

Anda Kadiša

LATENTAS/PERSISTENTAS
PARVOVĪRUSA B19, HHV-6 UN HHV-7
INFEKCIJAS IESAISTE REIMATOĪDĀ
ARTRĪTA ETIOPATOĢENĒZĒ UN
SAISTĪBA AR KLĪNISKO UN
RADIOLOĢISKO ATRADI

Promocijas darba kopsavilkums
medicīnas doktora zinātniskā grāda iegūšanai

Specialitāte – reimatoloģija

Rīga, 2017

Promocijas darbs izstrādāts Rīgas Austrumu klīniskās universitātes slimnīcas klīnikā “Linezers” un klīnikā “Gaiļezers”, Traumatoloģijas un ortopēdijas slimnīcā, RSU A. Kirhenšteina Mikrobioloģijas un virusoloģijas institūtā un RSU Anatomijas un antropoloģijas institūtā.

Darba zinātniskie vadītāji:

Dr. med. profesors **Aivars Lejnietis**,
Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija
Dr. med. vadošā pētniece, asociētā profesore **Modra Murovska**,
Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

Oficiālie recenzenti:

Dr. med. profesore **Valda Staņēviča**,
Rīgas Stradiņa universitāte, MF Pediatrijas katedra, Latvija
Dr. habil. med. profesore **Ingrīda Rumba-Rozenfelde**,
Latvijas Universitāte, Medicīnas fakultāte
Dr. biol. **Irutē Girkontaitē**,
Valsts Inovatīvās medicīnas centra Imunoloģijas nodaļa, Lietuva

Promocijas darba aizstāvēšana notiks 2018. gada 18. janvārī plkst. 15.00 Rīgas Stradiņa universitātes Medicīnas promocijas padomes atklātā sēdē Rīgā, Dzirciema ielā 16, Hipokrāta auditorijā.

Ar promocijas darbu var iepazīties RSU bibliotēkā un RSU tīmekļa vietnē: www.rsu.lv.

Promocijas darbs veikts ar Valsts pētījumu programmu “Jaunu profilakses, ārstniecības, diagnostikas līdzekļu un metožu, biomedicīnas tehnoloģiju izstrāde sabiedrības veselības uzlabošanai (PUBLIC HEALTH)”, 2010.–2013. gads, un “Biomedicīna sabiedrības veselībai (BIOMEDICINE),” 2014.–2017. gads, atbalstu.

Promocijas padomes sekretāre:

Dr. med. asociētā profesore **Angelika Krūmiņa**

SATURS

Saīsinājumi un atslēgvārdi	5
Ievads.....	6
Zinātniskā darba aktualitāte	6
Zinātniskā darba hipotēze	8
Zinātniskā darba mērķis	8
Zinātniskā darba uzdevumi	9
1. Materiāls un metodes.....	11
1.1. Iekļautās personas un iekļaušanas kritēriji	11
1.1.1. Reimatoīdā artrīta pacientu demogrāfiskais raksturojums.....	11
1.1.2. Osteoartrīta pacientu demogrāfiskais raksturojums.....	12
1.1.3. Kontroles grupas personu demogrāfiskais raksturojums	12
1.1.4. Pētījumā izmantotais materiāls (perifērās asinis, sinoviālais šķidrums, sinoviālie audi).....	12
1.2. Pielietotās klīniskās izmeklēšanas metodes	13
1.2.1. Sāpīgo un pietūkušo locītavu skaits.....	13
1.2.2. Klīniski laboratoriskie rādītāji.....	14
1.2.3. DAS28.....	15
1.2.4. Radioloģiskie izmeklējumi	15
1.2.5. Komplikācijas un to biežums	16
1.3. B19, HHV-6 un HHV-7 infekcijas marķieru noteikšanas metodes	16
1.3.1. Persistentas B19V infekcijas un tās aktivitātes stadijas noteikšana (nPCR).....	16
1.3.2. B19-specifisko antivielu noteikšana (<i>recomWell</i> , <i>recomLine</i>).....	17
1.3.3. T-limfocītu proliferatīvās atbildes noteikšana uz B19V un tā proteīniem	17
1.3.4. Persistentas HHV-6 un HHV-7 infekcijas un tās aktivitātes stadijas noteikšana (nPCR).....	18
1.3.5. HHV-6 un HHV-7 specifisko antivielu noteikšana (ELISA)	19
1.3.6. B19V, HHV-6 un HHV-7 antigēnu imūnhistoķīmiskā noteikšana.....	19
1.3.7. Iekaisuma citokīnu līmeņa noteikšana	21
1.4. Reimatoīdā artrīta ārstēšanai pielietotā terapija	21
1.5. Statistiskās apstrādes metodes.	22
2. Rezultāti.....	23
2.1. Pētījumā iekļauto pacientu klīniski laboratoriskais raksturojums	23
2.1.1. Reimatoīdā artrīta pacienti.....	23
2.1.2. OA pacienti.....	24

2.1.3. Kontroles grupas indivīdi	24
2.2. Vīrusu infekcijas marķieru atrade RA pacientiem	24
2.2.1. B19V infekcijas marķieru atrade RA pacientiem.....	24
2.2.2. B19V infekcijas marķieru un citu laboratorisko rādītāju atrade atkarībā no pielietotās terapijas	30
Pacientu grupa, kura terapijā nesaņēma SMARM	30
Pacientu grupa, kurai terapijā pielietoti glikokortikoidi.....	31
Pacientu grupa, kurai terapijā pielietots metotreksāts	31
Pacientu grupa, kurai terapijā pielietoti sSMARM bez MTX.....	33
Pacientu grupa, kurai terapijā pielietoti bSMARM.....	34
2.2.3. HHV-6 un HHV-7 infekcijas marķieru atrade RA pacientiem	34
2.2.4. HHV-6 un HHV-7 infekcijas marķieru atrade saistībā ar RA klīnisko aktivitāti un laboratoriskajiem rādītājiem	36
2.2.5. HHV-6 un HHV-7 infekcijas marķieru un citu laboratorisko rādītāju atrade atkarībā no pielietotās terapijas	38
2.2.6. B19V, HHV-6 un HHV-7 infekcijas marķieru atrade RA pacientu sinoviālajā šķidrumā un audos.....	38
2.3. Vīrusu infekcijas marķieru atrade OA pacientiem.....	40
2.3.1. B19V infekcijas marķieru atrade OA pacientiem	40
2.3.2. HHV-6 un HHV-7 infekcijas marķieru atrade OA pacientiem	42
2.3.3. B19V, HHV-6 un HHV-7 infekcijas marķieru atrade OA pacientu sinoviālajā šķidrumā un audos.....	43
2.3.4. Vīrusu infekcijas marķieru saistība ar OA klīnisko gaitu un laboratoriskiem rādītājiem.....	44
2.4. Vīrusu infekcijas marķieru atrade veseliem kontroles grupas indivīdiem.....	44
2.4.1. B19V infekcijas marķieru atrade veseliem indivīdiem	44
2.4.2. HHV-6 un HHV-7 infekcijas marķieru atrade veseliem kontroles grupas indivīdiem.....	46
3.Rezultātu apspriešana	47
4. Secinājumi.	67
5. Praktiskās rekomendācijas	69
Publicētie raksti	70
Tēzes un dalība vietējos kongresos un konferencēs	71
Tēzes un dalība starptautiskajos kongresos un konferencēs	73
Literatūras saraksts	77

SAĪSINĀJUMI UN ATSLĒGVĀRDI

Anti-CCP antiviēlas	antiviēlas pret ciklisko citrulinēto peptīdu
B19V	parvovīruss B19
CD	limfocītu receptoru apzīmējums
CMV	citomegalovīruss
CRO	C reaktīvais olbaltums
DIF	distālās starpfalangu
DNS	dezoksiribonukleīnskābe
EBV	Epšteina-Barra vīruss
EGĀ	eritrocītu grimšanas ātrums
GK	glikokortikoīdi
Hb	hemoglobīns
HHV-6	cilvēka herpesvīruss 6
HHV-7	cilvēka herpesvīruss 7
HLA	cilvēka leukocītu antigēni
IgA	A imūnglobulīns
IgG	G imūnglobulīns
IgM	M imūnglobulīns
IL	interleikīns
MKF	metakarpofalangeālās
MMP-9	metalloproteināze 9
MTF	metatarsofalangeālās
MTX	metotreksāts
NSPL	nesteroīdie pretiekaisuma līdzekļi
OA	osteoartrīts
PAL	perifēro asiņu leukocīti
PG	prostaglandīns
PIF	proksimālās interfalangeālās
PĶR	polimerāzes ķēdes reakcija
PLS	pietūkušo locītavu skaits
PNS	perifērā nervu sistēma
RA	reimatoīdais artrīts
RNS	ribonukleīnskābe
RF	reimatoīdais faktors
SLS	sāpīgo locītavu skaits
SMARM	slimību modificējošie antireimatiskie medikamenti
TNF- α	audzēja nekrozes faktors alfa

IEVADS

Zinātniskā darba aktualitāte

Reimatoīdais artrīts (RA) ir hroniska autoimūna slimība, ko raksturo progresējošs aseptisks, simetrisks poliartrīts, kas ar laiku rada erozīvas izmaiņas locītavās un to ankilozi. Gan ilgstoša, gan agresīva slimības gaita var radīt arī iekšējo orgānu bojājumu. RA ir visbiežāk sastopamais iekaisuma artrīts pieaugušajiem. Ar to vidēji pasaulē slimo aptuveni 0,5–1% populācijas. Precīzu datu par RA pacientu skaitu Latvijā nav, bet, vadoties pēc slimības sastopamības tuvējās valstīs, tas varētu būt ap 10 000 valsts iedzīvotāju. Dažādu faktoru dēļ nereti RA tiek diagnosticēts novēloti, kad tas jau radījis neatgriezeniskas locītavu un ārpuslocītavu izmaiņas, apgrūtinot efektīvas terapijas piemērošanu. Slimībai progresējot, rodas rupjas locītavu deformācijas, kas ievērojami ierobežo pacienta darba gaitas un arī pašaprūpi. Iekaisuma citokīniem ar asins cirkulāciju izplatoties pa visu organismu, var attīstīties ārpuslocītavu bojājums – iekšējo orgānu bojājums, kas var samazināt dzīvildzi. Tipiski RA sākas plaukstu un pēdu un to pirkstu sīkajās locītavās. Ar laiku iekaisums var skart ganrdīz jebkuru locītavu. Iekšējo orgānu bojājums biežāk skar plaušas, sirds-asinsvadu sistēmu, perifēro nervu sistēmu un nierēs. Pēdējā laikā attīstījušās jaunas diagnostikas metodes, kas ļauj agrīni noteikt diagnozi, kā arī izveidota jauna medikamentu grupa – bioloģiskie slimību modificējošie antireimatiskie medikamenti (bSMARM). Jaunā medikamentu grupa, iedarbojoties uz dažādiem slimības patogēnēzes posmiem, ļauj efektīvāk kontrolēt slimības gaitu un kavēt tās progresiju. bSMARM pieejamību ierobežo to izmaksas. Zināmu apdraudējumu rada arī iespējamo blakņu attīstības risks. Kaut RA nav pilnībā izārstējams un tā ārstēšana ir mūža garumā, iespējams sasniegt slimības remisiju. Katram pacientam slimības gaita var būt atšķirīga – no viegla, lēni progresējoša artrīta ar periodiskām remisijām līdz agresīvam, strauji progresējošam un ļoti aktīvam artrītam ar agrīnu deformāciju attīstību.

Dažādā slimības gaita prasa personalizētu ārstēšanas stratēģijas izstrādāšanu katram pacientam, jo ārstēšanas efektivitāte un panesamība atšķiras. Efektīvāka ir agrīni uzsākta ārstēšana ar SMARM. Diemžēl neviena no terapijas stratēģijām neizslēdz slimības paasinājumu un progresijas attīstību.

RA ir autoimūna slimība, kuras pamatā ir imūnās sistēmas darbības traucējumi. Noskaidrots, ka RA attīstās ģenētiski predisponētiem indivīdiem, iedarbojoties virknei dažādu ārēju un iekšēju faktoru. Lai gan ir veikti daudzi ilgstoši pētījumi, precīzs slimības izraisītājs nav zināms, tādēļ ir nepieciešams turpināt pētīt iespējamus faktorus, kas var veicināt slimības attīstību. Šo faktoru apzināšana atvieglotu slimības ārstēšanu. Slimību veicinošie ārējie faktori ir smēķēšana, liels kofeīna patēriņš, apsaldēšanās un psihoemocionāls vai fizisks stress, kā arī dažādi infekcijas aģenti – gan baktērijas, gan vīrusi. Biežāk pētītie iespējamie vīrusu izraisītāji ir parvovīruss B19 (B19V), masaliņu vīruss, cilvēka herpesvīrusi un citi. B19V ir bezapvalka vienpavediena DNS vīruss, kas sastopams viscaur pasaulē. B19V izraisa saslimšanu tikai cilvēkam, mērķējot uz tā eritrocītu priekštečiem. Tiesa klīniskā aina dažādiem pacientiem var atšķirties. Biežāk novērojamie B19V klīniskie sindromi ir infekciozā eritēma, poliartīts, īslaicīga aplastiskā krīze un īstā sarkano šūnu aplāzija, kā arī *hydrops fetalis*, bet retāk novērojami – ādas bojājums, hepatīts, neiroloģiskas slimības, izmaiņas asins šūnu sastāvā, kā arī reimatoloģiskas slimības, to skaitā RA. Cilvēka 6. un 7. herpesvīruss (HHV-6 un -7) ir divpavedienu DNS vīrusi. Tos bieži konstatē cilvēkiem ar neiroiekaisīgām slimībām. Parasti pirmā inficēšanās notiek bērnībā. Tā kā vīruss pilnībā netiek eliminēts, tas veido prersistentu infekciju, kas saglabājas visa mūža garumā. Trauma, fizisks vai emocionāls stress, hormonāls disbalanss vai imūnsupresija var veicināt infekcijas reaktivāciju. Jau ilgstoši tiek pētīta B19V, HHV-6 un -7 saikne ar RA attīstību, taču publicētie dati ir neviennozīmīgi un nereti pretrunīgi.

Pieejamie dati par B19V un herpesvīrusu infekcijas ietekmi uz RA klīniskiem un laboratoriskajiem aktivitātes un agresivitātes parametriem, kā arī radioloģisko stadiju ir nepilnīgi. Promocijas darbā apkopoti Rīgas Austrumu klīniskās universitātes slimnīcas klīnikā “Linezers” un klīnikā “Gaiļezers”, Traumatoloģijas un Ortopēdijas slimnīcā ārstēto pacientu klīniskie pētījumi un laboratoriskie pētījumi, kas veikti RSU A. Kirhenšteina Mikrobioloģijas un virusoloģijas institūta onkovirusoloģijas laboratorijā un RSU Anatomijas un antropoloģijas institūta histoloģijas laboratorijā no 2008.-2016. gadam. RA ir biežāk sastopamais autoimūnais iekaisuma artrīts, kas pamato šādu pētījumu nepieciešamību. Iegūtie dati var palīdzēt izprast slimības attīstību un savlaicīgi atklāt un novērst RA veicinošos faktoros.

Zinātniskā darba hipotēzes

1. B19V, HHV-6 un -7 infekcija ir viens no RA attīstības un gaitas ietekmētājiem.
2. B19V, HHV-6 un -7 infekcija ietekmē RA klīnisko un laboratorisko aktivitāti, agresiju un radioloģisko stadiju.

Par nulles hipotēzi tiek pieņemts, ka B19V, HHV-6 un -7 infekcija neietekmē RA etiopatoģenēzi, slimības aktivitāti un agresiju gan pēc klīniskiem un laboratoriskiem parametriem, gan radioloģiskās stadijas.

Zinātniskā darba mērķis

Salīdzinot RA pacientus ar OA pacientiem un veseliem kontroles grupas indivīdiem, apstiprināt vai noliegt B19V, HHV-6 un -7 infekcijas lomu RA attīstībā, kā arī izvērtēt B19V, HHV-6 un -7 infekcijas aktivitātes dažādo stadiju ietekmi uz RA klīnisko un laboratorisko aktivitāti, agresiju un radioloģisko stadiju.

Zinātniskā darba uzdevumi

1. Pētījumā iekļautajiem indivīdiem, izmantojot molekulārās bioloģijas un seroloģijas metodes, iegūt datus par B19V, HHV-6 un -7 infekcijas klātbūtni un aktivitātes stadiju:
 - a. RA un OA pacientiem noteikt B19V, HHV-6 un -7 genoma secību klātbūtni DNS paraugos, kas izdalīti no PAL, šūnām brīvas asins plazmas, sinoviālā šķidruma un sinoviālajiem audiem un visiem pētījumā iekļautajiem indivīdiem noteikt B19V specifisko IgG un IgM klases antivielu klātbūtni asins plazmā/serumā;
 - b. veseliem indivīdiem noteikt B19V, HHV-6 un -7 genoma secību klātbūtni DNS paraugos, kas izdalīti no PAL un šūnām brīvas asins plazmas.
2. Noteikt RA pacientiem pielietotās terapijas ietekmi uz B19V, HHV-6 un -7 infekcijas aktivitātes stadiju.
3. Noteikt T limfocītu proliferatīvās atbildes biežumu un ātrumu pret B19V antigēniem RA pacientiem, salīdzinot ar veseliem indivīdiem. Precizēt T limfocītu proliferatīvās atbildes ātrumu un biežumu RA pacientiem atkarībā no saņemtās terapijas.
4. RA un OA pacientiem un veseliem indivīdiem noteikt MMP-9 un citokīnu IL-2, IL-6, IL-10, IL-12, IL-17 un TNF- α līmeņu izmaiņas atkarībā no B19V, HHV-6 un -7 infekcijas stadijas un B19V infekcijas ilguma pirms pacienta iekļaušanas pētījumā visās pētāmajās grupās.
5. Pēc klīniskajiem un laboratoriskajiem parametriem noteikt RA un OA gaitas, kā arī RA radioloģiskās stadijas saistību ar B19V, HHV-6 un -7 infekcijas aktivitātes stadiju un B19V infekcijas ilgumu pirms pacienta iekļaušanas pētījumā.
6. Datu statistiskajā apstrādē apstiprināt vai noliegt nulles hipotēzi.

7. Pamatojoties uz iegūtajiem rezultātiem, izstrādāt ieteikumus klīniskai praksei.

1. MATERIĀLS UN METODES

1.1. Iekļautās personas un iekļaušanas kritēriji

Prospektīvā pētījumā iekļauti pacienti no Rīgas Austrumu klīniskās universitātes slimnīcas klīnikas “Linezers” un klīnikas “Gaiļezers” un Traumatoloģijas un ortopēdijas slimnīcas, kas ārstējušies laika posmā no 2008. līdz 2016. gadam. Iekļaušanas kritēriji ietvēra primāru vai iepriekš noteiktu RA vai OA diagnozi šajās klīnikās. Visi RA pacienti atbilda 1987. gadā Amerikas Reimatoloģijas kolēģijas noteiktajiem RA klasifikācijas kritērijiem (*Arnett et al., 1988*) vai 2010. gadā Amerikas Reimatoloģijas kolēģijas un Eiropas pretreimatisma līgas noteiktajiem agrīna RA klasifikācijas kritērijiem (*Aletaha et al., 2010*). Izslēgšanas kritēriji ietvēra grūtnieces, alkoholiķus (definīcija – vairāk nekā četras dzēriena devas katru dienu vīriešiem un vairāk nekā trīs – sievietēm, noteikta pēc ASV Nacionālā alkohola pārmērīgas lietošanas un alkoholisma institūta vadlīnijām) un pacientus ar citām iekaisuma slimībām. OA pacienti atbilda Amerikas Reimatoloģijas kolēģijas noteiktajiem OA klasifikācijas kritērijiem (*Altman et al., 1986., Altman et al., 1990., Altman et al., 1991*). Kā kontroles grupa pētījumā iekļauti potenciāli veseli indivīdi bez zināmām hroniskām iekaisuma slimībām.

1.1.1. Reimatoīdā artrīta pacientu demogrāfiskais raksturojums

Pētījumā iekļauti 103 RA pacienti. Starp 103 Eiropēidās rases RA pacientiem 13 bija vīrieši (12,9%) un 90 sievietes (87,1%), vidējā vecumā $56,3 \pm 12,8$ (diapazonā 19–82). Vīriešu skaits RA pacientu grupā bija statistiski ticami mazāks nekā OA pacientu grupā ($p = 0,001$) un veselu kontroles indivīdu grupā ($p = 0,0047$). RA pacienti bija būtiski vecāki, salīdzinot ar

veseliem indivīdiem ($p = 0,0047$). Vidējais slimības ilgums šajā grupā bija 93,7 (0–576) mēneši.

1.1.2. Osteoartrīta pacientu demogrāfiskais raksturojums

Tā kā pēdējos gados ir ziņots, ka OA attīstībā zināma loma ir iekaisumam, kā kontroles grupa RA pacientu izpētei izmantoti OA pacienti.

Pētījumā apsekoti 78 Eiropēidās rases OA pacienti: 26 bija vīrieši (33%) un 52 sievietes (67%), vidējā vecumā $64,6 \pm 12,0$ (diapazonā 35–86). OA pacienti bija statistiski ticam vecāki nekā RA pacienti ($p < 0,0001$) un kā veseli kontroles indivīdi ($p < 0,0001$). Vidējais slimības ilgums grupā 78,6 (2–300) mēneši.

1.1.3. Kontroles grupas personu demogrāfiskais raksturojums

Pētījumā iekļauti 43 Eiropēidās rases potenciāli veseli kontroles grupas indivīdi bez zināmām hroniskām iekaisuma slimībām. Šajā grupā 15 bija vīrieši (34,9%) un 28 sievietes (65,1%), vidējā vecumā $51,7 \pm 11,9$ (diapazonā 38 – 89).

Pētījuma sākumā katram pacientam abās slimību grupās tika veikts RA un OA klīniskais novērtējums un precizēta pielietotā terapija, tās saņemšanas ilgums, kā arī ievākta slimības anamnēze.

1.1.4. Pētījumā izmantotais materiāls (perifērās asinis, sinoviālais šķidrums, sinoviālie audi)

RA un OA pacientu perifēro asiņu paraugi, sinoviālo audu un šķidruma paraugi, (ja iespējams pēc indikācijām), skrimšļaudu un kaulaudu ķirurģiskais materiāls tika iegūti vienlaicīgi. Veseliem kontroles grupas indivīdiem tika

paņemti perifēro asiņu paraugi (sk. 1.1. tab.). Asinis bioķīmiskajām analīzēm tika savāktas vakutaineros (*Vacutest Clotactivator*; 6 ml), molekulāri bioloģiskajām analīzēm un T limfocītu testēšanai vakutainerā ar EDTA (*Vacutest K₂EDTA* 5.4 mg; 3 ml × 6). Plazma no perifērām asinīm atdalīta ar centrifugēšanu 1400g × 15 minūtes. Perifēro asiņu leikocīti (PAL), kas netika izmantoti proliferācijas testa veikšanai, tika sadalīti (10⁶ šūnas katrā mēģenē) un sasaldēti pie –70 °C tālākai izmantošanai. Tika savākts centrifugāta virsējais slānis – plazma, sadalīts pa 200 µL katrā mēģenē un sasaldēts pie –20 °C. Traumatologs, pielietojot standarta procedūru, tajā pašā dienā gūžas locītavas endoprotezēšanas operācijas laikā ieguva gūžas locītavas sinoviālos audus un sinoviālo šķidrumu materiālu tālākai histoloģiskai un elektronmikroskopijas izmeklēšanai (skatīt morfoloģijas sadaļā).

