

Serološki profil autoimunih protutijela u bolesnika sa sistemnom sklerozom

Linić, Goran

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:926937>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-05-20**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Medicine Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

**DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINSKO
LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA**

Goran Linić

**SEROLOŠKI PROFIL AUTOIMUNIH
PROTUTIJELA U BOLESNIKA SA
SISTEMNOM SKLEROZOM**

Diplomski rad

Osijek, 2020.

**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

**DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINSKO
LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA**

Goran Linić

**SEROLOŠKI PROFIL AUTOIMUNIH
PROTUTIJELA U BOLESNIKA SA
SISTEMNOM SKLEROZOM**

Diplomski rad

Osijek, 2020.

Rad je ostvaren u Zavodu za reumatologiju, kliničku imunologiju i alergologiju Kliničkog bolničkog centra Osijek.

Mentor rada: prof. dr. sc. Jasminka Milas-Ahić, spec. internist, reumatolog, klinički imunolog i alergolog

Rad ima 27 listova i 11 tablica.

ZAHVALE

Prije svega želio bih se zahvaliti svim profesorima Medicinskog fakulteta u Osijeku koji su sudjelovali u mojem obrazovnom procesu. Njihova predanost i posvećenost uvelike su doprinijele lakšem savladavanju obrazovnog programa.

Zahvalio bih se i prof. dr. sc. Jasminki Milas-Ahić, koja je pristala biti mentoricom mojeg diplomskog rada. Zahvaljujući njenoj angažiranosti, omogućen mi je pristup potrebnim podacima i materijalima za izradu ovog rada, a njena susretljivost i dostupnost bila je neprocjenjiva, posebno u otežanim društvenim prilikama uzrokovanim virusom Covid-19.

Na kraju, zahvaljujem dr. Kardum na pruženoj pomoći i suradnji te na svim podacima koji su bili potrebni za izradu rada. Zahvaljujem svojoj obitelji i prijateljima koji su mi bili velika podrška u procesu obrazovanja kao i u izradi ovog rada.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Značajke sistemne skleroze	1
1.2. Etiologija sistemne skleroze	2
1.3. Patogeneza	3
1.4. Klinička slika	3
1.5. Dijagnoza bolesti	6
1.5.1. Videokapilaroskopija	7
1.5.2. Antinuklearna antitijela kao biomarkeri sistemne skleroze	8
1.5.3. Imunofluorescencija	10
1.6. Terapija	11
2. CILJEVI RADA	12
3. ISPITANICI I METODE	13
3.1. Ustroj studije	13
3.2. Ispitanici	13
3.3. Metode	13
3.3.1. Prikupljanje podataka iz povijesti bolesti	13
3.3.2. Statistička analiza	13
4. REZULTATI	14
5. RASPRAVA	18
6. ZAKLJUČAK	20
7. SAŽETAK	21
8. SUMMARY	22
9. LITERATURA	23
10. ŽIVOTOPIS	27

POPIS KRATICA

ACA - anti-centromerno protutijelo prema engl. *anticentromere antibody*

ACE - angiotenzin konvertirajući enzim prema engl. *angiotensin-converting enzyme*

ACR - American College of Rheumatology

ANA - antinuklearno protutijelo prema engl. *antinuclear antibody*

ANF - antinuklearni faktor prema engl. *anticlear factor*

Anti dsDNA - protutijela protiv dvolančane deoksiribonukleinske kiseline prema engl. *anti double-stranded deoksiribonucleic acid antibodies*)

Anti U1 RNP - anti U1 ribonukleoprotein prema engl. *anti U1 ribonucleoprotein*

Anti U3 RNP - anti U3 ribonukleoprotein; antifibrilarin prema engl. *anti U3 ribonucleoprotein; antifibrillar*

Anti U11/U12 RNP – anti U11/U12 ribonukleoprotein prema engl. *anti U11/U12 ribonucleoprotein*

CREST - kalcinoza, Raynaudov fenomen, dismotilitet jednjaka, sklerodaktilija i teleangiektazije prema engl. *calcinosis, Raynaud's phenomenon, esophageal dysmotility, sclerodactyly and teleangiectasia*

dcSSc - difuzni kutani tip sistemne skleroze prema engl. *diffuse cutaneous systemic sclerosis*

DNA - deoksiribonukleinska kiselina prema engl. *deoxyribonucleic acid*

EBV - Epstein-Barr virus prema engl. *Epstein-Barr virus*

EIA - enzimski imunoesej prema engl. *enzyme immunoassay*

EULAR - European League against Rheumatism

GAVE - vaskularna ektazija antruma želuca prema engl. *gastric antral vascular ectasia*

GIT - gastrointestinalni trakt prema engl. *gastrointestinal tract*

Hep-2 - humani epitelni tip 2 prema engl. *human epithelial type 2*

IFF - imunofluorescencija prema engl. *immunofluorescence*

ILD - intersticijska plućna bolest prema engl. *interstitial lung disease*

lcSSc - limitirani kožni tip sistemne skleroze prema engl. *limited cutaneous systemic sclerosis*

miRNA - mikro ribonukleinska kiselina prema engl. *micro ribonucleic acid*

MCTD - mješana bolest vezivnog tkiva prema engl. *mixed connective tissue disease*

mRSS - modificirani Rodnanov kožni test prema engl. *modified Rodnan skin score*

PAH - pulmonalna arterijska hipertenzija prema engl. *pulmonary arterial hypertension*

RNA – ribonukleinska kiselina prema engl. *ribonucleic acid*

RNP - ribonukleoprotein prema engl. *ribonucleoprotein*

RNAP III - RNA polimeraza 3 prema engl. *RNA polymerase 3*

SRC - sklerodermalna renalna kriza prema engl. *scleroderma renal crisis*

SSc - sistemna skleroza prema engl. *systemic sclerosis*

ssSSc - sistemna skleroza bez skleroderme prema engl. *systemic sclerosis sine scleroderma*

1. UVOD

1.1. Značajke sistemne skleroze

Sistemna skleroza (SSc prema engl. *systemic sclerosis*) je autoimuna bolest vezivnog tkiva obilježena obliterativnim i proliferativnim mikrovaskularnim zbivanjima, aktivacijom imunskog sustava i ekcesivnom fibrozom tkiva i organa (1). Smatra se heterogenim poremećajem s mnogo varijacija u kliničkoj manifestaciji (2). Na globalnoj razini incidencija SSc-a iznosi 19/1000000, a prevalencija 19-75/100000 (3). U Hrvatskoj je u svrhu određivanja prevalencije oboljelih od SSc-a napravljeno istraživanje na području Splita. Rezultati su pokazali da je prevalencija nešto viša od europskog standarda i iznosi 15,6 slučajeva na 100000 ljudi, a incidencija 3,2/100000. Primijećeno je i veće obolijevanje žena u odnosu na muškarce (5,2:1). Zabilježena je i veća prevalencija SSc-a u Republici Hrvatskoj u odnosu na druge europske zemlje kao i veća prevalencija SSc-a u južnoj Europi u odnosu na sjevernu Europu (4).

SSc karakteriziraju 3 glavna patološka procesa: teška progresivna kožna i visceralna fibroza, fibroproliferativna vaskulopatija i abnormalnosti stanične i humoralne imunosti. Bolešću mogu biti zahvaćeni različiti organski sustavi. Pojedini sustavi (tablica 1) su češće zahvaćeni bolešću (5).

