

Povezanost polimorfizma ACE-gena s težinom kliničke slike bolesnika sa sistemskom sklerozom

Karanović, Boris

Doctoral thesis / Disertacija

2024

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:177231>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-09**



Repository / Repozitorij:

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



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Boris Karanović

**Povezanost polimorfizma ACE-gena s
težinom kliničke slike bolesnika sa
sistemskom sklerozom**

DISERTACIJA



Zagreb, 2024.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Boris Karanović

**Povezanost polimorfizma ACE-gena s
težinom kliničke slike bolesnika sa
sistemskom sklerozom**

DISERTACIJA

Zagreb, 2024.

Disertacija je izrađena u Zavodu za kliničku imunologiju i reumatologiju Klinike za unutarnje bolesti Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i Kliničkog bolničkog centra Zagreb.

Voditelj rada: prof. dr. sc. Branimir Anić, dr. med.

Zahvaljujem se mentoru prof. dr. sc. Branimiru Aniću na pomoći u razradi ideje i provođenju istraživanja, kao i na prikupljanju medicinske dokumentacije.

Također se zahvaljujem prof. dr. sc. Nadi Čikeš na korisnim savjetima i pomoći u provedbi istraživanja.

Puno hvala svim kolegama specijalistima, specijalizantima i medicinskim sestrama Zavoda za kliničku imunologiju i reumatologiju te osoblju Laboratorija za molekularnu dijagnostiku KBC-a Zagreb za pomoć pri izradi ove disertacije.

Također se zahvaljujem Zavodu za nefrologiju, arterijsku hipertenziju, dijalizu i transplantaciju KBC-a Zagreb na ustupljanju uređaja za mjerenje ABI.

Obitelji i prijateljima zahvaljujem na podršci.

SADRŽAJ

1. UVOD I SVRHA RADA	1
1.1. Sistemska skleroza	1
1.2. Sustav renin-angiotenzin (RAS)	8
1.3. Polimorfizam gena za ACE	9
2. HIPOTEZA	12
3. CILJEVI RADA.....	13
3.1. Opći cilj	13
3.2. Specifični ciljevi	13
4. ISPITANICI I METODE.....	14
4.1. Ispitanici.....	14
4.2. Uključni kriteriji	14
4.3. Isključni kriteriji.....	14
4.4. Prikupljanje podataka	15
4.4.1. Zahvaćanje kože i perifernog vaskularnog sustava.....	16
4.4.2. Zahvaćanje lokomotornog sustava	16
4.4.3. Zahvaćanje gastrointestinalnog sustava	16
4.4.4. Zahvaćanje bubrega.....	16
4.4.5. Zahvaćanje srca	16
4.4.6. Zahvaćanje pluća	17
4.4.7. Aktivnost i težina bolesti	17
4.4.8. Lijekovi	17
4.4.9. Vrijeme pojave prvih simptoma i dijagnoze bolesti.....	17
4.4.10. Umrli bolesnici	18
4.5. Postupak vađenja krvi	18
4.6. Izdvajanje DNA	18
4.7. Analiza genotipa ACE	18
4.8. Postupak mjerenja pedobrahijalnog indeksa (ABI)	19
4.9. Statistička analiza	20
5. REZULTATI	21
5.1. Obilježja bolesnika	21
5.1.1. Opća obilježja bolesnika	22
5.1.1.1. Spol i tip bolesti	22
5.1.1.2. Dob	24
5.1.1.3. Indeks tjelesne mase (BMI)	25