1.1. tabula

Paņemto paraugu raksturojums RA un OA pacientu un veselo kontroles grupas indivīdu grupās

Pacientu grupa Savāktie materiāli	RA pacienti	OA pacienti	Veseli indivīdi
Serums (2 × 5 ml)	103	78	43
Plazma (2 ml)	103	78	43
PAL (10 ⁶ šūnas/ml)	103	78	43
Sinoviālais šķidrums (3–5 ml)	6	33	–
Sinoviālie audi (vidēji 1 cm ³)	7	54	–
Operācijas skrimšļaudu materiāls (vidēji 1 cm ³)	5	57	–
Operācijas kaulaudu materiāls (vidēji 1 cm ³)	5	60	–

1.2. Pielietotās klīniskās izmeklēšanas metodes

1.2.1. Sāpīgo un pietūkušo locītavu skaits

RA pacientiem klīniskās izmeklēšanas laikā tika precizēts rīta stīvuma ilgums, vispārējā veselības stāvokļa novērtējums, kas atzīmēts vizuāli analogajā skalā (VAS) (*Anderson, 2012*) no 0–100 mm. Tika veikta pilna fizikālā

izmeklēšana, kuras laikā noteikts arī sāpīgo un pietūkušo locītavu skaits, izvērtējot 68 locītavas. Sāpīgo un pietūkušo locītavu skaits analizēts saistībā ar B19V, HHV-6 un HHV-7 infekcijas marķieru klātbūtni vai iztrūkumu.

1.2.2. Klīniski laboratoriskie rādītāji

Visi klīniski laboratoriskie rādītāji noteikti atbilstošās klīnikas lokālajā laboratorijā.

Hemoglobīna, limfocītu un trombocītu laboratoriskā analīze: hemoglobīna līmeņa references intervāls tika noteikts 12,0–17,5g/dL, limfocītu absolūtā skaita intervāls – $2,5\text{--}4,0 \times 10^9/\text{L}$ un trombocītu skaita intervāls – $150\text{--}400 \times 10^9/\text{L}$. Rezultātu izmaiņas ārpus šiem references intervāliem tika interpretētas attiecīgi kā samazināts vai paaugstināts līmenis. Hemoglobīna, limfocītu un trombocītu līmeņu rezultāti tika analizēti saistībā ar B19V, HHV-6 un HHV-7 infekciju marķieru klātbūtni vai iztrūkumu.

Slimības aktivitātes laboratoriskā analīze: C-reaktīvais olbaltums (CRO) un eritrocītu grimšanas reakcijas (EGĀ) rezultāti tika vērtēti kā RA un OA aktivitātes rādītāji. EGĀ augstāks kā 30 mm/st un CRO līmenis virs 8 mg/L tika novērtēti kā paaugstināti un atbilstoši aktīvai slimībai.

Slimības agresivitātes laboratoriskā analīze: kā RA agresivitātes rādītāji tika analizēti reimatoīdais fakors (RF) un antivielas pret ciklisko citrulinēto peptīdu (anti-CCP). Šie parametri tika noteikti arī OA pacientiem. RF līmenis virs 14 IU/ml un anti-CCP antivielu līmenis virs 17 IU/ml tika novērtēti kā paaugstināti, ņemot vērā lokālo laboratoriju references intervālus. Vadoties pēc RF rezultāta, RA klīniskā gaita tika klasificēta kā neagresīva, ja $\text{RF} \leq 14 \text{ IU/ml}$, zemi agresīva – ja $\text{RF} 14 \leq 42 \text{ IU/ml}$, augsti agresīva – ja $\text{RF} > 42 \text{ IU/ml}$ un izteikti augsti agresīva – ja $\text{RF} > 1000 \text{ IU/ml}$. Vadoties pēc anti-CCP antivielu līmeņa, RA klīniskā gaita tika klasificēta kā neagresīva, ja anti-CCP

≤ 17 IU/ml, zemi agresīva – ja anti-CCP $17 \leq 51$ IU/ml, augsti agresīva – ja anti-CCP > 51 IU/ml un izteikti augsti agresīva – ja anti-CCP > 1000 IU/ml (Aletaha et al., 2010). Slimības agresivitātes rādītāju rezultāti analizēti saistībā ar B19V, HHV-6 un HHV-7 infekciju marķieru klātbūtni vai iztrūkumu.

1.2.3. DAS28

CRO rezultāts, izmantojot standarta formulu, tika lietots DAS28 aprēķināšanai RA pacientu grupā, kas liecina par aktuālo iekaisuma ainu. Atbilstoši DAS28 rādījumiem, RA pacienti tika klasificēti četrās grupās:

- remisija ($\text{DAS28} \leq 2,6$),
- zema slimības aktivitāte ($\text{DAS28 } 2,6 \leq 3,2$),
- vidēja slimības aktivitāte ($\text{DAS28 } 3,2 \leq 5,1$),
- izteikta slimības aktivitāte ($\text{DAS28} \geq 5,1$).

Slimības aktivitātes rādītāju rezultāti analizēti saistībā ar B19V, HHV-6 un HHV-7 infekciju aktivitātes stadiju vai iztrūkumu.

1.2.4. Radioloģiskie izmeklējumi

RA pacientiem RAKUS klīnikā “Gaiļezers” un Latvijas Onkoloģijas centrā tika veikta rentgenogrāfija un šaubu gadījumā arī magnētiskās rezonanses izmeklēšana (MRI) abām plaukstām, lai precizētu agrīnu izmaiņu un eroziju klātbūtni. Izmeklējumu rezultātus interpretēja divi neatkarīgi radiologi ar ilgstošu darba pieredzi. MRI protokols bija sekojošs: FSE T2 “tauku sat” koronārā plaknē, GR aksiālā plaknē, SE T1 “tauku sat” koronārā plaknē pēc gadolīnija ievades, 3D SPGR koronārā plaknē pēc gadolīnija ievades. MRI attēlos tika novērtēta sinovīta, kaulu smadzeņu tūskas un kaulu eroziju klātbūtne. Pēc rentgena un MRI rezultātu interpretācijas RA pacienti

tika iedalīti četrās grupās, balstoties uz *Venables* un *Wheless* rekomendācijām (*Venables, Maini, 2013, Wheless, 2012*) (sk. 1.2. tab.). RA radioloģiskā stadija analizēta saistībā ar B19V, HHV-6 un HHV-7 infekciju aktivitāti vai iztrūkumu.

1.2. tabula

RA radioloģisko stadiju raksturojums

Stadija	Raksturojums
I	Agrīna RA stadija. Raksturojas ar sinovītu vai sinoviālās membrānas iekaisumu. Tipiski rentgenogrammā nevēro locītavu destrukciju, bet ir mīksto audu pietūkums.
II	Mērena RA stadija. Iekaisums izplatās sinoviālajos audos, skarot locītavas dobumu, arī skrimslī. Pakāpeniski veidojas skrimšļa audu destrukcija un locītavas spraugas sašaurināšanās.
III	Izteikta RA stadija. Sinovijā veidojas pannus, pakāpeniski zūd locītavas virsmu klājošais skrimslis un atsedzas kauls. Rentgenogrammā redzamas marginālas erozijas. Attīstās deformācijas (subluksācijas).
IV	RA beigu jeb terminālā stadija. Mazinās aktīva iekaisuma process, veidojas fibrozi audi, saplūst locītavu veidojošie kauli – rodas ankiloze.

1.2.5. Komplikācijas un to biežums

RA pacientiem precizētas slimības esošās komplikācijas. Komplikācijās tika ietverts PNS bojājums, kas iekļauj polineiripātiju un karpālā kanāla sindromu, miopātija, sausais sindroms un reimatoīdie mezgliņi, kā arī mugurkaula kakla skriemeļu specifisks bojājums, osteoporoze un sklerīts.

1.3. B19, HHV-6 un HHV-7 infekcijas marķieru noteikšanas metodes

1.3.1. Persistentas B19 infekcijas un tās aktivitātes stadijas noteikšana (nPCR)

DNS tika izolēta no pilnām asinīm, šūnu brīvas plazmas, sinoviāliem audiem un sinoviālā šķidruma, izmantojot standarta fenola-hloroforma ekstrakciju. Pirms DNS izdalīšanas plazmas un sinoviālā šķidruma paraugi tika

apstrādāti ar DNāzi I. Lai garantētu PAL un sinoviālo audu DNS kvalitāti, kā arī, lai izslēgtu plazmas un sinoviālā šķidruma kontamināciju ar šūnu DNS, tika veikta beta-globīna polimerāzes ķēdes reakcija (PĶR).

B19V genoma secību klātbūtne tika noteikta izmantojot PĶR ar iekšējo praimēšanu. DNS tika izdalīta no PAL un asins plazmas, pielietojot šķelšanu ar proteīnāzi K i un sekojošu standarta fenola-hloroforma ekstrakcijas tehniku. Izdalītā DNS kvalitāte tika noteikta, izmantojot beta-globīna gēna 200-bp fragmenta PĶR amplifikāciju. B19V VP-1 un B19V NS-1 PĶR ar iekšējo praimēšanu tika veikta kā aprakstīts iepriekš (*Barah et al., 2001*). Par aktīvas infekcijas marķieri tika izmantota B19V genoma secību klātbūtne DNS, kas izolēta no šūnām brīvas asins plazmas (virēmija), bet par latentas persistentas infekcijas marķieri – B19V genoma secību klātbūtne DNS, kas izdalīta no perifēro asiņu leukocītiem. Vīrusu slodze tika noteikta, izmantojot reālā laika PĶR tehnoloģiju ar TaqMan zondi VP-1 gēnam, saskaņā ar ražotāja protokolu (*Roboscreen, Vācija*).

1.3.2. B19-specifisko antivielu noteikšana (*recomWell, recomLine*)

B19-specifiskās IgM klases un IgG klases antivielas tika noteiktas izmantojot ELISA *recomWell* kitu (*Microgen, Vācija*), balstoties uz ražotāja rekomendācijām. Vīrusa antivielu klātbūtne plazmā pret noteiktiem B19V antigēniem precizēta, pielietojot *recomLine* Parvovirus IgM un IgG testu (*Microgen, Vācija*) un vadoties pēc ražotāja rekomendācijām.

1.3.3. T-limfocītu proliferatīvās atbildes noteikšana uz B19V un tā proteīniem

PBMC proliferatīvā aktivitāte tika novērtēta trešajā un sestajā dienā pēc ³H-timidīna pievienošanas šūnām, kas bija kultivētas B19V (beigu

koncentrācija – 10^6 vīrusu genomi/ml) vai VP1/VP2 B19 peptīda LASEESAFYVLEHSSFQLLG [(Caslo Laboratory ApS, Dānija) beigu koncentrācija 10 µg/ml] klātbūtnē (*Kasprowicz et al., 2006*). B19V beigu koncentrācija tika aprēķināta pēc vīrusa slodzes seruma materiālā, kas tika noteikta izmantojot reālā laika PQR (serums ar augstu vīrusa slodzi saņemts no Helsinku universitātes *Haartman* institūta prof. *K. Haedman*). PBMC tika izolētas no heparinizētām asinīm ar centrifugēšanu *Ficoll-Hypaque* blīvuma gradientā (400 × g, 30 min), mazgātas ar RPMI-1640 (GIBCO), sekojoši centrifugētas un atkārtoti suspendētas RPMI-1640 ar 10% govju augļa seruma piedevu, kas papildināts ar penicilīnu (10^5 U/L) un sterptomicīnu (100 mg/L) (GIBCO). Iegūtās PBMC tika kultivētas 9–12 iedobītēs divās 24 iedobju platēs koncentrācijā 1×10^6 šūnas katrā iedobītē. Katra parauga 3–4 iedobītēs tika pievienots B19V un 3–4 iedobītēs – VP1/VP2 B19V peptīds. Kultivācijas trešajā vai sestajā dienā tika pievienots ^3H -timidīns (25 Ci/mmol, Amersham, Anglija) 2 µCi/iedobītē un šūnas kultivētas četras stundas, tad šūnas savāktas un pārnestas uz Millipore filtriem (poru diametrs 1,5 µm). Filtri divreiz atmazgāti ar PBS un trīsreiz ar 5 ml 5% trihloretikskābi, lai izgulsnētu DNS. DNS fiksēta ar 1 ml 96% etanolu un žāvēta 37 °C gaisā. ^3H -timidīna ieslēgšanās mērīta, izmantojot Packard šķidrums scintilācijas skaitītāju. PBMC proliferatīvā atbilde tika uzskatīta par pozitīvu, ja ^3H -timidīna ieslēgums vīrusa vai peptīda stimulētās šūnās palielinājās vismaz divreiz, salīdzinot ar negatīvo kontroli. Dati tika izteikti kā skaits minūtē (Δcpm): vidējais cpm (testa antigēns), vidējais cpm (*media*) un kā stimulācijas indeksi (SI). $\text{SI} = \text{vidējais cpm (testa antigēns)} / \text{vidējais cpm (media)}$. PBMC stimulācija ar fitohemaglutinīnu M (GIBCO) (2µg/ml) un sekojošu identisku ^3H -timidīna pievienošanu un kultivēšanu tika pielietota kā pozitīvā kontrole.

1.3.4. Persistentas HHV-6 un HHV-7 infekcijas un tās aktivitātes stadijas noteikšana (nPCR)

Viens mikrograms asins un sinoviālo audu DNS, kā arī 10 µl plazmas un sinoviālā šķidruma DNS izmantoti PĶR ar iekšējo praimēšanu veikšanai ar specifiskiem HHV-6 un HHV-7 praimeriem kā aprakstīts iepriekš (*Secchiero et al., 1995; Berneman et al., 1992*). Katrā eksperimentā tika iekļautas HHV-6 un HHV-7 pozitīvā un negatīvā kontrole, kā arī ūdens kontrole. HHV-6 un HHV-7 secību klātbūtne DNS, kas izolēta no perifērajām asinīm un sinoviāliem audiem, tika izmantota kā persistentas infekcijas marķieris, bet DNS konstatēšana no šūnām brīvā plazmā un sinoviālajā šķidrumā – kā aktīvas infekcijas (reaktivācijas) marķieris. Personu skaits ar persistentu infekciju latentā stadijā iegūts, izrēķinot starpību starp kopējo pacientu skaitu ar persistentu infekciju un persistentu infekciju aktīvā stadijā.

1.3.5. HHV-6 un HHV-7 specifisko antivielu noteikšana (ELISA)

Tā kā HHV-6 specifisko IgG klases antivielu sastopamība pieaugušo populācijā ir gandrīz 100% (*Braun et al., 1997*), tās nevar izmantot, lai atdiferencētu pārciestu no persistentas infekcijas. Savukārt, komplekti HHV-6 IgM klases antivielu noteikšanai, kas ļautu noteikt aktīvas infekcijas esamību, promocijas darba veikšanas laikā nebija komerciāli pieejami, tādēļ antivielas netika noteiktas.

Pēc literatūras datiem HHV-7 specifiskās IgG klases antivielas pieaugušo populācijā ir tikpat bieži sastopamas kā HHV-6 specifiskās IgG klases antivielas (*Clark et al., 1993*). Tā kā promocijas darba veikšanas laikā nebija komerciāli pieejami komplekti HHV-7 specifisko IgM un IgG klases antivielu noteikšanai, tās netika noteiktas.

1.3.6. B19V, HHV-6 un HHV-7 antigēnu imūnhistoķīmiskā noteikšana

Sinoviālie audi, kas iegūti no 6 RA un 43 OA pacientiem, tika fiksēti 10% neitrālā formalīnā, skaloti, atūdeņoti un ieguldīti parafinā. No parafina blokos ielietā sinoviālās membrānas audu materiāla pagatavoti 4–5 mkm biezi griezumi, kas žāvēti, deparafinēti, rehidrēti un krāsoti ar hematoksilīnu rutīnas histopatoloģiskās analīzes veikšanai un diagnozes precizēšanai, kas ietver virsējā sinoviālās membrānas slāņa (*lining*) biezuma noteikšanu, zemāk novietotā slāņa (*sublining*) vaskularizācijas un iekaisuma infiltrācijas izvērtēšanu, limfoīdo folikulu klātbūtnes noteikšanu pēc iepriekšējām rekomendācijām (*Baeten et al., 2003; Kruithof et al., 2005*). Iegūtie secīgi sinoviālo audu parafina griezumi izmantoti imūnhistoķīmiskai analīzei. Imūnhistoķīmiskās reakcijas veiktas, izmantojot anti-HHV-6 (2001) sc-65463 monoklonālo antivielu, kas ļauj noteikt gan HHV-6A, gan HHV-6B tipu (*Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, California, USA, 1:200 atšķaidījums*) un anti-parvovirus B19 NCL-PARVO monoklonālo antivielu, kas ļauj noteikt VP1/VP2 proteīnus (*Leica Biosystems, Novocastra, 1:20 atšķaidījums*).

Sinoviālie makrofāgi noteikti, izmantojot monoklonālo anti-CD68 antivielu (*DakoCytomation, Glostrup, Denmark, 1:100 atšķaidījums, klons PG-M1*), kas atpazīst lizosomas.

Reakcijas rezultātu vizualizācijai tika izmantoti HiDef Detection™ HRP Polymer sistēma (*CellMarque, Rocklin, California, USA*) un DAB+Chromogen (*Cell Marque, Rocklin, California, USA*). Imūnhistoķīmiskās kontrolēs ietverta primāro antivielu aizvietošana ar buferi. Audu griezumi analizēti, izmantojot palielinājumu ($\times 100$ līdz $\times 400$), un preparāti analizēti gaišā redzes lauka mikroskopā *Leitz DMRB*, pielietojot digitālo kameru *DFC 450C*.

1.3.7. Iekaisuma citokīnu līmeņa noteikšana

MMP-9 un citokīnu TNF- α , IL-6, IL-10, IL-12 un IL-17 līmeņi tika noteikti, izmantojot enzīmu imūnsorbcijas testu (ELISA) (TNF- α , IL-6 ar *Nordic Biosite, Denmark* un MMP-9 un IL-17 ar *R&D system, USA*, IL-10, IL-12 ar *Affymetrix eBioscience, USA*) un rezultāti analizēti saistībā ar B19V, HHV-6 un HHV-7 infekcijas marķieru klātbūtni vai iztrūkumu.

1.4. Reimatoīdā artrīta ārstēšanai pielietotā terapija

20 (19,6%) RA pacienti lietoja tikai NSPL bez bāzes terapijas vai citiem imūnosupresantiem. Monoterapijā vai dažādās kombinācijās RA pacienti lietoja sekojošus medikamentus: 49 (47,6%) – GK, 41 (39,8%) – MTX, 19 (18,4%) – leflunomīdu, 10 (9,7%) – hidroksihlorokvīnu, 31 (30,1%) sulfasalazīnu. Dažādu sSMARM kombināciju bez MTX lietoja 24 (23,3%) RA pacienti. Kopumā sSMARM saņēma 64 (62,1%) RA pacienti. No tiem 35 (54,7%) lietoja vienu sSMARM un 29 (45,3%) divus vai vairāk sSMARM. 8 (7,8%) RA pacienti ārstēšanā saņēma bSMARM monoterapijā vai kombinācijā ar citiem imūnosupresantiem.

RA pacientiem tika vērtēta kopējā imūnosupresīvās terapijas ietekme uz B19V, HHV-6 un HHV-7 persistentās infekcijas aktivitātes stadiju (B19V pēc *recomLine* un *recomWell* testiem, pēc T limfocītu proliferatīvās atbildes uz B19V antigēniem un B19V DNS secību sastopamības no šūnām brīvā asins plazmā, HHV-6 un HHV-7 – pēc vīrusspecifisko secību sastopamības no šūnām brīvā asins plazmā).

1.5. Statistiskās apstrādes metodes

Dati analizēti, izmantojot *SPSS Version 23* (firmas *SPSS Inc.*, *Statistical Package for the Social Sciences*, ASV produkts) un *GraphPad Prism 6.0 software*. Pētījumā pielietotas vispārpieņemtās aprakstošās un secinošās statistikas metodes, kas aprakstītas medicīniskās, bioloģiskās, matemātiskās un vispārējās statistikas literatūrā. Visu klīnisko, laboratorisko parametru un plazmas citokīnu un MMP vidējie līmeņi izteikti kā mediānas ar dispersiju, ko raksturo interkvartīles reģions [*interquartile region (IQR)*].

Hipotēžu pārbaudei, atbilstoši izvirzītajiem uzdevumiem un pielietotajam datu veidam, tika izmantotas sekojošas statistikas metodes:

1. ANOVA – viena faktora dispersiju analīze, ko izmanto kvantitatīvi noteiktas pazīmes vidējo vērtību salīdzināšanai vairāk nekā divās neatkarīgās izlasēs.
2. Fišera eksaktais tests – vērtē divu izlašu procentu daļu atšķirības ticamību.
3. Hī kvadrāta tests – neparametriskais tests, kas ļauj izvērtēt divu kvalitatīvu pazīmju sakarību.
4. Manna–Vitnija tests – neparametriskais kritērijs, ko izmanto, lai noteiktu interesējošā lieluma kvantitatīvo vērtību mazā izlasē.
5. Stjūdenta tests – parametriskais kritērijs, ko izmanto divu neatkarīgu izlašu kvantitatīvi noteikto pazīmju vidējo lielumu salīdzināšanai.

Hipotēžu pārbaudes raksturlielumu atšķirības tika vērtētas ar ticamību 95%, kas atbilst būtiskuma līmenim $p = 0,050$. Nulles hipotēze tika noraidīta, ja p vērtība bija mazāka par 0,050, bet ja p vērtība bija lielāka par 0,050 un mazāka par 0,100, tad vērtība tika pieņemta par statistiskas atšķirības tendenci.

2. REZULTĀTI

2.1. Pētījumā iekļauto pacientu klīniski laboratoriskais raksturojums

2.1.1. Reimatoīdā artrīta pacienti

Pēc slimības aktivitātes vidējiem rādītājiem RA pacientiem slimība bija ar augstu aktivitāti. Biežāk konstatētās RA komplikācijas bija polineiopātija 21,3%, reimatoīdie mezgliņi 16,3%, miopātisks sindroms 26,6% un osteoporoze 20%, bet retāk kakla skriemeļu specifisks bojājums 3,8%, sausais sindroms 6,3% un sklerīts 1,3%. Kopējais komplikāciju skaits RA pacientu grupā bija 80. Neviena komplikācija netika konstatēta 52,5% RA pacientu.

RA pacientu grupā trombocītu un hemoglobīna vidējais līmenis atbilda atbilstošajām references robežām, bet limfocītu vidējais skaits bija $1,76 \pm 0,68 \times 10^9/L$, kas atbilda limfopēnijai. RA pacientu vidū laboratoriskie vidējie slimības aktivitātes rādītāji bija zemi. RA pacientu grupā remisija pēc DAS28 noteikta 7,1% pacientu, zema slimības aktivitāte 6,1%, vidēji augsta RA aktivitāte 49,5% un augsta slimības aktivitāte 37,4% RA pacientu. Kopējā RA agresivitāte gan pēc RF, gan pēc anti-CCP tika novērtēta kā augsta.

Citokīnu vidējie līmeņi RA pacientu vidū netika vērtēti kā izteikti paaugstināti.

Pēc radioloģisko izmeklējumu rezultātiem RA pacienti tika sadalīti četrās radioloģiskās stadijās: I stadija tika konstatēta 8,7% pacientu, II stadija – 31,1% pacientu, III stadija – 46,6% pacientu un IV stadija noteikta 13,6% RA pacientu.

2.1.2. OA pacienti

Klīniskais OA grupas raksturojums atbilda vidēji aktīvai slimībai.

OA pacientu trombocītu un hemoglobīna vidējie līmeņi atbilda atbilstošajām references robežām, bet limfocītu vidējais skaits bija $2,07 \pm 0,41 \times 10^9/L$, kas atbilda limfopēnijai. Pēc laboratoriskiem aktivitātes parametriem OA pacientu grupa atbilda viegli aktīvam OA. OA pacientu grupā RF un anti-CCP vidējie līmeņi atbilda attiecīgam references intervālam – vidējais RF līmenis 7,0 IU/ml (IQR 4,2–10,4) un vidējais anti-CCP līmenis 7,0 IU/ml (IQR 7,0–12,3).

Citokīnu vidējie līmeņi RA pacientu vidū netika vērtēti kā izteikti paaugstināti.

2.1.3. Kontroles grupas indivīdi

Kontroles grupas indivīdi bija praktiski veselas personas. Veseliem kontroles grupas indivīdiem tika noteikts MMP-9 un citokīnu līmenis bez konstatētām izmaiņām.