Tablica 1. Učestalost zahvaćanja različitih organskih sustava

Koža	90 – 95 %
Jednjak	45 – 75 %
Crijevo	10 – 57 %
Pluća	40 – 60 %
Srce	50 – 90 %
Perikard	11 %
Bubrezi	21 %
Zglobovi	25 – 50 %
Tetive i njihove ovojnice	25 %
Skeletna muskulatura	20 %

Kožne promjene predstavljaju dominantni simptom bolesti te se manifestiraju kao zadebljanje kože (skleroderma). Upravo zadebljanje kože uz prisustvo Raynaudovog fenomena je najraniji pokazatelj sistemne skleroze (2). Sistemnu sklerozu po stupnju proširenosti zahvaćanja kože dijelimo na limitirani kutani sistemne skleroze (lcSSc prema engl. *limited cutaneous systemic sclerosis*) i difuzni kutani sistemne skleroze (dcSSc prema engl. *diffuse cutaneous systemic sclerosis*). Ukoliko je zadebljanje kože prisutno distalno od laktova i koljena, govorimo o lcSSc, a kod dcSSc može biti zahvaćana gotovo cijela koža. Kod dcSSc imamo češće teže zahvaćanje unutarnjih organa, iako su i u lcSSc ona moguća (7). Kod rijetkih slučajeva (3 – 5 % slučajeva) sistemne skleroze (ssSSc prema engl. *systemic sclerosis sine scleroderma*) izostaju kožne promjene pa je postavljanje dijagnoze u tom slučaju otežano (2).

1.2. Etiologija sistemne skleroze

Etiologija SSc-a nije dovoljno istražena, no smatra se da bitnu ulogu u nastanku bolesti imaju genetička predispozicija, vaskularne promjene, autoimuni utjecaji, mikrokimerizam, poremećaji u regulaciji sinteze kolagena i čimbenici okoliša (6). Primijećena je i interakcija između genetskih čimbenika i čimbenika okoliša, što se odražava na metilaciju DNK (prema engl. *deoxyribonucleic acid*), modifikaciju histona, kao i na promjene u ekspresiji različitih miRNA (prema engl. *micro RNA*). U prilog te interakcije navode se povišene razine miRNA u bolesnika koji boluju od SSc-a u odnosu na zdravu populaciju (1). Ženski spolni hormoni također igraju važnu ulogu u patogenezi bolesti. Istraživanja ukazuju na postojanje pozitivne korelacije između aktivnosti bolesti i koncentracije titra protutijela na estrogenske receptore. Zapažena je i uloga oksidativnog stresa u nastanku fibroze i vaskularnih ozljeda karakterističnih za SSc, s obzirom na to da oksidansi potiču produkciju profibrotičkih i protupalnih citokina, proliferaciju i aktivaciju fibroblasta, povećavaju produkciju kolagena tipa 1 i uzrokuju vaskularnu disfunkciju (7).

Razne studije ukazuju na postojanje povezanosti između izloženosti teškim metalima i drugim kemijskim agensima s većom vjerojatnošću pojave bolesti.

Od teških metala, zabilježene su veće koncentracije aluminija i olova u krvi bolesnika, potom žive i silicijevog dioksida (9, 10, 11). Infekcija Epstein Barr virusom, citomegalovirusom, parvovirusom navodi se kao mogući okidač bolesti (12). Postavljena je i sumnja na ulogu citomegalovirusa kao infektivnog okidača za pojavu SSc-a, iako autori naglašavaju da je njegova potencijalna uloga u pojavi bolesti i dalje nejasna (13).

1.3. Patogeneza

Patogeneza bolesti do danas nije u potpunosti razjašnjena. Dosadašnje spoznaje upućuju na to da etiološki čimbenici uzrokuju ozljede mikrocirkulacije i određene strukturalne i funkcionalne promjene na staničnoj razini što dovodi do fibroproliferativne vaskulopatije. Aktivacija endotela uzrokuje kemotaksiju upalnih stanica na mjestu ozljede uz pojavu proinflamatornog odgovora, uz aktivaciju makrofaga, B i T limfocita (osobito Th2 limfocita) te stvaranje autoantitijela, oslobađanje kemokina i profibrotičkih citokina (IL-6, IL-4, TGFβ) koji u konačnici dovode do fibroze i razvoja karakteristične kliničke slike (5).

1.4. Klinička slika

Bolest se može početno manifestirati nespecifičnim simptomima poput opće slabosti, glavobolje, akrocijanoze, marmorizirane kože, parestezije, sklonosti depresiji te subfebriliteta (6).

Slijede nešto specifičniji kožni simptomi, a daljnjom progresijom bolesti može doći i do zahvaćanja unutarnjih organa.

Ovisno o stanju skleroze, SSc se dijeli u dva glavna oblika, a to su ograničena sistemna skleroza (lcSSc) i difuzna sistemna skleroza (dcSSc) čija su glavna obilježja prikazana u tablici (6).

Tablica 2. Osobine i razlike između dcSSc-a i lcSSc-a (8)

	dcSSc	lcSSc
KOŽA	Kasnija pojava sekundarnog Raynaudovog fenomena Ranija zadebljanja kože na proksimalnim djelovima ekstremiteta i prsa. Kasnija pojava teleangiektazija i kalcinoza Krepitacije tetiva su prisutne	Pojava sekundarnog Raynaudovog fenomena u 60 - 90 % slučajeva Kasnija pojava edema i zadebljanja kože na distalnim djelovima ekstremiteta, licu, vratu i prsima. Ušiljeni vrhovi prstiju i lice poput maske Česte teleangiektazije i kalcinoze Nema krepitacija pri gibanju tetiva
GASTROINTESTINALNI TRAKT	Prisutan dismotilitet jednjaka uz crijevne simptome	Dismotilitet jednjaka čest sa rijetkim crijevnim simptomima
DIŠNI SUSTAV	Česta pulmonarna fibroza Rijetka pulmonarna arterijska hipertenzija	Rijetka pulmonarna fibroza Česta pulmonarna arterijska hipertenzija
BUBREZI	Česte renalne krize	Rijetke renalne krize
ANTITIJELE	Anti-topo 1 predominantna Anti-RNA polimeraza i anti-U3 RNP često prisutni	Pretežito ACA

ACA- anticentromerna protutijela; dcSSc- difuzni kutani tip sistemne skleroze; lcSSc- limitirani kutani tip sistemne skleroze; RNA- ribonukleinska kiselina; RNP- ribonukleoprotein

