engl. B-cell receptor, BCR*) i TLR-a (*prema engl. Toll-like receptors*), a GWAS studije pokazale su promjene gena vezanih uz ove puteve u oboljelih od SLE-a(41-43). Što se periferne tolerancije tiče uočene su promjene u genima za aktivaciju rekombinacije (*engl. recombination activating genes, RAG*), koje mogu dovesti do mutacije BCR-a na periferiji i reakcije na vlastite antigene(41, 44). Uz to promjene u interakciji B i T-limfocita i ekspresiji BAFF-a što omogućuje preživljavanje autoreaktivnih B-limfocita(43, 45).

3.3 Klinička slika

Sistemski eritemski lupus obilježen je velikim varijacijama u kliničkoj slici. U oboljelih se pojavljuju opći simptomi i simptomi specifični za zahvaćene organske sustave. Od općih simptoma, koji su često prvi simptomi bolesti, javljaju se umor, vrućica i gubitak tjelesne težine(46, 47). Umor je najčešći opći simptom s prevalencijom 67-90 %. Često je vezan uz depresiju, poremećaje spavanja i ima značajan negativan utjecaj na kvalitetu života(48, 49). Vrućica u SLE-u nastaje najčešće kao posljedica aktivnosti same bolesti, infekcija, a rjeđe je uzrokovana lijekovima ili malignom bolesti. Budući da su oboljeli od SLE-a podložni infekcijama zbog same bolesti i imunosupresivne terapije, pri pojavi vrućice najvažnije je razlučiti je li ona infektivnog ili neinfektivnog podrijetla(50, 51). Gubitak težine, obično zapažen pri dijagnozi bolesti, često bude zamijenjen dobitkom na težini zbog glukokortikoidne terapije(52).

Kožne se manifestacije u SLE-u pojavljuju se u 75-80% pacijenata(53). Mogu se podijeliti u lupus-specifične i nespecifične, a specifične dalje u akutne, subakutne i kronične(54, 55). Među akutnim najprepoznatljiviji je leptirasti eritem koji se pojavljuje na obrazima i korijenu nosa, a pošteđuje nazolabijalne nabore. Subakutne kožne lezije tipično izbijaju na fotoeksponiranim dijelovima kože, ali i generalizirano. Subakutne kožne lezije započinju kao eritematozne papule i plakovi koji mogu dalje progredirati u papuloskvamozni oblik bolesti sličan psorijazi ili lichenu plausu(56). Diskoidne lezije kronične su lezije koje se također najčešće pojavljuju na fotoeksponiranim dijelovima kože. Često počinju kao papule koje se šire u veće diskoidne plakove koji cijele atrofičnim ožiljkom i pigmentacijskim promjenama(57). Lupus-nespecifične kožne lezije uglavnom su vezane uz visoku aktivnost bolesti, a najčešće su to alopecija, vezikulo-bulozne lezije i urtike. Na koži se mogu manifestirati i vaskulitične promjene u vidu purpura, ulceracija prstiju i noktiju, potkožnih čvorića, livedo reticularisa, splinter hemoragija i palmarnih i plantarnih lezija sličnih Oslerovim čvorićima i Janewayovim lezijama ili pak promjene vezane za sekundarni Raynaudov fenomen(56). U 50% oboljelih prisutna je fotosenzitivnost koja može izazvati specifične i nespecifične kožne lezije (58). Osim promjena na koži za u kliničkoj slici SLE-a pojavljuju se i promjene na sluznicama, najčešće u obliku aftoznih ulceracija. Aftozne ulceracije u sklopu SLE-a obično su bezbolne, najčešće nastaju na tvrdom nepcu i njihova pojava korelira s aktivnosti bolesti(59).

Mišićno-koštani sustav je uz kožno-sluznički najčešće zahvaćen sustav u oboljelih od SLE-a. Simptomi vezani uz ovaj sustav pojavljuju se u 70-95 % pacijenata tijekom bolesti, a u njih 50% su prva manifestacija(60). Artralgijske i artritise iznimno su česti u oboljelih i često su prvi znak bolesti. Uglavnom se radi o neerozivnom artritisu koji je najčešće simetričan s predilekcijom za male zglobove šaka i koljena. Jaccoudova artropatija uzrokovana je patološkim promjenama u zglobnoj kapsuli i periartikularnim tkivom koje rezultiraju povećanom mobilnosti zglobova i subluksacijama, najčešće ulnarnom devijacijom te subluksacijom metakarpofalangealnih zglobova. Za razliku od erozivnog artritisa rendgenska slika ne pokazuje erozivne promjene(61). Osim u sklopu Jaccoudove artropatije

periartikularne patološke promjene pojavljuju se i zasebno kao tenosinovitis, tendinitisi te rupturi tetiva(62). Pacijenti koji boluju od SLE-a mogu imati i kliničku sliku miozitisa, miopatije povezane s lijekovima (kortikosteroidi, antimalarici, statini) ili fibromialgije(56). Simptomatska avaskularna nekroza uzrok je značajnog morbiditeta te se pojavljuje u 9% oboljelih, najčešće u glavi femura. Vezana je uz liječenje kortikosteroidima, osobito visokim dozama, liječenje ciklofosamidom, ali i uz aktivnost same bolesti(63).

Bubreg je zahvaćen u oko 50% oboljelih od SLE-a. Još važnija činjenica je da lupusni nefritis značajno povećava morbiditet i mortalitet u oboljelih od SLE-a. Tako je SMR (standardizirani mortalitetni omjer) u pacijenata s nefritisom 6-6,8, nasuprot 2,4 u oboljelih od SLE-a bez nefritisa (64). Pola zabilježenih slučajeva ima asimptomatske promjene urina, 30%-40% nefrotski sindrom, a manje od 10% brzo progresivni glomerulonefritis. Analiza urina, uz mjerenje serumskog kreatinina i MGF-e, bitna je u otkrivanju i praćenju bolesti i učinkovitosti terapije. U laboratorijskim nalazima najčešće se verificiraju proteinurija, hematurija i leukociturija. Unatoč pretragama urina i krvi za postavljanje konačne dijagnoze ključna je biopsija bubrega. Histopatološka dijagnoza se donosi na temelju pregleda svjetlosnim i elektronskim mikroskopom te imunofluorescencija. Nakon prve klasifikacije WHO-a iz 1974. i njenih modifikacija 1982. te 1985., predložena je 2003. godine nova (Tablica 1). Obuhvaća samo glomerularne promjene koje dijeli u 6 klasa, a vaskularne i tubulointersticijske promjene posebno se opisuju ako su prisutne. Uz klasifikaciju glomerulopatije procjenjuje se i indeks aktivnosti te indeks kroničnosti glomerularnih i tubulointersticijskih promjena(65-67).

Neuropsihijatrijski SLE (NPSLE) sindromi mogu zahvatiti i centralni i periferni živčani sustav. U manje od 40% slučajeva neuropsihijatrijski simptomi izravno su povezani s aktivnosti same bolesti (primarni NSPLE), a ostatak s liječenjem, infekcijama, metaboličkim poremećajima (sekundarni NSPLE)(68). Američko udruženje reumatologa (*engl. American College of Rheumatology, ACR*) objavio je 1999. definicije 19 NPSLE sindroma(69). Najčešće među njima su glavobolja, uglavnom migrenska ili tenzijska, kognitivna disfunkcija, poremećaji raspoloženja i anksiozni poremećaji. S druge strane među akutnim manifestacijama najveću incidenciju imaju epileptički napadaji, najčešće izolirani generalizirani kloničko-tonički grčevi, te cerebrovaskularni incidenti, najčešće ishemijski inzult i TIA(68). Rjeđi su poremećaji perifernog živčanog sustava, a mogu biti zahvaćeni kranijalni i periferne živci s motornim, senzornim ili miješanim ispadima. Osim već spomenutih blažih psihijatrijskih poremećaja, kao posljedica SLE-a pojavljuju se i teži poput psihoze. U 80% slučajeva ona se pojavi u prvoj godini bolesti, često kao prva manifestacija, ali s dobrim dugoročnim ishodom nakon imunosupresivne terapije(70).

Afekcija gastrointestinalnog sustava pojavljuju se u oko 40 % oboljelih od SLE-a, kao posljedica same bolesti, lijekova ili infekcija imunosuprimiranih pacijenata(71). Moguća je zahvaćenost bilo kojeg dijela sustava poput već navedenih aftoznih ulceracija u usnoj šupljini, ezofagealnih ulceracija, mezenterijalnog vaskulitisa, tromboze mezenterijalnih krvnih žila, pankreatitisa, bolesti jetre te

peritonitisa(30, 56). Akutni pankreatitis pojavljuje se u oko 5-10% oboljelih s većom smrtnosti od pankreatitisa u općoj populaciji. Zanimljivo ni kortikosteroidi, ni azatioprin nisu povezani s razvojem pankreatitisa, već aktivnost bolesti(30, 56). Jedna je studija pokazala prisutnost upale peritoneuma u 60-70% bolesnika, ali je tek 10% bilo prepoznato klinički(71). Povišeni jetreni enzimi česti su u oboljelih, a najčešće su povezani uz steatozu jetre, reaktivne nespecifične hepatocitne promjene te promjene zbog toksičnosti lijekova(72).

Poremećaji krvne slike su česta i raznolika pojava SLE-u. Mogu biti od blagih do životno ugrožavajućih. Više od 50% oboljelih u jednom trenutku razvije anemiju. Najčešća je anemija kronične bolesti s blago sniženim vrijednostima hemoglobina, koja često perzistira više godina. Sideropenična je anemija uglavnom posljedica gastrointestinalnog krvarenja ili menoragije. Treća najčešća je autoimuna hemolitička anemija koja se pojavljuje u 5-14% pacijenata, obično kao posljedica djelovanja „toplil“ IgG protutijela(73). Prevalencija leukopenije (<4000 leukocita po mm³) je 22-41%, ali različita istraživanja nisu pronašla povezanost leukopenije s povećanom vjerojatnošću razvoja infekcije(74). Retrospektivna studija Rivere i sur. pokazala je da se limfopenija pojavi u jednom trenutku tijekom bolesti u 93% pacijenata, da je pri dijagnozi bolesti češća od drugih abnormalnosti krvne slike te povećanu aktivnost bolesti uz broj limfocita manji od 1500 po μ L(73, 75). Neutropenija se pojavljuje u 20-40% pacijenata, ali teška neutropenija je rijetka. Ipak, povezana je sa značajnim rizikom od razvoja težih infekcija(74). Slično tome i trombocitopenija je relativno česta s prevalencijom 7-30%, ali rijetko je teška i rijetko uzrokuje značajna krvarenja(73). Limfadenopatija s obično bezbolnim i mekanim limfnim čvorovima pojavljuje se u oko 60% slučajeva SLE-a generalizirano ili lokalno, najčešće aksilarno(73).

Pluća su najčešće zahvaćena u vidu promjena na pleuri koje se pojavljuju u 30-60% pacijenata. Uglavnom se radi o pleuritisu praćenom oštrom boli pri dubokom udahu ili pleuralnom izljevu koji je često bilateralan, ali malen, rijetko vidljiv na rendgenu. Predominantno je eksudativan s povišenim brojem limfocita ili neutrofila s niskom razinom glukoze i komplementa. Pneumonitis je rijetka, ali teška plućna manifestacija lupusa, a može se pojaviti u akutnom ili kroničnom obliku. Osim ovih bolesti u sklopu SLE-a se pojavljuju i plućna hipertenzija, plućna embolija (osobito u antifosfolpidnom sindromu), bolesti bronhalnog stabla i druge(56, 76).

SLE može zahvatiti bilo koji sloj srčane stijenke: perikard, endokard ili miokard. Perikardijalni izljev kao posljedica perikarditisa najčešća je manifestacija, a uglavnom je riječ o transudativnom izljevu. Miokarditis je klinički vidljiv u 10%, ali obdukcijske studije otkrivaju da je prisutan u 40% oboljelih od SLE-a. Ultrazvučno se u do 60% oboljelih od SLE-a mogu vidjeti, uglavnom blage, promjene na zaliscima u obliku zadebljanja, sterilnih vegetacija i disfunkcije zalistka. Od tih promjena za lupus je osobito karakterističan verukozni, sterilni, Libman-Sacksov endokarditis koji najčešće zahvaća mitralni i aortalni zalistak(77, 78). Proces ateroskleroze ubrzani su u oboljelih od SLE-a što rezultira povećanom incidencijom koronarne arterijske bolesti, cerebrovaskularne bolesti i periferne arterijske bolesti. Tako studija Manzi i surr pokazuje da žene u dobi od 35 do 44 godina imaju čak 50 puta veći

rizik od infarkta miokarda u odnosu na istu populacijsku grupu u Framinghamskoj studiji(79). Razlog ovakve povećane incidencije posljedica je i veće zastupljenosti klasičnih rizičnih faktora poput hipertenzije, dijabetesa melitusa, metaboličkog sindroma, preuranjene menopauze, kronične bubrežne insuficijencije i inzulinske rezistencije (56, 80).

Infekcije su česta komplikacija SLE-a te najčešći uzrok hospitalizacije i mortaliteta. Najčešće su virusne infekcije, a slijede ih bakterijske čiji udio je oko 40%(81). Mali dio čine parazitarne i gljivične infekcije. Problematično je razlikovanje infekcije od egzacerbacije same bolesti osobito zbog potrebe liječenja infekcija imunosupresivnom terapijom(56).

Oboljeli od SLE-a imaju veći rizik od razvoja hematoloških malignih bolesti, osobito non-Hodgkinovog limfoma, ali i karcinoma pluća, hepatokarcinoma i karcinoma mokraćnog mjehura dok je rizik od karcinoma prostate manji (82, 83).

Tablica 1. WHO i ISN/RPS histopatološka klasifikacija lupusnog nefritisa

Tip	WHO klasifikacija	ISN/RPS klasifikacija
I	Normalni glomeruli	Minimalni menzagijski LN
II	Mezangijski glomerulonefritis	Mezangijski proliferativni LN
III	Fokalni proliferativni glomerulonefritis	Fokalni LN
IV	Difuzni proliferativni glomerulonefritis	Difuzni LN
V	Membranski glomerulonefritis	Membranski LN
VI	Glomeruloskleroza	Uznapredovali sklerozirajući LN

Modificirano prema Morović-Vergles, Šalamon(84)

3.4. Laboratorijski testovi

Laboratorijski testovi su važan alat u dijagnosticiranju SLE-a, procijeni aktivnosti bolesti, nadziranju odgovora na terapiju te ocjeni zahvaćenosti određenih organa/organskih sustava. Važnu ulogu pri tome ima mjerenje razine određenih protutijela.

Antinuklearna protutijela (*engl. antinuclear antibodies, ANA*) su protutijela usmjerena protiv različitih elemenata stanične jezgre. Povišena serumska ANA imaju visoku osjetljivosti od 93%, ali i nisku specifičnost za SLE. Naime ANA su povišena i različitim drugim autoimunim bolestima poput sklerodermije, Sjogrenovog sindroma, miješane bolesti vezivnog tkiva i drugih. Osim toga ANA mogu biti povišena i u organ specifičnim autoimunim bolestima, kroničnim infekcijama, kao posljedica uzimanja nekih lijekova, ali i u zdravih pojedinaca(85, 86). Test indirektno imunoflorescencije (IIF) najosjetljiviji je test mjerenja razine serumskih ANA za otkrivanje bolesti. Pri njemu pozitivan titar

1:160 u 95% slučajeva razlikuje oboljelog od SLE-a od zdravih osoba (u zdravih su titrovi obično niži). Osim titra očitava se i uzorak bojenja. Za razliku od IIF-a, drugi testovi poput ELISA-e i Western blota nisu toliko osjetljivi, ali omogućuju specificiranje na koje jezgrene antigene protutijela reagiraju(87).

Protutijela na dvostruku uzvojnici DNA (*engl. anti double-stranded DNA autoantibodies, anti ds-DNA*) zbog specifičnosti od 97% u slučaju pozitivnog nalaza značajno pridonose postavljanju dijagnoze SLE-a, ali negativni nalaz ovih protutijela ne može isključiti prisutnost bolesti(88). Iako njihova razina u većine korelira s aktivnošću bolesti, postoje i pacijenti s trajno povišenom razinom ovih protutijela (89, 90). Slično tome više serumske razine koreliraju i s aktivnošću lupusnog nefritisa, a visoki titrovi češći su u glomerulonefritisu tipa IV u odnosu na druge tipove prema WHO patološkoj klasifikaciji lupusnih nefritisa (88, 91, 92).