2.2. Vīrusu infekcijas marķieru atrade RA pacientiem

2.2.1. B19V infekcijas marķieru atrade RA pacientiem

B19V antivielu noteikšana pēc *recomWell* un PQR testa veikta 96 RA pacientiem. Pamatojoties uz *recomWell* un PQR rezultātiem RA pacienti tika sadalīti piecās grupās: (1) 37 RA pacienti ar pārciestu B19V infekciju (tikai B19 IgG klases antivielu klātbūtne), (2) 15 RA pacienti ar akūtu B19V infekciju (B19 IgM klases antivielu klātbūtne un/vai virēmija), (3) 14 RA pacienti ar B19V persistentu latentu infekciju (B19 IgG klases antivielu

klātbūtne un B19V DNS asinīs), (4) 19 RA pacienti ar B19V persistentu aktīvu infekciju (B19 IgG klases antivielu klātbūtne un vīrēmija) un (5) 11 RA bez B19V infekcijas (bez B19V specifiskām antivielām). Pie akūtas infekcijas grupas pieskaitīti arī RA pacienti ar B19 IgM, IgG klases antivielām un bez vīrusa genoma DNS un IgG NS-1 klases antivielu klātbūtnes. Pilnu asiņu DNS PQR var būt negatīva, jo tests veikts akūtas infekcijas stadijā, kad jau parādījušās B19 IgG klases antivielas un vīrusu slodze ir zema. Pie persistentas aktīvas infekcijas grupas pieskaitīti arī RA pacienti, kuriem noteiktas B19 IgM un IgG klases antivielas, nav konstatēta vīrusa genoma DNS klātbūtne, bet atrasta NS-1 specifisko IgG klases antivielu klātbūtne. PQR atradne var būt negatīva zemas vīrusu slodzes dēļ.

PLS bija ievērojami lielāks RA pacientiem ar aktīvu persistentu B19V infekciju nekā pacientiem ar pārciestu B19V infekciju ($p = 0,018$). Slimības ilgums un radioloģiskā stadija minētās RA grupās statistiski ticami neatšķīrās.

RA dažādu komplikāciju sastopamības biežums RA grupās ar dažādām B19V infekcijas aktivitātes stadijām bija līdzīgs. Kopējais komplikāciju skaits šajās RA grupās būtiski neatšķīrās. B19V infekcijas aktivitātes stadijas RA pacientiem ar atšķirīgu ārstēšanas stratēģiju būtiski neatšķīrās.

RA laboratorisko aktivitātes rādītāju EGĀ un CRO līmenis starp RA pacientu grupām ar dažādām B19V aktivitātes stadijām statistiski ticami neatšķīrās, tāpat arī DAS28 un slimības agresivitātes rādītāja anti-CCP līmenis starp tām bija līdzīgs. RA pacientiem ar akūtu B19V infekciju RF līmenis ir ievērojami augstāks salīdzinot ar RA pacientiem bez B19V infekcijas ($p = 0,015$), salīdzinot ar RA pacientiem ar pārciestu B19V infekciju ($p = 0,001$) un ar RA pacientiem ar latentu persistentu infekciju ($p = 0,027$). Agresivitātes pakāpe atsevišķi pēc RF un atsevišķi pēc anti-CCP līmeņa RA pacientiem ar dažādām B19V infekcijas aktivitātes stadijām bija līdzīga. Savukārt kopējais agresivitātes līmenis, kad vienlaikus tiek vērtēts gan RF, gan anti-CCP līmenis konstatēts augstāks RA pacientiem ar akūtu B19V infekciju

nekā pacientiem bez B19V infekcijas ($p = 0,013$) un nekā pacientiem ar pārciestu B19V infekciju ($p = 0,002$).

Hemoglobīna, trombocītu un limfocītu vidējais līmenis minētās grupās būtiski neatšķīrās.

TNF- α līmenis RA pacientu grupā ar pārciestu B19V infekciju bija zemāks nekā RA pacientu grupās ar aktīvu persistentu B19V infekciju ($p = 0,001$) un ar akūtu B19V infekciju ($p = 0,002$). RA pacientiem ar akūtu B19V infekciju TNF- α līmenis bija augstāks salīdzinājumā ar RA pacientiem bez B19V infekcijas ($p = 0,043$). IL-17 līmenis konstatēts augstāks RA pacientu grupā bez B19V infekcijas salīdzinājumā ar RA pacientu grupu ar pārciestu B19V infekciju ($p = 0,027$). MMP-9 līmenis RA pacientiem ar aktīvu persistentu B19V infekciju konstatēts statistiski ticami zemāks nekā RA pacientiem ar pārciestu B19V infekciju ($p = 0,006$) un nekā RA pacientiem bez B19V infekcijas ($p = 0,001$). Citokīnu līmenis starp minētām RA pacientu grupām būtiski neatšķīrās.

B19V antivielu noteikšana pēc *recomLine* testa tika veikta visiem 103 RA pacientiem. Pamatojoties uz *recomLine* rezultātiem un ražotāja rekomendācijām/protokoliem RA pacienti tika sadalīti četrās grupās: (1) 29 RA pacienti ar gadiem ilgu B19V infekciju, (2) 34 RA pacienti ar mēnešiem-gadiem ilgu B19V infekciju, (3) 14 RA pacienti ar nedēļas līdz mēnešiem ilgu B19V infekciju un (4) 19 RA pacienti bez B19V infekcijas. Septiņiem RA pacientiem B19V inficēšanās periods bija neskaidrs, tādēļ to dati tālākā apstrādē netika izmantoti. Grupas raksturo laika periodu kopš inficēšanās brīža līdz pacienta iekļaušanai pētījumā.

RA pacientiem netika konstatētas statistiski ticamas atšķirības slimības klīniskajos parametros (SLS, PLS, VAS, rīta stīvums) un radioloģiskajā stadijā, DAS28, laboratoriskajos - slimības aktivitātes (EGĀ, CRO), agresivitātes (RF un anti-CCP) un citos klīniskajos (Hb, trombocīti, limfocīti) rādītājos, kā arī

MMP-9 un citokīnu līmeņos, ņemot vērā inficēšanās ar B19V periodu pirms iekļaušanas pētījumā.

RA komplikāciju sastopamība RA pacientiem ar dažādiem B19V inficēšanās periodiem pirms iekļaušanas pētījumā būtiski neatšķīrās (vērtējot pēc *recomLine*).

Citokīna IL-17 vidējais līmenis RA pacientiem ar mēnešiem-gadiem ilgu B19V infekciju noteikts zemāks nekā pacientiem bez B19V infekcijas ($p = 0,007$), savukārt pacientiem ar nedēļām-mēnešiem ilgu B19V infekciju IL-17 vidējais līmenis noteikts augstāks nekā RA pacientiem ar gadiem ilgu B19V infekciju ($p = 0,025$) un nekā pacientiem ar mēnešiem-gadiem ilgu RA infekciju ($p = 0,001$). Pārējo citokīnu līmeņi RA pacientiem ar dažādu B19V inficēšanās periodu pirms iekļaušanas pētījumā ar RA neatšķīrās.

T limfocītu proliferatīvās atbildes atšķirība tika konstatēta starp RA pacientiem un veseliem kontroles indivīdiem. Uz B19V antigēniem ar proliferāciju reaģēja 73,6% RA pacientu limfocīti un tikai 25,0% veselu indivīdu limfocīti. RA pacientu T limfocīti reaģēja uz B19V antigēniem (vīrusu un/vai VP1/VP2 peptīdu) biežāk un ātrāk nekā kontroles grupas indivīdi. Trešajā kultivācijas dienā B19V antigēnu klātbūtnē T limfocītu proliferācija konstatēta 25/52 (48,0%) RA pacientiem un tikai 2/25 (8,0%) veseliem indivīdiem ($p = 0,00068$). Sestajā T limfocītu kultivācijas dienā uz B19V antigēniem reaģēja 33/52 (63,5%) RA pacienti un 8/25 (32,0%) kontroles grupas personas ($p = 0,01436$).

Izanalizējot T limfocītu atbildes reakciju uz B19V antigēniem atkarībā no B19V infekcijas marķieriem, noteikts, ka visi RA pacienti (4/4) un visi kontroles grupas indivīdi (6/6), kuriem nebija konstatēti B19V infekcijas marķieri, nereaģēja uz B19V antigēniem. 10/14 (74,1%) RA pacientu ar aktīvu B19V vīrusa infekciju un abu kontroles grupas personu ar aktīvu vīrusa infekciju T limfocīti reaģēja uz B19V antigēniem trešajā proliferācijas dienā. Tāpat trešajā proliferācijas dienā uz vīrusa antigēniem reaģēja 13/29 (44,8%)

senāk (gadiem ilgu) inficētu RA pacientu, ieskaitot pacientus ar pārciestu B19V infekciju, T limfocīti, bet senāk inficēto veselu personu T limfocīti trešajā dienā uz B19V antigēniem nereaģēja ($p = 0,00071$). Savukārt sestajā proliferācijas dienā uz vīrusa antigēniem ar proliferāciju reaģēja 20/29 (68,9%) RA pacientu, kuri inficējušies pirms vairākiem gadiem, T limfocīti un 6/17 (41,1%) gadiem ilgu inficētu kontroles indivīdu T limfocīti ($p = 0,0347$). T limfocītu proliferatīvā atbilde uz B19V antigēniem noteikta 2/5 (40,0%) RA pacientiem, kuriem konstatētas IgG klases antivielas un B19V genoma secības PAL (persistenta infekcija), T limfocītu proliferatīvā atbilde uz B19V antigēniem 2/5 (40,0%) pacientiem noteikta trešajā dienā un 4/5 (80,0%) pacientiem sestajā dienā. Veselu indivīdu grupā persistenta infekcija netika konstatēta.

Trešajā dienā RA pacientu ar akūtu B19V infekciju T limfocītu proliferatīvā atbilde uz B19 VP-1/VP-2 peptīdu konstatēta 9/14 (64,2%) un sestajā dienā – 8/14 (57,1%) pacientiem. Abu kontroles grupas indivīdu ar akūtu B19V infekciju T limfocīti reaģēja uz B19V antigēniem, bet tikai sestajā dienā. Senāk inficētu RA pacientu T limfocītu proliferatīvā atbilde trešajā dienā noteikta 8/29 (27,5%), bet sestajā dienā 7/29 (24,1%) pacientiem. Savukārt ar gadiem ilgu B19V infekciju pirms iekļaušanas pētījumā inficētu veselu kontroles personu T limfocīti reaģēja uz B19V antigēniem tikai sestajā dienā. 2/5 (40,0%) RA pacientu ar latentu persistentu B19V infekciju T limfocīti atbildēja ar proliferāciju trešajā dienā un 4/5 (80,0%) pacientu sestajā dienā. Tādējādi T limfocītu proliferatīvā atbilde uz B19V VP-1/VP-2 peptīdu tika noteikta gan ar vīrusu inficētiem RA pacientiem, gan kontroles grupas indivīdiem, bet RA pacientiem šī atbilde bija ievērojami ātrāka, jo trešajā dienā tā tika konstatēta tikai RA pacientu grupā ($p = 0,009$; 0/19 vs 10/34).

Augstākie T limfocītu stimulācijas vidējie rādītāji tika noteikti RA pacientu un veselu personu grupās ar aktīvas B19V infekcijas marķieriem un ar latentas persistentas infekcijas marķieriem (sk. 2.1. tab.).

**T limfocītu stimulācijas ar B19V antigēniem vidējie rādītāji RA pacientu
un kontroles indivīdu grupās**

RA pacienti ar aktīvas B19V infekcijas marķieriem (n = 14)		Senāk inficēti RA pacienti				RA pacienti bez B19V infekcijas marķieriem (n = 4)	
3 dienas peptīds/vīruss	6 dienas peptīds/vīruss	Tikai IgG (pārciesta B19V infekcija) (n = 29)		IgG ar B19 DNA PAL (latenta persisterenta B19V infekcija) (n = 5)		3 dienas peptīds/vīruss	6 dienas peptīds/vīruss
		3 dienas peptīds/vīruss	6 dienas peptīds/vīruss	3 dienas peptīds/vīruss	6 dienas peptīds/vīruss		
2,00 ± 0,18	2,17 ± 0,16	1,55 ± 0,12	1,63 ± 0,09	1,87 ± 0,55	2,63 ± 0,63	0,99 ± 0,10	1,04 ± 0,05
1,76 ± 0,15	2,24 ± 0,14	1,49 ± 0,12	1,88 ± 0,12	1,30 ± 0,22	2,67 ± 0,64	1,13 ± 0,03	1,07 ± 0,07
Kontroles personas ar aktīvas B19V infekcijas marķieriem (n = 2)		Tikai IgG (pārciesta B19V infekcija) (n = 17)				Kontroles personas bez B19V infekcijas marķieriem (n = 6)	
3 dienas peptīds/vīruss	6 dienas peptīds/vīruss	3 dienas peptīds/vīruss		6 dienas peptīds/vīruss		3 dienas peptīds/vīruss	6 dienas peptīds/vīruss
1,78 ± 0,03	2,21 ± 0,12	1,06 ± 0,04		1,56 ± 0,20		1,11 ± 0,10	0,96 ± 0,04
2,01 ± 0,01	2,62 ± 0,10	0,99 ± 0,03		1,46 ± 0,16		1,04 ± 0,08	0,99 ± 0,06

2.2.2. B19V infekcijas marķieru un citu laboratorisko rādītāju atradne atkarībā no pielietotās terapijas

Pacientu grupa, kura terapijā nesaņēma SMARM

Salīdzinot RA pacientus, kuri saņēma tikai NSPL, ar RA pacientiem, kuri saņēma kādu no imūnsupresīviem medikamentiem (sSMARM, bSMARM, GK), netika konstatētas būtiskas atšķirības ne pēc B19V infekcijas aktivitātes stadijas (pēc *recomWell* testa), ne arī pēc inficēšanās perioda ar B19V pirms iekļaušanas pētījumā (pēc *recomLine* testa). Imūnsupresīvo medikamentu lietotāju vidū T limfocītu proliferatīvā atbilde uz B19V antigēniem trešajā dienā bija novērota retāk (45,2%), bet sestajā dienā – tā bija ticami retāka (66,7%) nekā šo medikamentu nelietotāju vidū (attiecīgi, 80% un 100%, $p = 0,078$ un $p = 0,046$). B19V IgM NS-1 un B19V IgG NS-1 antivielu sastopamība neatšķīrās imūnsupresantu lietotāju un nelietotāju grupās. Citokīnu un MMP-9 līmenis imūnsupresantu lietotāju un to nelietotāju vidū statistiski ticami neatšķīrās. SMARM lietotāju grupā netika konstatētas būtiskas atšķirības B19V infekcijas aktivitātes fāzēs pēc *recomLine* testa salīdzinājumā ar RA pacientiem, kuri SMARM nelieto.

B19V DNS secību sastopamība asinīs, plazmā, sinoviālajā šķidrumā vai sinoviālajos audos, kā arī IgG klases antivielas pret B19V NS-1 sSMARM lietojošiem un nelietojošiem RA pacientiem būtiski neatšķīrās. RA pacientiem, kuri lietoja tikai vienu sSMARM ne pēc viena parametra statistiski ticamas atšķirības netika nekonstatētas. Savukārt, ja RA pacients lietoja divus vai vairāk sSMARM, T limfocītu proliferatīvā atbilde uz B19V antigēniem gan trešajā, gan sestajā dienā bija ticami zemāka nekā sSMARM nelietotāju grupā (attiecīgi, $p = 0,001$ un $p = 0,001$). B19V infekcijas dažādu stadiju sastopamība pēc *recomLine* testa, un B19V DNS secību sastopamības asinīs, plazmā, sinoviālajos audos un sinoviālajā šķidrumā RA pacientu grupā, kuri nelietoja

vismaz divus sSMARM, neatšķirās. Ne sSMARM lietošana kopumā, ne lietoto sSMARM skaits būtiski neietekmēja MMP-9 un citokīnu līmeni attiecīgajās ārstēšanas grupās.

Pacientu grupa, kurai terapijā pielietoti glikokortikoidi

Netika konstatēta atšķirība B19V infekcijas dažādu stadiju sastopamībā pēc *recomWell*, salīdzinot GK lietotāju un neliidotāju grupas. GK lietošana neietekmēja T limfocītu proliferatīvo atbildi uz B19V antigēniem ne trešajā, ne sestajā dienā. IgM klases antivielu pret B19V NS-1 un IgG klases antivielas pret B19V NS-1 sastopamība abās grupās statistiski neatšķirās. GK lietotājiem retāk kā to neliidotājiem tika noteiktas B19V DNS secības asinīs ($p = 0,044$). B19V DNS sastopamība plazmā, sinoviālajā šķidrumā un audos statistiski neatšķirās.

Pacientu grupa, kurai terapijā pielietots metotreksāts

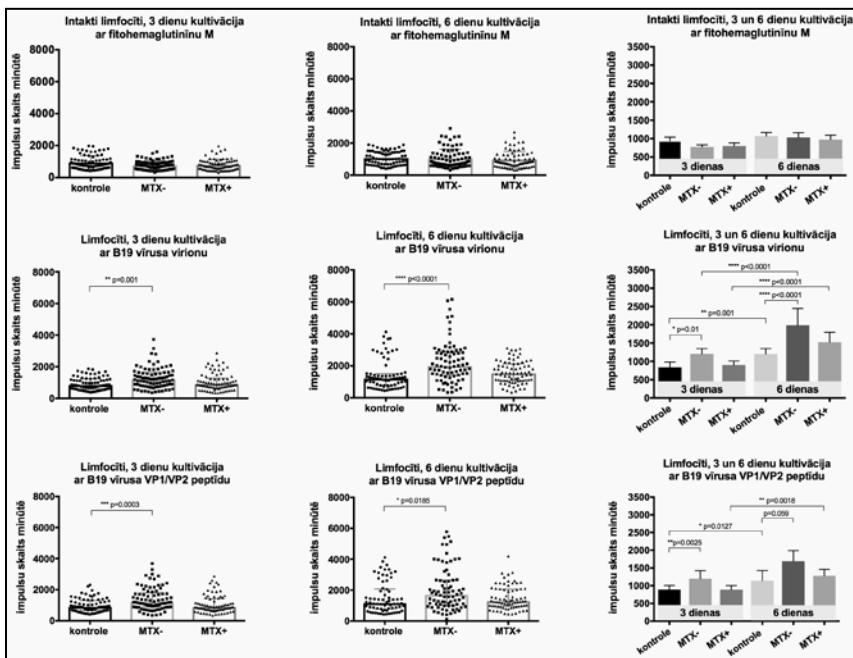
B19V infekcijas dažādu stadiju, kas noteiktas pēc *recomWell* testa, un B19V infekcijas pēc *recomLine* testa, sastopamības biežums MTX lietotāju un neliidotāju vidū būtiski neatšķirās. IgG un IgM klases antivielu pret B19V NS-1 sastopamība MTX lietotāju un neliidotāju vidū neatšķirās. B19V genoma secību sastopamība DNS, kas izdalīta no asinīm, šūnām brīvas asins plazmas, sinoviālā šķidruma un audiem ticami neatšķirās.

Lai izvērtētu MTX iespējamo ietekmi uz B19V specifisko šūnu imūno atbildi pret vīrusa antigēniem, tika salīdzināta T limfocītu proliferatīvā atbilde uz B19V antigēniem (scintilācijas skaitītājā noteiktais vidējais impulsu skaits minūtē) trešajā un sestajā dienā RA pacientiem ar un bez MTX terapijas. Rezultātā konstatēts, ka abās ārstēšanas grupās (ar un bez MTX) sestajā dienā limfocītu proliferatīvā aktivitāte bija ievērojami augstāka nekā trešajā dienā ($p = 0,0001$ un $p = 0,0001$). RA pacientiem, kuri nesaņēma MTX terapiju, arī

noteikta ievērojami augstāka vidējā limfocītu proliferatīvā aktivitāte gan trešajā, gan sestajā dienā, salīdzinot ar kontroles grupas indivīdiem noteikto vidējo šūnu proliferatīvās aktivitātes atbildi kā trešajā, tā sestajā dienā (sk. 2.1. att.).

Netika konstatētas proliferatīvās aktivitātes būtiskas atšķirības starp RA pacientiem ar un bez MTX terapijas, kā arī starp RA pacientiem ar MTX terapiju un veseliem indivīdiem. Ņemot vērā augstās individuālās variabilitātes RA pacientiem ar un bez MTX terapijas, RA pacienti un kontroles grupas personas tika sadalītas divās apakšgrupās atkarībā no T limfocītu vidējā skaita. Proliferatīvā aktivitāte, kas tika noteikta bez B19V antigēnu pievienošanas (negatīvā kontrole), tika pieņemta par 100%. Tādejādi vienā apakšgrupā iekļauti RA pacienti vai veselas personas, kuru proliferatīvā aktivitāte ir līdzīga negatīvās kontroles grupai, bet otrā apakšgrupā – RA pacienti vai veselas personas, kuru proliferatīvā aktivitāte ir lielāka kā negatīvās kontroles grupai. Izmantojot šo analīzi tika konstatētas ievērojamas atšķirības starp RA pacientiem, kuri saņem un kuri nesaņem MTX, trešajā un sestajā proliferācijas dienā.

Apakšgrupā ar augstu proliferatīvo aktivitāti trešajā kultivācijas dienā konstatēts būtiski mazāks to RA pacientu skaits, kuri saņem MTX, nekā to RA pacientu skaits, kuri nesaņem MTX ārstēšanu ($p < 0,025$), bet būtiski lielāks nekā kontroles grupā ($p < 0,0374$). RA pacientiem, kuriem noteikta ātrāka T limfocītu proliferatīvā atbilde uz B19V antigēniem un kuri nesaņēma MTX, arī proliferatīvā aktivitāte bija lielāka nekā kontroles grupā ($p = 0,0001$). Grupā ar augstu proliferatīvo aktivitāti sestajā kultivācijas dienā RA pacientu skaits, kuri saņēma MTX, noteikts mazāks nekā pacientu skaits bez MTX terapijas ($p < 0,012$), bet līdzīgs veselu kontroles indivīdu skaitam. Gan trešajā, gan sestajā kultivācijas dienā RA pacientu skaits ar augstu proliferācijas aktivitāti un bez MTX terapijas noteikts ievērojami lielāks salīdzinājumā ar veselu kontroles personu skaitu ($p < 0,0001$).



2.1. attēls. T limfocītu proliferatīvā atbilde RA pacientiem un kontroles grupas indivīdiem (augšējās rindas attēli: intaktu limfocītu kultivācija ar fitohemaglutinīnu M; vidējās rindas attēli: limfocītu kultivācija ar B19V vīrionu; apakšējās rindas attēli: limfocītu kultivācija ar B19V VP1/VP2 peptīdu)

Pacientu grupa, kurai terapijā pielietoti sSMARM bez MTX

RA pacientu grupā, kuri lietoja sSMARM bez MTX, B19V infekcijas aktivitātes stadijas pēc *recomWell*, kā arī B19V infekcija pēc *recomLine* testa un T limfocītu proliferatīvās atbildes uz B19V antigēniem trešajā un sestajā kultivācijas dienā, kā arī pēc IgM klases antivielu pret B19V NS-1 sastopamība statistiski neatšķīrās no RA pacientiem, kuri nelietoja sSMARM bez MTX. B19V, HHV-6 un HHV-7 specifiskās DNS sastopamība DNS paraugos, kas izdalīti no asinīm, šūnām brīvas asins plazmas, sinoviālā šķidruma un audiem

būtiski neatšķirās. sSMARM bez MTX lietotāju grupā IgG klases antivielas pret B19 NS-1 tika noteikts biežāk (50,0%) nekā nelietotāju grupā (26,9%, $p = 0,046$).

Pacientu grupa, kurai terapijā pielietoti bSMARM

bSMARM lietotāju un nelietotāju vidū B19V infekcijas aktivitātes stadijas pēc *recomWell*, B19V infekcijas ilgums pirms pacienta iekļaušanas pētījumā pēc *recomLine* testa un T limfocītu proliferatīvās atbildes uz B19V antigēniem trešajā un sestajā kultivācijas dienā, kā arī pēc IgG un IgM klases antivielu pret B19V NS-1 sastopamības ticami neatšķirās. B19V genoma sastopamības biežums no asinīm, plazmas, sinoviālā šķidruma un audiem izdalītā DNS būtiski neatšķirās.