Najraniji pokazatelj SSc-a je sekundarni Raynaudov fenomen. Iako Raynaudov fenomen nije visoko specifičan pokazatelj SSc-a, ima vrlo visoku vjerojatnost pojavljivanja u ranoj fazi bolesti. Istraživanja su potvrdila da je prisutan u 90 % oboljelih od SSc-a već u ranoj fazi bolesti, ali i u 85 % oboljelih od miješane bolesti vezivnog tkiva (MCTD prema engl. *mixed connective tissue disease*) što sa sobom nosi potencijalni problem pri postavljanju dijagnoze. Karakteriziraju ga blijedilo i cijanoza prstiju kao posljedica vazokonstrikcije uz moguću pojavu eritema nakon zagrijavanja okrajina. Najčešće zahvaća tri srednja prsta šake (3). Razvojem težih vaskulopatija dolazi do posljedične ishemije što dovodi do pojave ulceracija prstiju šaka kao i moguće atrofije te autoamputacije okrajina. Mogući su i poremećaji pigmentacije kože, gubitak folikula dlaka i lojnih žlijezda (2). Ipak najveću opasnost predstavljaju komplikacije bolesti vezane uz patologiju unutarnjih organa. Kao komplikacije s

najvećom stopom smrtnosti navode se pulmonalna arterijska hipertenzija (PAH prema engl. *pulmonary arterial hypertension*) teška fibroza pluća, patološke promjene na miokardu i sklerodermalna renalna kriza (SRC prema engl. *sclerodermal renal crisis*) (3). Moguća je i bubrežna patologija u vidu bubrežne krize koja se javlja u 10 - 20 % slučajeva kod dcSSc, a svega u 1 % slučajeva kod lcSSc. U 50 % bolesnika primijećeni su i neki znakovi oštećenja bubrega poput proteinurije i povišene razine kreatinina što uvelike olakšava rano postavljanje dijagnoze bubrežnog oštećenja. Srčana patologija predstavlja veliki problem jer uglavnom prolazi nezapažena, a uzrokuje smrtnost u 30 % bolesnika. Veoma su česte i gastrointestinalne smetnje. Utvrđeno je i postojanje povezanosti fibroze, vaskularne patologije, mišićne disfunkcije i neurogenih oštećenja sa promjenama u gastrointestinalnom sustavu kod 50 - 90 % bolesnika oboljelih od SSc-a (1). Simptomi najčešće zahvaćaju jednjak, anorektalnu regiju i tanko crijevo. Unatoč relativno čestoj zahvaćenosti GIT-a tešku kliničku sliku razvije svega 8 % pacijenata, no zbog oštećenja mehanizma apsorpcije hranjivih tvari 28 % pacijenata sa simptomima patologije GIT-a je i u opasnosti od malnutricije (3). Početni simptomi gastrointestinalne patologije su promjene na jednjaku i anogenitalnoj regiji. Česta je i pojava Barretovog jednjaka, vaskularna ektazija antruma želuca (GAVE prema engl. *gastric antral vascular ectasia*) i pseudodivertikuloze (1). Pokazalo se da stanje GIT-a veoma često usporedno prati ritam patoloških promjena ostalih organa što omogućuje bolju i lakšu procjenu progresije bolesti (14).

Različite kombinacije simptoma ranije su klasificirane kao poseban sindrom, kao što je CREST (prema engl. *calcinosis, Raynaud's phenomenon, esophageal dysmotility, sclerodactyly and teleangiectasia*) (6).

U rijetkim slučajevima moguća je i pojava ssSSc. Studija provedena 2014. godine na 1417 pacijenata pokazala je da svega 4 % ispitanika boluje od ssSSc, a većina je razvila neki vid kožnih promjena kroz razdoblje od 1,9 godina. Promjene su uključivale kalcinoze (15,4 %), telangiektaze (69,2 %) i digitalne ulceracije (11,1 %). Kapilaroskopijom su primijećene anomalije kapilara kod čak 74,1 % pacijenata (2).

1.5. Dijagnoza bolesti

Rano postavljanje dijagnoze sistemne skleroze je unazad svega nekoliko godina bilo veoma teško i zahtjevno. Većina procedure se i dalje oslanja na kliničku sliku. No napredak u tehnologiji je omogućio da se dijagnostici pristupi i sa puno većom točnošću i brzinom (2). 2013. godine su postavljeni kriteriji SSc-a prema ACR/EULAR (American College of Rheumatology/European League against Rheumatism) koji i danas služe za postavljanje dijagnoze. Dijagnoza se postavlja na temelju poznatih parametara kliničke slike poput prisutnosti zadebljanja kože, prisutnosti ožiljaka ili ulceracije prstiju, teleangiektazija, zadebljanih prstiju, Raynaudovog fenomena, intersticijske bolesti pluća (IBP)/Pulmonalne fibroze, pulmonalne arterijske hipertenzije uz dodatak videokapilaroskopije i određivanja prisustva SSc protutijela. Zbroj bodova veći od devet potvrđuje SSc (15).

Tablica 3. Kriterij za dijagnostiku SSc prema American College of Rheumatology/European League against Rheumatism

Simptom	Podsimptom	Zbroj bodova
Zadebljanje kože prstiju obiju šaka proksimalno do metakarpofalangealnih zglobova		9
Zadebljanje kože prstiju	Otečeni prsti (vretenasti)	2
	Sklerodaktilija, tvrdo zadebljanje kože prstiju (distalno od metakarpofalangealnih zglobova, a proksimalno od proksimalnih interfalangealnih zglobova)	4
Lezije vrška prsta	Digitalne ulceracije	2
	Ožiljkaste promjene jagodica prstiju	3
Teleangiektazije		2
Patološki nalaz kapilaroskopije		2
Oštećenje pluća	Plućna arterijska hipertenzija i intersticijska plućna bolest	2
Raynaudov fenomen		3
Autoprotutijela karakteristična za sistemnu sklerozu	Antitopoizomeraza I Anticentromera 3 Anti-RNA polimeraza III	3

Za procjenu stupnja i proširenosti zahvaćanja kože koristi se modificirani Rodnanov kožni test (mRSS prema engl. *modified Rodnan skin score*). Ovisno o stupnju zahvaćenosti, pojedinim regijama dodjeljuju se 0, 1, 2 ili 3 boda, gdje 0 obilježava odsustvo zadebljanja, a 3 teška zadebljanja. Maksimalni zbroj bodova iznosi 51 (1, 16).

Unatoč korisnosti, Rodnanov test ima neka ograničenja, stoga se sve češće koriste ultrazvuk i magnetska rezonanca. Bitno je također napomenuti da je Rodnanov kožni test pouzdaniji u ranoj fazi bolesti dok ne dođe do gubitka klasične kliničke slike zbog izravnjavanja i ožiljavanja kože (1).

Mnogo veći izazov u postavljanju dijagnoze predstavlja ssSSc zbog odsustva kožnih simptoma. Dijagnoza ssSSc-a se postavlja i kada pacijent s visceralnim promjenama nakon dužeg vremena razvije promjene na koži koje inicijalno nisu bile prisutne. Veliku pomoć pri postavljanju sigurnije dijagnoze je analiza redoslijeda pojave manifestacija što omogućava lakšu diferencijaciju ssSSc-a od difuznog tipa sistemne skleroze s ranom pojavom kožnih simptoma (2).

1.5.1. Videokapilaroskopija

Videokapilaroskopija kožnog nabora nokta je metoda za detekciju promjene morfologije kapilara. Poremećena morfologija gotovo uvijek ukazuje na vaskulopatije. Normalni promjer kapilara iznosi oko 20 μm , a ukoliko se promjer poveća iznad 50 μm povlači se sumnja na patološki proces. Promjene u usmjerenju i broju kapilara također ukazuju na potencijalnu patologiju. Pokazalo se da najnoviji kriteriji koji se odnose na povećanje ili gubitak kapilara sa ili bez prisustva hemoragije imaju puno veću osjetljivost (91 %) i specifičnost (92 %). Moguće je korištenje magnifikacije od 30x, ali za detaljniji pregled preporučuje se magnifikacija i do 200x (17). Velika važnost kapilaroskopije leži u mogućnosti detekcije i razlikovanja primarnog od sekundarnog Raynaudovog fenomena, a moguća je i rana detekcija sistemne skleroze uz korištenje specifičnih ANA dok klasični simptomi još nisu prisutni (3).