Anti Ro/SSA i anti La/SSB protutijela mogu se naći u SLE-u, Sjogrenovom sindromu, polimiozitisu/dermatomiozitisu, sistemskoj sklerozi i nekim drugim sistemskim upalnim bolestima vezivnog tkiva. U oboljelih od SLE-a anti Ro/SSA protutijela pozitivna su 10-50% slučajeva, a anti La/SSB u 10 do 20%(87). Prolaze tranplacentarnu barijeru te dovode do poremećaja srčanog provodnog sustava u novorođenčadi(93). Osim toga povezana su i sa subakutnim kožnim lupusom(87).

Anti Sm i anti RNP protutijela su usmjerena na male ribonukleoproteine - snRNP-ove. Dok se anti-Sm mogu naći samo u SLE-u, anti RNP protutijela se uz SLE pronalaze i u oboljelih od drugih autoimunih bolesti, osobito miješanoj bolesti vezivnog tkiva(87).

Antifosfolipidna protutijela značajna su zbog svoje uloge u istoimenim sindromu koji je obilježen hiperkoagulacijom s posljedičnim ponavljajućim dominantno venskim, rjeđe arterijskim trombozama te preuranjenim porodima, pobačajima, rađanjem djece s niskom porođajnom težinom. Protutijela se mogu naći u 20-40% oboljelih od SLE-a, a antifosfolipidni sindrom, u ovom slučaju sekundarni, razvije 50-70% bolesnika koji imaju protutijela(94). Dokazuju se lupus antikoagulantnim testom, ELISA-om za antikardiolipinska protutijela i ELISA-om na anti-beta2 glikoprotein I(86).

U SLE-u jednu od ključnih uloga imaju imunokompleksi, a aktivacija komplementa je jedna od posljedica njihovog nastajanja. Zbog toga se mjerenje aktivnosti komplementa koristi u dijagnozi bolesti, praćenju aktivnosti bolesti te posljedično prilagodbi terapije(95). U kliničkoj praksi obično se prate razine C3 i C4 komponenti komplementa i ukupna hemolitička aktivnost komplementa CH₅₀. Niske vrijednosti navedenih parametara koreliraju s povećanom aktivnosti bolesti. Uz to značajno niske vrijednosti C3 i C4 češće su prisutne u pacijenata s lupusnim nefritsom, nego u oboljelih od SLE-a bez zahvaćenosti bubrega(96-99).

Upala prisutna u SLE-u, osobito u egzacerbaciji, dovodi do sinteze reaktanata akutne faze, stoga njihovim mjerenjem možemo pratiti razvoj i jačinu upalnog procesa. Mjere se obično C-reaktivni proteina (CRP) te brzina sedimentacija eritrocita (SE)(86). Sedimentacija eritrocita, unatoč svojoj nespecifičnosti, bitan je marker aktivnosti bolesti u bolesnika sa SLE-om bez infekcije. Vrijednost 25-

30mm/s može se uzeti kao granična vrijednost u oboljelih od SLE-a. Bitno je istaknuti da na brzinu sedimentacije eritrocita utječu brojni faktori poput broja i oblika eritrocita, koncentracije imunoglobulina te činjenicu da se sama brzina relativno sporo mijenja nakon promjene aktivnosti bolesti(86, 100). S druge strane CRP nije uvijek prikladan za mjerenje aktivnosti same bolesti, ali razine više od 10mg/l mogu biti znak teže egzacerbacije u bolesnika bez prateće infekcije. Vrijednosti CRP-a iznad 50-60 mg/l u odsutnosti serozitisa ili artritisa, u kojima je značajno povišen, upućuju prije svega na infekciju(100).

Oboljeli od SLE-a često imaju i poremećaje krvne slike što je opisano u odlomku o znakovima i simptomima.

Budući da SLE često i teško zahvaća bubrege, potrebno je pratiti rutinske laboratorijske nalaze za njihovu funkciju: serumski kreatinin, ureju, minutna glomerularna filtracija, pregled sedimenta urina te 24 satnu proteinuriju.

U slučaju potrebe analiziraju se i sinovijalna tekućina, pleuralni izljev, perikardijalni izljev, cerebrospinalna tekućina(86).

3.5. Klasifikacijski kriteriji

Sisteimski eritemski lupus je bolest složene patogeneze s raznolikom kliničkom slikom što otežava postavljanje dijagnoze. Stoga su razvijeni klasifikacijski kriteriji za standardizaciju kohorti u istraživanjima, a koji se koriste i u rutinskom poslu kao pomoć pri postavljanju dijagnoze. Kriteriji obuhvaćaju određene simptome i znakove vezane uz različite organske sustave te za bolest specifične i nespecifične laboratorijske nalaze (101). U cijelom su se svijetu više desetljeća koristili klasifikacijski kriteriji Američkog reumatološkog društva iz 1982. godine koji su revidirani 1997. godine. Sadrže 11 kriterija od kojih minimalno 4 treba biti prisutno odjednom ili kumulativno za postavljanje dijagnoze(102, 103). S obzirom na nedostatke ovih kriterija i bolje poznavanje simptoma, znakova, laboratorijskih pretraga, Američko društvo reumatologa i Europska liga protiv reumatizma zajednički su 2019. donijeli nove kriterije. Oni se sastoje od barem jednog pozitivnog ANA titra kao obveznog ulaznog kriterija, te od simptoma i znakova, od kojih je svaki težinski bodovan i smješten u jednu od 7 kliničkih ili 3 imunološke kategorije(101).

3.6. Liječenje

Farmakološka terapija temelj je liječenja SLE-a. Cilj terapije je postići remisiju znakova i simptoma, spriječiti egzacerbacije i trajna oštećenja organa, svesti nuspojave lijekova na minimum te poboljšati kvalitetu života bolesnika. U liječenju se koriste antimalarici, nesteroidni protupalni lijekovi

(NSAID), glukokortikoidi, imunosupresivni i biološki lijekovi te lijekovi za liječenje komorbiditeta (hipolipemici, hipoglikemici, antihipertenzivi) (104).

Antimalarici, osobito hidroksiklorokin preporučeni su u liječenju svih bolesnika oboljelih od SLE-a zbog niza povoljnih učinaka: smanjenje učestalosti egzacerbacija, produljenje života bolesnika, povoljan učinak na profil lipida te povoljan učinak na prokoagulantno stanje u bolesnika sa sekundarnim antifosfolipidnim sindromom. S terapijom treba početi što ranije po postavljanju dijagnoze te ju treba trajno nastaviti ukoliko nema nuspojava. Najvažnija nuspojava je oštećenje mrežnice zbog čega su potrebne redovite oftalmološke kontrole(105).

Lijekovi iz NSAID skupine zbog svog analgetskog i protuupalnog djelovanja imaju ulogu uglavnom u liječenju blažih simptoma poput artralgija, mialgija, glavobolje, vrućice, blagih serozitisa.

Glukokortikoidi dovode do brzog kliničkog poboljšanja, ali zbog njihovih izrazitih nuspojava pri dužem uzimanju, dugoročni cilj treba biti smanjenje dnevne doze ili potpuno ukidanje u bolesnika u kojih je to moguće. Niske doze prednizolona peroralno (0,1-0,2mg/kg/dan) mogu se koristiti za blaže kliničke slike otporne na liječenje drugim lijekovima. U slučaju teške egzacerbacije bolesti s potencijalnim oštećenjem organa (npr. lupsni nefritis, neurolupus) intravenski se primjenjuju visoke, takozvane pulsne doze metilprednizolona kroz 3 dana (106, 107).

Imunosupresivni lijekovi omogućuju smanjenje doze glukokortikoida te sprječavaju nastanak egzacerbacija. Koji od predstavnika ove skupine upotrijebiti, ovisi o manifestaciji bolesti, dobi i generativnom statusu pacijenta i planiranju trudnoće. O azatioprinu i metotreksatu treba razmišljati kada hidrosiklorokin i/ili glukokortikoid nisu dovoljni za kontrolu aktivnosti bolesti. Azatioprin se koristi i kao terapija održavanja u lupsnom nefritisu nakon inicijalne pulsne terapije ciklofosfamidom. Mikofenolat-mofetil (MMF) pokazao se posebno učinkovitim u liječenju lupsnog nefritisa, kako o indukciji remisije tako i u održavanju remisije. Problem je njegov teratogen učinak(104, 108). Ciklofosfamid je posebno obrađen u odlomku „Ciklofosfamid u liječenju SLE-a“. Od bioloških lijekova u SLE-u su se učinkovitim pokazali oni koji djeluju na B-limfocite, belimumab i rituksimab. Belimumab se pokazao djelotvornim prije svega u bolesnika sa afekcijom kože i mišićno-koštanog sustava, dok se rituksimab koristi „off-label“ za teške egzacerbacije bolesti (104, 106).

3.7.Ciklofosfamid u liječenju sistemskog eritemskog lupusa

Ciklofosfamid je alkilirajući i citotoksični lijek koji se umeće unutar dvostruke uzvojnice DNA i veže na DNA proteine te time uzrokuje smrt stanice koja može nastupiti u bilo kojoj staničnoj fazi. Ovo se očituje i u imunskom sustavu kroz supresivno djelovanje na B i T limfocite, osobito

pomagačke (CD4⁺)(109).

Ovaj se lijek dobro apsorbira primijenjen peroralno te postiže slične vršne koncentracije kao kad je primijenjen intravenski. Ciklofosfamid je neaktivna tvar koja se u jetri prevodi u aktivne metabolite. Poluvrijeme eliminacije je oko 6 h, a ciklofosfamid i njegovi metaboliti izlučuju se ponajprije bubrezima. Prolazi cerebrospinalnu i transplacentarnu barijeru te se izlučuje u majčino mlijeko(110). U liječenju SLE-a ciklofosfamid se primjenjuje za teške egzacerbacije s potencijalnim oštećenjem organa: lususnom nefritisu, NPSLE-u i teškom sistemskom vaskulitisu (106).

Najčešće je primjenjivan protokol američkog nacionalnog instituta za zdravstvo (*engl. National Health institute, NIH*) tzv. NIH protokol s intravenskom primjenom 0,5-1g/m² jednom mjesečno kroz 6 mjeseci, nakon čega slijede doze u tromjesečnim intervalima kroz minimalno 1 godinu nakon remisije. Prema potrebi se pri početku terapije kombinira s pulsним dozama metilprednizolona(106). Houssiau i sur. su 2002. godine predstavili novi tzv. EURO-lupus režim, u kojem se ciklofosfamid primjenjuje intravenski 500mg svaka 2 tjedna kroz 3 mjeseca nakon čega slijedi terapija održavanja azatioprinom. Njihovo prvotno istraživanje kao i ono nakon 10 godina praćenja pacijenata s proliferativnim lususnim glomerulonefritisom pokazale su jednaku učinkovitost u smislu mortaliteta, bubrežne funkcije i općenite trajne oštećenosti različitih organskih sustava. Ipak treba imati na umu da su provedena na pacijentima s blagom do umjerenom bolesti.(106, 111, 112). Osim ovih intravenskih režima ranije je primjenjivan i peroralni režim koji je pokazalo se manje učinkovit.

Najčešće nuspojave su prolazna alopecija i mučnina. S druge strane rjeđe, ali teže su infekcije, gonadalna toksičnost, mijelotoksičnost i karcinogenost(110). Infekcije mogu biti bakterijske, oportunističke, reaktivacije herpes zostera, tuberkuloze, HPV-a. Prijevremeno zatajenje jajnika je dokazana nuspojava koja ovisi o dobi žene pri primjeni i ukupnoj dozi(113). Ciklofosfamid je povezan s povećanom incidencijom hematoloških onkoloških bolesti, displazije cerviksa i drugih malignoma(114).

Izraženo je i toksično djelovanje na mokraćni mjehur što se očituje povećanom incidencijom hemoragijskog cistitisa, ali i povećanog rizika od razvoja karcinoma mokraćnog mjehura. Zbog toga se često uz pulseve ciklofosfamida primjenjuje mesna (2- merkaptoetansulfonat natrij) koja ima zaštitnu ulogu vjerojatno eliminirajući toksične produkte iz mjehura(110, 115, 116).

4. Ciljevi rada i hipoteza

Ciklofosfamid se u oboljelih od SLE-a koristi u liječenju bolesnika s teškim egzacerbacijama bolesti s potencijalnim oštećenjem organa i u po život opasnim situacijama, najčešće zbog lupusnog nefritisa NPSLE-a. Cilj našeg istraživanja je opisati skupinu bolesnika liječenih ciklofosfamidom zbog SLE-a u Zavodu za kliničku imunologiju i reumatologiju Klinike za unutrašnje bolesti Medicinskog fakulteta u Zagrebu i KBC-a Zagreb. Budući je ciklofosfamid citotoksičan lijek povezan s povećanom incidencijom pojedinih zloćudnih novotvorina, posebno su iz navedene skupine izdvojene i analizirane dvije podskupine bolesnika:

1. podskupina bolesnika kojima je u razdoblju od primjene lijeka do datuma zadnje kontrole u Poliklinici Zavoda dijagnosticirana zloćudna novotvorina i
2. podskupina bolesnika kojima nije dijagnosticirana zloćudna novotvorine.

Za cijelu skupinu te za obje podskupine ciljevi su:

- odrediti deskriptivno-epidemiološke podatke
- opisati patohistološke dijagnoze lupusnih nefritisa
- opisati korištene protokole u terapiji ciklofosfamidom
- analizirati kumulativne doze ciklofosfamida koje su bolesnici primili
- opisati dijagnosticirane zloćudne novotvorine
- dobivene podatke usporediti s dostupnom svjetskom literaturom

U Zavodu za kliničku imunologiju i reumatologiju Klinike za unutrašnje bolesti Medicinskog fakulteta u Zagrebu i KBC-a Zagreb, koji je ujedno i referentni centar ministarstva zdravstva za SLE i srodne bolesti, liječi se veliki dio bolesnika oboljelih od SLE-a u Republici Hrvatskoj. Budući da se radi o relativno uniformnoj bjelačkoj populaciji očekujemo rezultate slične kao u sličnim istraživanjima u svijetu.

5. Ispitanici i metode

Ovaj rad je retrospektivna, deskriptivno-epidemiološka studija provedena na temelju baze podataka oboljelih od SLE-a Zavoda za kliničku imunologiju i reumatologiju Klinike za unutrašnje bolesti Medicinskog fakulteta u Zagrebu i KBC-a Zagreb. Baza podataka uključuje 2368 bolesnika sa SLE-om, sumnjom na SLE, bolestima preklapanja i miješanim bolestima vezivnog tkiva. U ovom istraživanju izdvojena je i analizirana sva dostupna medicinska dokumentacija (bolesnički kartoni i povijesti bolesti) te podatci dostupni u bolničkom informacijskom sustavu svih bolesnika u skupini koji boluju od SLE, a liječeni su ciklofosfamidom – što je uključivalo bolesnika sa SLE-om, sindromima preklapanja i miješanim bolestima vezivnog tkiva.

Iz medicinske dokumentacije izdvojeni su podatci o indikacijama za ciklofosfamid, primijenjenim protokolima i dozama ciklofosfamida, podatci o spolu, dobi pri dijagnozi SLE-a, dobi pri primjeni

ciklofosfamida, datumu zadnjeg pregleda, datumu dijagnoze te podatci o dijagnosticiranim zloćudnim novotvorinama.

Temeljem prikupljenih informacija u daljnju obradu su uključeni svi kartoni koji sadrže podatak da je bolesnik liječen ciklofosfamidom što uključuje bolesničke kartone svih bolesnika u kojima postoji podatak o anamnezi liječenja ciklofosfamidom i/ili postoji podatak da se liječenje aktualno provodi u određenom trenutku. Za pojedine bolesnike za koje je postojao anamnestički podatak o liječenju ciklofosfamidom nije bila dostupna sva dokumentacija niti su bili dostupni svi potrebni podatci iz vremena indiciranja ili provođenja terapije ciklofosfamidom zbog retrospektivne prirode studije. Valja napomenuti da su pojedini bolesnici primili više od jednog ciklusa ciklofosfamida. Iz daljnje analize isključeni su bolesnici kojima tijekom praćenja nije postavljena dijagnoza SLE-a. U sljedećem koraku su izdvojeni bolesnici kojima je indikacija za terapiju ciklofosfamidom bio lupusni nefritis budući da su činili znatnu većinu bolesnika liječenih ciklofosfamidom (87,2 %), a s ciljem postizanja veće uniformnosti skupine i radi lakše komparacije s podacima u dostupnoj svjetskoj medicinskoj literaturi. Ovime je definirana konačna skupina koja je analizirana u ovom radu. Ona je zatim podijeljena u dvije podskupine: podskupinu bez dijagnosticirane zloćudne novotvorine u razdoblju nakon terapije ciklofosfamidom i podskupinu s dijagnosticiranom zloćudnom novotvorinom nakon terapije ciklofosfamidom (Slika 1).