2.2.3. HHV-6 un HHV-7 infekcijas marķieru atrade RA pacientiem

Persistenta HHV-6 un/vai persistenta HHV-7 infekcija konstatēta 67/80 (81,3%) no pētījumā iekļautajiem RA pacientiem. Starp RA pacientiem ar persistentu HHV-6 un/vai HHV-7 infekciju 6/67 (9,0%) noteikta tikai HHV-6 infekcija, 42/67 (62,7%) – tikai HHV-7 infekcija un 19/67 (28,4%) – vienlaicīgi HHV-6 un -7 infekcija (sk. 2.2. tab.).

**Persistentas, aktīvas un latentas HHV-6 un HHV-7 infekcijas sastopamība
RA un OA pacientu un veselu indivīdu vidū**

Infekcijas veids Grupa	Bez infekcijas	Persistenta vīrusu infekcija			Aktīva vīrusu infekcija			Ar latentu infekciju
		HHV- 6	HHV- 7	HHV- 6 + HHV- 7	Tikai HHV- 6	Tikai HHV- 7	HHV- 6 + HHV- 7	
RA n = 80	13/80	6/67	42/67	19/67	8/67	11/67	2/67	46/67
OA n = 78	15/78	1/63	41/63	21/63	9/63	7/63	7/63	40/63
Veseli kontroles indivīdi n = 19	4/19	0/15	10/15	5/15	3/15	2/15	1/15	9/15

HHV-6 reaktivācija tika noteikta 10/67 (14,9%) RA pacientiem. Tikai HHV-6 infekcijas reaktivācija konstatēta 8/25 (32,0%) RA pacientiem ar persistentu HHV-6 infekciju. Savukārt HHV-7 reaktivācija noteikta 13/67 (19,4%) RA pacientiem. HHV-7 infekcijas reaktivācija noteikta 11/61 (18,0%) RA pacientiem ar persistentu HHV-7 infekciju. Diviem no 19 RA pacientiem ar abu vīrusu (HHV-6 un HHV-7) persistentu infekciju tika konstatēta arī abu šo vīrusu reaktivācija (10,5%) (sk. 2.2. tab.).

Starp RA pacientiem persistenta HHV-6 monoinfekcija latentā stadijā tika noteikta 4/6 (66,7%) gadījumos. Persistenta HHV-7 infekcija latentā stadijā tika atrasta 31/42 (73,8%) RA pacientiem. Vienlaicīga persistenta HHV-6 un HHV-7 infekcija latentā stadijā noteikta 11/19 (57,9%) RA pacientiem.

2.2.4. HHV-6 un HHV-7 infekcijas marķieru atrade saistībā ar RA klīnisko aktivitāti un laboratoriskajiem rādītājiem

SLS un PLS un sāpju izteiktība VAS, kā arī komplikāciju – reimatoīdo mezgliņu, mugurkaula kakla daļas bojājuma, osteoporozes, sausā sindroma,

sklerīta un polineiopātijas, biežums RA pacientiem ar dažādām persistentas HHV-6 un HHV-7 infekcijas aktivitātes stadijām vai arī bez infekcijas bija līdzīgs. Tomēr rīta stīvuma ilgums bija garāks RA pacientiem ar latentu HHV-6 infekciju nekā ar aktīvu HHV-6 infekciju ($p = 0,02$). Vidējais SLS un PLS un rīta stīvuma ilgums bija lielāki RA pacientiem nekā OA pacientiem bez HHV-6 un HHV-7 infekcijas. Miopātiskais sindroms retāk konstatēts RA pacientiem ar aktīvu HHV-7 infekciju, salīdzinot ar RA pacientiem, kuriem bija latentā HHV-6 infekcija ($p = 0,0117$) un pacientiem bez HHV-6 un HHV-7 infekcijas ($p = 0,0158$). Tāda nopietna RA komplikācija kā sklerīts tika noteikta tikai pacientam ar latentu HHV-7 infekciju, bet mugurkaula kakla daļas specifisks bojājums – RA pacientiem ar latentu HHV-6 un HHV-7 infekciju.

RA pacientiem slimības aktivitātes rādītāji DAS28 un EGĀ dažādās persistentas HHV-6 un/vai HHV-7 infekcijas aktivitātes stadijās neatšķīrās. Visās grupās, kurās bija konstatēta HHV-6 un/vai HHV-7 infekcija, RA aktivitāte pēc DAS28 rādījuma bija vidēji augsta. Arī CRO un EGĀ rādītāji visās RA pacientu grupās bija paaugstināti.

RA pacientiem abu slimības agresivitātes rādītāju RF un anti-CCP vidējie lielumi bija paaugstināti, bet bez būtiskām atšķirībām dažādās persistentas HHV-6 un HHV-7 infekcijas aktivitātes stadijās.

Radioloģisko stadiju sadale starp RA pacientiem ar dažādām persistentas HHV-6 un HHV-7 infekcijas aktivitātes stadijām bija līdzīga.

RA pacientiem bez HHV-6 un HHV-7 infekcijas CRO un EGĀ vidējie lielumi bija augstāki, salīdzinot ar OA pacientiem bez infekcijas ($p < 0,05$).

Hemoglobīna, trombocītu un limfocītu vidējie līmeņi RA pacientiem ar dažādām persistentas HHV-6 un HHV-7 infekcijas aktivitātes stadijām neatšķīrās.

IL-6 vidējais līmenis bija ievērojami zemāks RA pacientiem ar aktīvu HHV-6 infekciju nekā pacientiem ar latentu HHV-6 infekciju ($p = 0,0478$). TNF- α un IL-17 vidējie līmeņi RA pacientiem ar dažādām persistentas HHV-6

un HHV-7 infekcijas aktivitātes stadijām bija līdzīgi. IL-10 vidējais līmenis konstatēts ievērojami zemāks RA pacientiem ar aktīvu HHV-7 infekciju salīdzinājumā ar RA pacientiem ar latentu HHV-7 infekciju un RA pacientiem bez infekcijas (attiecīgi, $p = 0,0488$ un $p < 0,0001$). MMP-9 vidējais līmenis noteikts ievērojami zemāks RA pacientiem ar aktīvu HHV-7 infekciju salīdzinājumā ar RA pacientiem ar latentu HHV-7 infekciju un pacientiem ar aktīvu HHV-6 infekciju (attiecīgi, $p = 0,0199$ un $p = 0,006$).

Būtiskas atšķirības konstatētas IL-6, RF un anti-CCP vidējos līmeņos starp RA un OA pacientiem un veseliem indivīdiem bez HHV-6 un HHV-7 infekcijas. RA pacientiem bez abu vīrusu infekcijas vidējais IL-6 ($p = 0,0186$), RF ($p = 0,0007$) un anti-CCP ($p = 0,0346$) līmenis noteikts ievērojami augstāks nekā OA pacientiem bez infekcijas. RA pacientiem ar aktīvu HHV-6 infekciju konstatēts lielāks vidējais SLS ($p = 0,0013$) un PLS ($p = 0,003$) un rīta stīvuma ilgums ($p = 0,0195$), kā arī RF ($p = 0,001$), anti-CCP ($p = 0,0063$) un MMP-9 ($p = 0,0252$) vidējais līmenis salīdzinājumā ar OA pacientiem ar aktīvu HHV-6 infekciju. Līdzīgi arī RA pacientiem ar aktīvu HHV-7 infekciju SLS ($p = 0,0365$) un PLS ($p = 0,0419$), kā arī RF ($p < 0,0001$) un IL-10 ($p = 0,0064$) vidējais līmenis noteikts augstāks nekā OA pacientiem ar aktīvu HHV-7 infekciju. RA pacientiem ar latentu HHV-6 infekciju vidējais SLS un PLS un vidējais RF līmenis konstatēts ievērojami lielāks kā OA pacientiem ar latentu HHV-6 infekciju ($p < 0,05$). Līdzīgi RA pacientu grupā ar latentu HHV-7 infekciju – vidējais SLS ($p < 0,0001$) un PLS ($p = 0,007$) un vidējais anti-CCP ($p = 0,03$), TNF- α ($p < 0,0001$) un IL-6 ($p < 0,0001$) līmenis noteikts augstāks, salīdzinot ar OA pacientiem ar latentu HHV-7 infekciju.

2.2.5. HHV-6 un HHV-7 infekcijas marķieru un citu laboratorisko rādītāju atrade atkarībā no pielietotās terapijas

Aktīvas un latentas HHV-6 un/vai HHV-7 infekcijas sastopamība netšķīrās RA pacientu grupās, kuri saņēma un kuri nesaņēma SMARMs. Ne HHV-6, ne HHV-7 infekcijas reaktivācija netika konstatēta MTX monoterapijas un bSMARMs lietotāju grupās. RA pacientiem ar aktīvu HHV-6 un/vai HHV-7 infekciju tādu komplikāciju biežums kā miopātiskais sindroms, reimatoīdie mezgliņi, osteoporoze, polineuropātija un sausais sindroms neatšķīrās.

2.2.6. B19V, HHV-6 un HHV-7 infekcijas marķieru atrade RA pacientu sinoviālajā šķidrumā un audos

B19V genoma secības atrastas 1/6 (16,7%) RA pacientu sinoviālā šķidruma DNS un 3/7 (42,9%) RA pacientu sinoviālo audu paraugos.

HHV-6 un/vai HHV-7 genoma secības konstatētas 5/6 (83,3%) RA pacientu sinoviālā šķidruma DNS. Tikai HHV-6 genoma secības noteiktas 2/6 (33,3%) RA pacientiem un nevienam no OA pacientiem ($p=0,0192$). Savukārt tikai HHV-7 genoma secības konstatētas 2/6 (33,3%) RA pacientu sinoviālā šķidruma DNS paraugos. Vienlaicīgi abu vīrusu genoma secības sinoviālā šķidruma DNS paraugos noteiktas 1/6 (16,7%) RA pacientiem (sk. 2.3. tab.).

HHV-6 un/vai HHV-7 genoma secības konstatētas arī sinoviālo audu DNS paraugos 4/7 (57,1 %) RA pacientiem. Nevienā no RA pacientu paraugiem netika konstatētas tikai HHV-6 genoma secības, bet 1/7 (14,3%) RA pacientu sinoviālo audu DNS paraugā konstatētas tikai HHV-7 genoma secības. RA pacientu sinoviālo audu DNS paraugos ticami biežāk 3/7 (42,9%) noteiktas abu vīrusu (HHV-6 un HHV-7) genomu secības vienlaicīgi, salīdzinot ar 3/54

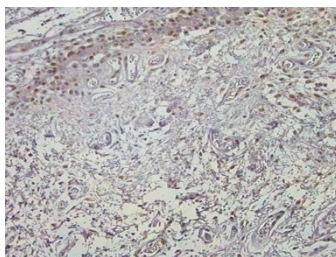
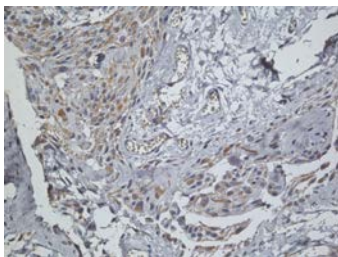
(5,6%) OA pacientiem ($p = 0,0166$). Savukārt 3/7 (42,9%) RA pacientu sinoviālo audu DNS paraugos vīrusu secības netika konstatētas (sk. 2.3. tab.).

2.3. tabula

B19V, HHV-6 un HHV-7 genoma secību sastopamība RA un OA pacientu sinoviālā šķidrums un sinoviālo audu DNS paraugos

Vīrusa secība DNS paraugos Pacienti	Sinoviālā šķidruma DNS				Sinoviālo audu DNS			
	B19V	HHV-6	HHV-7	HHV-6 + HHV7	B19V	HHV-6	HHV-7	HHV6 + HHV-7
RA pacienti	1/6	2/6	2/6	1/6	3/7	0/7	1/7	3/7
OA pacienti	6/33	0/34	10/34	3/34	3/57	0/54	17/54	3/54

Šūnām, kas iezīmētas ar anti-HHV-6 antivielu, redzams brūns citoplazmatiskais krāsojums. Pētījumā iekļauto HHV-6 pozitīvo RA un OA pacientu sinoviālajos audos, kuros tika atrasta vīrusa genoma secību klātbūtne, tika vērota HHV-6 ekspresija. HHV-6 pozitīvās šūnas bieži novietojušās sinoviālās membrānas virsējā slānī, kā arī asinsvadu sienīgas endotēlija šūnās (sk. 2.2A. att.). Reakcijās ar anti-B19 antivielu ekspresija tika noteikta šūnu kodolos. Imūnekspresija tika demonstrēta sinoviālās šūnās (sk. 2.2B. att.), asinsvadu endoteliocītos un miocītos un sarkanajās kaulu smadzeņu šūnās.



2.2. attēls A: **Sinoviālā HHV-6 ekspresija.** Oriģinālais palielinājums $\times 250$.
B: **Sinoviālās membrānas virsējā slāņa šūnu kodolu B19 ekspresija.** Oriģinālais palielinājums $\times 200$; Fotografējusi prof. V. Groma.

2.3. Vīrusu infekcijas marķieru atrade OA pacientiem

2.3.1. B19V infekcijas marķieru atrade OA pacientiem

B19V antivielu noteikšana pēc *recomWell* testa un *PQR* veikta 78 OA pacientiem. Pamatojoties uz *recomWell* un *PQR* rezultātiem OA pacienti tika sadalīti piecās grupās: (1) 44 OA pacienti ar pārciestu B19V infekciju (B19 IgG klases antivielu klātbūtnē), (2) 9 OA pacienti ar aktīvu persistentu B19V infekciju, (3) 9 OA pacienti ar latentu persistentu B19V infekciju (4) 5 OA pacienti ar akūtu B19V infekciju (5) 11 OA pacienti bez B19 infekcijas.

59,8% OA pacientu konstatētas antivielas pret 4 – 5 dažādiem B19V antigēniem. IgG klases antivielas pret B19 NS-1 atrastas 22,1% OA pacientu.

OA pacientiem netika konstatētas statistiski ticamas atšķirības slimības ilgumā, slimības klīniskajos parametros, kā arī laboratoriskajos parametros atkarībā no B19V infekcijas aktivitātes stadijas, kas noteiktas pēc *recomWell* testa un *PQR*.

Augstāks MMP-9 līmenis noteikts OA pacientu grupā bez B19V infekcijas salīdzinājumā ar aktīvas persistentas B19V infekcijas grupu ($p = 0,022$). Augstāks IL-17 līmenis tika konstatēts OA pacientiem bez B19V infekcijas salīdzinājumā ar OA pacientiem ar pārciestu B19V infekciju ($p = 0,034$). Augstāks TNF- α līmenis tika noteikts OA pacientiem ar aktīvu persistentu B19V infekciju salīdzinājumā ar OA pacientiem ar latentu persistentu B19V infekciju ($p = 0,022$), pārciestu B19V infekciju ($p = 0,007$) un bez B19V infekcijas ($p = 0,027$). Pārējo noteikto citokīnu līmenis OA pacientu grupās atkarībā no B19V infekcijas aktivitātes stadijas ticami neatšķīrās.

OA pacientu grupās ar dažādām B19V infekcijas aktivitātes stadijām B19V genoma secības biežāk konstatētas pacientiem ar latentu persistentu B19V infekciju ($p = 0,045$).

B19V antivielu noteikšana pēc *recomLine* testa tika veikta 77 OA pacientiem. Pamatojoties uz *recomLine* rezultātiem OA pacienti tika sadalīti četrās grupās: (1) 19 OA pacienti ar gadiem ilgu B19V infekciju, (2) 31 OA pacienti ar mēnešiem-gadiem ilgu B19V infekciju, (3) 9 OA pacienti ar nedēļām-mēnešiem ilgu B19V infekciju un (4) 11 OA pacienti bez B19V infekcijas. OA pacientu grupā septiņiem indivīdiem B19V infekcijas stadija bija neskaidra, tādēļ to dati tālākā apstrādē netika izmantoti.

OA pacientiem ar atšķirīgiem B19V inficēšanās periodiem pirms iekļaušanas pētījumā, kas noteikti pēc *recomLine* testa, netika konstatētas būtiskas atšķirības slimības klīniskajos parametros: slimības ilgums, SLS, PLS un VAS. Vienīgi rīta stīvuma ilgums konstatēts būtiski ilgāks pacientiem ar mēnešiem-gadiem ilgu B19V infekciju nekā pacientiem ar nedēļām līdz mēnešiem ilgu B19V infekciju ($p = 0,037$).

OA laboratoriskajos parametros: CRO, EGĀ, RF, anti-CCP, hemoglobīns un limfocītu skaits, ņemot vērā inficēšanās ar B19V perioda garumu pirms iekļaušanas pētījumā, nav konstatētas būtiskas atšķirības. Būtiski augstāks trombocītu vidējais līmenis konstatēts OA pacientiem bez B19V infekcijas, kā arī OA pacientiem ar gadiem ilgu B19V infekciju nekā pacientiem ar nedēļām līdz mēnešiem ilgu B19V infekciju (attiecīgi, $p = 0,027$ un $p = 0,018$).

Statistiski ticami augstāks IL-17 vidējais līmenis noteikts OA pacientu grupā bez B19V infekcijas, salīdzinot ar OA pacientiem ar gadiem ilgu B19V infekciju ($p = 0,01$) un salīdzinot ar OA pacientiem ar nedēļām līdz mēnešiem ilgu B19V infekciju ($p = 0,05$) pirms iekļaušanas pētījumā. Savukārt ievērojami zemāks MMP-9 vidējais līmenis konstatēts OA pacientiem ar nedēļām līdz mēnešiem ilgu B19V infekciju pirms pacientu iekļaušanas pētījumā salīdzinot

ar pacientiem bez B19V infekcijas ($p = 0,001$). Pārējo noteikto līmenis OA pacientiem ar dažādiem B19V inficēšanās perioda garumiem pirms iekļaušanas pētījumā (noteiktiem pēc *recomLine* testa) būtiski neatšķīrās.

IgG klases antivielu pret B19V NS-1 sastopamības būtiskas atšķirības atkarībā no inficēšanās ar B19V perioda garuma pirms slimības iestāšanās (noteikta pēc *recomLine* testa), netika konstatētas.

2.3.2. HHV-6 un HHV-7 infekcijas marķieru atrade OA pacientiem

Persistenta HHV-6 un/vai persistenta HHV-7 infekcija noteikta 63/78 (80,8%) OA pacientiem. Starp OA pacientiem ar persistentu HHV-6 un/vai -7 infekciju 1/63 (1,6%) konstatēta tikai HHV-6 infekcija, 41/63 (65,1%) – tikai HHV-7 infekcija, bet vienlaicīgi HHV-6 un -7 infekcija 21/63 (33,3%) pacientiem.

HHV-6 reaktivācija tika noteikta 16/63 (25,4%) OA pacientiem. Tikai HHV-6 infekcijas reaktivācija konstatēta 9/22 (40,9%) OA pacientiem. Savukārt HHV-7 reaktivācija noteikta 14/63 (22,2%) OA pacientiem. HHV-7 infekcijas reaktivācija noteikta 7/62 (11,3%) OA pacientiem. Vienlaicīga abu vīrusu reaktivācija tika konstatēta 7/21 (33,3%) OA pacientiem ar persistentu HHV-6 un HHV-7 infekciju (sk. 2.2. tab.).

Netika konstatēts neviens OA pacients ar persistentu HHV-6 monoinfekciju latentā stadijā. Persistenta HHV-7 infekcija latentā stadijā tika noteikta 34/41 (82,9%) OA pacientiem un vienlaicīga persistenta HHV-6 un HHV-7 infekcija latentā stadijā - 6/21 (28,6%) OA pacientiem.

2.3.3. B19V, HHV-6 un HHV-7 infekcijas marķieru atrade OA pacientu sinoviālajā šķidrumā un audos

B19V genoma secības konstatētas 6/33 (18,2%) OA pacientu sinoviālā šķidruma DNS un 3/57 (5,3%) OA pacientu sinoviālo audu DNS paraugos (sk.2.3.tab.).

HHV-6 un/vai HHV-7 genoma secības konstatētas 13/34 (8,8%) OA pacientu sinoviālā šķidruma DNS. Tikai HHV-6 genoma secības netika noteiktas nevienam no OA pacientiem. Savukārt tikai HHV-7 genoma secības konstatētas 10/34 (29,4%) OA pacientu sinoviālā šķidruma paraugos. Vienlaicīgi abu vīrusu genoma secības sinoviālā šķidruma DNS paraugos noteiktas 3/34 (8,8%) OA pacientiem (sk. 2.3. tab.).

HHV-6 un/vai HHV-7 genoma secības atrastas arī sinoviālo audu DNS paraugos 20/54 (37,0%) OA pacientiem. Tikai HHV-6 genoma secības netika noteiktas nevienā no OA pacientu sinoviālo audu DNS paraugiem, bet tikai HHV-7 genoma secības konstatētas 17/54 (31,5%) OA pacientu sinoviālo audu DNS paraugos. Statistiski ticami biežāk vienlaicīgi HHV-6 un HHV-7 genoma secības sinoviālo audu DNS paraugos atrastas 3/7 (42,9%) RA, salīdzinot ar 3/54 (5,6%) OA pacientiem ($p = 0,0166$). Savukārt 34/54 (63,0%) OA pacientu sinoviālo audu DNS paraugos vīrusu secības netika konstatētas (sk. 2.3. tab.).

Atsevišķiem OA pacientiem konstatēta HHV-6 imūnopozitivitāte. Vienam OA pacientam izteikta HHV-6 ekspresija noteikta asinsvadu sienas lielās putainajās šūnās (skat. 2.2. B att.).

B19V DNS secības sastopamības biežums sinoviālajā šķidrumā un sinoviālajos audos OA pacientiem ar dažādiem B19V inficēšanās perioda garumiem pirms iekļaušanas pētījumā, kas noteikti pēc *recomLine* testa, būtiski neatšķīrās.

2.3.4. Vīrusu infekcijas marķieru saistība ar OA klīnisko gaitu un laboratoriskiem rādītājiem

OA pacientu klīniskie parametri dažādās persistentas HHV-6 un HHV-7 infekcijas aktivitātes stadijās neatšķīrās.

CRO vidējais līmenis bija ticami augstāks OA pacientiem ar latentu HHV-7 infekciju nekā pacientiem bez HHV-6 un HHV-7 infekcijas ($p = 0,0488$), bet EGĀ vidējais līmenis OA pacientiem ar dažādām persistentas infekciju aktivitātes stadijām neatšķīrās. Atšķirības starp OA un RA pacientu grupām apskatītas sadaļā 2.2.5.

OA pacientiem ar dažādām persistentas HHV-6 un HHV-7 infekcijas aktivitātes stadijām visu noteikto citokīnu vidējie līmeņi būtiski neatšķīrās.

2.4. Vīrusu infekcijas marķieru atrade veseliem kontroles grupas indivīdiem

2.4.1. B19V infekcijas marķieru atrade veseliem indivīdiem

B19V antiviēlu noteikšana pēc *recomWell* testa un PQR veikta 19 kontroles grupas indivīdiem. Pamatojoties uz *recomWell* un PQR rezultātiem vesēlie indivīdi tika sadalīti piecās grupās: (1) 12 kontroles grupas indivīdi ar pārciestu B19V infekciju, (2) viens ar aktīvu persistentu B19V infekciju, (3) viens ar latentu persistentu B19V infekciju, (4) viens ar akūtu B19V infekciju un (5) 4 kontroles grupas vesēlie indivīdi bez B19V infekcijas.

Vesēlu kontroles grupas indivīdu serumā tika konstatētas antiviēlas pret ne vairāk kā četriem dažādiem B19V antigēniem. Starp kontroles grupas indivīdiem ar dažādām B19V infekcijas aktivitātes stadijām, netika noteikta būtiska atšķirība ne T limfocītu proliferatīvā atbildē trešajā un sestajā dienā, ne MMP-9 un noteikto citokīnu līmeņos. Arī B19V secību klātbūtnes biežums DNS, kas izdalīta no pilnām asinīm, šūnām brīvas asins plazmas, un

sinoviālajiem audiem, kā arī IgG klases antivielu pret B19V NS-1 sastopamība šajās grupās būtiski neatšķīrās.

Salīdzinot veselus kontroles grupas indivīdus ar pārciestu B19V infekciju un RA pacientu grupu ar pārciestu B19V infekciju, būtiskas atšķirības MMP-9 un pārbaudīto citokīnu līmeņos netika konstatētas. B19V genomu sastopamība sinoviālajos audos un sinoviālajā šķidrumā šajās grupās nozīmīgi neatšķīrās.