Prilikom pregleda koristi se 6 parametara za bodovanje koji obuhvaćaju regularno povećane kapilare sa promjerom većim od 20 μm , velike kapilare sa promjerom većim od 50 μm , prisustvo mikrohemoragija, gubitak kapilara (manje od 9/mm), iregularna distribucija i orijentacija kapilara, grananje i zavijanje kapilara. Procjenu stanja dobivamo ocjenjivanjem parametara ocjenom 0 (nema kapilarnih promjena), 1 (manje od 33 % kapilarnih promjena), 2

(33 – 66 % kapilarnih promjena) ili 3 (više od 66 % kapilarnih promjena) te usporedbom dobivenih rezultata s 3 moguće kategorije ili tzv. faze prikazane u tablici (17).

Tablica 4. Tri kategorije vaskulopatija

RANA FAZA	AKTIVNA FAZA	KASNA FAZA
Velike kapilare <33 %	Velike kapilare > 33 %	Velike kapilare < 33 %
	Mikrohemoragije > 33 %	Mikrohemoragije < 33 %
Nema gubitka kapilara	Gubitak kapilara < 66 %	Gubitak kapilara > 66 %
Nema poremećaja u rasporedu kapilara	Poremećaj u rasporedu kapilara < 66 %	Poremećaj u rasporedu kapilara > 66 %
Nema grananja kapilara	Granjanje kapilara < 33 %	Granjanje kapilara > 66 %

Napredak u znanosti je omogućio i korištenje kontrastnog lasera kao supstituciju videokapilaroskopiji (1).

1.5.2. Antinuklearna antitijela kao biomarkeri sistemne skleroze

U sistemnoj sklerozi nalazimo specifična antinuklearna protutijela (ANA prema engl. *antinuclear antibody*) koja se vežu za proteine koji sudjeluju u transkripciji, *spliceingu* i diobi stanica. Pojedini podtipovi ANA se pojavljuju kod specifičnih faza sistemne skleroze te kod zahvaćenosti pojedinih regija. Određuju se indirektnom imunofluorescencijom (IFF prema engl. *immunofluorescence*) i prisutni su kod 95 % pacijenata. Dije se na ANA specifična protutijela i ANA povezana protutijela. ANA specifična protutijela nalazimo isključivo u pacijenata koji boluju od sistemne skleroze, dok ANA povezana protutijela možemo naći i kod drugih patologija vezivnog tkiva. ACR/EULAR navode anticentromerna protutijela (ACA prema engl. *anticentromere antibody*), anti-SCL 70 (prema engl. *antitopoisomerase I antibody*) i anti-RNAP3 (prema engl. *anti RNA polymerase 3 antibody*) protutijela kao standard za postavljanje dijagnoze SSc (18).

ANA specifična protutijela

Zasad je poznato 10 ANA specifičnih protutijela koja nalazimo u 80 % SSc pacijenata. Ona predstavljaju visoko osjetljiv i specifičan alat u ranoj dijagnostici jer su često prisutna i prije pojave Raynaudovog fenomena. Omogućavaju i lakšu klasifikaciju između dcSSc i lcSSc u fazi dok su prisutna zadebljanja kože samo na distalnim dijelovima ekstremiteta (18). Najčešće se pojavljuju 2 ili više tipova specifičnih protutijela odjednom uz izuzetak anti-SCL 70 i ACA koji se međusobno isključuju (5). Tijekom bolesti najčešće ne dolazi do promjene u

tipu prisutnih protutijela. Njihova glavna obilježja poput obojenja (IFF), podtipa, incidencije oboljenja i kliničke slike prikazana su u tablici (18).

Tablica 5. Osnovna obilježja SSc specifičnih protutijela

Protutijelo	Obojenje (IFF)	Podtip SSc/ vjerojatnost pojavljivanja	Učestalost u oboljelih	Kliničke manifestacije
SPECIFIČNA ANTINUKLEARNA PROTUTIJELA				
ACA	Točkasto	lcSSc	20 – 30 %	PAH (u 10 - 20 % pozitivnih) Digitalne ulceracije u kasnoj fazi bolesti
Anti-SCL 70 (anti-topo I)	Točkasto (sa ili bez nukleolarnog obojenja)	dcSSc (u 66 % pozitivnih)	20 – 30 %	ILD (u 70 % pozitivnih) Digitalne ulceracije u ranoj fazi bolesti
Anti-RNA polimeraza III (RNAP III)	Točkasto (sa ili bez nukleolarnog obojenja)	dcSSc	20 – 25 %	Brzo zadebljanje kože SRC (u 60 % pozitivnih) GAVE
Anti-U3 RNP	Nukleolarno	2/3 pozitivnih dcSSc 1/3 pozitivnih lcSSc	4 – 10 %	ILD, PAH SRC Patologija donjeg djela GIT Miozitis
Anti-Th/To	Nukleolarno	lcSSc	2 – 5 %	ILD PAH
Anti-U11/U12 RNP	Točkasto	lcSSc/dcSSc	1 – 3 %	ILD (u 80 % pozitivnih; najviša stopa smrtnosti)
Anti-PM SCL	Nukleolarno	lcSSc	2 %	Polimiozitis i dermatomiozitis (pozitivitet u 25 % slučajeva)
Anti-Ku	Točkasto	lcSSc	2 %	Artritis , Miozitis
Anti-RuvBL1/2	Točkasto	dcSSc	1 – 2 %	Miozitis
Anti-U1 RNP	Točkasto	lcSSc (u 80 % pozitivnih) dcSSc (u 20 % pozitivnih)	-----	Artritis Miozitis PAH

ACA- anticentromerna protutijela; Anti-PM SCL - antioksidantsko protutijelo; Anti Ku - protutijela na DNA helikazu; Anti-SCL 70 - protutijela na topoizomerazu I; Anti Th/To - protutijela na RNA-za P nukleolarni proteinski kompleks; dcSSc- difuzni kožni tip sistemne skleroze; GAVE- vaskularna ektažija antruma želuca; GIT- gastrointestinalni sustav; IFF- imunofluorescencija; ILD- intersticijska plućna bolest; lcSSc- limitirani kutani tip sistemne skleroze; PAH- plućna arterijska hipertenzija; RNP- ribonukleoprotein; SRC- sklerodermalna renalna kriza;

ANA povezana protutijela

U ovu skupinu spadaju anti-NOR90 i anti-B23. Anti-NOR90 prisutan je kod karcinoma, bolesti vezivnog tkiva, Sjögrenovog sindroma i reumatoidnog artritisa, dok je anti-B23 prisutan u manje od 11 % oboljelih od sistemne skleroze i povezuje se s plućnom arterijskom hipertenzijom (PAH) često uz prisustvo anti-U1 RNP (prema engl. *anti U1 ribonucleoprotein*) i anti-U3 RNP (prema engl. *anti U3 ribonucleoprotein*) protutijela (18).

Izostanak protutijela

Kohortna studija provedena u Sjevernoj Americi na uzorku od 3249 pacijenata ukazuje na mogućnost negativnog rezultata testa imunofluorescencije (ANA) kod oboljelih od SSc gdje je udio negativnih testova iznosio 6,4 %. Primijećen je veći udio muške populacije sa manje vaskulopatija i većom pojavnošću smetnji donjeg gastrointestinalnog trakta. Nije primijećena razlika u učestalosti pojave pulmonalne fibroze i sklerodermalne renalne krize (18).