Za dob pri dijagnozi SLE-a, dob pri prvom indiciranju ciklofosfamida te za vrijeme praćenja od dijagnoze SLE-a i primljenog ciklofosfamida izračunati su minimalna i maksimalna vrijednost, medijan, prosjek i standardna devijacija, za skupinu svaki spol posebno.

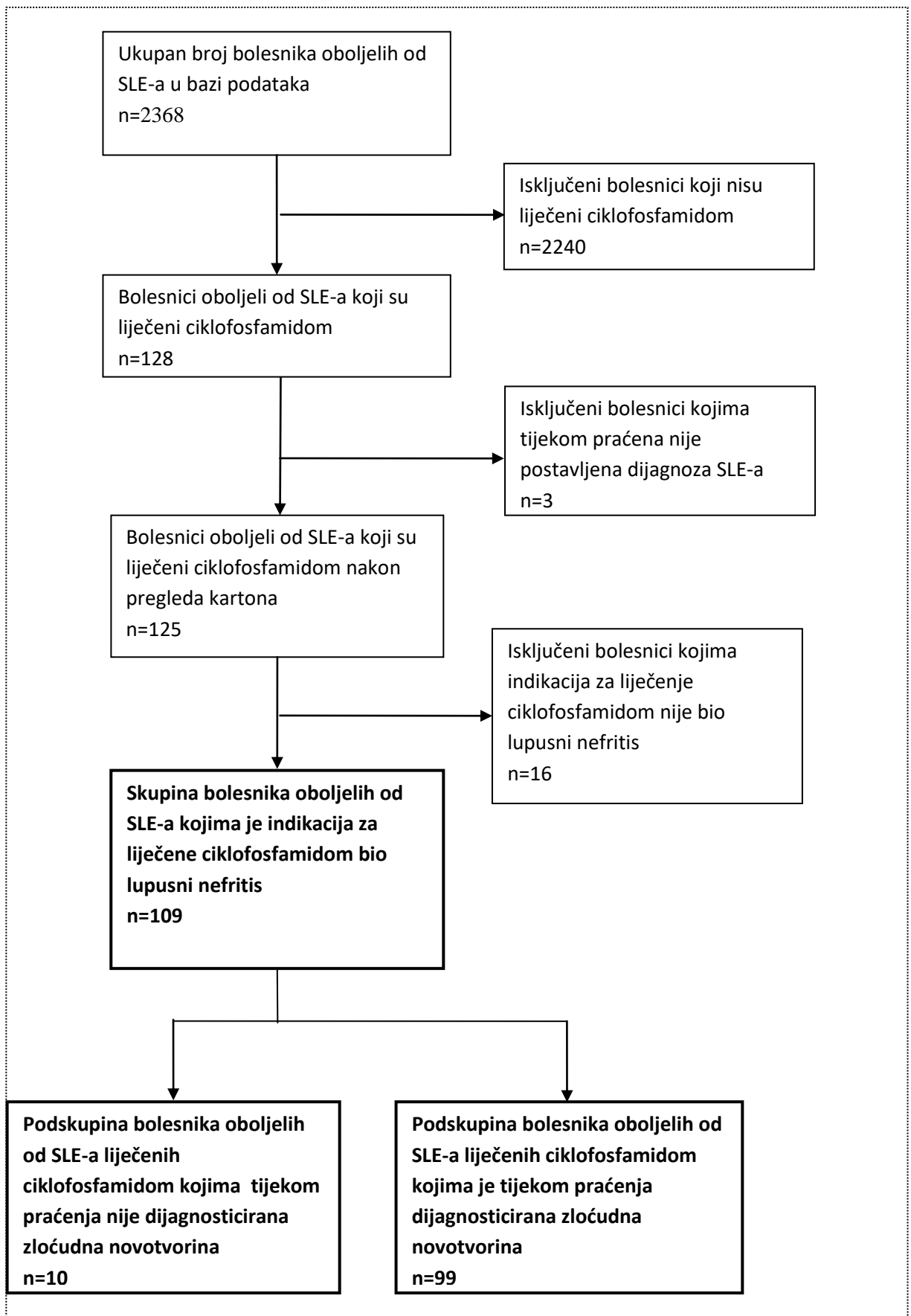
Ukoliko je bila poznata, zabilježena je histopatološka dijagnoza lupusnog nefritisa po WHO klasifikaciji, odnosno ISN/RPS klasifikaciji nakon (Tablica 1) te je određen ukupni broj pojedine patohistološke dijagnoze i raspodjela prema spolu.

Opisani su korišteni protokoli terapije ciklofosfamidom. Tijekom analize podataka primijećeno je da je NIH protokol (protokol Američkog nacionalnog instituta za zdravstvo) uz standardni način primjene s jednim pulsom mjesečno kroz šest mjeseci, nakon kojih slijedi terapija pulsevima od svaka tri mjeseca, često bio primjenjivan i bez tromjesečnih pulseva nakon početnih šest mjesečnih. Zbog razlike u konačnoj kumulativnoj dozi pri opisivanju ovog protokola formirane su dvije skupine: NIH protokol 6x1 g s tromjesečnim pulsevima (jedan puls mjesečno kroz šest mjeseci, zatim jedan puls svaka tri mjeseca u duljini ovisnoj o kliničkoj slici i laboratorijskim nalazima) te NIH protokol 6x1 puls bez tromjesečnih pulseva (jedan puls mjesečno kroz 6 mjeseci). Uz to su primjenjivani Euro-lupus protokol (500 mg svaka dva tjedna kroz tri mjeseca) te peroralni način primjene (u dozi od 50 do 150 mg dnevno). U skupinu ostalih režima uvršteni su svi načini primjene koji nisu odgovarali nijednom od prethodno navedenih protokola. Zatim je određen ukupan broj primjena svakog od protokola.

Za kumulativnu dozu ciklofosfamida izračunati su prosječna doza, standardna devijacija i medijan te maksimalna i minimalna vrijednost. Osim toga definiran je broj bolesnika koji je primio kumulativno

6 g ili manje od 6 g, te broj bolesnika koji je primio više od 6 g lijeka. Granica od 6 g određena je po uzoru na sličnu internacionalnu studiju u kojoj je analizirana povezanost ciklofosfamida i malignih bolesti u oboljelih od SLE-a(117). U bolesnika s peroralnom terapijom često nije bilo moguće precizno izračunati kumulativnu dozu jer je bio poznat samo mjesec početka ili kraja primjene terapije, ne i točan datum i varijacije u dozi lijeka u intervalu. Za ovakve slučajeve izračunata je minimalna doza koju su bolesnici sigurno primili (uz pretpostavku uzimanja propisane terapije) na način da, ako je bio poznat samo mjesec početka terapije u izračunu je za dan početka uzet zadnji dan u mjesecu, a ako je bio poznat samo mjesec kraja terapije za točan dan kraja terapije uzet je zadnji dan tog mjeseca. Ovaj pristup primijenjen je kako se iz obrade ne bi izgubili podatci za bolesnike koji su terapiju uzimali peroralno tijekom niza godina te time i primili najveće kumulativne doze među svim bolesnicima. Budući da je ova doza, samo minimalna doza koju su bolesnici primili (uz pretpostavku uzimanja propisane terapije), a ne i točna kumulativna doza, tj. postoji mogućnost da su primili veću dozu od ove, ovako izračunate minimalne doze primljenog ciklofosfamida iskorištene su samo u određivanju udjela bolesnika s primljenom dozom većom od 6 g, ne i u računanju prosječne kumulativne doze skupine i podskupina. U podskupini s dijagnosticiranom zloćudnom novotvorinom opisane su vrste novotvorina te su izračunati maksimalna, minimalna vrijednost, medijan, prosjek i standardna devijacija vremena proteklog od postavljanja dijagnoze SLE-a i primjene ciklofosfamida do postavljanja dijagnoze zloćudne novotvorine.

Podatci su statistički obrađeni u računalnom programu Microsoft Excel 2007.



Slika 1. Plan istraživanja

6. Rezultati

6.1. Broj bolesnika, podjela u podskupine, raspodjela prema spolu

U bazi podataka oboljelih od SLE-a Zavoda za kliničku imunologiju i reumatologiju Klinike za unutrašnje bolesti Medicinskog fakulteta u Zagrebu i KBC-a Zagreb koji je ujedno i Referentni centar Ministarstva zdravstva za SLE i srodne bolesti ukupno je 2368 bolesnika. Na temelju podatka u bazi izdvojeno je 128 bolesnika koji su liječeni ciklofosfamidom, 104 žene i 14 muškaraca (Slika 1). Pregledom sve dostupne medicinske dokumentacije iz daljnje obrade isključena su tri bolesnika kojima tijekom praćenja nije postavljena dijagnoza SLE-a. Zatim su isključena četiri bolesnika kojima je indikacija za terapiju ciklofosfamidom bio NPSLE, šest kojima je indikacija bila aktivnost bolesti te šest s nepoznatom indikacijom. Na ovaj način formirana je i analizirana konačna skupina od 109 bolesnika koji boluju od SLE i kojima je indikacija za terapiju ciklofosfamidom bio lupusni nefritis (Slika 1). Navedena skupina brojala je 85/109 žena (77,98 %) i 24/109 muškarca (22,02 %). Omjer žena prema muškarcima u skupini bio je 3,54:1. Definirana skupina podijeljena je u dvije podskupine. Jednu podskupinu bolesnika, kojima je dijagnosticirana zloćudna novotvorina nakon terapije ciklofosfamidom, koja je brojala 10/109 (9,17%) bolesnika, od kojih je bilo 8/10 (80 %) žena i 2/10 (20 %) muškarca (omjer 4:1). Drugu podskupinu, bez dijagnoze zloćudno novotvorine, činilo je preostalih 99/109 (90,83 %) bolesnika od kojih je bilo 77/99 (77,78 %) žena i 22 (22,22 %) muškarca (omjer 3,5:1) (Slika 1).

6.2. Dob pri postavljanju dijagnoze SLE-a

U skupini bolesnika liječenih ciklofosfamidom dob pri postavljanju dijagnoze SLE-a bila je poznata za 98 od 109 bolesnika (77 žena i 21 muškarca). Za 11 bolesnika (8 žena i 3 muškarca) nije bilo podataka o dobi pri postavljanju dijagnoze SLE-a zbog retrospektivne prirode istraživanja. Raspon dobi u pri postavljanju dijagnoze SLE-a u skupini bio je od 4 do 70 godina, prosječna dob bila je 29,44 godine sa standardnom devijacijom 13,80 godina te medijanom 26,50 godina (Tablica 2). Najzastupljenije dobno skupine bile su od 20. do 29. godine s 26/98 bolesnika (26,53 %) te od 10. do 19. godine s 25/98 bolesnika (25,51 %) (Tablica 3).

U podskupini bolesnika s dijagnosticiranom zloćudnom novotvorinom podatci o dobi pri postavljanju dijagnoze SLE-a bili su poznati za svih 10 bolesnika. Raspon dobi bio je od 14 do 47 godina, prosječna dob 32,50 godina sa standardnom devijacijom 12,47 te medijanom 33 godine.

U podskupini bolesnika bez dijagnosticirane zloćudne novotvorine podatci o dobi pri postavljanju dijagnoze SLE-a bili su poznati za 88 od 99 bolesnika. Najmlađa dob pri postavljanju dijagnoze bila je 4 godine, najstarija 70 godina. Prosječna dob bila je 29,09 godina sa standardnom devijacijom 13,97 i

medijanom 25,5 godina.

Tablica 2. Dob pri postavljanju dijagnoze SLE-a.

	n	Raspon dobi (god.)	Medijan dobi (god.)	Prosječna dob (god.)	Standardna devijacija
Podskupina s dg. novotvorine	10	14-47	33	32,50	12,47
Podskupina bez dg. novotvorine	88	4-70	25,50	29,09	13,97
Skupina	98	4-70	26,50	29,44	13,80

dg. – dijagnosticirana

Tablica 3. Zastupljenost pojedinih dobno-spolnih skupina.

Dobna skupina	M (%)	Ž (%)	Uk.
0-9	2 (9,52 %)	1 (1,30 %)	3 (3,06 %)
10-19	6 (28,57 %)	19 (24,68 %)	25 (25,51 %)
20-29	4 (19,05 %)	22 (28,57 %)	26 (26,53 %)
30-39	4 (19,05 %)	17 (22,08 %)	21 (21,43 %)
40-49	3 (14,29 %)	12 (15,58 %)	15 (15,31 %)
50-59	2 (9,52 %)	3 (3,90 %)	5 (5,10 %)
60-69	0 (0 %)	2 (2,60 %)	2 (2,04 %)
70-79	0 (0 %)	1 (1,30 %)	1 (1,02 %)
	21	77	98

6.3. Vrijeme praćenja nakon postavljanja dijagnoze SLE-a

Za 97/109 (88,99 %) bolesnika bilo je moguće odrediti vrijeme praćenja od postavljanja dijagnoze SLE-a. Za 12/109 (11,00 %) bolesnika to nije bilo moguće zbog nedostatka podatka o vremenu postavljanja dijagnoze SLE-a. Prosječno vrijeme praćenja za skupinu bilo je 14,84 godine sa standardnom devijacijom 9,42 i medijanom 14 godina (Tablica 4).

U podskupini bolesnika s dijagnosticiranom novotvorinom vrijeme praćenja od postavljanja dijagnoze SLE-a bilo je moguće odrediti za 9/10 (90 %) bolesnika. Najkraći period praćenja trajao je 9 godina, a najdulji 38 godina. Prosječna duljina trajanja praćenja bila je 18,67 godina sa standardnom devijacijom 8,37 i medijanom 16 godina. (Tablica 4)

U podskupini bez dijagnosticirane novotvorine vrijeme praćenja bilo je moguće odrediti za 88/99 (88,89 %) bolesnika. Najkraće vrijeme praćenja bilo je 3 mjeseca, najdulje 50 godina. Prosječna duljina trajanja praćenja bila je 14,44 godine sa standardnom devijacijom 9,48 i medijanom 14 godina (Tablica 4).

Tablica 4. Vrijeme praćenja od postavljanja dijagnoze SLE-a.

	n	Raspon duljine praćenja (god.)	Medijan duljine praćenja (god.)	Prosječna duljina praćenja (god.)	Standardna devijacija
Podskupina s dg. novotvorine	9	9-38	16	18,67	8,37
Podskupina bez dg. novotvorine	88	3 mjeseca-50	14	14,44	9,48
Skupina	97	0-50	14	14,84	9,42

dg. – dijagnosticirana

6.4. Broj primjena ciklofosfamida i patohistološki tipovi lupusnog nefritisa

U cijeloj skupini (109 bolesnika) ciklofosfamid bio je indiciran i primijenjen 154 puta. U 72/109 (66,06 %) bolesnika indiciran je jedanput, u 29/109 (26,61 %) dva puta te u 8/109 (7,34 %) tri puta.

U podskupini bolesnika s dijagnosticiranom novotvorinom u 7/10 (70,00 %) bolesnika ciklofosfamid je indiciran jednom te u 3/10 (30,00 %) dva puta. U navedena 3 bolesnika kojima je ciklofosfamid primijenjen dva puta novotvorine su bile dijagnosticirane nakon obje primjene ciklofosfamida. U jednog bolesnika dijagnosticiran je karcinom bronha, u jednog karcinom mokraćnog mjehura te u jednog cervikalna intraepitelna neoplazija trećeg stupnja (CIN III).

U podskupini bez dijagnosticirane novotvorine u 65/99 (65,66 %) bolesnika ciklofosfamid je indiciran jednom, u 26/99 (26,26 %) dva puta te u 9/99 (8,08 %) tri puta (Tablica 5).

U 36 od 37 bolesnika kojima je terapija ciklofosfamidom indicirana više od jedanput pri svakoj primjeni indikacija je bilo aktivan lupusni nefritis, dok u jednog bolesnika indikacija pri prvoj primjeni terapije nije bila poznata, a pri drugoj je bila nefritis bez poznate patohistološke dijagnoze (PHD).