Netika noteiktas būtiskas atšķirības MMP-9 un citokīnu līmeņos, kā arī B19V genoma sastopamības biežumā sinoviālajos audos un sinoviālajā šķidrumā, salīdzinot OA pacientu grupu un veselus kontroles grupas indivīdus ar pārciestu B19V infekciju abās pētāmajās grupās.

MMP-9, noteikto citokīnu un B19V genoma sastopamības biežums sinoviālajos audos un sinoviālajā šķidrumā RA pacientu grupā bez B19V infekcijas un veselo indivīdu grupā bez B19V infekcijas neatšķīrās.

Salīdzinot MMP-9 un citokīnu līmeņus un B19V genomu sastopamības biežumu sinoviālajos audos un sinoviālajā šķidrumā OA pacientu grupā bez B19V infekcijas un veselu indivīdu grupā bez B19V infekcijas, būtiskas atšķirības netika konstatētas.

B19V antivielu noteikšana pēc *recomLine* testa tika veikta 37 veseliem kontroles grupas indivīdiem. Pamatojoties uz *recomLine* rezultātiem veseli indivīdi tika sadalīti četrās grupās: (1) 8 kontroles grupas indivīdi ar gadiem ilgu B19V infekciju, (2) 12 veseli indivīdi ar mēnešiem-gadiem ilgu B19V infekciju, (3) četri kontroles grupas indivīdi ar nedēļām-mēnešiem ilgu B19V infekciju un (4) 13 veseli indivīdi bez B19V infekcijas.

Veselu indivīdu grupā indivīdiem ar dažādiem B19V inficēšanās periodiem pirms slimības iestāšanās, noteiktiem pēc *recomLine* testa, T limfocītu proliferatīvā atbilde ne trešajā, ne sestajā dienā, kā arī IgG klases antivielu pret B19V NS-1 sastopamība un B19V genoma secību sastopamība DNS, kas izdalīta no pilnām asinīm, šūnām brīvas asins plazmas, sinoviālā

šķidrums un sinoviālajiem audiem statistiski ticami netšķīrās. MMP-9 un pārbaudīto citokīnu līmeņi veseliem indivīdiem ar dažādiem B19V inficēšanās periodiem pirms slimības iestāšanās, noteiktiem pēc *recomLine* testa, būtiski neatšķīrās.

2.4.2. HHV-6 un HHV-7 infekcijas marķieru atrade veseliem kontroles grupas indivīdiem

Persistenta HHV-6 un/vai persistenta HHV-7 infekcija konstatēta 15/19 (78,9%) veseliem kontroles grupas indivīdiem. Veselu kontroles indivīdu grupā tikai HHV-6 infekcija netika noteikta nevienai no 15 personām (0%), tikai HHV-7 infekcija – 10/15 (66,7%) indivīdiem un vienlaicīga HHV-6 un -7 infekcija 5/15 (33,3%) personām (sk. 2.2. tab.).

HHV-6 reaktivācija tika atrasta 4/15 (26,7%) veselām personām. Tikai HHV-6 infekcijas reaktivācija konstatēta 3/5 (60,0%) veseliem kontroles grupas indivīdiem ar vienlaicīgu HHV-6 un HHV-7 infekciju. HHV-7 reaktivācija noteikta 3/15 (20,0%) veselām personām. HHV-7 infekcijas reaktivācija noteikta 2/15 (13,3%) veseliem kontroles grupas indivīdiem ar persistentu HHV-7 infekciju. Vienlaicīga abu vīrusu reaktivācija tika konstatēta 1/5 (20,0%) veseliem indivīdiem ar persistentu HHV-6 un HHV-7 infekciju (sk. 2.2. tab.).

Netika konstatēta neviena kontroles grupas persona ar persistentu HHV-6 monoinfekciju latentā stadijā. Persistenta HHV-7 infekcija latentā stadijā tika atrasta 8/10 (80,0%) veseliem kontroles grupas indivīdiem. Vienlaicīga persistenta HHV-6 un HHV-7 infekcija latentā stadijā noteikta 1/5 (20,0%) kontroles grupas personām.

3. REZULTĀTU APSPIEŠANA

RA ir hroniska progresējoša sistēmiska slimība, kas raksturojas galvenokārt ar hronisku aseptisku sinovītu un erozīviem, destruktīviem locītavu bojājumiem. Daļai pacientu, progresējot slimībai, var attīstīties iekšējo orgānu bojājums (*Gibofsky, 2012*). Gan progresējošā slimības gaita ar izteiktu deformāciju attīstību, gan ārpuslocītavu bojājuma attīstība rada pacienta funkcionālu mazspēju, darba spēju zudumu, invalidizāciju un samazina dzīvildzi. RA ir visbiežāk sastopamais iekaisuma artrīts un tā sastopamība līdz ar vecumu pieaug, kas rada nopietnu sociālekonomisku slogu. Arī jaunatklātā medikamentu grupa – bioloģiskie medikamenti nenodrošina pilnīgu izārstēšanos no RA. Neskatoties uz daudzajiem veiktajiem pētījumiem, precīza RA etiopatogēnēze joprojām nav skaidra. Ir būtiski turpināt pētījumus, kas, iespējams, atklātu un precizētu slimību izraisošus un tās gaitu ietekmējošus faktorus. Vīrusi un vīrusu infekcijas ir būtisks riska faktors autoimūnu slimību attīstībai, jo īpaši ģenētiski predisponētiem cilvēkiem. Divām trešdaļām RA pacientu ir konstatēta saistība ar HLA-DR*4, kas pēc literatūras datiem norāda uz hronisku slimības gaitu (*Colmegna, Alberts-Grill, 2009*). Konstatēta vairāku autoimūnu slimību, to skaitā saistaudu slimību, multiplās sklerozes un Hašimoto tireoidīta attīstības saistība ar HHV-6 A/B infekciju (*Chapenko et al., 2003; Nora-Krukle et al., 2011; Caselli et al., 2012; Hayem, Hayem, 2012; Broccolo et al., 2013*). Ir parādīts, ka vairākas vīrusu infekcijas, to skaitā B19V, HHV-6 un HHV-7, var ietekmēt artrīta attīstību un gaitu. B19V infekcijas izraisīts artrīts nereti atbilst RA kritērijiem (*Colmegna, Alberts-Grill, 2009; Kerr, 2000; Khoqueer, 2009*) un ilgstoša B19V virēmija var veicināt izteikta un ilgstoša artrīta attīstību (*Ogawa et al., 2008*). 33% pacientu ar RA un 45% ar aksiālu spondiloartrītu sinoviālā šķidrums DNS atrastas *Varicella zoster* genoma secības, bet tās nav atrastas DNS, kas izdalīta no OA pacientu

sinoviālā šķidruma un RA pacientu mononukleārām šūnām. Arī *herpes simplex* 1 un 2 vīrusa genoma secības konstatētas 33% RA pacientu DNS, kas izdalīta gan no asinīm, gan sinoviālā šķidruma (Burgos et al., 2015). Pastāv uzskats, ka cilvēka B19V kā etioloģiskais vai slimību veicinošais faktors var ietekmēt RA, sistēmiskās sarkanās vilkēdes, sklerodermijas, vaskulīta un antifosfolipīdu sindroma attīstību. B19V izraisīts artrīts atgādina RA gaitu ar simetrisku sāpo locītavu bojājumu (Franssila, Hedman, 2006; Kerr, 2000; Takasawa et al., 2004).

Tomēr dažos pētījumos tiek noliegta B19V saistība ar RA attīstību. Iespējams, tas saistīts ar atšķirīgu RA gaitu, kā arī citu faktoru ietekmi RA attīstībā. Dažkārt veikto pētījumu dati ir grūti interpretējami un salīdzināmi, jo ir sarežģīti atlasīt RA pacientus ar līdzīgu RA ilgumu, gaitu un saņemto ārstēšanu. Tiek veikti dažādi pētījumi, lai precizētu šūnu atbildi uz B19V antigēniem un iespējamo B19V genoma ekspresiju pacienta organismā (Kozireva et al., 2008; Murai et al., 1999; Stahl et al., 2000; Takahashi et al., 1998). Kaut gan B19V specifiskā šūnu imūnā atbilde ir pētīta, veikts samērā maz pētījumu par atbildes reakcijas attīstību akūtas un persistentas B19V infekcijas gadījumā. Par B19V persistentas infekcijas lomu RA attīstībā liecina B19V infekcijas augstā sastopamība RA pacientu vidū, anti-B19 IgM klases antivielu iztrūkums lielākai daļai RA pacientu ar virēmiju un anti-B19 IgG klases antivielu klātbūtne šiem pacientiem, anti-B19 NS-1 IgG klases antivielu biežā konstatācija RA pacientiem salīdzinājumā ar veseliem indivīdiem un relatīvi zemā vīrusu slodze RA pacientiem ar virēmiju (von Poblitzki et al., 1995; Hemauer et al., 2000; Kerr, Cuncliffe, 2000; Lee et al., 2011). Šajā pētījumā noteikta B19V, HHV-6 un HHV-7 infekciju iespējamā saistība ar RA un OA etiopatogēnēzi.

Darbā apkopoti Rīgas Austrumu klīniskās universitātes slimnīcas klīnikā “Linezers” un klīnikā “Gaiļezers”, Traumatoloģijas un ortopēdijas slimnīcā un RSU A. Kirhenšteina Mikrobioloģijas un virusoloģijas institūtā, kā arī RSU

Anatomijas un antropoloģijas institūtā veiktie pētījumi laikā no 2008. līdz 2016. gadam. Pētījumā iekļauti 103 RA un 78 OA pacienti, kā arī 43 veseli kontroles grupas indivīdi. Pacientu grupās un veseliem indivīdiem noteikta B19V, HHV-6 un HHV-7 infekcijas stadija un pētīta šo infekciju nozīme RA attīstībā. B19V antivielu analīze un B19V, HHV-6 un HHV-7 DNS noteikšana veikta RSU A. Kirhenšteina Mikrobioloģijas un virusoloģijas institūtā. Sinoviālo audu, skrimšļaudu un kaulaudu histoloģiskā un imūnhistoķīmiskā analīze veikta RSU Anatomijas un antropoloģijas institūtā.

No pētījumā iekļautiem 103 pacientiem tikai 20 nav saņēmuši imunosupresantus (GK, SMARM), jo šiem pacientiem slimība sākusies nesen un tie pētījumā iekļauti pirms uzsākta ārstēšana. Pētāmā RA pacientu grupā lielākā pacientu daļa ārstēšanā saņem MTX monoterapijā vai kombinācijā ar citiem bāzes medikamentiem (gan sintētiskajiem, gan bioloģiskajiem). Kopumā 80,4% no pētījumā iekļautajiem RA pacientiem ārstēšanā lieto dažādus imunosupresantus monoterapijā vai kombinācijā. Pēc EULAR (*European League Against Rheumatism*) rekomendācijām RA ārstēšanas pamatā ir sintētiskie un bioloģiskie SMARM. Aktīva RA gadījumā pirmās izvēles medikaments ir MTX monoterapijā vai kombinācijā ar citiem bāzes medikamentiem (Smolen et al., 2014).

Pēc slimības aktivitātes vidējiem rādītājiem (SLS, PLS, VAS rādījums, rīta stīvuma ilgums, DAS28 rādījums) lielākā daļa RA ir ar vidēji augstu un augstu slimības aktivitāti. RA pacientu grupā remisija pēc DAS28 noteikta 7,1% pacientu, zema slimības aktivitāte 6,1%, vidēji augsta RA aktivitāte 49.5% un augsta slimības aktivitāte 37,4% RA pacientiem. Pētījumā iekļauti pacienti, kuri ārstējās slimnīcā galvenokārt ar slimības paasinājumu, tādēļ slimības aktivitātes rādītāji lielākajai daļai RA pacientu ir paaugstināti.

Pēc radioloģiskajiem izmeklējumiem lielākā daļa RA pacientu atbilst trešajai radioloģiskajai stadijai, kas liecina par agresīvu slimības gaitu ar eroziju attīstību pētāmajā grupā (Schett, Gravallese, 2012). RA grupā dažādas

komplikācijas konstatētas 46,9% pacientu, kas ir tuvu literatūras datos norādītajam komplikāciju biežumam 40% (*Cojocar et al., 2010*). Visbiežāk RA pacientu grupā konstatēta miopātija jeb muskuļu atrofija, PNS bojājums un osteoporoze. Muskuļu atrofijas veidošanos galvenokārt veicina slimības radītās sāpes, pietūkums, stīvums un locītavu deformācijas, kas mazina kustību apjomu. Osteoporozes attīstību veicina osteoklastu disfunkcija, citokīnu sistēmiska darbība, pacienta vecums, GK lietošana, slimības aktivitātes un progresijas radītais mazkustīgums, nepietiekama kalcija un D vitamīna uzņemšana un pozitīvs RF (*Mobini et al., 2012*).

Lai izvairītos no gadalaiku un vecuma izraisītām B19V atšķirībām cirkulācijā, vienlaicīgi vākti asins paraugi RA un OA pacientiem un veseliem indivīdiem. Kopējā RA agresivitāte gan pēc RF, gan pēc anti-CCP ir vērtēta kā augsta. Vērtējot atsevišķi pēc RF un anti-CCP līmeņa, to paaugstinājums biežāk ir neliels (attiecīgi, 50,3% un 53,8%) vai izteikts (attiecīgi, 34,4% un 35,6%). Augstāka slimības agresivitāte nosaka agrīnākas erozīvas izmaiņas, straujāku slimības gaitu ar deformāciju un ārpuslocītavu bojājuma attīstību (*Heidari et al., 2009*), nepieciešamību ārstēšanā pielietot SMARM kombinācijas un ilgstošāku ārstēšanas laiku remisijas sasniegšanai.

RA pacientu grupā trombocītu un hemoglobīna vidējais līmenis atbilst atbilstošajām references robežām, bet limfocītu vidējais skaits atbilst limfopēnijai. Limfopēnijas attīstība jādomā saistīta ar SMARM pielietošanu RA ārstēšanā (*Crowson et al., 2012*).

Klīniskais OA grupas raksturojums atbilst vidēji aktīvai slimībai. Kā jau deģeneratīvam artrītam vidējais SLS un vidējais PLS noteikts mazāks kā RA pacientu grupā. Arī VAS vidējais rādījums un vidējais rīta stīvuma ilgums atbilst deģeneratīva artrīta gaitai.

Līdzīgi kā RA pacientu grupā arī OA pacientu trombocītu un hemoglobīna līmeņi atbilst atbilstošajām references robežām, bet limfocītu skaits atbilst limfopēnijai. Ne tikai SMARM, bet arī NSPL var izraisīt

limfopēniju (*Mikaeloff et al., 2008*). Vidējie laboratoriskie iekaisuma rādītāji CRO un EGĀ OA grupā ir salīdzinoši zemi. OA pacientiem RF un anti-CCP vidējais līmenis atbilst references intervālam, kaut gan 1% veselas kontroles grupas indivīdiem (*Nam et al., 2016; Zendman et al., 2006*) un līdz pat 8% OA pacientiem var konstatēt pozitīvas anti-CCP antivielas (*Sauerland et al., 2005*).

Pamatojoties uz *recomWell* un PĶR rezultātiem RA pacienti sadalīti piecās grupās: (1) 37 RA pacienti ar pārciestu B19V infekciju (tikai B19 IgG klases antivielu klātbūtne), (2) 15 RA pacienti ar akūtu B19V infekciju (B19 IgM klases antivielu klātbūtne un/vai virēmija), (3) 14 RA pacienti ar latentu persistentu B19V infekciju (B19 IgG klases antivielu klātbūtne un B19V DNS asinīs), (4) 19 RA pacienti ar aktīvu persistentu B19V infekciju (B19V IgG klases antivielu klātbūtne un virēmija) un (5) 11 RA bez B19V infekcijas.

Naciute ar kolēģiem noteikusi, ka B19V genomu biežāk konstatē RA pacientu seruma DNS salīdzinājumā ar veseliem indivīdiem (*Naciute et al., 2016*), savukārt *Aktas* ar kolēģiem konstatējis anti-B19 IgG klases antivielas pacientiem ar dažādām slimībām, tomēr visbiežāk RA pacientu grupā – 72,2% (*Aktas et al., 2016*). Tāpat noteikts, ka RA pacientu plazmas un/vai PAL un sinoviālā šķidruma DNS paraugos B19V genoma secības atrodamas biežāk (*Kozireva et al., 2008*). Tikai anti-B19 IgG klases antivielu klātbūtne var norādīt arī uz iepriekšēju inficēšanos ar B19V, pie kam šie dati saskan ar publicētajiem epidemioloģiskajiem datiem (*Chen et al., 2006; Jorgensen et al., 2008; Kerr, 2000; Tzang et al., 2009*).

Akūtas B19V infekcijas grupā ir 46,7% RA pacientu ar agrīnu RA – ar slimības ilgumu mazāku par vienu gadu. Arī iepriekš noteikts, ka RA pacientiem biežāk nekā kontroles grupas indivīdiem atrodami B19V marķieri (*Chen et al., 2006*) un akūta artrīta pacientiem ar pozitīviem B19V marķieriem biežāk attīstās progresējošs artrīts (*Oğuz et al., 2002*). Minētais liecina, ka pacientiem ar agrīnu RA ir augsta B19V infekcijas sastopamība. Akūta B19V infekcija ir konstatēta 15,3% RA pacientu, salīdzinājumā ar 5,3% kontroles

grupas indivīdu, kas liek domāt par B19V nozīmi RA attīstībā. Anti-B19 IgG klases antivielas noteiktas visiem RA pacientiem ar virēmiju, kas liecina par persistentas B19V infekcijas aktivācijas/reaktivācijas nozīmi RA attīstībā. Ilgstoša B19V virēmija var veicināt arī izteikta un ilgstoša artrīta attīstību (Ogawa *et al.*, 2008).

No visiem klīniskajiem parametriem tikai PLS ir ticami lielāks RA pacientu grupā ar aktīvu persistentu B19V infekciju nekā ar pārciestu B19V infekciju, kas liecina, ka B19V infekcija var ietekmēt slimības aktivitāti. Pārējie klīniskie parametri un slimības ilgums būtiski neatšķiras. Literatūrā pieejami atšķirīgi dati par B19V infekcijas saistību ar SLS un PLS (Oiwa *et al.*, 2011). Kopējais komplikāciju biežums un atsevišķi katras komplikācijas biežums pētāmajās RA pacientu grupās būtiski neatšķiras.

Iegūtie dati liecina, ka B19V infekcijas aktivitāte pacientiem ar dažādu RA ārstēšanas stratēģiju būtiski neatšķiras.

B19V infekcija var izraisīt erozīvu artrītu (Kerr, 2000; Mayer, 2003; Lungquist, 2005), kaut gan mēs nekonstatējām radioloģisko stadiju būtisku atšķirību pacientiem ar dažādām B19V infekcijas aktivitātes stadijām.

Mūsu iepriekšējā pētījumā parādīts, ka augstāka RA slimības aktivitāte noteikta pacientiem ar konstatētiem B19V marķieriem (Kakurina *et al.*, 2015). Šajā darbā laboratorisko rādītāju CRO, EGĀ un anti-CCP, kā arī kombinētā RA aktivitātes rādītāja DAS28 vidējais līmenis RA pacientu grupās ar dažādām B19V aktivitātes stadijām būtiski neatšķiras. Toties agresivitātes rādītāja RF vidējais līmenis ir augstāks RA pacientu grupā ar akūtu B19V infekciju salīdzinot ar pacientiem bez B19V infekcijas, kā arī ar RA pacientiem ar pārciestu B19V infekciju un latentu persistentu B19V infekciju. Vērtējot kopējo slimības agresivitāti pēc RF un anti-CCP paaugstinājuma pakāpes summāri, to konstatē augstāku RA pacientiem ar akūtu B19V infekciju nekā pacientiem bez B19V infekcijas un pacientiem ar pārciestu B19V infekciju. Arī iepriekš vairāki autori konstatējuši, ka B19V veicina dažādu antivielu, tai skaitā

RF produkciju (Kerr, 2000; Kerr, 2016; Meyer, 2003; Page et al., 2015) un ka pēc akūtas B19V infekcijas paaugstinās RF līmenis (Kerr, 2016; Murai et al., 1999) un trīs gadus vēlāk attīstās erozīvs artrīts (Murai et al., 1999). Naciute ar kolēģiem noteikusi, ka RA pacientiem ar B19V genoma secībām DNS, kas izdalīta no šūnām brīva seruma, ir augstāka slimības aktivitāte un agresivitāte, kā arī zemāks hemoglobīna līmenis. Konstatēta arī paaugstināta IL-6 līmeņa saistība ar augstāku slimības aktivitāti pēc DAS28 un CRO (Naciute et al., 2016). Arī mūsu dati liecina, ka B19V var pasliktināt RA gaitu un veicināt tā progresiju.

Hemoglobīna, limfocītu un trombocītu vidējais līmenis RA pacientu grupās ar dažādām B19V infekcijas aktivitātes stadijām būtiski neatšķiras.

RA attīstībā un gaitā būtiska loma ir iekaisuma citokīniem, jo īpaši TNF- α . B19V veicina dažādu hemokīnu un citokīnu produkciju (Kerr et al., 2004). Pacientiem ar akūtu B19V infekciju un ar aktīvu persistentu B19V infekciju TNF- α līmenis noteikts būtiski augstāks nekā pacientiem ar pārciestu B19V infekciju. Tāpat RA pacientiem ar akūtu B19V infekciju TNF- α līmenis ir statistiski ticami augstāks nekā pacientiem bez B19V infekcijas. Gan Kerr, gan Barash ar kolēģiem konstatējuši, ka B19V infekcija akūtā stadijā un pēc tās var paaugstināt TNF- α līmeni (Barash et al., 2003; Kerr et al., 2001), tādā veidā veicinot RA attīstību pēc akūtas B19V infekcijas vai persistentas B19V infekcijas reaktivācijas. Visaugstākais IL-17 līmenis noteikts RA pacientu grupā bez B19V infekcijas. Tas gan ir pretrunā ar nesen publicētiem datiem, ka B19V specifiskas CD4+ T šūnas sekretē IL-17 (Kumar et al., 2015). Iespējams, ka IL-17 līmeni šajā pētījumā ietekmējusi saņemta RA ārstēšana attiecīgajās grupās. MMP-9 līmenis konstatēts ticami zemāks RA pacientiem ar aktīvu persistentu B19V infekciju nekā pacieniem ar pārciestu B19V infekciju un nekā pacientiem bez B19V infekcijas, kaut gan Tzang ar kolēģiem konstatējuši MMP-9 aktivitātes pieaugumu B19-VP1u ietekmē (Tzang et al., 2009). Literatūrā ir pieejami dati, ka B19V infekcija paaugstina IL-6 līmeni

(Kerr, 2016; Naciute et al., 2016; Tzang et al., 2009). Isa ar kolēģiem noteicis, ka agrīni pēc akūtas B19V infekcijas paaugstinās IL-12, tad IL-2, kamēr IL-10 ir zems (Isa et al., 2007). Šajā pētījumā IL-2, IL-6, IL-10 un IL-12 vidējais līmenis pacientiem ar dažādām B19V infekcijas aktivitātes stadijām būtiski neatšķiras. Iespējams tas saistīts ar atšķirīgu asins paraugu ņemšanas laiku pēc akūtas B19V infekcijas.

B19V genoma ekspresija ir konstatēta gan RA pacientu sinoviālajos audos, gan sinoviālajā šķidrumā (Takahashi et al., 1998; Kerr, 2000; Mehraein et al., 2003; Sasaki, 2007; Colmegna, Alberts-Grill, 2009; Khoqueer, 2009), tomēr biežāk to konstatē agrīna RA sinoviālajos audos nekā sinoviālajā šķidrumā (Stahl et al., 2000). Mūsu pētījumā B19V genomu secību sastopamības biežums RA sinoviālo audu un sinoviālā šķidruma paraugos neatšķiras. Jādomā, ka tas saistīts ar nelielo paraugu skaitu pētāmajās grupās.