1.5.3. Imunofluorescencija

Detekcija ANA se vrši metodom imunofluorescencije na Hep-2 (prema engl. *human epithelial type 2*) staničnim linijama dobivenim iz karcinoma larinksa. To je visoko osjetljiva metoda koja daje informaciju o titru protutijela i načinu (uzorku) bojenja. Velike stanične strukture omogućavaju bolju vidljivost obojenih antigena. Pozitivnim rezultatom smatramo diluciju kod koje je još uvijek prisutna fluorescencija (19). Razlikujemo 4 tipa fluorescencije. U homogenom tipu je cijela stanica podjednako obojena i najčešće se javlja u sistemskom lupusu zbog visokog titra anti-histonskih protutijela. Periferni tip obojenja je specifičan za prisustvo anti-dsDNA (prema engl. *anti double-stranded deoksiribonucleic acid antibodies*) i drugih jednolančanih DNA. Točkasti tip se javlja kod prisustva raznih nuklearnih antigena poput U1RNP ili SCL 70 koji su prisutni u raznim bolestima vezivnog tkiva. Nuklearni tip je karakteriziran isključivim obojenjem nukleola i visoko je specifičan za sistemnu sklerozu (20).

Detekcija specifičnih ANA se vrši i EIA (prema engl. *enzyme immunoassay*) metodom zbog jednostavnosti, reproducibilnosti, brzine i mogućnosti istovremene obrade većeg broja uzoraka. U metodi se koriste rekombinantni autoantigeni za detekciju protutijela (18).

1.6. Terapija

Trenutno ne postoji lijek protiv sistemne skleroze. Terapija je uglavnom simptomatska i svodi se na primjenu (21) imunosupresivne terapije, vazoaktivne terapije, antifibrotičke terapije, transplantacije autolognih matičnih stanica i organ specifične terapije (13).

Ipak kod pojedinih stanja primijećen je bolji odgovor na specifične kombinacije lijekova.

Kod Raynaudovog fenomena najučinkovitija je primjena blokatora kalcijevih kanala, vazodilatatora, prostaglandina, analoga prostaciklina i aspirina. Kod bubrežne patologije koriste se ACE (prema engl. *angiotensin-converting enzyme*) ili angiotenzin II inhibitori (21). Primijećen je padajući trend pojavljivanja bubrežnih kriza nakon uvođenja ACE inhibitora u terapiju (1). Kod gastrointestinalnih simptoma koriste se inhibitori protonske pumpe ili H2 blokatori dok plućna patologija zahtijeva upotrebu blokatora kalcijevih kanala, prostaglandina, ciklofosfamida i glukokortikoida. Moguće je i korištenje imunomodulatora (21).

Provedene su i brojne studije s ciljem postavljanja efikasnijeg terapijskog pristupa.

2013. godine proučavan je utjecaj biološke terapije na ciljne molekule poput citokina ili kostimulacijskih molekula koje sudjeluju u mehanizmu imunološkog sustava. Rezultati su pokazali da pojedini tipovi terapija izgledaju obećavajuće, no zahtijevaju daljnju evaluaciju (22). Rezultati studije provedene 2018. godine („Ongoing clinical trials and treatment options for patients with systemic sclerosis-associated interstitial lung disease“) navode neke novije opcije u terapiji IBP-a koje znatno poboljšavaju funkciju pluća, a time i vjerojatnost dobrog ishoda bolesti (23). U budućnosti se očekuju inovativni načini liječenja iz polja epigenetičkih studija (miRNA) (3).

2. CILJEVI RADA

Cilj ovog istraživanja je:

1. Utvrđivanje povezanosti serološkog profila autoimunih protutijela s kliničkim obilježjima i ishodima bolesti u bolesnika sa sistemnom sklerozom.

3. ISPITANICI I METODE

3.1. Ustroj studije

Studija je ustrojena kao presječno istraživanje s korištenjem već postojećih podataka zbog mogućnosti praćenja prisutnosti bolesti i njenog ishoda (24).

3.2. Ispitanici

U studiju su uključeni svi pacijenti Zavoda za reumatologiju, kliničku imunologiju i alergologiju KBC-a Osijek s prethodno postavljenom dijagnozom sistemske skleroze u razdoblju od 31.12.2009. do 31.12.2019.

3.3. Metode

3.3.1. Prikupljanje podataka iz povijesti bolesti

Svi podaci su prikupljeni iz povijesti bolesti. Zabilježeni su dob, spol, trajanje bolesti, klinička obilježja, zahvaćenost raznih organa, prisutnost različitih autoimunih protutijela, primijenjena terapija, prognoza te ishod bolesti.

3.3.2. Statistička analiza

Kategorijski podaci predstavljeni su apsolutnim i relativnim frekvencijama. Razlike kategorijskih podataka testirane su Fisherovim egzaktnim testom. Normalnost raspodjele numeričkih varijabli testirana je Shapiro-Wilkovim testom. Zbog raspodjele numeričkih podataka (dob ispitanika) koji ne slijede normalnu razdiobu numerički podaci opisani su medijanom i granicama interkvartilnog raspona (25).

Sve P vrijednosti su dvostrane. Razina značajnosti je postavljena na $\alpha = 0,05$. Za statističku analizu korišten je statistički program MedCalc Statistical Software version 19.1.7 (MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgium; <https://www.medcalc.org>; 2020) i IBM SPSS Statistics 23 (IBM Corp. Released 2015. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 23.0. Armonk, NY: IBM Corp.).

4. REZULTATI

Istraživanje je provedeno na 31 ispitaniku, od kojih su 3 (10 %) muškarca i 28 (90 %) žena. Medijan dobi ispitanika je 60 godina (uz granice interkvartilnog raspona od 50 do 66 godina) u rasponu od 26 do najviše 71 godinu.

Prema obliku bolesti najviše bolesnika, njih 26 (84 %), ima limitirani oblik. Negativan nalaz na protutijela imaju 2 (7 %) bolesnika, dok najviše bolesnika, 14 (45 %) ima prisutna anti-SCL antitijela. S obzirom na nalaz ANF (prema engl. *antinuclear factor*), kod 11 (36 %) bolesnika uočava se homogeni tip uz titar 1 : 320 (tablica 6).

Tablica 6. Raspodjela uzorka s obzirom na spol, oblik bolesti, tip protutijela, oblik fluorescencije i zahvaćenost pluća

	Broj (%)
Spol	
Muškarci	3 (10)
Žene	28 (90)
Oblik bolesti	
Limitirana	26 (84)
Difuzna	5 (16)
Protutijela	
Negativno	2 (7)
Anti Scl	14 (45)
Centromerna	13 (42)
Anti PMScl	1 (3)
U1 RNP	1 (3)
ANF tip fluorescencije uz titar	
Negativno	1 (3)
Točkasta 1 : 320	3 (10)
Točkasta 1 : 1000	5 (16)
Homogena 1 : 320	11 (36)
Homogena 1 : 1000	1 (3)
Na centromere 1 : 320	4 (13)
Na centromere 1 : 1000	5 (16)
Citoplazmatska	1 (3)
Zahvaćenost pluća	
Ne	20 (65)
Da	11 (36)
Ukupno	31 (100)

Nema značajne razlike u raspodjeli bolesnika s obzirom na oblik bolesti i vrste protutijela (tablica 7).