Patohistološka dijagnoza lupusnog nefritisa bila je poznata u 60/109 (55,05 %) bolesnika. Od 60 PHD-a, 37 dijagnoza je postavljeno prema WHO klasifikaciji. Najzastupljeniji je bio lupus nefritis tip IV, u 25/37 (67,57 %) te tip V u 10/36 (27,03 %) bolesnika (Tablica 6). U preostala 23 slučaja patohistološke dijagnoze postavljene su prema ISN/RPS klasifikaciji. Prema ISN/RPS klasifikaciji također je najzastupljeniji bio tip IV nefritisa koji je dijagnosticiran u 17/23 (73,91 %) bolesnika. Tip III i IV/V bili su dijagnosticirani svaki u 3/23 (13,04 %) bolesnika (Tablica 7).

Očekivano i sukladno preporukama tipovi I, II i VI, i po WHO i ISN/RPS klasifikaciji, nisu bili liječeni ciklofosfamidom.

Tablica 5. Broj primjena ciklofosfamida po bolesniku.

	CYC* indiciran jedanput (%)	CYC indiciran dva puta (%)	CYC indiciran tri puta (%)	Ukupno
Podskupina s dg. novotvorine	7 (70,00%)	3 (30,00 %)	0 (0 %)	10
Podskupina bez dg. novotvorine**	65 (65,66 %)	26 (26,26 %)	8 (8,08 %)	99
Skupina	72 (66,06 %)	27 (26,61 %)	8 (7,34 %)	109

*CYC-ciklofosamid; **dg.-dijagnosticirane

Tablica 6. Zastupljenost pojedinih tipova nefritisa u skupni svih bolesnika. Dijagnoze postavljene po WHO klasifikaciji.

PHD	M (%)	Ž (%)	Skupina (%)
Nefritis tip I	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
Nefritis tip II	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
Nefritis tip III	0 (0 %)	2 (6,06 %)	2 (5,41 %)
Nefritis tip IV	3 (75,00 %)	22 (66,67 %)	25 (67,57 %)
Nefritis tip V	1 (25,00 %)	9 (27,27 %)	10 (27,03 %)
Nefritis tip VI	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
Ukupno	4	33	37

PHD - patohistološka dijagnoza

Tablica 7. Zastupljenost pojedinih tipova nefritisa u skupni svih bolesnika. Dijagnoze postavljene po ISN/RPS klasifikaciji.

PHD	M (%)	Ž (%)	Skupina (%)
Nefritis tip I	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
Nefritis tip II	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
Nefritis tip III	2 (22,2 %)	1 (7,14 %)	3 (13,04 %)
Nefritis tip IV	5 (55,56 %)	12 (85,71 %)	17 (73,91 %)
Nefritis tip IV/V	2 (22,22 %)	1 (7,14 %)	3 (13,04 %)
Nefritis tip VI	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
Ukupno	9	14	23

PHD - patohistološka dijagnoza

6.5. Dob pri primjeni ciklofosfamida i vrijeme proteklo od postavljanja dijagnoze SLE-a do primjene ciklofosfamida

U cijeloj skupini dob pri prvoj primjeni ciklofosfamida bila je poznata za 105/109 (96,33 %) bolesnika. Za 4/109 (3,67 %) bolesnika dob nije bila poznata retrospektivne prirode studije. Prosječna dob u skupini pri prvoj primjeni terapije ciklofosfamidom bila je 32,92 godine sa standardnom devijacijom 13,96 i medijanom 31 godinu (Tablica 8).

U podskupini s dijagnosticiranom novotvorinom dob pri prvoj primjeni ciklofosfamida bilo je moguće odrediti za 9/10 (90 %) bolesnika. Raspon dobi bio je od 17 do 47 godina, prosječna dob 34,00 godine sa standardnom devijacijom 11,61 i medijanom 36 godina (Tablica 8).

U podskupini bez dijagnosticirane novotvorine dob pri prvoj primjeni ciklofosfamida bila je poznata za 96/99 (96,97 %) bolesnika. Raspon dobi bio je 11-70 godina, prosječna dob 32,82 godine sa standardnom devijacijom 14,21 i medijanom 31 godinu (Tablica 8).

Vrijeme proteklo od postavljanja dijagnoze SLE-a do prve primjene ciklofosfamida bilo je moguće odrediti za 95/109 (87,16 %) bolesnika. Najvećem broju bolesnika, 47/95 (49,47 %) ciklofosfamid je primijenjen u istoj godini kada je i dijagnosticiran SLE. Ciklofosfamid je primijenjen u razdoblju od jedne do pet godina nakon postavljanja dijagnoze SLE-a u 26/95 bolesnika (27,37 %), u 13/95 (13,68 %) bolesnika od 6 do 10 godina te u 5/95 (5,26 %) bolesnika nakon više od 10 godina od postavljanja dijagnoze SLE-a. U 4/95 (4,21 %) bolesnika ciklofosfamid je primijenjen prije postavljanja dijagnoze SLE-a. (Tablica 9).

U podskupini s dijagnosticiranom novotvorinom vrijeme proteklo od postavljanja dijagnoze SLE-a do prve primjene ciklofosfamida bilo je moguće odrediti za 9/10 (90 %) bolesnika. (Tablica 9). Najvećem broju bolesnika, 6/9 (66,67%) bolesnika, primijenjen je u istoj godini kada je i postavljenja dijagnoza, u 2/9 (22,22%) bolesnika u razdoblju od jedne do pet godina te u 1/9 (11,11%) u razdoblju od šest do deset godina nakon postavljanja dijagnoze (Tablica 9). U podskupini bez dijagnosticirane novotvorine vrijeme proteklo od postavljanja dijagnoze SLE-a do prve primjene ciklofosfamida bilo je poznato za 86/99 (86,87 %) bolesnika. U 41/86 (47,67 %) bolesnika ciklofosfamid je primijenjen u istoj godini, u 24/86 (27,91 %) u razdoblju od jedne do pet godina nakon postavljanja dijagnoze SLE-a. U 4/86 (4,65 %) bolesnika dijagnoza SLE-a postavljena je nakon primjene ciklofosfamida (Tablica 9).

Tablica 8. Dob pri prvoj primjeni ciklofosfamida.

	n	Raspon dobi (god.)	Medijan dobi (god.)	Prosječna dob (god.)	Standardna devijacija
Podskupina s dg. novotvorine	9	17-47	36	34,00	11,61
Podskupina bez dg. novotvorine	96	11-70	31	32,82	14,21
Skupina	105	11-70	31	32,92	13,96

dg. – dijagnosticirana

Tablica 9. Vrijeme proteklo od postavljanja dijagnoze SLE-a do primjene ciklofosfamida

	Podskupina s dg. novotvorine (%)	Podskupina bez dg. novotvorine (%)	Skupina (%)
U istoj godini	6 (66,67 %)	41 (47,67 %)	47 (49,47 %)
1-5 godina	2 (22,22 %)	24 (27,91 %)	26 (27,37 %)
6-10 godina	1 (11,11 %)	12 (13,95 %)	13 (13,68 %)
>10 godina	0 (0%)	5 (5,81 %)	5 (5,26 %)
Prije dijagnoze SLE-a	0 (0%)	4 (4,65 %)	4 (4,21 %)
Ukupno	9	86	95

6.6. Vrijeme praćenja nakon prve primjene ciklofosfamida

Vrijeme praćenja nakon prve primjene ciklofosfamida bilo je moguće odrediti za 103/109 (94,50 %) bolesnika dok za 6/109 (5,50 %) bolesnika nije bilo poznato vrijeme pri prvoj primjeni ciklofosfamida obzirom da su podatci za primjenu ciklofosfamida bili razvidni samo kao anamnestički podatak u dostupnoj medicinskoj dokumentaciji. U skupini je prosječna duljina praćenja bila 12,01 godinu sa standardnom devijacijom 8,21, a medijanom 11,28 godina.

U podskupini s dijagnosticiranom novotvorinom vrijeme praćenja bilo je poznato za svih 10 bolesnika. Najkraće trajanje praćenja nakon prve primjene ciklofosfamida bilo je 2,7 godina, a najdulje 36 godina. Prosječno trajanje praćenja bilo je 17,60 godina sa standardnom devijacijom 9,4 godine i medijanom 16,84 godina.

U podskupini bez dijagnosticirane novotvorine vrijeme praćenja bilo je poznato za 95/99 (95,96 %) bolesnika. Najkraće trajanje praćenja nakon primjene ciklofosfamida bilo je 3 mjeseca, najdulje 33,6 godina. Prosječno duljina praćenja bila je 11,54 godine sa standardnom devijacijom 7,98 i medijanom 10,22 godine (Tablica 10).

Tablica 10. Skupina i podskupine bolesnika. Vrijeme praćenja nakon prve primjene ciklofosfamida.

	Raspon duljine praćenja (god.)	Medijan duljine praćenja (god.)	Prosječna duljina praćenja (god.)	Standardna devijacija	
Podskupina s dg. novotvorine	10	3-36	16,84	17,60	9,4
Podskupina bez dg. novotvorine	95	0-33	10,22	11,54	7,98
Skupina	103	0-36	11,28	12,01	8,21

dg. – dijagnosticirana

6.7. Primijenjeni protokoli terapije ciklofosamidom

Za 118/154 (76,62 %) primjena ciklofosamida bio je poznat protokol terapije. Najčešće primjenjivan protokol u skupini bolesnika bio je NIH protokol u 57/118 (48,30 %) primjena od čega 19/118 (16,10 %) bez tromjesečnih pulseva nakon šest mjesečnih pulseva i 38/118 (32,20 %) s tromjesečnim pulsevima nakon prvih šest mjesečnih pulseva. Ciklofosamid je propisan prema EURO-lupus protokolu u 3/118 (2,54 %) primjene, a u 32/118 (27,12 %) primjene peroralno. U 26/118 (22,03 %) primjena primijenjeni su režimi koji ne odgovaraju nijednom od navedenih protokola niti je lijek propisan peroralno.

U podskupini bolesnika s novotvorinom poznati su protokoli za 12/13 (92,31 %) primjena. Najčešće je primjenjivan NIH protokol u 6/12 (50,00 %) primjena od čega 1/15 (8,33 %) bez tromjesečnih pulseva te 5/12 (41,67 %) s tromjesečnim pulsevima nakon prvih 6 aplikacija lijeka. Peroralno je ciklofosamid bio propisan u 3/12 (25,00 %), ostali režimi također u 3/12 (25,00 %) primjena dok EURO-lupus protokol nije bio nijednom primijenjen u ovoj podskupini.

U podskupini bez dijagnosticirane novotvorine protokoli su bili poznati za 106/141 (75,18 %) primjena. Najčešće primjenjivan protokol bio je NIH protokol s 51/106 (48,11 %) od čega 18/106 (16,98 %) bez tromjesečnih pulseva te 33/106 (31,13 %) s tromjesečnim pulsevima. Peroralna terapija primijenjena je u 29/106 (27,36 %) primjena, a EURO-lupus protokol 3/106 (2,83 %) puta. U 23/106 (21,70 %) primjene korišten je režim koji ne odgovara nijednom protokolu.

Tablica 11. Skupina i podskupine. Protokoli terapije ciklofosamidom.

	NIH s tromjesečnim aplikacijama (%)	NIH bez tromjesečnih aplikacija (%)	Euro-lupus (%)	Peroralno (%)	Ostalo (%)	Uk.
Podskupina s dg. novotvorine	5 (41,67 %)	1 (8,33 %)	0 (0%)	3 (25,00 %)	3 (25,0 %)	12
Podskupina bez dg. novotvorine	33 (31,13 %)	18 (16,98 %)	3 (2,83 %)	29 (27,36 %)	23 (21,70 %)	106
Skupina	38 (32,20 %)	19 (16,10 %)	3 (2,54 %)	32 (27,12 %)	26 (22,03 %)	118

dg. – dijagnosticirana; *s i bez tromjesečnih pulseva

6.8. Kumulativna doza ciklofosfamida

Kumulativnu dozu ciklofosfamida koju su bolesnici primili tijekom praćenja bilo je moguće odrediti za 53/109 (48,62 %) bolesnika. Prosječna kumulativna doza u skupini bila je 14,22 g sa standardnom devijacijom 20,54 g i medijanom 8,4 g. U podskupini bolesnika s dijagnosticiranom novotvorinom prosječnu kumulativnu dozu bilo je moguće odrediti za 6/10 (60 %) bolesnika. Najveća primljena doza bila je 14 g, a najmanja 4,5 g. Prosječna kumulativna doza bila je 10,54 g sa standardnom devijacijom 4,20 g te medijanom 12,38 g.

U podskupini bez dijagnosticirane novotvorine kumulativna doza bila je poznata za 47/99 (bolesnika. Raspon doza bio je od 0,6 g do 105,25 g. Prosječna kumulativna doza u ovoj podskupini bila je 14,69 g sa standardnom devijacijom 21,75 te medijanom 8 g.

U skupini je, osim poznatih kumulativnih doza za 53 bolesnika, za još 19 bolesnika s peroralnom terapijom bilo moguće izračunati koja je minimalna doza ciklofosfamida koju su sigurno primili, uz pretpostavku uzimanja propisane peroralne terapije (način i svrha računanja minimalne primljene doze opisani su u odlomku Ispitanici i metode). Uzevši ove minimalne primljene kumulativne doze u obradu s poznatim kumulativnim dozama 23/73 (31,51 %) bolesnika primilo je do 6 g ciklofosfamida kumulativno, a 50/73 (68,49 %) bolesnika više od 6 g.

U podskupini s dijagnosticiranom novotvorinom, osim kumulativnih doza poznatih za 7 bolesnika, za još 3 bolesnika s peroralnom terapijom bile su poznate minimalne primljene doze te je 2/10 (20 %) bolesnika primilo do 6 g, a 8/10 (80 %) više od 6 g ciklofosfamida.

U podskupini bolesnika bez dijagnosticirane novotvorine u, uz definitivne kumulativne doze poznate za 47 bolesnika, za 16 bolesnika s peroralnom terapijom ciklofosfamida bilo je moguće izračunati minimalno primljenu dozu koja je u svih bolesnika bila veća od 6 g. Uzevši ove podatke u obzir 21/63 (33,33 %) bolesnika ove podskupine primilo je kumulativno do 6 g, a 42/63 (66,67 %) više od 6 g ciklofosfamida (Tablica 13).

Tablica 12. Kumulativne doze ciklofosfamida.

	n	Raspon kumulativne doze (g)	Medijan kumulativne doze (g)	Prosječna kumulativna doza (g)	Standardna devijacija
Podskupina s dg. novotvorine	6	4,5-14	12,38	10,54	4,20
Podskupina bez dg. novotvorine	47	0,6-105,25	8	14,69	21,75
Skupina	53	0,6-105,25	8,4	14,22	20,54

dg. – dijagnosticirana

Tablica 13. Broj bolesnika s primljenom kumulativnom dozom do 6 g i više od 6 g.

	6 g ili manje (%)	više od 6 g (%)	ukupno
Podskupina s dg. novotvorine	2 (20 %)	8 (80 %)	10
Podskupina bez dg. novotvorine	21 (33,33 %)	42 (66,67 %)	63
Skupina	23 (31,51 %)	50 (68,49 %)	73

dg. – dijagnosticirana

6.9. Patohistološke dijagnoze zloćudnih novotvorina i podjela po organima/organskim sustavima

Podskupinu s dijagnosticiranom zloćudnom novotvorinom činilo je 10 bolesnika, 8 žena i 2 muškarca. Ukupno je dijagnosticirano 12 zloćudnih novotvorina i jedno premaligno stanje, CIN I (cervikalna intraepitelna neoplazija prvog stupnja). U 3/10 (30 %) bolesnika dijagnosticirane su po dvije zloćudne novotvorine. U jedne žene su dijagnosticirani melanom i CIN III, u jedne dva bazocelularna karcinoma kože te u jedne difuzni B velikostanični limfom i nazofaringealni plazmacitom.

Ukupno je dijagnosticirano 3/12 (25 %) nemelanomskih karcinoma kože od čega su 2/12 (16,67 %) bili bazocelularni karcinomi i 1/12 (8,33 %) planocelularni karcinom. Melanom kože, karcinom bronha, mukoepidermoidni karcinom nepca te karcinom mokraćnog mjehura svaki su dijagnosticirani 1/12 (8,33 %) puta. 2/12 (16,67 %) novotvorine bile su hematološke novotvorine od čega 1/12 (8,33 %) difuzni B-velikostanični limfom te 1/12 (8,33 %) nazofaringealni plazmacitom, oba u iste bolesnice. U 3/12 (25,00 %) slučaja dijagnosticirana je cervikalna intraepitelna neoplazija trećeg stupnja (CIN III) (Tablica 14).