Pamatojoties uz *recomLine* rezultātiem RA pacienti ir sadalīti četrās grupās: (1) 29 RA pacienti ar gadiem ilgu B19V infekciju, (2) 34 RA pacienti ar mēnešiem-gadiem ilgu B19V infekciju, (3) 14 RA pacienti ar nedēļas līdz mēnešiem ilgu B19V infekciju un (4) 19 RA pacienti bez B19V infekcijas. Septiņiem RA pacientiem B19V inficēšanās periods ir neskaidrs, tādēļ to dati tālākā apstrādē netika izmantoti. Grupas raksturo laika periodu kopš inficēšanās brīža ar B19V līdz pacienta iekļaušanai pētījumā.

Antivielas pret vismaz 5–6 dažādiem B19V antigēniem ir noteiktas 34,0% RA pacientu serumā un tikai 21,0% veselu kontroles indivīdu grupā. Anti-B19 NS-1 IgG klases antivielas, kas ir viens no B19V persistentas infekcijas rādītājiem (Poblotzki et al., 1995; Kerr et al., 2000; Hemauer et al., 2000), konstatētas 32,0% RA pacientu un tikai 10,5% veselo kontroles indivīdu. Savukārt 59,8% OA pacientu konstatētas antivielas pret 4–5 dažādiem B19V antigēniem, IgG klases antivielas pret B19V NS-1 atrastas 22,1% OA pacientu. Dati liecina, ka RA pacientiem biežāk un vairāk attīstās antivielas pret dažādiem B19V antigēniem.

RA pacientiem nav konstatētas būtiskas atšķirības slimības klīniskajos parametros un radioloģiskajā stadijā, laboratoriskajos – slimības aktivitātes un agresivitātes un citos klīniskajos rādītājos, kā arī MMP-9 un pētījumā noteikto citokīnu līmeņos, ņemot vērā inficēšanās ar B19V periodu pirms iekļaušanas pētījumā, kas noteikts pēc *recomLine* testa rezultātiem. Savukārt, ja vērtē slimības agresivitāti atsevišķi pēc RF vērtības, tad RA pacientiem ar mēnešiem līdz gadiem ilgu B19V infekciju biežāk nekā RA pacientiem ar nedēļām līdz mēnešiem ilgu B19V infekciju ir noteikts augsts RF līmenis, bet vidēji augsts RF līmenis biežāk ir konstatēts RA pacientiem ar nedēļām līdz mēnešiem ilgu B19V infekciju salīdzinājumā ar mēnešiem līdz gadiem ilgu B19V infekciju. Tas norāda uz iespējamu ilgstošas B19V infekcijas ietekmi slimības agresijas un progresijas veicināšanā. Komplikāciju biežums RA pacientu grupās ar dažādu B19V infekcijas laika posmu pirms iekļaušanas pētījumā būtiski neatšķiras.

No noteiktajiem citokīniem tikai IL-17 vidējais līmenis RA pacientiem ar mēnešiem līdz gadiem ilgu B19V infekciju ir zemāks nekā pacientiem bez B19V infekcijas, bet pacientiem ar nedēļām līdz mēnešiem senu B19V infekciju IL-17 vidējais līmenis noteikts augstāks nekā RA pacientiem ar gadiem ilgu B19V infekciju un nekā pacientiem ar mēnešiem līdz gadiem ilgu infekciju. Atšķirīgie dati liedz izdarīt secinājumus par B19V infekcijas ilguma ietekmi uz IL-17 līmeni. Iepriekš *Kumar* ar līdzautoriem parādījis, ka B19V CD4+ T šūnas veicina IL-17 produkciju (*Kumar et al., 2015*).

Agrāk parādīts, ka pacientu, kuri iepriekš pārcietuši B19V infekciju, T limfocīti proliferē rekombinanta B19V VP-1/VP-2 proteīna ietekmē (*von Poblitzki et al., 1996; Corcoran et al., 2000*). *Von Poblitzki* ir noteicis, ka šie limfocīti ir CD4+ T šūnas. Tālākie pētījumi ir pierādījuši, ka imūnā atbilde ir vērsta pret vīrusa nestrukturālo NS-1 proteīnu un pret VP1/VP2 B19V proteīniem (*Corcoran et al., 2000; Mitchell, 2001; Tolfvenstam et al., 2001*). Lielākā daļa CD4+ T šūnu atbilde vērsta pret strukturāliem proteīniem

(Isa et al., 2006), bet CD8⁺ T šūnu atbilde galvenokārt pret NS-1 proteīnu. CD8⁺ T šūnu atbilde attīstās akūtas infekcijas laikā un saglabājas mēnešiem ilgi vai pat pastiprinās pēc akūtas infekcijas likvidēšanas. Tas liecina, ka CD8⁺ T šūnām var būt būtiska nozīme B19V infekcijas kontrolēšanā (Norbeck et al., 2005). Visi indivīdi ar akūtu, nesenu vai persistentu B19V infekciju, bet ne pacienti ar pārciestu infekciju, atbild uz VP-1 proteīna unikālo apvidu (Franssila et al., 2005; Lindner et al., 2005). Indivīdiem ar persistentu B19V infekciju, salīdzinot ar anti-B19 seropozitīviem veseliem indivīdiem, biežāk novēro atbildes reakciju pret strukturālo proteīnu (Isa et al., 2006). Kasprovicz ar kolēģiem B19V kapsīda proteīnos ir konstatējis imūndominanto peptīdu (LASEESAFYLEHSSFQLLG), kas ir gan nesen, gan sen inficētu indivīdu limfocītu subpopulāciju mērķis (Kasprowicz et al., 2006). Limfocītu atbildes reakciju akūti inficētiem indivīdiem var noteikt *ex vivo*, bet sen inficētiem tikai kultivējot limfocītus. Domājams, ka persistentas B19V infekcijas gadījumā cilvēka organismā cirkulē vīrusa specifiski T limfocīti, ko nodrošina ilgstoša periodiska B19V proteīnu ekspresija. Tādos gadījumos T limfocītu proliferatīvo atbildi var konstatēt daudz agrāk nekā sen inficētiem indivīdiem. Šajā pētījumā ir izmantots VP-1/VP-2 peptīds, lai noteiktu T limfocītu proliferācijas atbildes biežumu un ātrumu RA pacientiem un veseliem kontroles grupas indivīdiem ar akūtu un senu B19V infekciju abās grupās. Ir vērtēta arī terapijas ietekme uz T limfocītu proliferācijas atbildi pret B19V antigēniem, kas iepriekš nebija pētīta.

B19V infekcijas marķieri un T limfocītu proliferatīvā atbilde pret B19V antigēniem biežāk konstatēta agrīna RA pacientiem. Tas liek domāt, ka B19V infekcijas biežums nav saistīts ar slimības ilgumu vai ilgstošu imunosupresīvu terapiju.

Lielākā RA pacientu daļa (64,2%) un visi veseli indivīdi ar akūtu B19V infekciju, kā arī 41,4% RA pacientu un 35,2% kontroles personas ar ilgāku B19V infekciju reaģē uz B19V peptīdu. Šie dati saskan ar Kasporowicz un

kolēģu konstatētajiem rezultātiem (Kasproicz *et al.*, 2006). Tiesa, proliferatīvās atbildes ātrums starp senāk inficētiem RA pacientiem un senāk inficētiem kontroles grupas indivīdiem noteikts atšķirīgs. Daļa no ilgāk inficētiem RA pacientiem reaģē uz B19V antigēniem trešajā dienā, bet neviens no veselu personu grupas ar senāku B19V infekciju trešajā dienā nereaģē. Pētījuma rezultāti parāda, ka nesen inficētu RA pacientu T limfocīti reaģē uz VP-1/VP-2 ātrāk nekā senāk inficētu kontroles grupas indivīdu T limfocīti. T limfocītu proliferatīvā atbilde liecina par to augstu jutību uz vīrusa antigēniem un iespējamu B19V persistentas infekcijas iesaisti RA attīstībā. Analizējot T limfocītu proliferatīvās reakcijas datus RA pacientu grupā, ir konstatētas būtiskas atšķirības atkarībā no MTX lietošanas. Spēcīga T limfocītu proliferatīvā atbilde pret B19V antigēniem trešajā un sestajā dienā biežāk noteikta RA pacientiem, kuri nesaņem MTX terapiju salīdzinājumā ar pacientiem, kuri terapijā ir lietojuši MTX monoterapijā vai kombinācijā ar citiem medikamentiem. Iespējams, ka MTX kavē RA pacientu T šūnu proliferatīvo atbildi pret B19V antigēniem. Tajā pašā laikā RA pacientu, kuri saņem MTX, skaits ar spēcīgu proliferatīvo atbildi trešajā dienā ir izteikti lielāks nekā kontroles grupas personu skaits, bet sestajā dienā šī atšķirība izzūd. Tas neļauj izteikt gala secinājumus par MTX terapijas nomācošo ietekmi uz B19V specifisko šūnu atbildi. Šis ir pirmais pētījums, kur RA pacientiem ar akūtu un pārciestu B19V infekciju tiek noteikts T limfocītu proliferatīvās atbildes biežums un ātrums pret B19V antigēniem, tai skaitā VP-1/VP-2 peptīdu un izvērtēta RA terapijas ietekme uz to.

Ir vērtēta RA terapijas ietekme uz B19V marķieriem un laboratoriskajiem testiem. Salīdzinot RA pacientus, kuri ir saņēmuši tikai NSPL, ar RA pacientiem, kuri ir saņēmuši kādu no imūnsupresīviem medikamentiem (sSMARM, bSMARM, GK), nav konstatētas būtiskas atšķirības ne pēc B19V infekcijas aktivitātes stadijas (pēc *recomWell* testa), ne arī pēc inficēšanās perioda ar B19V pirms iekļaušanas pētījumā (pēc *recomLine*

testa). T limfocītu proliferatīvā atbilde trešajā dienā ir ar tendenci būt zemākai, sestajā dienā ticami zemāka SMARM lietotāju grupā nekā nelietotāju grupā. Tas liecina, ka gan GK, gan SMARM kavē B19V specifisko T limfocītu proliferatīvo atbildi. B19V NS-1 specifisko IgM un B19V IgG klases antivielu sastopamība neatšķiras imūnsupresantu lietotāju un nelietotāju grupās. Imūnsupresantu lietotājiem B19V DNS secību sastopamība DNS paraugos, kas izdalīti no šūnām brīvas plazmas, ir zemāka nekā to nelietotāju vidū. Citokīnu un MMP-9 līmenis imūnsupresantu lietotāju un to nelietotāju vidū neatšķiras.

RA pacientiem, kuri terapijā ir saņēmuši sSMARM, biežāk konstatētas IgG klases antivielas pret B19V NS-1 salīdzinājumā ar tiem, kas šo terapiju nav saņēmuši. Iespējams tas saistīts ar lielāku slimības ilgumu sSMARM lietotāju grupā. B19V DNS secību sastopamība asinīs, plazmā, sinoviālajā šķidrumā vai sinoviālajos audos sSMARM lietojošiem un nelietojošiem RA pacientiem neatšķiras. RA pacientiem, kuri lieto tikai vienu sSMARM ne pēc viena parametra statistiski ticamas atšķirības nav konstatētas. Savukārt, ja RA pacients lieto divus vai vairāk sSMARM, T limfocītu proliferatīvā atbilde uz B19V antigēniem gan trešajā, gan sestajā dienā ir ticami zemāka nekā sSMARM nelietotāju grupā. B19V infekcijas marķieru sastopamība pēc *recomWell* un pēc *recomLine* testa, un B19V DNS secību sastopamības asinīs, plazmā, sinoviālajos audos un sinoviālajā šķidrumā RA pacientu grupās, kuri lieto vai nelieto vismaz divus sSMARM, neatšķiras. Tas ļauj secināt, ka pielietojot kombinētu sSMARM terapiju, samazinās T limfocītu proliferatīvā atbilde pret B19V antigēniem, bet citus B19V marķierus tā būtiski neietekmē.

Nav konstatēta atšķirība B19V infekcijas dažādu stadiju sastopamībā pēc *recomWell*, B19V infekcijas atšķirīgu inficēšanās periodu pirms iekļaušanas pētījumā pēc *recomLine*, salīdzinot GK lietotāju un nelietotāju grupas. GK lietošana būtiski neietekmē T limfocītu proliferatīvo atbildi pret B19V antigēniem ne trešajā, ne sestajā dienā, IgG un IgM klases antivielu pret B19V NS-1 sastopamību. GK lietotājiem retāk kā to nelietotājiem ir konstatētas

B19V DNS secības asinīs, kamēr B19V DNS sastopamība plazmā, sinoviālajā šķidrumā un audos statistiski neatšķiras. Kopumā GK būtiski neietekmē B19V marķierus.

B19V infekcijas dažādu stadiju, kas noteiktas pēc *recomWell* testa, B19V infekcijas atšķirīgo inficēšanās periodu pirms pacienta iekļaušanas pētījumā (pēc *recomLine* testa) sastopamības biežums MTX lietotāju un nelietotāju vidū būtiski neatšķiras. IgG un IgM klases antivielu pret B19V NS-1 sastopamība, B19V genoma secību sastopamība DNS, kas izdalīta no asinīm, šūnām brīvas asins plazmas, sinoviālā šķidruma un audiem MTX lietotāju un nelietotāju vidū statistiski ticami neatšķiras. Abās ārstēšanas grupās (ar un bez MTX) sestajā dienā proliferatīvā aktivitāte ir ievērojami augstāka nekā trešajā dienā. RA pacientiem, kuri nav nesaņēmuši MTX terapiju, ir ievērojami augstāka vidējā šūnu proliferatīvā aktivitāte gan trešajā, gan sestajā dienā, salīdzinot ar kontroles grupas indivīdiem noteikto vidējo šūnu proliferatīvo aktivitāti gan trešajā, gan sestajā dienā. Nav konstatētas proliferatīvās aktivitātes būtiskas atšķirības starp RA pacientiem ar un bez MTX terapijas, kā arī starp RA pacientiem ar MTX terapiju un veseliem indivīdiem. Pētījuma dati parāda, ka lielāks RA pacientu skaits ar augstu T limfocītu proliferatīvo atbildi ir pacientu grupā, kuri nesaņem ārstēšanu ar MTX.

RA pacientu grupā, kuri lieto sSMARM bez MTX, kā arī RA pacientu grupā, kuri lieto bSMARM, B19V infekcijas aktivitātes stadijas pēc *recomWell*, kā arī B19V infekcijas periods pēc *recomLine* testa un T limfocītu proliferatīvā atbilde uz B19V antigēniem trešajā un sestajā kultivācijas dienā, kā arī IgM un IgG klases antivielu pret B19V NS-1 sastopamība statistiski neatšķiras no RA pacientiem, kuri nelieto sSMARM bez MTX. B19V specifiskās DNS sastopamība DNS paraugos, kas izdalīti no asinīm, šūnām brīvas asins plazmas, sinoviālā šķidruma un audiem būtiski neatšķiras. Dati liecina, ka būtiskāk B19V infekcijas marķierus ietekmē MTX nevis citi sSMARM.

Pamatojoties uz *recomWell* un PQR rezultātiem OA pacienti ir sadalīti piecās grupās: (1) 44 OA pacienti ar pārciestu B19V infekciju, (2) 9 OA pacienti ar aktīvu persistentu B19V infekciju, (3) 9 OA pacienti ar latentu persistentu B19V infekciju, (4) 5 OA pacienti ar akūtu B19V infekciju (5) 11 OA pacienti bez B19 infekcijas.

OA pacientiem nav konstatētas statistiski ticamas atšķirības slimības ilgumā, slimības klīniskajos parametros, kā arī laboratoriskajos parametros atkarībā no no B19V infekcijas aktivitātes stadijas, kas noteiktas pēc *recomWell* testa. Tas liecina, ka B19V infekcijas aktivitāte būtiski neietekmē OA gaitu. No noteiktajiem citokīniem vienīgās izmaiņas noteiktas MMP-9, IL-17 un TNF- α vidējos līmeņos. Pie kam būtiski augstāks MMP-9 un IL-17 vidējais līmenis konstatēts OA pacientu grupās bez B19V infekcijas. Tikai TNF- α līmenis ir noteikts augstāks OA pacientiem ar aktīvu persistentu B19V infekciju salīdzinājumā ar OA pacientiem ar latentu persistentu B19V infekciju, pārciestu B19V infekciju un bez B19V infekcijas. Pārējo citokīnu līmenis OA pacientu grupās atkarībā no B19V infekcijas aktivitātes stadijas ticami neatšķiras. OA pacientu grupās ar dažādām B19V infekcijas aktivitātes stadijām atšķiras B19V genoma secību sastopamības biežums sinoviālajos audos. Tās biežāk konstatētas pacientiem ar latentu persistentu B19V infekciju. Dati liecina, ka B19V infekcijas dažādas aktivitātes stadijas OA gaitu ietekmē tikai nedaudz.

Pamatojoties uz *recomLine* rezultātiem OA pacienti ir sadalīti četrās grupās: (1) 19 OA pacienti ar gadiem senu B19V infekciju, (2) 31 OA pacienti ar mēnešiem-gadiem senu B19V infekciju, (3) 9 OA pacienti ar nedēļām-mēnešiem senu B19V infekciju un (4) 3 veseli indivīdi bez B19V infekcijas. OA pacientu grupā septiņiem indivīdiem B19V infekcijas stadija bija neskaidra, tādēļ to dati tālākā apstrādē netika izmantoti.

OA pacientiem ar atšķirīgiem B19V inficēšanās periodiem pirms iekļaušanas pētījumā, kas noteikti pēc *recomLine* testa, nav konstatētas būtiskas

atšķirības lielākajā daļā slimības klīniskajos un laboratoriskajos parametros. No klīniskajiem parametriem vienīgi rīta stīvuma ilgums ir ticami ilgāks pacientiem ar mēnešiem-gadiem ilgu B19V infekciju nekā pacientiem ar nedēļām-mēnešiem ilgu B19V infekciju. Bet no laboratoriskajiem parametriem tikai trombocītu vidējais līmenis ir būtiski augstāks OA pacientiem bez B19V infekcijas, kā arī OA pacientiem ar gadiem ilgu B19V infekciju nekā pacientiem ar nedēļām līdz mēnešiem ilgu B19V infekciju. Minētais liecina par salīdzinoši nelielu B19V infekcijas ietekmi uz OA klīnisko un laboratorisko gaitu.

Statistiski ticami augstāks IL-17 vidējais līmenis noteikts OA pacientu grupā bez B19V infekcijas, salīdzinot ar OA pacientiem ar gadiem ilgu B19V infekciju un salīdzinot ar OA pacientiem ar nedēļām-mēnešiem ilgu B19V infekciju pirms iekļaušanas pētījumā. Pārējo noteikto citokīnu līmenis OA pacientiem ar dažādiem inficēšanās ar B19V perioda garumiem pirms iekļaušanas pētījumā (noteiktiem pēc *recomLine* testa) būtiski neatšķiras. Savukārt ievērojami zemāks MMP-9 vidējais līmenis konstatēts OA pacientiem ar nedēļām-mēnešiem senu B19V infekciju salīdzinot ar pacientiem bez B19V infekcijas. Pētījuma dati liecina, ka B19V infekcijas ilgums būtiski neietekmē citokīnu produkciju OA pacientiem. Aslan ar kolēģiem ir noteicis augstāku IL-6 līmeni OA pacientiem, bet tā paaugstinājums ir atkarīgs no OA bojājuma pakāpes locītavā (*Aslan et al., 2008*). Iespējams mēs būtu guvuši citādus datus, ja iedalītu OA pacientus grupās atkarībā no skartās locītavas bojājuma pakāpes.

Pamatojoties uz *recomWell* un PQR rezultātiem veseli indivīdi ir sadalīti piecās grupās: (1) 12 kontroles grupas indivīdi ar pārciestu B19V infekciju, (2) viens vesels indivīds ar aktīvu persistentu B19V infekciju, (3) viens kontroles grupas indivīds ar latentu persistentu B19V infekciju, (4) viens kontroles grupas indivīds ar akūtu B19V infekciju un (5) 4 veseli indivīdi bez B19V infekcijas. Veseliem indivīdiem retāk kā RA un OA pacientiem konstatē akūtu un aktīvu persistentu B19V infekciju.

B19V var izmainīt citokīnu līmeni plazmā RA pacientiem un veseliem indivīdiem (*Naciute et al., 2016; Naciute et al., 2017*). Mūsu darbā, salīdzinot veselus kontroles grupas indivīdus ar pārciestu B19V infekciju un RA pacientu grupu ar pārciestu B19V infekciju, būtiskas atšķirības MMP-9, IL-2, IL-6, IL-12, IL-17 un TNF- α līmenī netika konstatētas. Savukārt augstāks IL-10 līmenis noteikts RA pacientu grupā ar pārciestu B19V infekciju nekā veselu indivīdu grupā ar pārciestu B19V infekciju. Minētais liecina, ka tikai IL-10 līmeni ietekmē citi faktori, nevis B19V infekcija. B19V genomu sastopamība sinoviālajos audos un sinoviālajā šķidrumā šajās grupās nozīmīgi neatšķirās.

Salīdzinot veselus kontroles grupas indivīdus ar pārciestu B19V infekciju un RA pacientu grupu ar pārciestu B19V infekciju, būtiskas atšķirības MMP-9, IL-2, IL-6, IL-12, IL-17 un TNF- α līmeņos netika konstatētas. Savukārt augstāks IL-10 līmenis noteikts RA pacientu grupā ar pārciestu B19V infekciju nekā veselu indivīdu grupā ar pārciestu B19V infekciju. Minētais liecina, ka tikai IL-10 līmeni ietekmē citi faktori, nevis B19V infekcija. B19V genomu sastopamība sinoviālajos audos un sinoviālajā šķidrumā šajās grupās būtiski neatšķirās.

Netika noteiktas būtiskas atšķirības MMP-9 un citokīnu līmeņos, kā arī B19V genoma sastopamības biežumā sinoviālajos audos un sinoviālajā šķidrumā, salīdzinot OA pacientu grupu un veselus kontroles grupas indivīdus ar pārciestu B19V infekciju abās pētāmajās grupās.

RA pacientiem statistiski ticami biežāk kā veseliem kontroles indivīdiem var konstatēt HHV-6 genoma klātbūtni un paaugstinātu vīrusa slodzi (*Alvarez-Lafuente et al., 2005*). Arī Brokolo ar kolēģiem HHV-6 genoma secības no šūnām brīvā serumā (virēmija) un anti-HHV-6 IgG klases antivielas ievērojami biežāk atradis saistaudu slimību, to skaitā RA, pacientiem, salīdzinot ar veseliem kontroles grupas indivīdiem (*Broccolo et al., 2013*). Mēs neatrodam būtisku persistentas HHV-6 un HHV-7 infekcijas, kā arī HHV-6 un HHV-7 reaktivācijas atšķirību RA un OA pacientu un veselu indivīdu grupās.

Hroniska iekaisuma procesā locītavā konstatē limfocītus, kas satur HHV-6 un HHV-7 genoma secības, kas liecina par to iespējamo lomu slimības attīstībā. Paliek neskaidrs, kamdēļ OA pacientu sinoviālajos audos tik lielā daudzumā konstatē HHV-7. Neskatoties uz līdzīgu persistentas HHV-6 un HHV-7 infekcijas sastopamību RA un OA pacientu grupās, RA pacientu sinoviālajā šķidrumā ar tiešo PQR HHV-6 DNS noteikts ievērojami biežāk nekā OA pacientu grupā. RA un OA pacientu sinoviālajos audos nav konstatēta HHV-6 monoinfekcija, kā arī HHV-7 DNS sastopamība abu pacientu grupu sinoviālajos audos ir līdzīga. Savukārt RA pacientu sinoviālajos audos vienlaicīgas HHV-6 un HHV-7 infekcijas sastopamības biežums ir būtiski lielāks nekā OA pacientu audos. HHV-6 reaktivitāte visos PQR pozitīvos RA gadījumos tika apstiprināta ar imūnhistoķīmiju, bet tas neizslēdz vienlaicīgu HHV-7 infekcijas klātbūtni un iespējamo vīrusu antigēnu noteikšanu. HHV-6 un/vai HHV-7 DNS konstatēšana locītavas dobumā var liecināt par iespējamību, ka vīrusu replikācija saistīta vai ar primāriem RA imūniem traucējumiem vai ar imunosupresīvo medikamentu radītu imūno depresiju.