Tablica 7. Povezanost oblika bolesti s vrstom protutijela

	Broj / ukupno prema obliku bolesti			P*
	Limitiran	Difuzan	Ukupno	
Protutijela				
Negativno	2 / 26	0	2 / 31	0,12
Anti Scl	9 / 26	5 / 5	14 / 31	
Centromerna	13 / 26	0	13 / 31	
Anti PMScl	1 / 26	0	1 / 31	
U1 RNP	1 / 26	0	1 / 31	
Ukupno	26 / 26	5 / 5	31 / 31	

Fisherov egzaktni test

Kod bolesnika koji imaju zahvaćena pluća, značajno se češće nalaze protutijela Anti Scl, dok se centromerna antitijela, anti-PMScl i U1 RNP značajnije nalaze kod bolesnika kojima pluća nisu zahvaćena (Fisherov egzaktni test, $P < 0,001$) (tablica 8).

Tablica 8. Povezanost vrste protutijela sa zahvaćenošću pluća

	Broj / ukupno prema zahvaćenošću pluća			P*
	Ne	Da	Ukupno	
Protutijela				
Negativno	0	2 / 11	2 / 31	< 0,001
Anti Scl	5 / 20	9 / 11	14 / 31	
Centromerna	13 / 20	0	13 / 31	
Anti PMScl	1 / 20	0	1 / 31	
U1 RNP	1 / 20	0	1 / 31	
Ukupno	20 / 20	11 / 11	31 / 31	

*Fisherov egzaktni test

Pluća su značajnije češće zahvaćena kod difuznog oblika bolesti, a nezahvaćena kod limitiranog oblika bolesti (Fisherov egzaktni test, $P = 0,04$) (tablica 9).

Tablica 9. Povezanost oblika bolesti sa zahvaćenošću pluća

	Broj / ukupno prema zahvaćenošću pluća			P*
	Ne	Da	Ukupno	
Oblik bolesti				
Limitiran	19 / 20	7 / 11	26 / 31	0,04
Difuzan	1 / 20	4 / 11	5 / 31	
Ukupno	20 / 20	11 / 11	31 / 31	

*Fisherov egzaktni test

Nema značajne razlike u raspodjeli bolesnika s obzirom na oblik bolesti i ANF tip fluorescencije (tablica 10).

Tablica 10. Povezanost oblika bolesti s ANF tipom fluorescencije

	Broj / ukupno prema obliku bolesti			P*
	Limitiran	Difuzan	Ukupno	
ANF tip fluorescencije				
Negativan	1 / 26	0	1 / 31	0,35
Točkasti	7 / 26	1 / 5	8 / 31	
Homogen	8 / 26	4 / 5	12 / 31	
Na centromere	9 / 26	0	9 / 31	
Citoplazmatski	1 / 26	0	1 / 31	
Ukupno	26 / 26	5 / 5	31 / 31	

*Fisherov egzaktni test

Kod zahvaćenošću pluća značajno je češći homogen ANF tip fluorescencije, dok se točkasti, na centromere i citoplazmatski značajnije više nalaze kod bolesnika kojima pluća nisu zahvaćena (Fisherov egzaktni test, $P = 0,003$) (tablica 11).

Tablica 11. Povezanost ANF tipa fluorescencije sa zahvaćenosti pluća

	Broj / ukupno prema zahvaćenosti pluća			P*
	Ne	Da	Ukupno	
ANF tip fluorescencije				
Negativan	0	1 / 11	1 / 31	0,003
Točkasti	6 / 20	2 / 11	8 / 31	
Homogen	4 / 20	8 / 11	12 / 31	
Na centromere	9 / 20	0	9 / 31	
Citoplazmatski	1 / 20	0	1 / 31	
Ukupno	20 / 20	11 / 11	31 / 31	

*Fisherov egzaktni test

5. RASPRAVA

U rezultatima ovog istraživanja vidljivo je devet puta veće obolijevanje žena u odnosu na muškarce. Dobiveni rezultat je nešto veći od rezultata istraživanja provedenog u Poljskoj gdje je omjer muškaraca i žena oboljelih od sistemne skleroze varirao između 6,2:1 i 4,6:1 (27). Dominantnu pojavu sistemne skleroze u žena potvrđuju i rezultati istraživanja na području Pittsburgha i okružja Allegheny u Americi gdje je u uzorku od 444 pacijenata oboljelih od sistemne skleroze omjer žena naspram muškaraca iznosio 3:1 (26).

Rezultati istraživanja također ukazuju na puno veću pojavnost limitiranog tipa sistemne skleroze (82 %). Presječna studija koja je provedena u Švedskoj rezultirala je sličnim rezultatom od čak 84 % (28).

Prisutan je i mali udio pacijenata s negativnim nalazom protutijela (7 %). Zanimljivo je da je sličan postotak (6,4 %) dobiven u rezultatima kohortne studije provedene u Sjevernoj Americi na 3249 pacijenata (29).

Obradom podataka nije uočena nikakva povezanost između oblika bolesti i vrste protutijela, kao ni oblika bolesti i tipa obojenja.

U ispitivanom uzorku pacijenata najčešće se pojavljuju anti-SCL 70 protutijela koja su ujedno i najspecifičniji biomarker zahvaćenosti pluća u sistemnoj sklerozi (18). U 36 % ispitanika je rezultat IFF-a dao homogeno obojenje koje je moguće u slučaju prisutnosti anti-SCL 70 protutijela koja daju više različitih nespecifičnih oblika obojenja kao što su homogeno, točkasto i nuklearno obojenje (30). Rezultati istraživanja na 276 hospitaliziranih pacijenata oboljelih od SSc-a podrijetlom iz Švedske također povezuju prisustvo homogenog obojenja s anti-SCL protutijelima (31) što je moguće i kod rezultata dobivenih u ovom istraživanju.

Možda najznačajniji rezultati su oni koji potvrđuju postojanje povezanosti između prisustva anti-SCL 70 protutijela, pojave dcSSc podtipa sistemne skleroze i prisutnosti homogenog tipa fluorescencije sa zahvaćenošću pluća. Iako u naših pacijenata istraživanjem nije pronađena nikakva značajna razlika u raspodjeli bolesnika s obzirom na oblik bolesti i vrste ANA, Steen je u svom istraživanju koristeći Pittsburgh Scleroderma bazu podataka proučavao SSc pacijente s pozitivnim autoantitijelima koji su uneseni u bazu između 1980. i 1995. te je otkrio da je od ukupno 1432 pacijenta 318 bilo pozitivno na anti-SCL 70 protutijela te su se prezentirali u 71 % slučajeva kao dcSSc (26).

Gotovo identičnu pojavnost dsSSc-a primjećuju Diot i sur. Od ukupno 48 pacijenata sa SSc-om njih 20 je razvilo plućne simptome bolesti što ukazuje na visoku specifičnost anti-SCL 70 protutijela prema difuznom kutanom tipu SSc. Naime u 70,6 % ispitanih s abnormalnom razinom anti-SCL 70 protutijela bio je prisutan difuzni kutani tip sistemne skleroze (32).