6.10. Dob pri postavljanju dijagnoze zloćudne novotvorine, vrijeme proteklo od postavljanja dijagnoze SLE-a i vrijeme proteklo od primjene ciklofosfamida do postavljanja dijagnoze zloćudne novotvorine

Dob pri postavljanju dijagnoze zloćudne novotvorine bila je poznata za 11/12 (91, 67 %) novotvorina. Raspon dobi bio je od 18 (CIN III) do 53 godine (nazofaringealni plazmacitom). Prosječna dob pri postavljanju dijagnoze novotvorine bila je 41,82 godine sa standardnom devijacijom 11,08 i medijanom 45,00 godina (Tablica 15).

Vrijeme proteklo od postavljanja dijagnoze SLE-a do postavljanja dijagnoze zloćudne novotvorine bilo je poznato u 11 slučajeva. Najkraći vremenski interval bio je 4 godine (CIN III), a najdulji 30 godina (CIN III). Prosječna duljina vremenskog perioda od postavljanja dijagnoze SLE-a do postavljanja dijagnoze zloćudne novotvorine bila je 10,64 godina sa standardnom devijacijom 7,70 i medijanom 10 godina (Tablica 15).

Vrijeme proteklo od prve primjene ciklofosfamida do postavljanja dijagnoze zloćudne novotvorine bilo je poznato za 10 novotvorina. Najkraći vremenski period od prve aplikacije ciklofosfamida do dijagnoze zloćudne novotvorine bio je jednu godinu (CIN III), a najdulji 28 godina (CIN III). Prosječna duljina navedenog perioda bila je 9,21 godinu sa standardnom devijacijom 8,14 i medijanom 7,25 godina (Tablica 15).

Tablica 14. Zloćudne novotvorine po zahvaćenim organima/organskim sustavima

	n (%)	M(%)	Medijan vremena od dg. SLE-a (n)*	Medijan vremena od primjene CYC-a (n)*	Kumulativna doza CYC-a, prosjek g (n)	Broj bolesnika s kumulativnom dozom >10 g (%)
Premaligne novotvorine						
CIN I	1 (100%)	/	25 (1)	2,6 (1)	4,50 (1)	0 (0 %)
Maligne novotvorine						
Nemelanomski karcinom kože	3 (25,00%)	1 (33,3%)	4 (2)	4 (2)	10 (3)	2/3 (66,67%)*
Melanom	1 (8,33%)	0	12 (1)	12 (1)	N	1/1 (100%)*
Karcinom bronha	1 (8,33%)	0	N	N	N	1/1 (100%)*
Mukoepidermoidni karcinom nepca	1 (8,33%)	0	14 (1)	14 (1)	12 (1)	1/1 (100%)
Karcinom mjehura	1 (8,33%)	1 (100%)	15 (1)	N	N	1/1 (100%)*
Hematološke novotvorine	2 (16,67%)	0	7 (2)	7,25 (2)	14 (2)	2/2 (100%)*
CIN III	3 (25,00%)	/	12 (3)	30 (3)	12,75 (1)	2/3 (66,67%)*
Sve maligne novotvorine	12	2 (16,7%)	10 (11)	7,25 (10)	10,54 (6)	7/9 (77,78%)

n - broj slučajeva; M – broj muškaraca; N – nepoznato; CIN – cervikalna intraepitelna neoplazija; CYC – ciklofosfamid

*vrijeme proteklo do dijagnoze novotvorine, u zagradi broj slučajeva za koje je bilo moguće odrediti proteklo vrijeme

**u izračun uzete uz kumulativne doze i minimalne primljene doze

***obje su novotvorine dijagnosticirane u istog bolesnika

Tablica 15. Vrijeme pri postavljanju dijagnoze zloćudne novotvorine, vrijeme proteklo od postavljanja dijagnoze SLE-a i vrijeme proteklo od prve primjene ciklofosfamida do postavljanja dijagnoze zloćudne novotvorine

	n	Raspon (god.)	Medijan (god.)	Prosijek (god.)	Standardna devijacija
Dob pri postavljanju dg. novotvorine	12	18-53	45	41,82	11,08
Vrijeme od postavljanja dg. SLE-a	11	4-30	10	10,64	7,70
Vrijeme od prve primjene CYC-a	10	1-28	7,25	9,21	8,14

7. Rasprava

Na temelju kliničkih istraživanja o djelovanju ciklofosfamida Američkog nacionalnog instituta za zdravstvo (NIH-a) provedenih u sedamdesetim i osamdesetim godinama 20. stoljeća, upotreba pulsne terapije ciklofosfamidom široko je prihvaćena kao standard liječena lopusnog nefritisa, ali i drugih manifestacija SLE-a. Nakon toga provedena su brojna istraživanja navedenog protokola, ali i drugih, novih protokola, poput osobito značajnog EURO-lupus protokola. U Europi i svijetu izrađene su i brojne studije o epidemiološkim karakteristikama oboljelih od SLE-a, odnosno bolesnika s lopusnim nefritisom kao i najčešće indikacije za terapiju ciklofosfamidom. Budući da je ciklofosamid citotoksičan lijek, provedene su i brojne studije o njegovoj sigurnosti/štetnosti, osobito o povezanosti s povećanom incidencijom zloćudnih novotvorina.

7.1. Raspodjela prema spolu

U našem istraživanju u cijeloj skupini bilo je 85 žena i 24 muškarca što čini omjer 3,54:1. U istraživanjima provedenim u drugim centrima koja su proučavala oboljele od lopusnog nefritisa poput onog Brugosa i suradnika provedena u Mađarskoj omjer je bio 7,53:1, a Sisoa i suradnika provedenog u Španjolskoj 8,5:1(118, 119). U studiji Ioannidisa i suradnika provedenoj na skupini bolesnika oboljelih od lopusnog nefritisa liječenih ciklofosfamidom omjer je bio 4,31:1(120). Veća zastupljenost muškaraca u našem istraživanju, kao i u navedenima u odnosu na uobičajeno navedeni omjer među spolovima u oboljelih od SLE-a od 8-15:1 mogla bi biti posljedica češće zahvaćenosti bubrega u muškaraca oboljelih od SLE-a u odnosu na žene. S druge strane veći udio muškaraca u našem istraživanju i u Ioannidisovom u usporedbi sa Brugasovom i Sisovim istraživanjima moglo bi se objasniti činjenicom što su njihova istraživanja obuhvatila oboljele od lopusnog nefritisa bez obzira koja je terapija primijenjena budući da se ciklofosamid koristi u terapiji najtežih oblika lopusnog nefritisa, osobito u tipu IV. Naime istraživanja poput Speckerovog i suradnika te Kiha i suradnika pokazuju veću učestalost težeg oblika lopusnog nefritisa među muškarcima te veću učestalost lopusnog nefritisa tip IV (121, 122). Liu i suradnici pokazali su da bi veća učestalost lopusnog nefritisa u muškaraca, ali i teža klinička iste, mogla biti povezana s određenim genskim polimorfizmima za estrogenski receptor koji su zastupljeniji u muškaraca(123).

7.2. Dob pri postavljanju dijagnoze SLE-a

Prosječna dob pri postavljanju dijagnoze SLE-a u našem istraživanju bila je $29,44 \pm 13,80$ godina s rasponom od 4 do 70 godina te su slične prosječnoj dobi pri postavljanju dijagnoze SLE-a u navedenom Brugasovom s 29,20 godina, Sisovom s $31,08 \pm 0,92$ godina, te u Ioannidisovom

istraživanju, koje je provedeno samo na oboljelima od lupusnog nefritisa liječenih ciklofosfamidom, s $28,7 \pm 14,30$ godina (118-120). U istraživanju Cerovca, provedenom također na temelju arhive Zavoda za kliničku imunologiju i reumatologiju KBC-a Zagreb, koja je obuhvatila sve oboljele od SLE-a prosječna dob pri postavljanju dijagnoze bila je $36,21 \pm 14,75$ (124). Slična dob pri postavljanju dijagnoze s istraživanjima u drugim europskim državama, a različita u odnosu na Cerovčevo istraživanje, koje je iz iste populacije, ali je obuhvatilo sve oboljele od SLE-a, mogla bi se objasniti većom zastupljenosti lupusnog nefritisa u dječjem SLE-u naspram adultnog što pokazuju meta-analiza i sustavni pregled Bundhuna o kliničkim razlikama dječjeg i adultnog SLE-a (125). Papadimitraki i Isenberg pokazuju slične rezultate u svojoj sistemskoj analizi prema kojoj se lupusni nefritis pojavljuje u 60-80% djece oboljele od SLE-a te u 35-50% osoba s adultnim SLE-om. Uz to prema njihovoj analizi lupusni nefritis u djece češće zahtjeva agresivno liječenje kortikosteroidima i imunosupresivnim lijekovima (126). U prilog ovom razlogu mlađe prosječne dobi u našem istraživanju ide i zastupljenost dobne skupine od 10 do 19 godina u našem istraživanju u usporedbi s istraživanjem Cerovca (26,79% prema 11,1%) (124).

7.3. Dob pri prvoj primjeni ciklofosfamida

Prosječna dob pri prvom indiciranju ciklofosfamida u našem istraživanju bila je $32,92 \pm 13,96$ godina. Prosječna dob pri dijagnozi lupusnog nefritisa u Sisovoj studiji bila je $28,82 \pm 0,90$ godina, u Brugosovoj $31,97$ godina, dok je u Ionadisovoj studiji prosječna dob pri nastupu nefritisa bila $32,9 \pm 14,7$ godina (118-120). Iako se ne radi o potpuno istim podacima, budući da se ciklofosfamid primjenjuje u teškim oblicima lupusnog nefritisa s potrebnim brzim djelovanjem, u pravilu je i u našem istraživanju bio indiciran pri postavljanju dijagnoze lupusnog nefritisa te možemo vidjeti vrlo slične podatke vezano za dob pri nastupu lupusnog nefritisa u našem istraživanju kao i u navedenim europskim istraživanjima.

Uspoređujući dob pri postavljanju dijagnoze SLE-a i pri indiciranju ciklofosfamida, najčešće je ciklofosfamid u našoj skupini bio indiciran u istoj godini kada je i postavljena dijagnoza SLE-a u 47 od 95 bolesnika (49,47%), zatim u razdoblju od jedne do pet godina nakon postavljanja dijagnoze u 26 od 95 bolesnika (27,37 %) dok je nakon više od šest godina od postavljanja dijagnoze SLE-a ciklofosfamid indiciran u 18 od 95 bolesnika (18,93 %). Najdulje vrijeme proteklo od postavljanja dijagnoze SLE-a do prve primjene ciklofosfamida bilo je 35 godina, a prosječno je proteklo $2,89 \pm 5,43$ godine. U Sisovoj studiji u 54% bolesnika dijagnoza lupusnog nefritisa postavljena je u istoj godini kada i SLE-a, a u 13% više od pet godina nakon dijagnoze SLE-a, prosječno razdoblje između bilo je $3,03 \pm 5,2$ godine (119). U Brugosovom istraživanju provedenom na bolesnicima oboljelim od lupusnog nefritisa liječenih citostatskom terapijom prosječno je proteklo 2,7 godina od postavljanja dijagnoze SLE-a do postavljanja dijagnoze lupusnog nefritisa (127). Iz navedenih podataka primjećuje se sličnost naših podataka s podacima iz europskih studija s napomenom da prosječna duljina proteklog

razdoblja ne ocrta pravi sliku nastupa lupusnog nefritisa u tijeku SLE-a budući da se u našoj studiji, a i u Sisovoj u oko polovice bolesnika lupusni nefritis manifestirao u istoj godini kada je i postavljena dijagnoza SLE-a.

7.4. Patohistološke dijagnoze lupusnog nefritisa

Budući da je naša studija obuhvatila vremensko razdoblje prije i nakon uvođenja ISN/RPS klasifikacije lupusnih nefritisa 2003. godine, 37 poznatih patohistoloških dijagnoza postavljeno je prema WHO klasifikaciji, a 23 prema ISN/RPS klasifikaciji. Najzastupljeniji tip prema WHO klasifikaciji bio je tip IV u 25 /37 bolesnika (67,57 %), zatim tip V u 10/37 bolesnika (27,03 %) te tip III u 2/37 bolesnika (5,41 %). Ioannidisovo istraživanje o relapsima uključilo je samo nefritise tip III i IV prema WHO klasifikaciji, od čega je 61,18% bolesnika bolovalo od lupusnog nefritisa tip IV, a od tipa III 38,82 % (120). Uspoređujući omjere samo nefritisa tip IV i III po WHO klasifikaciji u odnosu na Ioannidisovo istraživanje u našem istraživanju je znatno manje zastupljen tip III (2/27, odnosno 7,4%) u odnosu na zastupljenost tipa III u Ioannidisovom istraživanju (33/85, odnosno 38,82 %) Razlog ovom mogao bi biti što nam za 48/108 (55,56 %) bolesnika nisu bili poznati podatci biopsije među kojima se mogao „skrivati“ dio tip III lupus nefritisa. S druge strane zastupljenost tipa V s 10/37 (27,03 %) dijagnoza možda je posljedica prisutnih proliferativnih elemenata koji se mogu naći uz ovaj tip, što onda zahtjeva liječenje kao pri tipu III i IV. Drugi razlog bi mogao biti veća sklonost liječnika prema primjeni ciklofosfamidom u odnosu na ostale imunosupresivne lijekove i u čistom membranskom tipu s velikom proteinurijom budući da su i ciklofosfamid, mikofenolat-mofetil i azatioprin pokazali učinkovitost u ovom tipu lupusnog nefritisa (128).

Od 23 PHD-a postavljena prema ISN/RPS u našem istraživanju također je najzastupljeniji bio tip IV u 17/23 (73,91 %) te tip III i IV/V svaki po 3/23 (13,04 %). U Brugosovom istraživanju, među pacijentima koji su liječeni ciklofosfamidom lupusni nefritis tip IV prema ISN/RPS klasifikaciji dijagnosticiran je u 68,75 % bolesnika, dok je tip III dijagnosticiran u u 9,38 % bolesnika, u 15,63 % bolesnika tip V te tip I i tip VI u 3,13 % bolesnika(127). U Sisovoj studiji među bolesnicima liječenim citostatskom terapijom (60/75 ciklofosfamidom)dijagnoza lupus nefritisa postavljena je prema ISN/RPS klasifikaciji i to u 86,7 % bolesnika lupus nefritis tip IV, u 10,7 % nefritis tip III te u 2,67% nefritis tip V(119). Rezultati pokazuju sličnost zastupljenosti pojedinih tipova u našoj skupini s navedenim istraživanjima u Europi te je očekivano najveća zastupljenost tipa III i tipa IV koji su najteži oblici lupusnog nefritisa, te u pravilu zahtijevaju liječenje citostatskom terapijom, najčešće ciklofosfamidom(128).

7.5. Zloćudne novotvorine

U našoj skupini ukupno je dijagnosticirano 12 zloćudnih novotvorina i jedna premaligna novotvorina (CIN I) u 10 bolesnika. Najzastupljenije među novotvorinama bile su cervikalna intraepitalna neoplazija trećeg stupnja (CIN III) s 3/12 (25%) dijagnosticiranih slučajeva, nemelanomski karcinomi kože također s 3/12 (25 %). Dijagnosticirane su 2/12 hematološke novotvorine, jedan difuzni B-velikostanični limfom i jedan plazmacitom, obje u iste osobe. Ostale novotvorine dijagnosticirane su po jednom: karcinom mokraćnog mjehura, karcinom bronha mukoepidermoidni karcinom nepca i melanom.

U studiji koja je pratila ispitanike uključene u EURO-lupus studiju tijekom 10 godina od prvotne studije, u kojem je testiran EURO-lupus protokol u usporedbi s NIH protokolom u liječenju lupusnog nefritisa, dijagnosticirano je sedam zloćudnih novotvorina u 90 bolesnika od čega 2 karcinoma cerviksa, 2 karcinoma dojke te po 1 planocelularni karcinom kože, karcinom štitnjače i Burkittov limfom(112). Dan i suradnici su u svojoj studiji proučavali pojavu malignih novotvorina u bolesnika liječenih ciklofosamidom zbog različitih autoimunih bolesti te su pronašli 22 maligne novotvorine u 168 ispitanika od čega 9 nemelanomskih karcinoma kože, 1 uroepitelni karcinom, 4 hematološke novotvorine i 4 karcinoma drugih lokacija(129).