Ir novērota atšķirīga HHV-6 un/vai HHV-7 ietekme uz RA klīniskajiem parametriem. SLS un PLS, kā arī VAS RA pacientiem ar dažādām HHV-6 un/vai HHV-7 infekcijas aktivitātes stadijām būtiski neatšķirās. Rīta stīvuma ilgums noteikts ticami mazāks pacientiem ar aktīvu HHV-6 infekciju nekā ar latentu HHV-6 infekciju. Šāds novērojums skaidrojams ar pielietotās ārstēšanas stratēģiju – seši RA pacienti ar aktīvu HHV-6 infekciju ir saņēmuši spēcīgu imunosupresantu glikokortikosteroīdu ar vai bez sSMARM un tikai divi pacienti no šīs grupas ir saņēmuši nespecifisku terapiju ar NSPL. OA pacientu grupās ar dažādām HHV-6 un HHV-7 infekcijas aktivitātes stadijām nav noteiktas slimības klīnisko parametru būtiskas atšķirības.

Iepriekš gan *Vassilopoulos*, gan *Nard* ar kolēģiem konstatējuši, ka hroniskas vīrusa infekcijas reaktivāciju var izraisīt ārstēšana ar imunosupresīvajiem medikamentiem (*Vassilopoulos, Calabrese, 2007*;

Nard et al., 2015). Komar ar kolēģiem noteicis, ka pacientiem ar juvenilu reimatoīdo artrītu, Krona slimību un čūlaino kolītu, kuri ārstēšanā lieto bioloģisko medikamentu abataceptu, HHV-6 vīrusa genoms nav konstatēts biežāk kā veseliem kontroles indivīdiem (Comar et al., 2013). Šajā pētījumā nav konstatēta imunosupresīvās terapijas ietekme uz HHV-6 un HHV-7 infekcijas sastopamību. Tajā pašā laikā ne MTX, ne bioloģisko medikamentu monoterapijas grupās netika konstatēta infekcijas reaktivācija. Šie medikamenti ir spēcīgi imunosupresanti un, iespējams, tie kavē HHV-6 un HHV-7 infekcijas reaktivāciju. Alvarez-Lafuente ar līdzautoriem novērojuši ievērojami augstu HHV-6 DNS sastopamību RA pacientiem salīdzinājumā ar veselām kontroles grupas personām (Alvarez-Lafuente et al., 2009), un Rollin ar kolēģiem konstatējuši, ka OA gadījumā var būt Epšteina-Barra vīrusa transmisija vai reaktivācija (Rollin et al., 2009). Davis ar kolēģiem nav atradis būtisku saistību starp citomegalovīrusa un Epšteina-Barra vīrusa specifisko antivielu klātbūtni ar pacientu dzimumu, vecumu, slimības ilgumu (no simptomu sākuma), RF, ACPA un DAS28 līmeni, nespēku, sāpju izteiktību, HAQ [*health assessment questionnaire* (veselības aptaujas)] rezultātiem un SF-36 fiziskā vai mentālā stāvokļa rādītājiem, kā arī ar MTX, bSMARM vai prednizolona ietekmi (Davis et al., 2012). Citi autori uzskata, ka vīrusa infekcijai ir otršķirīga loma – tā attīstoties cirkulējošu ACPA klātbūtnē un veicina RA pirmsiekaisuma fāzes pāreju hroniskā sinovītā (van de Sande et al., 2011).

Pētījumā neesam konstatējuši būtisku HHV-6 un HHV-7 infekcijas saistību ar RA komplikāciju attīstību. Mugurkaula kakla daļas bojājumu un sklerītu novēro tikai RA pacientu grupā ar latentu HHV-6 un/vai HHV-7 infekciju. Vienu no vēlīnajām RA komplikācijām – miopātisko sindromu, konstatē ievērojami biežāk RA pacientiem ar latentu HHV-7 infekciju nekā ar aktīvu HHV-7 infekciju. Tas ļauj spriest, ka ne tikai aktīva, bet arī latentā infekcija var veicināt slimības progresiju. Komplikāciju biežums ir augstāks RA pacientu grupā ar aktīvu HHV-6 monoinfekciju.

Vairākos pētījumos noteikts, ka anti-CMV (citomegalovīruss) pozitīviem RA pacientiem attīstas izteiktākas locītavu destruktīvās izmaiņas (Davis *et al.*, 2012; Pierer *et al.*, 2012). Savukārt šajā darbā konstatējam smagāku rentgenoloģisko stadiju RA pacientiem ar vienlaicīgu aktīvu HHV-6 un HHV-7 infekciju.

Iekaisuma marķiera CRO vidējais līmenis ir ievērojami augstāks RA pacientiem ar latentu HHV-7 infekciju nekā pacientiem ar aktīvu HHV-7 infekciju. Gandrīz visi RA pacienti ar aktīvu HHV-7 ir saņēmuši terapiju ar glikokortikoidiem un/vai sSMARM, kas var ievērojami mazināt slimības aktivitāti. Arī Broccolo ar kolēģiem nav konstatējis saistību starp HHV-6 infekcijas reaktivāciju un RA aktivitāti (Broccolo *et al.*, 2013).

RA agresivitātes rādītāju RF un anti-CCP vidējais līmenis būtiski neatšķiras RA pacientu grupās ar dažādiem HHV-6 un/vai HHV-7 infekcijas marķieriem.

OA pacientu grupā slimības aktivitātes rādītāja CRO vidējais līmenis konstatēts ievērojami augstāks pacientiem ar latentu HHV-7 infekciju nekā pacientiem bez HHV-6 un HHV-7 infekcijas. Savukārt EGĀ vidējais līmenis OA pacientu grupās ar dažādām HHV-6 un HHV-7 aktivitātes stadijām būtiski neatšķiras, kas var liecināt, ka HHV-6 un HHV-7 infekcija maz ietekmē OA aktivitāti.

Neskatoties uz to, ka nav konstatēta būtiskas persistentas tikai HHV-6 un tikai HHV-7 un vienlaicīgas HHV-6 un HHV-7 infekcijas un reaktivācijas sastopamības atšķirības starp RA un OA pacientu grupām un kontroles grupas personām, ir noteikts, ka abas – gan aktīva, gan latentā HHV-6 un/vai HHV-7 infekcija palielina RA aktivitāti un progresiju pēc vairākiem klīniskiem un laboratoriskiem parametriem. Tas var liecināt, ka HHV-6 un/vai HHV-7 infekcija ietekmē slimības aktivitāti un agresiju, bet šo vīrusu reaktivācija var attīstīties uz imunosupresīvās terapijas fona. 80.9% RA pacientu ar HHV-6 un/vai HHV-7 reaktivāciju saņem glikokortikoidus, MTX un leflunomīdu, kas

ir izteikti imunosupresanti, dažādās kombinācijās vai atsevišķi. Tajā pašā laikā Kavada ar kolēģiem noteicis, ka MTX un tofacitiniba terapija netietekmē HHV-6 vīrusa slodzi juvenila idiopātiskā artrīta pacientiem (*Kawada et al., 2012*). Par ietekmi uz RA gaitas smagumu liecina augstā RA komplikāciju sastopamība pacientiem ar aktīvu tikai HHV-6 infekciju, kā arī smagāka radioloģiskā RA stadija pacientiem ar vienlaicīgu aktīvu HHV-6 un HHV-7 infekciju. HHV-6 un HHV-7 ietekme uz slimības aktivitāti un agresiju ir izteiktāka RA pacientu nekā OA pacientu grupā.

4. SECINĀJUMI

1. Gan RA un OA pacientiem, gan veseliem indivīdiem atrod B19V, HHV-6 un -7 infekcijas marķieru klātbūtni, taču to biežums un aktivitātes stadija ir atšķirīgi:
 - a. Akūtu un aktīvu persistentu B19V infekciju biežāk konstatē RA pacientiem, salīdzinot ar citām pētāmajām grupām. Turklāt 46,7% RA pacientiem ar akūtu B19V infekciju ir agrīna slimības stadija, kas norāda uz iespējamu vīrusa nozīmi RA attīstībā. Anti-B19 NS-1 IgG klases antivielas, kas ir viens no B19V peristentas infekcijas rādītājiem, arī biežāk konstatē RA pacientiem nekā pārējās pētāmajās grupās.
 - b. Vienīgi RA pacientu sinoviālā šķidruma DNS paraugos atrastas tikai HHV-6 genoma secības, bet, salīdzinot ar OA pacientiem, RA pacientu sinoviālo audu DNS paraugos ticami biežāk vienlaicīgi noteiktas HHV-6 un -7 genomu secības, kas liecina par būtiskāku HHV-6 un -7 infekcijas iesaisti RA attīstībā.
2. B19V, HHV-6 un -7 infekcijas aktivitātes stadijas būtiski neatšķiras RA pacientiem ar dažādu RA ārstēšanu. Jāpiezīmē, ka MTX monoterapijas un bSMARMs lietotāju grupās netika konstatēta ne HHV-6, ne HHV-7 infekcijas reaktivācija, bet B19V infekcijas aktivitātes stadijas neatšķiras.
3. RA pacientu T limfocītu proliferatīvā atbilde uz B19V antigēniem ir biežāka un ātrāka, salīdzinot ar veseliem indivīdiem, kas norāda uz persistentas B19V infekcijas esamību RA pacientiem. Ārstēšana ar MTX nomāc T limfocītu proliferatīvo atbildi pret B19V antigēniem.
4. RA pacientiem ar aktīvu B19V infekciju ir visaugstākais TNF- α līmenis, kas var veicināt RA attīstību pēc akūtas B19V infekcijas vai pēc persistentas B19V infekcijas reaktivācijas. OA gadījumā TNF- α līmenis ir augstāks pacientiem ar aktīvu persistentu B19V infekciju, kas liecina, ka B19V reaktivācija ietekmē arī OA gaitu. Veseliem indivīdiem noteikto

iekaisuma citokīnu līmenis grupās ar dažādām B19V, HHV-6 un -7 infekcijas aktivitātes stadijām ir līdzīgs. B19V infekcijas ilgums pirms indivīda iekļaušanas pētījumā neietekmē citokīnu produkcijas izmaiņas nevienā no pētāmajām grupām.

5. Vērtējot pēc klīniskajiem parametriem, pietūkušo locītavu skaits ir lielāks RA pacientu grupā ar aktīvu persistentu B19V infekciju, kas liecina, ka B19V infekcija ietekmē slimības aktivitāti, un B19V infekcija būtiski neietekmē RA komplikāciju biežumu. Savukārt RA pacientu grupā ar latentu persistentu HHV-6 infekciju ir ilgāks rīta stīvums, bet grupā ar latentu persistentu HHV-6 un HHV-7 infekciju attīstās smagākas komplikācijas. Vērtējot pēc laboratoriskajiem parametriem, RA pacientiem ar B19V virēmiju biežāk konstatē paaugstinātu RF, kā arī kopējo slimības agresivitāti, kas noteikta pēc RF un anti-CCP paaugstināšanās pakāpes un kas liecina par B19V lomu RA gaitas pasliktināšanā. RA slimības laboratorisko aktivitāti un agresivitāti persistenta HHV-6 un -7 infekcija būtiski neietekmē. B19V, HHV-6 un -7 infekcija neietekmē RA radioloģisko stadiju un OA gaitu.
6. B19V, HHV-6 un -7 infekcija ietekmē RA attīstību un gaitu – galvenokārt akūta un aktīva persistenta B19V infekcija un latentā/persistenta HHV-6 un -7 infekcija, tādējādi nulles hipotēze neapstiprinās.

5. PRAKTISKĀS REKOMENDĀCIJAS

Balstoties uz pētījumā iegūtajiem datiem, ieteikumi klīniskajai praksei ir sekojoši:

1. Ja pacientam ar vīrusa infekciju attīstās artrīta aina, izraisītāja precizēšanai jāveic virusoloģiskā testēšana, jo HHV-6 un HHV-7 var saglabāties latentā formā, tad reaktivēties un veicināt RA attīstību.
2. Vīrusu veicināts artrīts var būt arī agrīns RA.
3. Ja RA pacientam attīstās akūta un/vai aktīva persistenta B19V infekcija, izvēles medikaments ir MTX. Nepieciešamības gadījumā var pielietot kombinētu terapiju, bet vienam no SMARM ir jābūt MTX.
4. Pasliktinoties RA gaitai var būt nepieciešams noteikt vīrusu infekcijas marķierus, lai savlaicīgi uzsāktu atbilstošu artrīta ārstēšanu.

PUBLICĒTIE RAKSTI

1. Kozireva S., Zestkova J., Mikazane H., Kadisa A., Kakurina N., Lejnieks A., et al. 2008. *Incidence and clinical significance of parvovirus B19 infection in patients with rheumatoid arthritis*. J. Rheumatol., 35, p.1265-70.
2. Kakurina N., Kadisa A., Lejnieks A., Mikazane H., Kozireva S., Murovska M. 2015. *Use of exploratory factor analysis to ascertain the correlation between the activities of rheumatoid arthritis and infection by human parvovirus B19*. Medicina (Kaunas), 51(1), p.18-24.
3. Kadisa A., Nora-Krukle Z., Kozireva S., Svirskis S., Studers P., Groma V., Lejnieks A., Murovska M. 2016. *Effect of Human Herpesviruses 6 and 7 Infection on the Clinical Course of Rheumatoid Arthritis*. Proceedings of the Latvian Academy of Sciences, Section B: Natural, Exact, and Applied Sciences. Volume 70, Issue 4, 1 August 2016, Pages 165-174.
4. Bratslavska O., Kozireva S., Kadisa A., Svirskis S., Lejnieks A., Murovska M. 2016. *Peripheral Blood Mononuclear Cells' Proliferative Response to Human Parvovirus B19 Antigens in Patients with Rheumatoid Arthritis*. Proceedings of the Latvian Academy of Sciences, Section B: Natural, Exact, and Applied Sciences. Volume 70, Issue 4, 1 August 2016, Pages 175-181.
5. A.Kadiša, O.Bracslavska, S.Kozireva, P.Studers, A.Lejnieks, M.Murovska. 2012. *Parvovīrusa B19 infekcija osteoartrīta slimniekiem*. Zinātniskie raksti: 2011.g. medicīnas nozares pētnieciskā darba publikācijas / Rīgas Stradiņa universitāte. - Rīga. - 1.sēj., 249.-254.lpp.
6. A.Kadiša, O.Bracslavska, S.Kozireva, A.Lejnieks, M.Murovska u.c. 2011. *Parvovīrusa B19 infekcijas nozīme reimatoīdā artrīta etiopatogēnēzē un klīniskajā gaitā*. Zinātniskie raksti: 2010.g. medicīnas nozares pētnieciskā darba publikācijas / Rīgas Stradiņa universitāte. - Rīga. - 2.sēj., 126.-133.lpp.

TĒZES UN DALĪBA VIETĒJĀS KONFERENCĒS UN KONGRESOS

1. A.Kadiša, Z.Nora-Krūkle, S.Kozireva, A.Lejnieks, M.Murovska. 2017. *Reimatoīdā artrīta gaita atkarībā no perioda kopš inficēšanās brīža ar parvovīrusu B19*. 2017.gada Zinātniskās konferences tēzes (Rīga, 2017.g. 6.-7.aprīlī) / Rīgas Stradiņa universitāte. - Rīga. - 20.lpp.
2. A.Kadiša, Z.Nora-Krūkle, S.Grāvelsiņa, Š.Svirskis, A.Lejnieks, M.Murovska. 2016. *Cilvēka herpes vīruss 6 un 7 – reimatoīdā artrīta gaitu sekmējoši aģenti*. 2016.gada Zinātniskās konferences tēzes (Rīga, 2016.g. 17.-18.martā) / Rīgas Stradiņa universitāte. - Rīga. - 140.lpp.
3. M.Tarasovs, V.Groma, S.Skuja, A.Kadiša, P.Studers, S.Kozireva, J.Pavlova, M.Murovska. 2014. *Parvovīrusa B19 VP1/VP2 ekspresijas morfoloģisks novērtējums reimatoīdā artrīta un osteoartrīta gadījumā*. 2014.gada Zinātniskās konferences tēzes (Rīga, 2014.g. 10.-11.aprīlī) / Rīgas Stradiņa universitāte. - Rīga. - 144.lpp.
4. A.Kadiša, O.Bracslavska, S.Kozireva, E.Pavlova, P.Studers, A.Lejnieks, M.Murovska. 2013. *Parvovīrusa B19 iespējamā loma reimatoīdā artrīta attīstībā*. Latvijas Ārstu kongress (Rīga, 2013.g. 19.-21.sept.) / Latvijas Ārstu biedrība [Elektroniskais resurss]. - Rīga. - 1 p.
5. A.Kadiša, V.Groma, P.Studers, M.Murovska, A.Lejnieks. 2012. *Reimatoīdā artrīta un osteoartrīta morfoloģiskās īpatnības*. 2012.gada Zinātniskās konferences tēzes (Rīga, 2012.g. 29.-30.martā) / Rīgas Stradiņa universitāte. - Rīga. -177.lpp.
6. A.Kadisa, O.Bratslavska, S.Kozireva, P.Studers, M.Murovska, A.Lejnieks. 2011. *Parvovirus B19 infection in osteoarthritis patients*. 2011.gada Zinātniskās konferences tēzes (Rīga, 2011.g. 14.-15.aprīlī) / Rīgas Stradiņa universitāte. - Rīga, - 222.lpp.
7. A.Kadiša, O.Bracslavska, S.Kozireva, P.Studers, A.Lejnieks, M.Murovska. 2011. *Parvovīrusa B19 infekcijas nozīme reimatoīdā artrīta un osteoartrīta etiopatogēnēzē*. Apvienotā Pasaules latviešu zinātnieku 3. kongresa un Letonikas 4. kongresa Medicīnas sekcija "Medicīnas zinātne un Latvijas sabiedrības veselība XXI gadsimtā" (Rīga, 2011.g. 24.-27.okt.).

8. O.Bracslavska, S.Kozireva, A.Kadisa, A.Lejnieks, M.Murovska, H.Mikazane. 2010. Humoral responses against different parvovirus B19 antigens in patients with rheumatoid arthritis 2010.gada Zinātniskās konferences tēzes (Rīga, 2010.g. 18.-19.martā) / Rīgas Stradiņa universitāte. - Rīga, - 191.lpp.

TĒZES UN DALĪBA STARPTAUTISKAJĀS KONFERENCĒS UN KONGRESOS

1. V.Groma, S.Skuja, M.Tarasovs, P.Studers, O.Teteris, A.Kadisa, S.Chapenko, M.Murovska. 2016. *Active human parvovirus B19 infection and phenotypic peculiarities of arthritis synovial fibroblasts*. XVI International Parvovirus Workshop (Ajaccio, France, June 19-23, 2016): [Abstract Book]. - Ajaccio, - P.46.
2. A.Kadisa, S.Kozireva, O.Bratslavskā, V.Groma, P.Studers, A.Lejnieks, M.Murovska. 2016. *Demonstration of parvovirus B19 infection in rheumatoid arthritis*. Annual European Congress of Rheumatology (EULAR) (London, United Kingdom, June 8-11, 2016): [Abstracts]. - Annals of the Rheumatic Diseases. - Vol.75, Suppl.2, p.923-924.
3. M.Isaguliantis, A.Kadisa, S.Svirskis, Z.Nora-Krukļe, S.Gravelsina, I.Kholodnuk, A.Lejnieks, M.Murovska. 2016. *Effects of disease modifying drugs on humoral immunity in patients with rheumatoid arthritis*. 10th International Congress on Autoimmunity (Leipzig, Germany, Apr.6-10, 2016): Program Book. - Leipzig, - Abstr. No.879.
4. V.Groma, S.Skuja, M.Tarasovs, V.Cauce, A.Kadisa, S.Chapenko, M.Murovska. 2016. *Human parvovirus B19 infection and behavioral changes in arthritis synovial cellular environments*. 10th European Workshop on Immune Mediated Inflammatory Diseases (Toulouse, France, Oct.19-21, 2016): [Abstracts]. - Toulouse, - Abstr. No.SD4-5.
5. Z.Nora-Krukļe, A.Kadisa, P.Studers, S.Skuja, V.Groma, A.Lejnieks, M.Murovska. 2016. *Possible involvement of HHV-6 and HHV-7 infection in rheumatoid arthritis and osteoarthritis development*. 6th European Congress of Virology (Hamburg, Germany, Oct.19-22, 2016): Final Programme. - Hamburg, - P.110-111.
6. Z.Nora-Krukļe, A.Kadisa, M.Tarasovs, S.Skuja, V.Groma, A.Lejnieks, M.Murovska. 2016. *Presence of HHV-6, HHV-7 and parvovirus B19 infection markers in synovial fluid and synovial tissue of patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis*. 10th International Congress on Autoimmunity (Leipzig, Germany, Apr.6-10, 2016): Program Book. - Leipzig, - Abstr. No.905.
7. M.Murovska, A.Kadisa, S.Kozireva, E.Pavlova, S.Gravelsina, A.Lejnieks, M.Isaguliantis. 2015. *Detection of parvovirus B19 infection markers in*

rheumatoid arthritis reflects application of immunosuppressive treatment regimens. 3rd International Congress on Controversies in Rheumatology & Autoimmunity (CORA 2015) (Sorrento, Italy, March 12-14, 2015): Scientific Program - Sorrento, -Abstr. No.259.

8. A.Kadisa, S.Kozireva, Z.Nore-Krukke, A.Lejnieks, M.Murovska. 2015. *Do herpesvirus-6 and -7 parvovirus B19 infections have similar effect on cytokines production in rheumatoid arthritis patients.* TOLL 2015 Targeting Innate Immunity (Marbella, Spain, Sept.30 -Oct.3, 2015): Abstracts Book. - Marbella, - P.350.
9. A.Kadisa, S.Kozireva, E.Pavlova, O.Bracslavska, A.Lejnieks, S.Svirskis, M.Murovska. 2015. *Influence of methotrexate on T-lymphocytes' proliferative response to human parvovirus B19 antigens in patients with rheumatoid arthritis.* 3rd International Congress on Controversies in Rheumatology & Autoimmunity (CORA 2015) (Sorrento, Italy, March 12-14, 2015): Scientific Program - Sorrento, - Abstr. No.091.
10. A.Kadisa, A.Vilkaite, M.Čistjakovs, J.Pavlova, N.Kakurina, S.Kozireva, A.Lejnieks, M.Murovska. 2014. *Association of human parvovirus B19 infection with rheumatoid arthritis and osteoarthritis development.* 15th Biennial International Parvovirus Workshop (Bordeaux, France, June 22-26, 2014): Abstract Book. - Bordeaux, - Abstr. No.P-13.
11. A.Kadisa, S.Kozireva, Z.Nore-Krukke, E.Pavlova, A.Lejnieks, M.Murovska. 2014. *Do herpesvirus-6 and -7 and parvovirus B19 infection have a similar effect on the course of rheumatoid arthritis?* Annual European Congress of Rheumatology (EULAR) (Paris, France, June 11-14, 2014): [Abstracts]. - Annals of the Rheumatic Diseases. - Vol.73, Suppl.2, p.840.
12. S.Kozireva, A.Kadisa, Z.Nora-Krukke, M.Murovska et al. 2014. *Human parvovirus B19 infection and rheumatoid arthritis clinical course.* International Union of Microbiological Societies (IUMS) Congresses (Montreal, Canada, July 27-Aug.1, 2014): Abstracts - Montreal, - P.206.
13. A.Kadisa, M.Tarasovs, P.Studers, A.Lejnieks, M.Murovska, V.Groma. 2014. *Morphological evolution of joint destruction in rheumatoid arthritis and osteoarthritis patients with various viral infection markers.* Annual European Congress of Rheumatology (EULAR) (Paris, France, June 11-14, 2014): [Abstracts]. - Annals of the Rheumatic Diseases. - Vol.73, Suppl.2, p.840.