Slični rezultati su vidljivi i u istraživanju koje su proveli Green i sur. a koje je utemeljeno na 497 članaka izdanih u razdoblju 1966. - 1994. u svrhu određivanja specifičnosti anti-SCL 70 protutijela. Unutar 30 članaka koji su izabrani prema selekcijskim kriterijima potvrđena je prisutnost anti-SCL 70 protutijela u 366 pacijenata od ukupno 1074 pacijenata oboljelih od SSc-a, a u 40 % slučajeva je prisutnost protutijela pratio difuzni kutani tip sistemne skleroze (33) što je nešto niža stopa pojavnosti u odnosu na prethodno navedene studije (26, 32).

Korelaciju između dcSSc-a i pojave anti-SCL protutijela potvrđuje i studija koju su proveli Domsic i sur. gdje su rezultati pokazali da čak 2/3 pacijenata s prisutnim anti-SCL protutijelima boluje od difuznog kožnog tipa SSc-a (34).

Kod pacijenata koji nisu imali plućne simptome, uočena je značajnija pojava ACA, anti-PM SCL i U1RNP protutijela što potvrđuje da spomenuta protutijela vrlo rijetko izazivaju plućnu patologiju (17).

Studija iz 2017. godine provedena na 209 pacijenata oboljelih od SSc-a iz Španjolske ukazuje na povezanost ACA s pojavom limitiranog kutanog tipa SSc-a. Potvrđena je i veoma niska stopa pojavnosti dcSSc-a i ILD-a (35).

Nepostojanje značajne povezanosti između anti-PM/SCL protutijela i pojave plućnih simptoma bolesti potvrđuje i studija provedena u Lublinu (Poljska) na Odjelu za reumatologiju i bolesti vezivnog tkiva na 128 pacijenata sa SSc-om (36).

Istraživanje valjanosti anti-U1RNP-a kao markera bolesti provedeno je na uzorku od 223 pacijenata sa SSc-om, 117 pacijenata sa SLE-om, 18 pacijenata s MTCD-om i 40 kontrolnih zdravih ispitanika. Rezultati su ukazali na prisutnost U1RNP antitijela u 14 % oboljelih od lcSSc-a. Primijećena je veća učestalost pulmonalne fibroze i patologije zglobova u pacijenata kod kojih je prisutno anti-U1RNP protutijelo u odnosu na negativne pacijente što može biti dodatna indikacija za daljnje razmatranje ovog protutijela kao kandidata za rano prepoznavanje i prevenciju plućnog oštećenja (37).

6. ZAKLJUČAK

1. Potvrđena je veća mogućnost pojave sistemne skleroze u žena u odnosu na muškarce.
2. Nađena je veća pojavnost limitiranog tipa SSc-a u odnosu na difuzni tip.
3. Uočena je statistički značajna povezanost postojanja plućnih simptoma s prisutnošću anti-SCL 70 protutijela, kao i povezanost zahvaćanja pluća s pojavom difuznog tipa sistemne skleroze. Primijećena je i značajna pojava homogenog obojenja u testu imunofluorescencije kod zahvaćanja pluća.

7. SAŽETAK

Cilj istraživanja: Sistemna skleroza (SSc) je kronična autoimuna sistemska bolest vezivnog tkiva nepoznate etiologije obilježena upalnim, krvožilnim i fibroznim promjenama kože i unutarnjih organskih sustava. Najčešće se javlja u žena, a mogućnosti liječenja su i dalje ograničene te usmjerene ovisno o zahvaćanju pojedinih organskih sustava. Cilj rada je utvrđivanje povezanosti serološkog profila autoimunih protutijela s kliničkim obilježjima i ishodima bolesti u bolesnika.

Ispitanici i metode: U studiju su uključeni svi pacijenti Zavoda za reumatologiju, kliničku imunologiju i alergologiju KBC-a Osijek s prethodno postavljenom dijagnozom sistemske skleroze u razdoblju od 31.12.2009. do 31.12.2019.

Rezultati: Rezultati potvrđuju već poznati odnos pobolijevanja između muškaraca i žena te ukazuju na povećan udio oboljelih od limitiranog tipa sistemske skleroze unutar proučavanog uzorka. Utvrđeno je postojanje povezanosti između prisustva anti-SCL 70 protutijela, pojave difuznog tipa bolesti i homogenog obojenja u nalazu imunofluorescencije s pojavom plućnih simptoma bolesti.

Zaključak: U našem istraživanju dokazali smo da je pojava anti-SCL 70 protutijela visoko specifična za plućnu kliničku sliku sistemske skleroze. Također, dokazali smo da difuzni tip sistemske skleroze pokazuje puno veći afinitet razvoja plućnih simptoma bolesti. Homogeni tip obojenja u nalazu imunofluorescencije ukazuje na potencijalno prisustvo sistemske skleroze.

Ključne riječi: anti-SCL 70, imunofluorescencija, plućni simptomi, sistemna skleroza

8. SUMMARY

Serological profile of autoimmune antibodies in patients with systemic sclerosis

Background: Systemic sclerosis is a chronic autoimmune systemic disease of the connective tissue with unknown etiology characterized by inflammatory, vascular and fibrous skin and internal organs' anomalies. It is most frequently found in women. Therapy is still limited and organ-specific. This study aims to determine the connection between the serological profile of the autoimmune antibodies, the clinical manifestations and the disease outcomes.

Patients and methods: The study encompasses all the patients from the Department of Rheumatology, Clinical Immunology and Allergology, University Hospital Centre Osijek with the predetermined diagnosis of systemic sclerosis in the period between 31.12.2009 - 31.12.2019.

Results: Results confirm the well-known ratio of morbidity between man and female population and point to an increased prevalence of lcSSc within the analyzed population. The connection between the presence of the anti-SCL 70 antibodies, the diffuse form of the disease and the diffuse colour pattern of the immunofluorescence test with the appearance of pulmonary symptoms has been confirmed.

Conclusion: In our research, we demonstrated that the appearance of the anti-SCL 70 antibodies is a highly specific marker in the pulmonary involvement in systemic sclerosis. The diffuse form of systemic sclerosis has shown a great affinity to the pulmonary symptoms development of systemic sclerosis. The diffuse staining pattern of the immunofluorescence test has shown a correlation to the presence of pulmonary symptoms specific to systemic sclerosis.

Keywords: anti-SCL 70, immunofluorescence test ,pulmonary symptoms, systemic sclerosis