Iako ne možemo zaključivati o povećanom riziku od nastanka određenih novotvorina koje su dijagnosticirane u našoj skupini, primjećuje se da su u našoj i u navedenim studijama najčešće zastupljene novotvorine cerviksa, nemelanomski karcinomi kože, non-Hodgkinov limfom i karcinom mjehura. Dijagnoza CIN-ova, non-Hodgkinova limfoma te karcinoma pluća, što čini 41,67 % otkrivenih novotvorina u našoj studiji, odgovara podacima iz istraživanja o zloćudnim novotvorinama u oboljelih od SLE-a, bez obzira na lijekove korištene u liječenju bolesnika uključenih u studiju, koje uz povećan opći rizik za razvoj novotvorina, opisuju posebno povećan rizik od razvoja non-Hodgkinova limfoma, hepatobilijarnih karcinoma, karcinoma bronha, vulve i neoplastičnih promjena cerviksa u odnosu na opću populaciju(114, 130, 131). S druge strane zabilježeni karcinom mjehura i 3 nemelanomska karcinoma kože (33,3 % otkrivenih novotvorina u našoj studiji) odgovaraju podacima iz istraživanja o pojavi zloćudnih novotvorina u bolesnika liječenih ciklofosamidom zbog različitih autoimunih bolesti koja su opisuju povećan rizik od navedenih novotvorina te povećan rizik od sekundarne akutne leukemije(132-134). Prema navedenom, razvoj zloćudnih novotvorina u našoj skupini mogao bi biti posljedica SLE-a, što bi moglo biti vezano uz zajedničke rizične čimbenike (genetska predispozicija, UV zračenje, EBV), zajedničke patogenetske putove (abnormalni životni ciklus i aktivnost B-limfocita) i povećanu upalnu aktivnost u ovih bolesnika, te posljedica primjene ciklofosfamida zbog njegove citotoksične aktivnosti(114). Osim navedenoga još bi jedan potencijalni mehanizam nastanka malignoma u SLE-u mogla bi biti i veća podložnost razvoju malignoma vezanih uz onkogene viruse. Naime, danska retrospektivna studija pokazala je u oboljelih od SLE-a veći rizik razvoja novotvorina povezanih s virusima, naspram ostalih novotvorina. Ovo je osobito uočeno za

novotvorine vezane uz HPV (karcinom cerviksa, vulve, analnog kanala i nemelanomskih karcinoma kože) te novotvorina s potencijalnom povezanosti s virusnom infekcijom: non-Hodgkinov limfom (EBV), karcinom mjehura (poliomavirus), karcinom jetre (hepatitis virusi) (135). U našoj studiji dijagnosticirano je 6/12 (50 %) karcinoma koji se povezuju s HPV infekcijom te 2/12 (16,67 %) novotvorina potencijalno vezanih uz ostale viruse od čega jedan non-Hodgkinov imfom (moguće EBV) i jedan karcinom mokraćnog mjehura (poliomavirus) što bi također moglo upućivati na podložnost razvoju novotvorina vezanih uz onkogene virusa. Ipak u obzir treba uzeti i da, kao što je prethodno navedeno, studije pokazuju da su nemelanomski karcinomi kože, a osobito karcinom mjehura povezani s primjenom ciklofosfamida te je moguć utjecaj oba ova čimbenika.

7.6. Povezanost kumulativne doze ciklofosfamida i produljenog upalnog stanja s razvojem zloćudne novotvorine

Prosječna kumulativna doza ciklofosfamida koju su primili bolesnici s dijagnosticiranom novotvorinom u našem istraživanju bila je $10,54 \pm 4,20$ g s medijanom 12,38 g, a u skupini bez novotvorine $14,69 \pm 21,75$ g s medijanom 8 g. Iako je prosječna kumulativna doza u našoj studiji bila veća u podskupini bez dijagnosticirane novotvorine, razlog su četiri bolesnika koji su primali peroralnu terapiju i značajno „odskaču“ dozom s 64, 71, 86 i 105 g kumulativno. Prosječna kumulativna doza izuzevši ove bolesnike bila je $8,45 \pm 5$ g.

U Euro-lupus studiji šest od sedam novotvorina dijagnosticirano je u grupi s nižom dozom ciklofosfamida (EURO-lupus protokol) koja je primila prosječnu dozu 5,5 g (uključene su bile doze primljene zbog kasnijih egzacerbacija bolesti), a samo jedan je dijagnosticiran u grupi s višom dozom ciklofosfamida (NIH protokol) koja je prosječno primila 9,5 g. Ipak ova razlika nije bila statistički značajna (112). Bernatsky i suradnici u slučaj-kontroli studiji o karcinomima u bolesnika oboljelih od SLE-a liječenih ciklofosfamidom nisu pronašli povezanost s primljenom kumulativnom dozom ciklofosfamida. (117). S druge strane Hsu i suradnici su u sličnom istraživanju, provedenom u Tajvanu na 330 slučajeva novotvorina i 1320 kontrola, pronašli povezanost između pojavnosti novotvorina i kumulativne doze ciklofosfamida (136). Kao i prema različitim rezultatima navedenih studija i u našoj je teško odrediti povezanost kumulativne doze s pojavnosti novotvorina. Razlika između kumulativnih doza dviju podskupina je i nakon izuzimanja „stršećih“ doza iz izračuna bila samo 2 g (ekvivalent dva pulsa po NIH protokolu) što ne bi upućivalo na značajnu ulogu kumulativne doze u razvoju novotvorina u našoj skupini. Ovome u prilog idu i navedena četiri bolesnika s iznimno visokim primljenim dozama koja nisu razvila novotvorinu.

S druge strane povećan rizik od razvoja zloćudne novotvorine mogao bi biti povezan s određenim pragom kumulativne doze ciklofosfamida iznad koje se rizik značajno povećava što su pokazale studije na bolesnicima liječenih ciklofosfamidom zbog granulomatoze s poliangitisom i reumatoidnog artritisa (133, 134). Bernatsky je u već navedenoj studiji za prag uzео 6 g primljenog ciklofosfamida te

je u skupini s novotvorinom 66,7 % bolesnika primilo više od 6 g, a u skupini kontrola 62,5 %, ali razlika nije bila statistički značajna(117). U našem istraživanju zabilježena je veća razlika: u podskupini s novotvorinom 8/10 (80 %) bolesnika primilo je više od 6 g, a u skupini bez dijagnosticirane novotvorine 42/63 (66,66 %) bolesnika. Ipak, navedeno ne bi upućivalo na značajno izraženu ulogu ovog praga doze u razvoju novotvorina u našoj skupini. Kao što je već navedeno, osim utjecaja ciklofosfamida, pojava novotvorina u našoj skupini mogla bi biti povezana i sa samim karakteristikama SLE-a, među ostalima i s kroničnim upalnim stanjem koje je karakteristika ove bolesti. Autori EURO-lupus studije upalno su stanje kvantificirali brojem egzacerbacija lupusnog nefritisa. Ipak, u skupini pacijenata bez dodatne egzacerbacije bolesti nakon prvog liječenja ciklofosfamidom zloćudna novotvorina dijagnosticirana je u 8 % bolesnika, učestalost zloćudnih novotvorina bila je 8 %, a u skupini s minimalno jednom dodatnom egzacerbacijom u 7 % (112). U našoj studiji procjenu upalne aktivnosti slično bismo mogli kvantificirati brojem indiciranja ciklofosfamida koji bi upućivao na potrebu za dodatnom kontrolom aktivne bolesti te je u skupini s jednim indiciranjem ciklofosfamida dijagnosticirano 9 novotvorina na 72 bolesnika (12,5 %), a u skupini s dva ili više 3 na 37 bolesnika (8,1 %) što ne upućuje na značajnu razliku. Problem je u upotrebi broja indiciranja ciklofosfamida kao znaka upalne aktivnosti bolesti što je skupina kojoj je više puta indiciran ciklofosfamid imala i veću primljenu dozu ciklofosfamida, a s ovakvim problemom odvajanja utjecaja same bolesti od utjecaja ciklofosfamida susreli su se i autori drugih studija(117).

7.7. Dob pri dijagnozi, vrijeme proteklo od postavljanja dijagnoze SLE-a i primjene ciklofosfamida do postavljanja dijagnoze zloćudne novotvorine

Medijan dobi pri postavljanju dijagnoze zloćudne novotvorine u našoj skupini bio je 45 godina s rasponom od 18 do 53 godine, a medijan vremena proteklog od postavljanja dijagnoze SLE-a do dijagnoze novotvorine bio je 7,25 godina s rasponom od jedne do 28 godina. U već spomenutoj mađarskoj studiji Tarra i suradnika među bolesnicima oboljelima od SLE-a (15/28, 53,57 % bolesnika s novotvorinom liječilo se ciklofosfamidom) medijan dobi pri dijagnoze novotvorine bio je 47 godina s rasponom od 20 do 73 godine, a medijan vremena proteklog od postavljanja dijagnoze SLE-a do dijagnoze novotvorine 13 godina s rasponom od 1 do 45 godina(131). Medijan dobi pri postavljanju dijagnoze zloćudne novotvorine u multinacionalnoj studiji, provedenoj među bolesnicima oboljelim od SLE-a, Bernatskyja i suradnika bio je 43 godine, a medijan trajanja SLE-a u trenutku postavljanja dijagnoze 10 godina(130). U EURO-lupus studiji, za razliku od dvije prethodne provedene samo na bolesnicima liječenim ciklofosfamidom, medijan dobi pri dijagnozi novotvorine bio je 45 godina(112). Prema navedenim podacima primjećuju se ujednačeni rezultati medijana dobi pri postavljanju dijagnoze novotvorine u našoj studiji u usporedbi s studijama provedenim na oboljelima od SLE-a bez obzira na primijenjenu terapiju te isti medijan kao u studiji provedenoj među bolesnicima liječenih ciklofosfamidom zbog lupusnog nefritisa. U trenutku postavljanja dijagnoze novotvorine SLE je trajao

kraće u našoj studiji, osobito u odnosu na Tarrovu studiju. Medijan vremena proteklog od indiciranja terapije ciklofosamidom do postavljanja dijagnoze zloćudne novotvorine u našem istraživanju bio je 7,25 godina, a raspon od 1 do 28 godina. U EURO-lupus studiji prosječno vrijeme praćenja nakon prve doze ciklofosfamida bilo je 10 godina, u našem istraživanju 12,01 godinu, dok je medijan istog vremenskog perioda bio je 8,33 godine s rasponom od 11 mjeseci do 12,25 godina za EURO-lupus studiju(112). U studiji Dan i suradnika koja je uključivala bolesnike liječene ciklofosamidom zbog različitih autoimunih bolesti s medijanom primljene kumulativne doze ciklofosfamida 10,6 g (12,38 g u našoj podskupini s novotvorinom) medijan vremena proteklog od primjene ciklofosfamida do dijagnoze novotvorine bio je 4,7 godina s rasponom 0,25-22,25 godina(129). Medijan vremena proteklog od primjene ciklofosfamida do postavljanja dijagnoze novotvorine sličan je u našoj i EURO-lupus studiji, uz razliku u rasponu navedenog vremena zbog različitih priroda studija (EURO-lupus je „follow up“ studija nakon 10 godina), ali unatoč tome bez velike razlike u prosječnom vremenu praćenja. S druge strane kraći period od prve primjene ciklofosfamida do dijagnoze novotvorine u studiji Dana u odnosu na našu vjerojatno je posljedica uključivanja bolesnika oboljelih od različitih autoimunih bolesti te bolesnika starije životne u odnosu na našu kohortu (medijan 52,7 godina naspram 26,50) s posljedičnom kasnijom primjenom ciklofosfamida.

7.8. Cervikalna intraepitelna neoplazija

U našoj skupini zapažen je relativno visok udio cervikalne intraepitelne neoplazije trećeg stupnja (CIN III) s 3/12 (25 %) u odnosu na ukupan broj zloćudnih novotvorina, a sličan udio CIN-ovi su činili i u EURO-lupus studiji s 2/7 (28,6 %)(112). U našoj studiji još je dijagnosticirana i premaligna cervikalna intraepitelna neoplazija prvog stupnja (CIN I). Više je istraživanja pokazalo povezanost SLE-a s pojavom cervikalnih intraepitelnih neoplazija. Santana i suradnici opisali su u svojoj sustavnoj analizi, koja je obuhvatila 33 studije, povećanu incidenciju HPV infekcije i cervikalne displazije u oboljelih od SLE-a, ali ne i veću zastupljenost invazivnih karcinoma cerviksa(137). Prema studiji Klumba i suradnika prevalencija cervikalne intraepitelne neoplazije sedam puta je veća u žena oboljelih od SLE-a u odnosu na kontrole bez SLE-a, uzimajući u obzir rizične faktore kroz multivarijantnu analizu. Uz to je pokazala i veću učestalost CIN-ova u skupini liječenoj imunosupresivnom terapijom u odnosu na skupinu oboljelu od SLE-a bez imunosupresivne terapije u anamnezi(138). Ogenovski i suradnici su u svojoj prospektivnoj kohortnoj studiji pronašli statistički značajno veću incidenciju cervikalnih intraepitelnih neoplazija u skupini liječenoj ciklofosamidom i prednizonom u odnosu na onu liječenu samo prednizonom i kombinacijom prednizona i azatioprina. (139). Iako priroda naše studije ne omogućava procjenu učestalosti cervikalnih neoplazija svih stupnjeva u odnosu na opću populaciju, činjenica da su činile četvrtinu svih dijagnosticiranih maligniteta u skladu je s brojnim istraživanjima o povećanoj učestalosti ovih promjena u žena oboljelih od SLE-a, osobito liječenih ciklofosamidom te bi mogla ukazati na dodatnu važnost

redovitim ginekoloških pregleda i probira PAPA testom u ove skupine žena, ali i eventualnog cijepljenja protiv HPV-a obzirom da je nastup lopusnog nefritisa i primjena ciklofosfamida u žena u našoj skupini u 18,29 % bila prije 20. godine života (u trenutku pisanja studije u Republici Hrvatskoj dostupno je besplatno cijepljenje protiv HPV-a za osnovnoškolce i srednjoškolce).

8. Zaključak

Od 2368 bolesnika u bazi podataka oboljelih od SLE-a Zavoda za kliničku imunologiju i reumatologiju Klinike za unutrašnje bolesti Medicinskog fakulteta u Zagrebu i KBC-a Zagreb 128 bolesnika liječeno je ciklofosfamidom od čega je 109 bolesnika liječeno ciklofosfamidom zbog lupusnog nefritisa. Omjer žena i muškaraca u skupini bio je 3,54:1 što odgovara drugim sličnim studijama te je manji u odnosu na uobičajeno spominjani omjer u bolesnika oboljelih od SLE-a (8-15:1). Prosječna dob pri postavljanju dijagnoze SLE-a ($29,44 \pm 13,80$ god.), dob pri prvoj primjeni ciklofosfamida ($32,92 \pm 13,96$ god.) te vrijeme proteklo od postavljanja dijagnoze SLE-a do prve primjene ciklofosfamida (49,47 % u istoj godini) slični su podatcima podudarajućih europskih studija. Od pojedinih patohistoloških tipova lupusnog nefritisa očekivano je najzastupljeniji bio tip IV s 67,57 % dijagnoza po WHO klasifikaciji i 73,91 % po ISN/RPS klasifikaciji te udjeli pojedinih PHD-a odgovaraju podatcima odgovarajućih europskih studija.