14. V.Groma, A.Kadiša, M.Tarasovs, P.Studers, M.Murovska. 2013. *Morphologic evaluation of joint destruction in rheumatoid arthritis (RA) and osteoarthritis (OA) and its correlations with virus antigen expression*. Baltic Morphology Scientific Conference. Morphological sciences in the experimental and clinical medicine: Baltic Morphology VII Scientific Conference "Morphological sciences in the experimental and clinical medicine" (Rīga, Latvia, Nov.7-9, 2013): Abstract Book / Rīga Stradiņš University. - 8 p.
15. A.Kadisa, V.Groma, S.Skuja, O.Bratslavsksa, S.Kozireva, P.Studers, A.Lejnieks, M.Murovska. 2013. *Virologic and morphologic evidences of human parvovirus B19 infection in osteoarthritis*. Annual European Congress of Rheumatology (Madrid, Spain, June 12-15, 2013): Abstracts. - Annals of the Rheumatic Diseases. - Vol.72, Suppl.3, p.697-698.
16. O.Bratslavsksa, A.Kadisa, S.Kozireva, E.Pavlova, N.Kakurina, A.Lejnieks, M.Murovska. 2012. *Dependence of rheumatoid arthritis disease aggressivity and activity on the presence of parvovirus B19 infection markers*. 13th Annual European Congress of Rheumatology (EULAR) (Berlin, Germany, June 6-9, 2012): [Abstracts]. - Annals of the Rheumatic Diseases. - Vol.71, Suppl.3 , p.494.
17. O.Bratslavsksa, A.Kadisa, S.Kozireva, E.Pavlova, P.Studers, A.Lejnieks, M.Murovska. 2012. *The influence of methotexate on adaptive immunity against parvovirus B19 in patients with rheumatoid arthritis*. 13th Annual European Congress of Rheumatology (EULAR) (Berlin, Germany, June 6-9, 2012): Abstracts. - Annals of the Rheumatic Diseases. - Vol.71, Suppl.3, p.493.
18. A.Kadisa, Z.Nora-Krukke, S.Kozireva, P.Studers, A.Lejnieks, M.Murovska. 2011. *Frequency of HHV-6 and HHV-7 infection markers in rheumatoid arthritis and osteoarthritis patients*. Workshop "Immunomodulating human herpesviruses and their role in human pathologies" (Riga, Oct.13-14, 2011): agenda, presentations summaries / Rīga Stradiņš University. A.Kirchenstein Institut.
19. M.Murovska, O.Bratslavsksa, A.Kadisa, S.Kozireva, P.Studers, A.Lejnieks. 2011. *Parvovirus B19 infection in osteoarthritis and rheumatoid arthritis patients*. XV International Congress of Virology (Sapporo, Japan, Sept.11-16, 2011): Final Program – Sapporo. - Poster VI-PO9-7, on CD-ROM.

20. O.Bratslavskaja, S.Kozireva, A.Kadisa, H.Mikazane, A.Lejnieks, M.Murovska. 2010. *Lymphocytes proliferative response to human parvovirus B19 antigens in rheumatoid arthritis patients*. 4th European Congress of Virology (Como Lake, Italy, Apr.7-11, 2010): [Abstracts]. - Como Lake. - P.237.

LITERATŪRAS SARAKSTS

1. Aktaş, O., Aydin, H., Uslu, H. 2016. Serological prevalence of human parvovirus B19 indiseases or disordersrelated to different human body systems. *Turk. J. Med. Sci.* 46(2), 368-373.
2. Aletaha, D., Neogi, T., Silman, A., Funovits, J., Felson, D., et al. 2010. 2010 Rheumatoid Arthritis Classification Criteria: An American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism Collaborative Initiative. *Arthritis Rheum.* 62, 2569-2581.
3. Alvarez-Lafuente, R., Fernández-Gutiérrez, B., de Miguel, S., Jover, J. A., Rollin, R., Loza, E., Clemente, D., Lamas, J. R. 2005. Potential relationship between herpes viruses and rheumatoid arthritis: analysis with quantitative real time polymerase chain reaction. *Ann. Rheum. Dis.* 64(9), 1357-1359.
4. Anderson, J., Caplan, L., Yazdany, J., Robbins, M. L., Neogi, T., Michaud, K., Saag, K. G., O'dell, J. R. and Kazi S. 2012. Rheumatoid arthritis disease activity measures: American College of Rheumatology recommendations for use in clinical practice. *Arthritis Care Res.* 64, 640–647.
5. Arnett, F., Edworthy, S., Bloch, D., et al. 1988. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 31, 315–324.
6. Aslan, B., Serin, M. S., Aslan, G., Kalaci, A., Yanat, A. N., Tezcan, S., Emekdas, G. 1988. Detection of parvovirus B19 in synovial fluids of patients with osteoarthritis. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 60(4), 381-385.
7. Barah, F., Vallely, P., Chiswick, M., Cleator, M., Kerr, J. 2001. Association of human parvovirus B19 infection with acute meningoencephalitis. *Lancet.* 358, 729–730.
8. Barash, J., Dushnitzki, D., Barak, Y., et al. 2003. Tumor necrosis factor (TNF) alpha and its soluble receptor (sTNFR) p75 during acute human parvovirus B19 infection in children. *Immunol. Lett.* 88, 109–112.
9. Beaten, D., Demetter, P., Cuvelier, C., Van den Bosch, F., Kruithof, E., Van Damme, N., Verbruggen, G., Mielants, H., Veys, E., De Keyser, F. 2000. Comparative study of the synovial histology in rheumatoid arthritis, spondyloarthropathy, and osteoarthritis: influence of disease duration and activity. *Ann. Rheum. Dis.* 59, 945-953.

10. Berneman, Z. N., Gartenhaus, R. B., Reitz, M. S. Jr, Klotman, M. E., Gallo, R. C. 1992. cDNA sequencing confirms HTLV-I expression in adult T-cell leukemia/lymphoma and different sequence variations in vivo and in vitro. *Leukemia*. 6(3), 67S-71S.
11. Braun, D. K., Dominguez, G., Pellett, P. E. 1997. Human herpesvirus 6. *Clinical Microbiology Reviews*. 10(3), 521–567.
12. Broccolo, F., Drago, F., Cassina, G., Fava, A., Fusetti, L., Matteoli, B., Ceccherini-Nelli, L., Sabbadini, M. G., Lusso, P., Parodi, A., Malna, M. S. 2013. Selective reactivation of human herpesvirus 6 in patients with autoimmune connective tissue diseases. *J. Med. Virol.* 85, 1925–1934.
13. Broccolo, F., Fusetti, L., Ceccherini-Nelli, L. 2013. Possible role of human herpesvirus 6 as a trigger of autoimmune disease. *Scientific World Journal*. 24, Article ID 867389.
14. Burgos, R., Ordoñez, G., Vázquez-Mellado, J., Pineda, B., Sotelo, J. 2015. Occasional presence of herpes viruses in synovial fluid and blood from patients with rheumatoid arthritis and axial spondyloarthritis. *Clin. Rheumatol.* 34(10), 1681-1686.
15. Caselli, E., Zatelli, M. C., Rizzo, R., Benedetti, S., Martorelli, D., Trasforini, G., Cassai, E., degli Uberti, E. C., Di Luca, D., Dolcetti, R. 2012. Virologic and immunologic evidence supporting an association between HHV-6 and Hashimoto's thyroiditis. *P.Lo.S. Patho.* 8(10), e1002951.
16. Chapenko, S., Millers, A., Nora, Z., Logina, I., Kukaine, R., Murovska, M. 2003. Correlation between HHV-6 reactivation and multiple sclerosis disease activity. *J. Med. Virol.* 69(1), 111-7.
17. Chen, Y., Chou, P. H., Li, S. N., Tsai, W. C., Lin, K. H., Tsai, K. B., Yen, J. H., Liu, H. W. 2006. Parvovirus B19 infection in patients with rheumatoid arthritis in Taiwan. *J. Rheumatol.* 33, 887-891.
18. Clark, D. A., Freeland, M. L., MacKie, L. K., Jarrett, R. F., Onions, D. E. 1993. Prevalence of antibody to human herpesvirus 7 by age. *The Journal of Infectious Diseases. University of Chicago Press*. 168 (1), p.251–252.
19. Cojocaru, M., Cojocaru, I. M., Silosi, I., Vrabie, C. D., Tanasescu, R. 2010. Extra-articular Manifestations in Rheumatoid Arthritis. *Mædica*, 5(4), 286–291.
20. Colmegna, I., Alberts-Grill, N. 2009. Parvovirus B19: its role in chronic arthritis. *Rheum. Dis. Clin. North. Am.* 35(1), 95-110.

21. Comar, M., Delbue, S., Lepore, L., Martellosi, S., Radillo, O., Ronfani, L., D'Agaro, P., Ferrante, P. 2013. Latent viral infections in young patients with inflammatory diseases treated with biological agents: prevalence of JC virus genotype 2. *J. Med. Virol.* 85(4), 716-722.
22. Corcoran, A., Doyle, S., Waldron, D., Nicholson, A., Mahon, B. P. 2000. Impaired gamma interferon responses against parvovirus B19 by recently infected children. *J. Virol.* 74, 9903-9910.
23. Crowson, C. S., Hoganson, D. D., Fitz-Gibbon, P. D., Matteson, E. L. 2012. Development and Validation of a Risk Score for Serious Infections in Patients with Rheumatoid Arthritis. *Arthritis and rheumatism.* 64(9), 2847-2855.
24. Davis, J. 3rd, Knutson, K., Skinner, J., Strausbauch, M., Crowson, C., Thorneau, T., Wettstein, P., Matteson, E., Gabriel, S. 2012. A profile of immune response to herpesvirus is associated with radiographic joint damage in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res. Ther.* 14(1), R24.
25. Franssila, R., Auramo, J., Modrow, S., et al. 2005. T helper cell-mediate interferon-gamma expression after human parvovirus B19 infection: persisting VP2-specific and transient VP1u-specific activity. *Clin. Exp. Immunol.* 142, 53-61.
26. Franssila, R., Hedman, K. 2006. Infection and musculoskeletal conditions: Viral causes of arthritis. *Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.* 20(6), p.1139-1157.
27. Gibofsky, A. 2012. Overview of epidemiology, pathophysiology, and diagnosis of rheumatoid arthritis. *Am. J. Manag. Care.* 18(13), S295-302.
28. Hayem, F., Hayem, G. 2012. Still's disease and the mitochondrion: the other face of an old friend? *Med. Hypotheses.* 79(2), 136-137.
29. Heidari, B., Firouzjahi, A., Heidari, P., Hajian, K. 2009. The prevalence and diagnostic performance of anti-cyclic citrullinated peptide antibody in rheumatoid arthritis: the predictive and discriminative ability of serum antibody level in recognizing rheumatoid arthritis. *Annals of Saudi Medicine.* 29(6), 467-470.
30. Hemauer, A., Gigler, A., Searle, K., Raab, U., Broliden, K., Wolf, H., et al. 2000. Seroprevalence of parvovirus B19-infected and uninfected individuals, and in infected pregnant women. *J. Med. Virol.* 60, 48-55.
31. Isa, A., Lundqvist, A., Lindblom, A., Tolfvenstam, T., Broliden, K. 2007. Cytokine responses in acute and persistent human parvovirus B19 infection. *Clin. Exp. Immunol.* 147, 419-425.
32. Isa, A., Norbec, O., Hirbod, T., Lundquist, A., Kasproicz, P., Bowness, P., Broliden, K., et al. 2006. Aberrant cellular immune responses in humans infected persistently with parvovirus B19. *J. Med. Virol.* 78, 129-133.

33. Jorgensen, K. T., Wiik, A., Pedersen, M. et al. 2008. Cytokines, autoantibodies and viral antibodies in premorbid and postdiagnostic sera from patients with rheumatoid arthritis: case-control study nested in a cohort of Norwegian blood donors. *Ann. Rheum. Dis.* 67(6), 860–866.
34. Kakurina, N., Kadisa, A., Lejnieks, A., Mikazane, H., Kozireva, S., Murovska, M. 2015. Use of exploratory factor analysis to ascertain the correlation between the activities of rheumatoid arthritis and infection by human parvovirus B19. *Medicina (Kaunas)*. 51(1), 18-24.
35. Kasprovicz, V., Isa, A., Tolfvenstam, T., Jeffery, K., Bowness, P., Klenerman, P. 2006. Tracking of peptid-specific CD4+ T-cell responses after an acute resolving viral infection: a study of parvovirus B19. *J. Virol.* 80, 11209-11217.
36. Kasprovicz, V., Isa, A., Jeffery, K., Broliden, K., Tolfvenstam, T., Klenerman, P., Bowness, P. 2006. A highly restricted T-cell receptor dominates the CD8+ T-cell response to parvovirus B19 infection in HLA-A*2402-positive individuals. *J. Virol.* 80, 6697-6701.
37. Kerr, J. R. 2016. The role of parvovirus B19 in the pathogenesis of autoimmunity and autoimmune disease. *J. Clin. Pathol.* 69(4), 279-91.
38. Kerr, J. R., Cuncliffe, V. S. 2000. Antibodies to parvovirus B 19 non-structural protein are associated with chronic but not acute arthritis following B19 infection. *Rheumatology*. 39, 903-908.
39. Kerr, J. R., Cuncliffe, V. S., Kelleher, P., Coats, A. J., Matthey, D. L. 2004. Circulating cytokines and chemokines in acute symptomatic parvovirus B19 infection: negative association between levels of pro-inflammatory cytokines and development of B19-associated arthritis. *J. Med. Virol.* 74(1), 147-55.
40. Kerr, J. R., Barah, F., Matthey, D. L., Laing, I., Hopkins, S. J., Hutchinson, I., et al. 2001. Circulating tumour necrosis factor- α and interferon- γ are detectable during acute and convalescent parvovirus B19 infection and are associated with prolonged and chronic fatigue. *J. Gen. Virol.* 82, 3011-3019.
41. Khouqeer, R. A. 2017. Viral Arthritis. [skatīts 04.2017] Pieejams: emedicine.medscape.com/article/335692-overview
42. Kozireva, S., Zestkova, J., Mikazane, H., Kadisa, A., Kakurina, N., Lejnieks, A., et al. 2008. Incidence and clinical significance of parvovirus B19 infection in patients with rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.* 35, 1265-70.
43. Kruithof, E., Baeten, D., De Rycke, L., Vandooren, B., Foell, D., Roth, J., Canete, J. D., Boots, A. M., Veys, E. M., De Keyser, F. 2005. Synovial histopathology of psoriatic arthritis, both oligo- and polyarticular, resembles spondyloarthropathy more than it does rheumatoid arthritis. *Arthritis Research & Therapy*. 7, R569-R580.

44. Kumar, A., Perdomo, M. F., Kantele, A., Hedman, L., Hedman, K., Franssila, R. 2015. Granzyme B mediated function of Parvovirus B19-specific CD4+ T cells. *Clinical & Translational Immunology*. 4(7), e39.
45. Lee, T. H., Kleinman, S. H., Wen, L., Montalvo, L., Todd, D. S., Wright, D. J. et al. 2011. Distribution of parvovirus B19 DNA in blood compartments and persistence of virus in blood donors. *Transfusion*. 51, 1896-1908.
46. Lindner, J., Barabas, S., Saar, K., Altmann, D., Pfister, A., Fleck, M., Deml, L., Modrow, S. 2005. CD4(+) T-cell responses against the VP1-unique region in individuals with recent and persistent parvovirus B19 infection. *J. Vet. Med. B Infect. Dis. Vet. Public Health*. 52, 356-361.
47. Lundqvist, A., Isa, A., Tolfvenstam, T., et al. 2005. High frequency of parvovirus B19 DNA in bone marrow samples from rheumatic patients. *J. Clin. Virol.* 33(1), 71-74.
48. Mehraein, Y., Lennerz, C., Ehlhardt, S. 2003. Detection of parvovirus B19 capsid lytic proteins in lymphocytic cells in synovial tissue of autoimmune chronic arthritis. *Mod. Pathol.* 16, 811-881.
49. Meyer, O. 2003. Parvovirus B19 and autoimmune diseases. *Joint Bone Spine*. 70, 6–11.
50. Mikaeloff, Y., Kezouh, A., Suissa, S. 2008. Nonsteroidal anti-inflammatory drug use and the risk of severe skin and soft tissue complications in patients with varicella or zoster disease. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 65(2), 203-209.
51. Mitchell, L. A. 2002. Parvovirus B19 nonstructural (NS1) protein as a transactivator of interleukin-6 synthesis: common pathway in inflammatory sequelae of human parvovirus infections? *J. Med. Virol.* 67(2), 267-274.
52. Mobini, M., Kashi, Z., Ghobadifar, A. 2012. Prevalence and associated factors of osteoporosis in female patients with rheumatoid arthritis. *Caspian Journal of Internal Medicine*. 3(3), 447-450.
53. Murai, C., Munakata, Y., Takahashi, Y., Ishii, T., Shibata, S., Murryoi, T., Funato, T., Nakamura, M., Sugamura, K., Sasaki, T. 1999. Rheumatoid arthritis after parvovirus B 19 infection. *Ann. Rheum. Dis*. 58, 130-132.
54. Naciute, M., Mieliauskaite, D., Rugiene, R., Maciunaite, G., Mauricas, M., Murovska, M., Girkontaite, I. 2017. Parvovirus B19 infection modulates the levels of cytokines in the plasma of rheumatoid arthritis patients. *Cytokine*. 96, 41-48.
55. Naciute, M., Mieliauskaite, D., Rugiene, R., Nikitenkiene, R., Jancoriene, L., Mauricas, M., Nora-Krukle, Z., Murovska, M., Girkontaite, I. 2016. Frequency and significance of parvovirus B19 infection in patients with rheumatoid arthritis. *J. Gen. Virol.* 97(12), 3302-3312.

56. Nam, J. L., Hunt, L., Hensor, E. M. A., et al. 2016. Enriching case selection for imminent RA: the use of anti-CCP antibodies in individuals with new non-specific musculoskeletal symptoms – a cohort study. *Ann. Rheum. Dis.* 75, 1452-1456.
57. Nora-Krukke, Z., Chapenko, S., Logina, I., Millers, A., Platkajis, A., Murovska, M. 2011. Human herpesvirus 6 and 7 reactivation and disease activity in multiple sclerosis. *Medicina (Kaunas)*. 47(10), 527-531.
58. Norbeck, O., Isa, A., Pöhlmann, C., Broliden, K., Kasprowicz, V., Bowness, P., Klenerman, P., Tolfvenstam, T. 2005. Sustained CD8+ T-cell responses induced after acute parvovirus B19 infection in humans. *J. Virol.* 79, 1211-1212.
59. Ogawa, E., Otaguro, S., Murata, M., Kainuma, M., Sawayama, Y., Furusyo, N., Hayashi, J. 2008. Intravenous immunoglobulin therapy for severe arthritis associated with human parvovirus B19 infection. *J. Infect. Chemother.* 14(5), 377-382.
60. Oguz, F., Akdeniz, C., Ünüvar, E., Küçükbasmacı, O., Sidal, M. 2002. Parvovirus B19 in the acute arthropathies and juvenile rheumatoid arthritis. *J. Paediatr. Child. Health.* 38, 358-362.
61. Oiwa, H., Shimada, T., Hashimoto, M., Kawaguchi, A., Ueda, T., Sugiyama, E., Kamiya, T. 2011. Clinical findings in parvovirus B19 infection in 30 adult patients in Kyoto. *Mod. Rheumatol.* 21(1), 24-31.
62. Page, C., François, C., Goëb, V., Duverlie, G. 2015. Human parvovirus B19 and autoimmune diseases. Review of the literature and pathophysiological hypotheses. *J. Clin. Virol.* 72, 69-74.
63. Pierer, M., Rothe, K., Quandt, D., Schulz, A., Rossol, M., Scholz, R., Baerwald, C., Wagner, U. 2012. Association of anticytomegalovirus seropositivity with more severe joint destruction and more frequent joint surgery in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 64(6), p.1740-1749.
64. Von Pöblotzki, A., Gerdes, C., Reischl, U., Wolf, H., Modrow, S. 1996. Lymphoproliferative responses after infection with human parvovirus B19. *J. Virol.* 70, 7327-7330.
65. Von Pöblotzki, A., Gigler, A., Lang, B., Wolf, H., Modrow, S. 1995. Antibodies to parvovirus B19 NS1 protein in infected individuals. *Gen. Virol.* 76, 19-27.
66. Von Pöblotzki, A., Hemauer, A., Gigler, A., Puchhammer-Stöckl, E., Heinz, F. X., Pont, J., Laczika, K., Wolf, H., Modrow, S. 1995. Antibodies to the 82on-structural protein of parvovirus B19 in persistently infected patients: implication for pathogenesis. *J. Infect. Dis.* 172, 1356-1359.

67. Rollín, R., Alvarez-Lafuente, R., Marco, F., López-Durán, L., Hoyas, J. A., Jover, J. A., Fernández-Gutiérrez, B. 2009. The ubiquitin-proteasome pathway and viral infections in articular cartilage of patients with osteoarthritis. *Rheumatol. Int.*, 29(8), 969-972.
68. van de Sande, M. G. H., de Hair, M. J. H., van der Leij, C., Klarenbeek, P. L., Bos, W. H., Smith, M. D., Maas, M., de Vries, N., van Schaardenburg, D., Dijkmans, B. A. C., Gerlag, D. M., Tak, P. P. 2011. Different stages of rheumatoid arthritis: features of the synovium in the preclinical phase. *Ann. Rheum. Dis.*, 70, 772-777.
69. Sauerland, U., Becker, H., Seidel, M., et al. 2005. Clinical utility of the anti-CCP assay: experiences with 700 patients. *Ann. N Y. Acad. Sci.* 1050, 314-318.
70. Secchiero, P., Zella, D., Crowley, R. W., Gallo, R. C., Lusso, P. 1995. Quantitative PCR for human herpesviruses 6 and 7. *Journal of Clinical Microbiology.* 33(8), 2124-2130.
71. Smolen, J., Landewe, R., Breedveld, F., et al. 2014. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2013 update. *Ann. Rheum. Dis.* 73, 492-509.
72. Stahl, H. D., Hubner, B., Seidl, B., Liebert, U. G., van der Heijden, I. M., Wilbrink, B., Kraan, M. C., Emmrich, F., Tak, P. P. 2000. Detection of multiple viral DNA species in synovial tissue and fluid of patients with early arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* 59(5), 342-346.
73. Takahashi, Y., Murai, C., Shibata, S, et al. 1998. Human parvovirus B19 as a causative agent for rheumatoid arthritis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 95, 8227-8232.
74. Takasawa, N., Munakata, Y., Ishii, K. K., Takahashi, Y., Takahashi, M., Fu, Y., Ishii, T., Fujii, H., Saito, T., Takano, H., Noda, T., Suzuki, M., Nose, M., Zolla-Patzner, S., Sasaki, T. 2004. Human parvovirus B19 transgenic mice become susceptible to polyarthritis. *J. Immunol.* 173(7), 4675-4683.
75. Tolfvenstam, T., Oxenius, A., Price, D. A., Shacklett, B.L., Spiegel, H. M., Hedman, K., Norbeck, O. et al. 2001. Direct ex vivo measurement of CD8+ T-lymphocyte responses to human parvovirus B19. *J. Virol.* 75, 540-543.
76. Tzang, B. S., Chen, D. Y., Tsai, C. C., et al. 2010. Human parvovirus B19 nonstructural protein NS1 enhanced the expression of cleavage of 70 kDa U1-snRNP autoantigen. *Journal of Biomedical Science.* 17, 40.
77. Tzang, B., Chiu, C., Tsai, C., Lee, Y., Lu, I., Shi, J., et al. 2009. Effects of human parvovirus B19 VP1 unique region protein on macrophage responses. *J. Biomed. Sci.* 16, 13.

78. Vassilopoulos, D., Calabrese, L. H. 2007. Risks of immunosuppressive therapies including biologic agents in patients with rheumatic diseases and co-existing chronic viral infections. *Curr. Opin. Rheumatol.* 19(6), 619-625.
79. Venables, P. J. W., Maini, R. N. 2013. Clinical features of rheumatoid arthritis. In: O'Dell JR, Romain PR, eds. *UptoDate*. Wolters Kluwer Health. Accessed at: www.uptodate.com. [skatfits 04.2017.]
80. Wheelless, C. R. 2012. Rheumatoid arthritis. In: Wheelless CR, Nunley JA, Urbaniak JR, eds. *Wheelless' Text of Orthopaedics*. Data Trace Internet Publishing, LLC; Available at: www.wheelessonline.com [skatfits 03.2017.]
81. Zendman, A. J. W., van Venrooij, W. J., Pruijn, G. J. M. 2006. Use and significance of anti-CCP autoantibodies in rheumatoid arthritis. *Rheumatology*. 45, 20–25.