9. LITERATURA

1. Kaliterna DM. Sistemska skleroza: Pregled. Reumatizam. 2017;64(1):1–7.
2. Kucharz EJ, Mędrek MK. Systemic sclerosis sine scleroderma. Adv. Clin. Exp. Med. 2017;26(5):875-880.
3. Cutolo M, Sulli A, Pizzorni C, Paolino S, Smith V. Systemic sclerosis: markers and targeted treatments. Acta Reumatol Port. 2016;41:18-25.
4. Kaliterna DM. Incidencija, prevalencija i klinička obilježja sistemske skleroze u Splitsko-dalmatinskoj županiji. Rheum. 2010;57(2).
5. Castro SV, Jimenez SA. Biomarkers in systemic sclerosis. Biomark Med. 2010;4(1):133-147.
6. Dobrić I. Promjene kože u reumatskih bolestima. Reumatizam. 2005;52(2).
7. Vona R, Giovanetti A, Gambardella L, Malorni W, Pietraforte D, Straface E. Oxidative stress in the pathogenesis of systemic scleroderma: An overview. J Cell Mol Med 2018; 22(7):3308-3314.
8. Pattanaik D, Brown M, Postlethwaite BC, Postlethwaite AE. Pathogenesis of systemic sclerosis. Front. Immunol. 2015;6:272.
9. Forte G, Fadda C, Bocca B, Erre GL, Passiu G, Madeddu R. Association Between Exposure to Heavy Metals and Systemic Sclerosis: the Levels of Al, Cd, Hg, and Pb in Blood and Urine of Patients. Bio Trace Elem Res. 2019;190(1):1-10.
10. Ferri C, Artoni E, Sighinofli GL, Luppi F, Zelent G, Colaci M i sur. High serum levels of silica nanoparticles in systemic sclerosis patients with occupational exposure: Possible pathogenetic role in disease phenotypes. Semin Arthritis Rheum. 2018;48(3):475-481.
11. De Decker E, Vanthuyne M, Blockmans D, Houssiau F, Lenaerts J, Westhovens R i sur. High prevalence of occupational exposure to solvents or silica in male systemic sclerosis patients: a Belgian cohort analysis. In: Clin Rheum. 2019;37(7):1977-1982.

12. Farina A, Peruzzi G, Lacconi V i sur. Epstein-Barr virus lytic infection promotes activation of Toll-like receptor 8 innate immune response in systemic sclerosis monocytes. *Arthritis Res Ther* 2017; 19:39.
13. Orlandi M ,Barsotti S, Lepri G, Codullo V, Di Battista V, Guiducci S i sur. One year in review 2018: systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol* 2018;36(113):3-23.
14. Frech TM, Mar D. Gastrointestinal and Hepatic Disease in Systemic Sclerosis. *Rheum Dis Clin North Am.* 2018;44(1):15-28.
15. Van Den Hoogen F, Khanna D, Fransen J, Johnson SR, Barron M, Tyndall A i sur. Classification Criteria for Systemic Sclerosis: An ACR-EULAR Collaborative Initiative. *Arthritis Rheum.* 2013;65(11):2737-2747.
16. Khanna D, Furst D, Clements P, Allanore Y, Baron M, Czirjak L i sur. Standardization of the Modified Rodnan Skin Score for Use in Clinical Trials of Systemic Sclerosis. *Journal of Scleroderma and Related Disorders.* 2017;2(1):11-18.
17. Kubo S, Tanaka Y. Usefulness of nailfold videocapillaroscopy for systemic sclerosis. *Inflammation and Regeneration.* 2016;36:5.
18. Kuwana M. Circulating Anti-Nuclear Antibodies in Systemic Sclerosis: Utility in Diagnosis and Disease Subsetting. *J Nippon Med Sch,* 2017; 84:56-63.
19. <https://www.hkmb.hr/wp-content/uploads/2019/12/7.pdf>.
20. Batinić D, Malenica B. Racionalni pristup laboratorijskoj dijagnostici imunoloških poremećaja. *Paediatr Croat.* 2012; 56 (Supl 1):53-61.
21. RA Schwartz. Systemic Sclerosis Treatment & Management. 2020. <https://emedicine.medscape.com/article/1066280-treatment>.
22. Allanore Y, Avouac J. Targeted immunotherapies in systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol.* 2014;32(81):165-172.
23. Khanna D, Tashkin DP, Denton CP, Lubell MV, Mateo CV, Wax S. Ongoing clinical trials and treatment options for patients with systemic sclerosis-associated interstitial lung disease. *Rheum.* 2019;58:567-579.

24. Marušić M. i sur. Uvod u znanstveni rad u medicini. 4. izd. Udžbenik. Zagreb: Medicinska naklada; 2008.
25. Ivanković D. i sur. Osnove statističke analize za medicinare. Zagreb: Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu; 1988.
26. Steen VD, Oddis CV, Conte CG, Janoski J, Casterline GZ i Medsger TA. Incidence of systemic sclerosis in Allegheny County, Pennsylvania. A twenty-year study of hospital-diagnosed cases, 1963-1982. *Arthritis Rheum.* 1997;40(3):441-5.
27. Kanecki K, Goryński P, Tarka P, Wierzba W, Tyszek P. Incidence and prevalence of Systemic Sclerosis (SSc) in Poland - differences between rural and urban regions. *Ann Agric Environ Med.* 2017;24(2):240-244.
28. Andr  asson K, Saxne T, Bergkn  t C, Hesselstrand R, Englund M. Prevalence and incidence of systemic sclerosis in southern Sweden: population-based data with case ascertainment using the 1980 ARA criteria and the proposed ACR-EULAR classification criteria. *Ann Rheum Dis.* 2014;73(10):1788-92.
29. Salazar GA, Assassi S, Wigley F, Hummers L, Varga J, Khanna D. Antinuclear antibody-negative systemic sclerosis. *Seminars in Arthritis and Rheumatism.* 2015;44(6):680-686.
30. Basu D, Reveille JD. Anti- scl-70. *Autoimmunity.* 2005;38(1):65-72.
31. Hesselstrand R, Scheja A, Shen GQ, Wiik A, Akesson A. The association of antinuclear antibodies with organ involvement and survival in systemic sclerosis. *Rheumatology.* 2003;42(4):534-540.
32. Diot E, Giraudeau B, Diot P, Laurence R, Guilmot JL, Lemari   E. Is Anti- Topoisomerase I a Serum Marker of Pulmonary Involvement in Systemic Sclerosis? *Clinical Investigations Diffuse Lung Disease.* 1999;116(3):715-720.
33. Green GS, Alter D, Welch HG. Test Performance in Systemic Sclerosis: Anti- Centromere and Anti-SCL 70 Antibodies. *The American Journal of Medicine.* 1997;103(3):242-248.
34. Domsic RT, Reyna TR, Lucas M, Fertig N, Medsger TA. Skin thickness progression rate: a predictor of mortality and early internal organ involvement in diffuse scleroderma. *Ann Rheum Dis.* 2011;70(1).

35. Arandia NI, Aznar CPS, del Castillo AG, Argüelles DC, Rivas MR, Martinez LT. Influence of antibody profile in clinical features and prognosis in a cohort of Spanish patients with systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol*. 2017;106(4):98-105.
36. Wielosz E, Dryglewska M, Majdan M. The clinical consequences presence of ANTI-PM/SCL antibodies in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*. 2017;76:1273.
37. Ihn H, Yamane K, Yazawa N, Kubo M, Fujimoto M, Sato S i sur. Distribution and antigen specificity of anti-U1RNP antibodies in patients with systemic sclerosis. *Clin Exp Immunol*. 1999;117(2):383-387.

10. ŽIVOTOPIS

Ime i prezime: Goran Linić

Datum i mjesto rođenja: 18.11.1994., Rijeka

Adresa: Slavka Krautzeka 92A, 51000 Rijeka

Mobitel: 091 162 0669

E-pošta: goranlinic@yahoo.com

Obrazovanje:

2001. – 2003. Osnovna škola Grivica

2004. – 2009. Osnovna škola Dolnja Vežica

2010. – 2014. Srednja Medicinska škola u Rijeci

2014. – 2017. Fakultet zdravstvenih studija Rijeka, Stručni studij medicinsko laboratorijska dijagnostika

2018. – 2020. Medicinski fakultet Osijek, Diplomski studij medicinsko laboratorijska dijagnostika