U skupini je ukupno dijagnosticirano 12 zloćudnih novotvorina u 9 bolesnika te jedna premaligna novotvorina (CIN I). Iako ne možemo zaključivati o povećanom riziku od nastanka pojedinih novotvorina u našoj studiji, dio dijagnosticiranih novotvorina poklapa se sa sličnom europskom studijom (cervikalne intraepitelne neoplazije, non-Hodgkinov limfom, nemelanomski karcinomi kože). U 5/12 (41,67%) slučajeva dijagnosticirane su zloćudne novotvorine za koje postoji veći rizik od nastanka u oboljelih od SLE-a u odnosu na opću populaciju (non-Hodgkinov limfom, karcinom bronha, tri slučaja CIN III), a u 4/12 (33,33 %) slučajeva maligne bolesti koji se povezuju s primjenom ciklofosfamida (karcinom mjehura i tri nemelanomska karcinoma kože). Dijagnosticirano je 3/12 (25 %) CIN III i jedan premaligni CIN I što je u skladu s istraživanjima o povećanom riziku od ovih promjena u oboljelih od SLE-a, osobito liječenih ciklofosfamidom te ukazuje na dodatnu važnost redovitih ginekoloških pregleda i cijepljenja protiv HPV-a. Prosječna kumulativna doza ciklofosfamida, ni s izuzimanjem stršćih vrijednosti doza u podskupini bez dijagnoze novotvorine ($10,54 \pm 4,20$ g), nije bila znatno različita u odnosu na dozu podskupine s novotvorinom ($8,45 \pm 5$ g) što, kao i podatci određenih drugih istraživanja, ne bi upućivalo na povezanost kumulativne doze s razvojem zloćudne novotvorine. U podskupini s dijagnosticiranom novotvorinom 80 % bolesnika primilo je više od 6 g ciklofosfamida, a u podskupini bez dijagnosticirane novotvorine 66,7 % bolesnika što je, iako ne značajno, veća razlika u odnosu na internacionalnu studiju Bernatskyja i suradnika. Dob pri dijagnozi zloćudne novotvorine (medijan 45 god.) bila je slična rezultatima studija među bolesnicima liječenim ciklofosfamidom zbog lupusnog nefritisa, ali i studijama među oboljelima od SLE-a koje nisu obuhvatile samo bolesnike liječene ciklofosfamidom zbog lupusnog nefritisa. Dok je vrijeme proteklo od postavljanja dijagnoze SLE-a do dijagnoze novotvorine (medijan 7,5 god.) bilo kraće od vremena u navedenim istraživanjima, vrijeme proteklo od primjene ciklofosfamida (medijan 7,25 godina) se podudaralo.

Iako se navedeni rezultati koji opisuju bolesnike oboljele od zloćudnih novotvorina iz našeg

istraživanja podudaraju sa sličnim istraživanjima u Europi te s podacima o povećanom riziku za razvoj određenih novotvorina u oboljelih od SLE-a, ali i novotvorina povezanih s ciklofosfamidom, deskriptivna priroda našeg istraživanja te mali broj ispitanika ne omogućuju konačne zaključke o pojavi zloćudnih novotvorina unutar proučavane populacije u Republici Hrvatskoj. Kako bi se oni mogli donijeti, potrebno je, uz primjenu inferencijske statistike, uključiti u istraživanje i druge velike reumatološke centre u Republici Hrvatskoj.

8. Zahvale

Zahvaljujem mentoru doc. dr. sc. Mislavu Cerovcu na pomoći u izradi diplomskog rada davanjem savjeta i poticanjem na razmišljanje uz poštivanje mojih ideja.

Hvala Ani na pomoći u prikupljanju podataka i velikoj potpori.

Veliko hvala mojim roditeljima Mariji i Ivici na beskrajnoj podršci koja je bila neprekidna, od upisa fakulteta do završetka pisanja diplomskog rada. Hvala i braći Matiji i Ivanu te prijateljima na pomoći kadgod mi je bila potrebna.

9. Literatura

1. Duarte C, Couto M, Ines L, Liang MH. Epidemiology of Systemic Lupus Erythematosus. In: G. LR, editor. *Systemic Lupus Erythematosus* (5th edition). Academic Press 2010. str. 673-96.
2. Pons-Estel GJ, Ugarte-Gil MF, Alarcon GS. Epidemiology of systemic lupus erythematosus. *Expert Rev Clin Immunol.* 2017;13(8):799-814.
3. Somers EC, Marder W, Cagnoli P, Lewis EE, DeGuire P, Gordon C, i sur. Population-based incidence and prevalence of systemic lupus erythematosus: the Michigan Lupus Epidemiology and Surveillance program. *Arthritis Rheumatol.* 2014;66(2):369-78.
4. Arnaud L, Fagot JP, Mathian A, Paita M, Fagot-Campagna A, Amoura Z. Prevalence and incidence of systemic lupus erythematosus in France: a 2010 nation-wide population-based study. *Autoimmun Rev.* 2014;13(11):1082-9.
5. Hermansen ML, Lindhardsen J, Torp-Pedersen C, Faurschou M, Jacobsen S. Incidence of Systemic Lupus Erythematosus and Lupus Nephritis in Denmark: A Nationwide Cohort Study. *J Rheumatol.* 2016;43(7):1335-9.
6. Rees F, Doherty M, Grainge M, Davenport G, Lanyon P, Zhang W. The incidence and prevalence of systemic lupus erythematosus in the UK, 1999-2012. *Ann Rheum Dis.* 2016;75(1):136-41.
7. Murphy G, Isenberg D. Effect of gender on clinical presentation in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford).* 2013;52(12):2108-15.
8. Feldman CH, Costenbader KH. Epidemiology and classification of systemic lupus erythematosus. In: C HM, editor. *Rheumatology*. Philadelphia: Elsevier, Inc; 2019. str. 1091-5.
9. Brunner HI, Gladman DD, Ibanez D, Urowitz MD, Silverman ED. Difference in disease features between childhood-onset and adult-onset systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2008;58(2):556-62.
10. Tucker LB, Uribe AG, Fernandez M, Vila LM, McGwin G, Apte M, i sur. Adolescent onset of lupus results in more aggressive disease and worse outcomes: results of a nested matched case-control study within LUMINA, a multiethnic US cohort (LUMINA LVII). *Lupus.* 2008;17(4):314-22.
11. Mak A, Cheung MW, Chiew HJ, Liu Y, Ho RC. Global trend of survival and damage of systemic lupus erythematosus: meta-analysis and meta-regression of observational studies from the 1950s to 2000s. *Semin Arthritis Rheum.* 2012;41(6):830-9.
12. Yurkovich M, Vostretsova K, Chen W, Avina-Zubieta JA. Overall and cause-specific mortality in patients with systemic lupus erythematosus: a meta-analysis of observational studies. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2014;66(4):608-16.
13. Gupta S, Kaplan M. Pathogenesis of systemic lupus erythematosus. In: Hochberg MC, editor. *Rheumatology*. Philadelphia: Elsevier, Inc; 2019. str. 1154-9.

14. Alarcon-Segovia D, Alarcon-Riquelme ME, Cardiel MH, Caeiro F, Massardo L, Villa AR, i sur. Familial aggregation of systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis, and other autoimmune diseases in 1,177 lupus patients from the GLADEL cohort. *Arthritis Rheum.* 2005;52(4):1138-47.
15. Kuo CF, Grainge MJ, Valdes AM, See LC, Luo SF, Yu KH, i sur. Familial Aggregation of Systemic Lupus Erythematosus and Coaggregation of Autoimmune Diseases in Affected Families. *JAMA Intern Med.* 2015;175(9):1518-26.
16. Deapen D, Escalante A, Weinrib L, Horwitz D, Bachman B, Roy-Burman P, i sur. A revised estimate of twin concordance in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1992;35(3):311-8.
17. Fike AJ, Elcheva I, Rahman ZSM. The Post-GWAS Era: How to Validate the Contribution of Gene Variants in Lupus. *Curr Rheumatol Rep.* 2019;21(1):3.
18. Deng Y, Tsao BP. Advances in lupus genetics and epigenetics. *Curr Opin Rheumatol.* 2014;26(5):482-92.
19. Petri M. Sex hormones and systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2008;17(5):412-5.
20. Grimaldi CM. Sex and systemic lupus erythematosus: the role of the sex hormones estrogen and prolactin on the regulation of autoreactive B cells. *Curr Opin Rheumatol.* 2006;18(5):456-61.
21. Rider V, Jones SR, Evans M, Abdou NI. Molecular mechanisms involved in the estrogen-dependent regulation of calcineurin in systemic lupus erythematosus T cells. *Clin Immunol.* 2000;95(2):124-34.
22. Petri M, Kim MY, Kalunian KC, Grossman J, Hahn BH, Sammaritano LR, i sur. Combined oral contraceptives in women with systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med.* 2005;353(24):2550-8.
23. Costenbader KH, Feskanich D, Stampfer MJ, Karlson EW. Reproductive and menopausal factors and risk of systemic lupus erythematosus in women. *Arthritis Rheum.* 2007;56(4):1251-62.
24. Sanchez-Guerrero J, Karlson EW, Liang MH, Hunter DJ, Speizer FE, Colditz GA. Past use of oral contraceptives and the risk of developing systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1997;40(5):804-8.
25. Buyon JP, Petri MA, Kim MY, Kalunian KC, Grossman J, Hahn BH, i sur. The effect of combined estrogen and progesterone hormone replacement therapy on disease activity in systemic lupus erythematosus: a randomized trial. *Ann Intern Med.* 2005;142(12 Pt 1):953-62.
26. Chua MHY, Ng IAT, Cheung MWL, Mak A. Association Between Cigarette Smoking and Systemic Lupus Erythematosus - an Updated Multivariate Bayesian Metaanalysis. *J Rheumatol.* 2019.
27. Wang J, Pan HF, Ye DQ, Su H, Li XP. Moderate alcohol drinking might be protective for systemic lupus erythematosus: a systematic review and meta-analysis. *Clin Rheumatol.* 2008;27(12):1557-63.
28. Rubin RL. Drug-induced lupus. *Expert Opin Drug Saf.* 2015;14(3):361-78.
29. Duarte-García A, Fang H, To CH, Magder LS, Petri M. Seasonal variation in the activity of systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 2012;39(7):1392-8.

30. Hochberg MC. Rheumatology. Seventh edition. ed. Philadelphia, PA: Elsevier, Inc.; 2019. 2 volume p.
31. Hasan T, Pertovaara M, Yli-Kerttula U, Luukkaala T, Korpela M. Seasonal variation of disease activity of systemic lupus erythematosus in Finland: a 1 year follow up study. *Ann Rheum Dis*. 2004;63(11):1498-500.
32. Li ZX, Zeng S, Wu HX, Zhou Y. The risk of systemic lupus erythematosus associated with Epstein-Barr virus infection: a systematic review and meta-analysis. *Clin Exp Med*. 2019;19(1):23-36.
33. Gupta S, Kaplan MJ. The role of neutrophils and NETosis in autoimmune and renal diseases. *Nat Rev Nephrol*. 2016;12(7):402-13.
34. Mozaffarian N, Wiedeman AE, Stevens AM. Active systemic lupus erythematosus is associated with failure of antigen-presenting cells to express programmed death ligand-1. *Rheumatology (Oxford)*. 2008;47(9):1335-41.
35. Ding D, Mehta H, McCune WJ, Kaplan MJ. Aberrant phenotype and function of myeloid dendritic cells in systemic lupus erythematosus. *J Immunol*. 2006;177(9):5878-89.
36. Jin O, Kavikondala S, Sun L, Fu R, Mok MY, Chan A, i sur. Systemic lupus erythematosus patients have increased number of circulating plasmacytoid dendritic cells, but decreased myeloid dendritic cells with deficient CD83 expression. *Lupus*. 2008;17(7):654-62.
37. Lovgren T, Eloranta ML, Bave U, Alm GV, Ronnblom L. Induction of interferon-alpha production in plasmacytoid dendritic cells by immune complexes containing nucleic acid released by necrotic or late apoptotic cells and lupus IgG. *Arthritis Rheum*. 2004;50(6):1861-72.
38. Tsokos GC, Lo MS, Costa Reis P, Sullivan KE. New insights into the immunopathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Nat Rev Rheumatol*. 2016;12(12):716-30.
39. Kowal C, Degiorgio LA, Lee JY, Edgar MA, Huerta PT, Volpe BT, i sur. Human lupus autoantibodies against NMDA receptors mediate cognitive impairment. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103(52):19854-9.
40. Juang YT, Wang Y, Solomou EE, Li Y, Mawrin C, Tenbrock K, i sur. Systemic lupus erythematosus serum IgG increases CREM binding to the IL-2 promoter and suppresses IL-2 production through CaMKIV. *J Clin Invest*. 2005;115(4):996-1005.
41. Karrar S, Cunninghame Graham DS. Abnormal B Cell Development in Systemic Lupus Erythematosus: What the Genetics Tell Us. *Arthritis Rheumatol*. 2018;70(4):496-507.
42. Teruel M, Alarcon-Riquelme ME. The genetic basis of systemic lupus erythematosus: What are the risk factors and what have we learned. *J Autoimmun*. 2016;74:161-75.
43. Meffre E. The establishment of early B cell tolerance in humans: lessons from primary immunodeficiency diseases. *Ann N Y Acad Sci*. 2011;1246:1-10.
44. Girschick HJ, Grammer AC, Nanki T, Vazquez E, Lipsky PE. Expression of recombination activating genes 1 and 2 in peripheral B cells of patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2002;46(5):1255-63.

45. Hervé M, Isnardi I, Ng YS, Bussel JB, Ochs HD, Cunningham-Rundles C, i sur. CD40 ligand and MHC class II expression are essential for human peripheral B cell tolerance. *J Exp Med*. 2007;204(7):1583-93.
46. Lahita RG. *Systemic lupus erythematosus*. 5th ed. Amsterdam ; Boston: Elsevier/Academic Press; 2011. xix, 1134 str. p.
47. Lahita RG. *The Clinical Presentation of Systemic Lupus Erythematosus*. 2005.
48. Cleanthous S, Tyagi M, Isenberg DA, Newman SP. What do we know about self-reported fatigue in systemic lupus erythematosus? *Lupus*. 2012;21(5):465-76.
49. McElhone K, Abbott J, Teh LS. A review of health related quality of life in systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2006;15(10):633-43.
50. Timlin H, Syed A, Haque U, Adler B, Law G, Machireddy K, i sur. Fevers in Adult Lupus Patients. *Cureus*. 2018;10(1):e2098.
51. Zhou WJ, Yang CD. The causes and clinical significance of fever in systemic lupus erythematosus: a retrospective study of 487 hospitalised patients. *Lupus*. 2009;18(9):807-12.
52. Fortuna G, Brennan MT. Systemic lupus erythematosus: epidemiology, pathophysiology, manifestations, and management. *Dent Clin North Am*. 2013;57(4):631-55.
53. Blake SC, Daniel BS. Cutaneous lupus erythematosus: A review of the literature. *Int J Womens Dermatol*. 2019;5(5):320-9.
54. Hejazi EZ, Werth VP. Cutaneous Lupus Erythematosus: An Update on Pathogenesis, Diagnosis and Treatment. *Am J Clin Dermatol*. 2016;17(2):135-46.
55. Gilliam JN, Sontheimer RD. Distinctive cutaneous subsets in the spectrum of lupus erythematosus. *J Am Acad Dermatol*. 1981;4(4):471-5.
56. Wallace DJ, H. WM. Clinical features of systemic lupus erythematosus. In: Hochberg MC, editor. *Rheumatology*. Philadelphia: Elsevier, Inc; 2019. str. 1103-15.
57. Grönhagen CM, Nyberg F. Cutaneous lupus erythematosus: An update. *Indian Dermatol Online J*. 2014;5(1):7-13.
58. Millard TP, Hawk JL, McGregor JM. Photosensitivity in lupus. *Lupus*. 2000;9(1):3-10.
59. Urman JD, Lowenstein MB, Abeles M, Weinstein A. Oral mucosal ulceration in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 1978;21(1):58-61.
60. Zoma A. Musculoskeletal involvement in systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2004;13(11):851-3.
61. Pipili C, Sfrizeri A, Cholongitas E. Deforming arthropathy in systemic lupus erythematosus. *Eur J Intern Med*. 2008;19(7):482-7.
62. Grossman JM. Lupus arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2009;23(4):495-506.
63. Nevskaya T, Gamble MP, Pope JE. A meta-analysis of avascular necrosis in systemic lupus erythematosus: prevalence and risk factors. *Clin Exp Rheumatol*. 2017;35(4):700-10.

64. Almaani S, Meara A, Rovin BH. Update on Lupus Nephritis. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2017;12(5):825-35.
65. Bertsias G, Fanouriakis AC, Boumpas DT. Management of renal lupus. In: Hochberg MC, editor. *Rheumatology.* Philadelphia: Elsevier, Inc; 2019. str. 1186-99.
66. Weening JJ, D'Agati VD, Schwartz MM, Seshan SV, Alpers CE, Appel GB, i sur. The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited. *J Am Soc Nephrol.* 2004;15(2):241-50.
67. Hill GS, Delahousse M, Nochy D, Tomkiewicz E, Remy P, Mignon F, i sur. A new morphologic index for the evaluation of renal biopsies in lupus nephritis. *Kidney Int.* 2000;58(3):1160-73.
68. Bertsias GK, Boumpas DT. Pathogenesis, diagnosis and management of neuropsychiatric SLE manifestations. *Nat Rev Rheumatol.* 2010;6(6):358-67.
69. The American College of Rheumatology nomenclature and case definitions for neuropsychiatric lupus syndromes. *Arthritis Rheum.* 1999;42(4):599-608.
70. Pego-Reigosa JM, Isenberg DA. Psychosis due to systemic lupus erythematosus: characteristics and long-term outcome of this rare manifestation of the disease. *Rheumatology (Oxford).* 2008;47(10):1498-502.
71. Takeno M, Ishigatsubo Y. Intestinal manifestations in systemic lupus erythematosus. *Intern Med.* 45. Japan2006. str. 41-2.
72. Bessone F, Poles N, Roma MG. Challenge of liver disease in systemic lupus erythematosus: Clues for diagnosis and hints for pathogenesis. *World J Hepatol.* 2014;6(6):394-409.
73. Karpouzas G. Hematologic and Lymphoid Abnormalities in SLE. *Dubois' lupus erythematosus and related syndromes* 8th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2013. str. 426-37.
74. Carli L, Tani C, Vagnani S, Signorini V, Mosca M. Leukopenia, lymphopenia, and neutropenia in systemic lupus erythematosus: Prevalence and clinical impact--A systematic literature review. *Semin Arthritis Rheum.* 2015;45(2):190-4.
75. Rivero SJ, Diaz-Jouanen E, Alarcon-Segovia D. Lymphopenia in systemic lupus erythematosus. Clinical, diagnostic, and prognostic significance. *Arthritis Rheum.* 1978;21(3):295-305.
76. Kamen DL, Strange C. Pulmonary manifestations of systemic lupus erythematosus. *Clin Chest Med.* 2010;31(3):479-88.
77. Maksimowicz-McKinnon K, Manzi S. Chapter 43 - Heart. In: Lahita RG, editor. *Systemic Lupus Erythematosus (Fifth Edition):* Academic Press; 2010. str. 815-32.
78. Tselios K, Urowitz MB. Cardiovascular and Pulmonary Manifestations of Systemic Lupus Erythematosus. *Curr Rheumatol Rev.* 2017;13(3):206-18.

79. Manzi S, Meilahn EN, Rairie JE, Conte CG, Medsger TA, Jr., Jansen-McWilliams L, i sur. Age-specific incidence rates of myocardial infarction and angina in women with systemic lupus erythematosus: comparison with the Framingham Study. *Am J Epidemiol.* 1997;145(5):408-15.
80. Bruce IN. 'Not only...but also': factors that contribute to accelerated atherosclerosis and premature coronary heart disease in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford).* 2005;44(12):1492-502.
81. Ginzler E, Dvorkina O. Infections in systemic lupus erythematosus. In: Wallace D, Hahn B, editors. *Dubois' lupus erythematosus 7th ed.* Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins; 2006. str. 901-10.
82. Bernatsky S, Ramsey-Goldman R, Isenberg D, Rahman A, Dooley MA, Sibley J, i sur. Hodgkin's lymphoma in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford).* 2007;46(5):830-2.
83. Ni J, Qiu LJ, Hu LF, Cen H, Zhang M, Wen PF, i sur. Lung, liver, prostate, bladder malignancies risk in systemic lupus erythematosus: evidence from a meta-analysis. *Lupus.* 2014;23(3):284-92.
84. Morović-Vergles J. , Šalomon L. Lupusni nefritis. *Reumatizam [Internet]*2009. str. 56(2):34-40.
85. Solomon DH, Kavanaugh AJ, Schur PH. Evidence-based guidelines for the use of immunologic tests: antinuclear antibody testing. *Arthritis Rheum.* 2002;47(4):434-44.
86. Schur PH. Laboratory Evaluation of Patients with Systemic Lupus Erythematosus. In: Lahita Rg, editor. *Systemic lupus erythematosus (Fifth edition):* Academic Press; 2010.
87. Reeves WH, Zhuang H, Han S. Autoantibodies in systemic lupus erythematosus. In: Hochberg MC, editor. *Rheumatology.* Philadelphia: Elsevier, Inc; 2019. str. 1148-53.
88. Kavanaugh AF, Solomon DH. Guidelines for immunologic laboratory testing in the rheumatic diseases: anti-DNA antibody tests. *Arthritis Rheum.* 2002;47(5):546-55.
89. Walz LeBlanc BA, Gladman DD, Urowitz MB. Serologically active clinically quiescent systemic lupus erythematosus--predictors of clinical flares. *J Rheumatol.* 1994;21(12):2239-41.
90. Gladman DD, Urowitz MB, Keystone EC. Serologically active clinically quiescent systemic lupus erythematosus: a discordance between clinical and serologic features. *Am J Med.* 1979;66(2):210-5.
91. Okamura M, Kanayama Y, Amastu K, Negoro N, Kohda S, Takeda T, i sur. Significance of enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for antibodies to double stranded and single stranded DNA in patients with lupus nephritis: correlation with severity of renal histology. *Ann Rheum Dis.* 1993;52(1):14-20.
92. Feldman MD, Huston DP, Karsh J, Balow JE, Klima E, Steinberg AD. Correlation of serum IgG, IgM, and anti-native-DNA antibodies with renal and clinical indexes of activity in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 1982;9(1):52-8.

93. Buyon JP, Clancy RM, Friedman DM. Cardiac manifestations of neonatal lupus erythematosus: guidelines to management, integrating clues from the bench and bedside. *Nat Clin Pract Rheumatol*. 2009;5(3):139-48.
94. Levine JS, Branch DW, Rauch J. The antiphospholipid syndrome. *N Engl J Med*. 2002;346(10):752-63.
95. Porcel JM, Vergani D. Complement and lupus: old concepts and new directions. *Lupus*. 1992;1(6):343-9.
96. Lloyd W, Schur PH. Immune complexes, complement, and anti-DNA in exacerbations of systemic lupus erythematosus (SLE). *Medicine (Baltimore)*. 1981;60(3):208-17.
97. Liu C-C, Ahearn JM. Complement and Tissue Injury in SLE. In: Lahita RG, editor. *Systemic Lupus Erythematosus (5th edition)*: Academic Press; 2010. str. 339-63.
98. Schur PH, Sandson J. Immunologic factors and clinical activity in systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med*. 1968;278(10):533-8.
99. Ricker DM, Hebert LA, Rohde R, Sedmak DD, Lewis EJ, Clough JD. Serum C3 levels are diagnostically more sensitive and specific for systemic lupus erythematosus activity than are serum C4 levels. The Lupus Nephritis Collaborative Study Group. *Am J Kidney Dis*. 1991;18(6):678-85.
100. Dima A, Opris D, Jurcut C, Baicus C. Is there still a place for erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein in systemic lupus erythematosus? *Lupus*. 2016;25(11):1173-9.
101. 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 Rheumatol*. 2019;71(9):1400-12.
102. Tan EM, Cohen AS, Fries JF, Masi AT, McShane DJ, Rothfield NF, i sur. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 1982;25(11):1271-7.
103. Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 1997;40(9):1725.
104. Fanouriakis A, Kostopoulou M, Alunno A, Aringer M, Bajema I, Boletis JN, i sur. 2019 update of the EULAR recommendations for the management of systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis*. 2019;78(6):736-45.
105. Ruiz-Irastorza G, Ramos-Casals M, Brito-Zeron P, Khamashta MA. Clinical efficacy and side effects of antimalarials in systemic lupus erythematosus: a systematic review. *Ann Rheum Dis*. 2010;69(1):20-8.
106. Xiong W, Lahita RG. Pragmatic approaches to therapy for systemic lupus erythematosus. *Nat Rev Rheumatol*. 2014;10(2):97-107.
107. Parker BJ, Bruce IN. High dose methylprednisolone therapy for the treatment of severe systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2007;16(6):387-93.
108. Gelber AC, Christopher-Stine L, Fine DM. Sequential therapies for proliferative lupus nephritis. *N Engl J Med*. 2004;350(24):2518-20; author reply -20.

109. Cupps TR, Edgar LC, Fauci AS. Suppression of human B lymphocyte function by cyclophosphamide. *J Immunol.* 1982;128(6):2453-7.
110. Papadimitraki ED, Bertias G, Chamilos G, Boumpas DT. Systemic Lupus Erythematosus: Cytotoxic Agents. In: G. LR, editor. *Systemic Lupus Erythematosus (Fifth edition)*: Academic Press; 2010.
111. Houssiau FA, Vasconcelos C, D'Cruz D, Sebastiani GD, Garrido Ed Ede R, Danieli MG, i sur. Immunosuppressive therapy in lupus nephritis: the Euro-Lupus Nephritis Trial, a randomized trial of low-dose versus high-dose intravenous cyclophosphamide. *Arthritis Rheum.* 2002;46(8):2121-31.
112. Houssiau FA, Vasconcelos C, D'Cruz D, Sebastiani GD, de Ramon Garrido E, Danieli MG, i sur. The 10-year follow-up data of the Euro-Lupus Nephritis Trial comparing low-dose and high-dose intravenous cyclophosphamide. *Ann Rheum Dis.* 2010;69(1):61-4.
113. Boumpas DT, Austin HA, 3rd, Vaughan EM, Yarboro CH, Klippel JH, Balow JE. Risk for sustained amenorrhea in patients with systemic lupus erythematosus receiving intermittent pulse cyclophosphamide therapy. *Ann Intern Med.* 1993;119(5):366-9.
114. Kiss E, Kovacs L, Szodoray P. Malignancies in systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev.* 2010;9(4):195-9.
115. Talar-Williams C, Hijazi YM, Walther MM, Linehan WM, Hallahan CW, Lubensky I, i sur. Cyclophosphamide-induced cystitis and bladder cancer in patients with Wegener granulomatosis. *Ann Intern Med.* 1996;124(5):477-84.
116. Radis CD, Kahl LE, Baker GL, Wasko MC, Cash JM, Gallatin A, i sur. Effects of cyclophosphamide on the development of malignancy and on long-term survival of patients with rheumatoid arthritis. A 20-year followup study. *Arthritis Rheum.* 1995;38(8):1120-7.
117. Bernatsky S, Joseph L, Boivin JF, Gordon C, Urowitz M, Gladman D, i sur. The relationship between cancer and medication exposures in systemic lupus erythaematosus: a case-cohort study. *Ann Rheum Dis.* 2008;67(1):74-9.
118. Brugos B, Kiss E, Szodoray P, Szegedi G, Zeher M. Retrospective analysis of patients with lupus nephritis: data from a large clinical immunological center in Hungary. *Scand J Immunol.* 2006;64(4):433-7.
119. Siso A, Ramos-Casals M, Bove A, Brito-Zeron P, Soria N, Nardi N, i sur. Outcomes in biopsy-proven lupus nephritis: evaluation of 190 white patients from a single center. *Medicine (Baltimore).* 2010;89(5):300-7.
120. Ioannidis JP, Boki KA, Katsorida ME, Drosos AA, Skopouli FN, Boletis JN, i sur. Remission, relapse, and re-remission of proliferative lupus nephritis treated with cyclophosphamide. *Kidney Int.* 2000;57(1):258-64.
121. Specker C, Becker A, Lakomek HJ, Bach D, Grabensee B. [Systemic lupus erythematosus in men--a different prognosis?]. *Z Rheumatol.* 1994;53(6):339-45.

122. Koh WH, Fong KY, Boey ML, Feng PH. Systemic lupus erythematosus in 61 Oriental males. A study of clinical and laboratory manifestations. *Br J Rheumatol*. 1994;33(4):339-42.
123. Liu ZH, Cheng ZH, Gong RJ, Liu H, Liu D, Li LS. Sex differences in estrogen receptor gene polymorphism and its association with lupus nephritis in Chinese. *Nephron*. 2002;90(2):174-80.
124. Cerovec M. Klinička i epidemiološka obilježja bolesnika oboljelih od sistemskog eritemskog lupusa u Republici Hrvatskoj. 2012.
125. Bundhun PK, Kumari A, Huang F. Differences in clinical features observed between childhood-onset versus adult-onset systemic lupus erythematosus: A systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2017;96(37):e8086.
126. Papadimitraki ED, Isenberg DA. Childhood- and adult-onset lupus: an update of similarities and differences. *Expert Rev Clin Immunol*. 2009;5(4):391-403.
127. Brugos B, Sebestyen L, Tarr T, Vincze Z. Use of cyclophosphamide and other immunosuppressive drugs in the treatment of patients with lupus nephritis. *Pharmazie*. 2014;69(6):442-4.
128. Borchers AT, Leibushor N, Naguwa SM, Cheema GS, Shoenfeld Y, Gershwin ME. Lupus nephritis: a critical review. *Autoimmun Rev*. 2012;12(2):174-94.
129. Dan D, Fischer R, Adler S, Förger F, Villiger PM. Cyclophosphamide: As bad as its reputation? Long-term single centre experience of cyclophosphamide side effects in the treatment of systemic autoimmune diseases. *Swiss Med Wkly*. 2014;144:w14030.
130. Bernatsky S, Boivin JF, Joseph L, Rajan R, Zoma A, Manzi S, i sur. An international cohort study of cancer in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2005;52(5):1481-90.
131. Tarr T, Gyorfy B, Szekanecz E, Bhattoa HP, Zeher M, Szegedi G, i sur. Occurrence of malignancies in Hungarian patients with systemic lupus erythematosus: results from a single center. *Ann N Y Acad Sci*. 2007;1108:76-82.
132. Emadi A, Jones RJ, Brodsky RA. Cyclophosphamide and cancer: golden anniversary.
133. Faurschou M, Mellekjær L, Voss A, Keller KK, Hansen IT, Baslund B. Prolonged risk of specific malignancies following cyclophosphamide therapy among patients with granulomatosis with polyangiitis. *Rheumatology (Oxford)*. 2015;54(8):1345-50.
134. Baker GL, Kahl LE, Zee BC, Stolzer BL, Agarwal AK, Medsger TA, Jr. Malignancy following treatment of rheumatoid arthritis with cyclophosphamide. Long-term case-control follow-up study. *Am J Med*. 1987;83(1):1-9.
135. Dreyer L, Faurschou M, Mogensen M, Jacobsen S. High incidence of potentially virus-induced malignancies in systemic lupus erythematosus: a long-term followup study in a Danish cohort. *Arthritis Rheum*. 2011;63(10):3032-7.
136. Hsu CY, Lin MS, Su YJ, Cheng TT, Lin YS, Chen YC, i sur. Cumulative immunosuppressant exposure is associated with diversified cancer risk among 14 832 patients with systemic lupus erythematosus: a nested case-control study. *Rheumatology (Oxford)*. 2017;56(4):620-8.

137. Santana IU, Gomes AdN, Lyrio LDC, Rios Grassi MF, Santiago MB. Systemic lupus erythematosus, human papillomavirus infection, cervical pre-malignant and malignant lesions: a systematic review.
138. Klumb EM, Araújo ML, Jr., Jesus GR, Santos DB, Oliveira AV, Albuquerque EM, i sur. Is higher prevalence of cervical intraepithelial neoplasia in women with lupus due to immunosuppression? *J Clin Rheumatol.* 2010;16(4):153-7.
139. Ognenovski VM, Marder W, Somers EC, Johnston CM, Farrehi JG, Selvaggi SM, i sur. Increased incidence of cervical intraepithelial neoplasia in women with systemic lupus erythematosus treated with intravenous cyclophosphamide. *J Rheumatol.* 2004;31(9):1763-7.

10. Životopis

Zovem se Josip Tečer. Rođen sam u Slavonskom Brodu 26.9.1995. Nakon završene Osnovne škole Blaža Tadijanovića u Slavonskom Brodu upisujem gimnaziju „Matija Mesić“ , smjer opća gimnazija koju pohađam od 2010. do 2014. godine. Sva četiri razreda sam završio s odličnim uspjehom. U četvrtom sam razredu su osvojio prvo mjesto na državnom natjecanju iz biologije zbog čega mi je 2014. dodijeljena nagrada Agencije za odgoj i obrazovanje Oskar znanja. Srednjoškolsko obrazovanje završavam položenom državnom maturom s odličnim uspjehom iz svih predmeta te upisujem Medicinski fakultet u Zagrebu. Zahvaljujući uspjehu na prvoj godini studija, dobio sam Dekanovu nagradu za uspješnost. Zbog postignuća na fakultetu dodijeljena mi je i nagrada „Izvrsnost je in“ slavonskobrodske Rotary kluba 2016. godine. Bio sam demonstrator na katedri za patofiziologiju u akademskoj godini 2018./2019. te na kliničkoj propedeutici 2019./2020. godine. Tečno govorim engleski te poznajem osnove njemačkog jezika.