5.1.1.4. Protutijela	26
5.1.1.5. Kardiovaskularni komorbiditeti.....	27
5.1.1.6. Umrli bolesnici.....	28
5.1.2. Polimorfizmi gena za ACE	30
5.1.3. Vrijeme pojave Raynaudovog fenomena i prvog ne-Raynaudovog simptoma.....	31
5.1.4. Upalna aktivnost prema vrijednostima SE, CRP, C3 i C4	33
5.1.5. Zahvaćanje kože	35
5.1.6. Zahvaćanje lokomotornog sustava	36
5.1.7. Zahvaćanje gastrointestinalnog sustava	38
5.1.8. Zahvaćanje bubrega.....	39
5.1.9. Zahvaćanje srca i plućna hipertenzija	42
5.1.10. Zahvaćanje pluća	44
5.1.11. Aktivnost i težina bolesti prema EScSG-AI, EUSTAR-AI i Medsgerovoj ljestvici	46
5.1.12. Terapija korištena pri liječenju bolesnika.....	50
5.1.13. Pedobrahijalni indeks	56
5.2. Povezanost polimorfizma ACE s obilježjima sistemske skleroze	58
5.2.1. Povezanost polimorfizma ACE s općim determinantama bolesnika.....	58
5.2.2. Povezanost ACE-genotipa s aktivnošću bolesti	61
5.2.3. Povezanost ACE-genotipa s težinom periferne vaskulopatije	65
5.2.4. Povezanost ACE-genotipa s manifestacijama na lokomotornom sustavu	67
5.2.5. Povezanost ACE-genotipa s manifestacijama bolesti na gastrointestinalnom sustavu.....	70
5.2.6. Povezanost ACE-genotipa s bubrežnom bolešću u sklopu sistemske skleroze	71
5.2.7. Povezanost ACE-genotipa sa zahvaćanjem srca.....	74
5.2.8. Povezanost ACE-genotipa sa zahvaćanjem pluća.....	76
5.2.9. Povezanost ACE-genotipa s težinom bolesti mjerene Medsgerovom ljestvicom	78
6. RASPRAVA	82
6.1. Opća obilježja bolesnika, tip bolesti, komorbiditeti, smrtnost, latencija od pojave Raynaudovog fenomena do prvog ne-Raynaudovog simptoma	82
6.2. Upalna aktivnost prema vrijednostima SE, CRP, komponentama komplementa C3, C4 te EScSG-AI i EUSTAR-AI	85
6.3. Zahvaćanje kože, Raynaudov fenomen te mikro i makrovaskularne promjene periferije	88
6.4. Zahvaćanje lokomotornog sustava	91
6.5. Zahvaćanje gastrointestinalnog sustava.....	93
6.6. Zahvaćanje bubrega	94
6.7. Zahvaćanje srca i plućna hipertenzija.....	95
6.8. Zahvaćanje pluća	98
6.9. Težina bolesti prema Medsgerovoj ljestvici	100

7. ZAKLJUČAK	102
8. SAŽETAK	104
9. SUMMARY.....	105
10. POPIS LITERATURE	106
11. ŽIVOTOPIS	134
PRILOZI.....	

POPIS OZNAKA I KRATICA

ABI – pedobrahijalni indeks, prema engl. *ankle brachial index*

ACE – enzim za pretvorbu angiotenzina, prema engl. *angiotensin converting enzyme*

ACEi – inhibitor enzima za pretvorbu angiotenzina, prema engl. *angiotensin converting enzyme inhibitor*

ACR – Američko reumatološko društvo, prema engl. *American College of Rheumatology*

ADPKD – autosomno dominantna policistična bolest bubrega, prema engl. *autosomal dominant polycystic kidney disease*

AERP – atrijski efektivni refraktorni period, prema engl. *atrial effective refractory period*

AF – atrijska fibrilacija

AGT – angiotenzinogen

AI – indeks aktivnosti, prema engl. *activity index*

ANA – antinuklearna protutijela, prema engl. *antinuclear antibodies*

ANG – angiotenzin

ARB – blokator angiotenzinskih receptora, prema engl. *angiotensin receptor blocker*

ARDS – akutni respiratorni distress sindrom, prema engl. *acute respiratory distress syndrome*

art. – arterijski

AS – ankilozantni spondilitis

AT – angiotenzinski receptor

AZA – azatioprin

bDMARD - biološki antireumatski lijekovi koji modificiraju tijek bolesti, prema engl. *biologic disease-modifying antirheumatic drugs*

BK – bradikinin

BMI – indeks tjelesne mase, prema engl. *body mass index*

CD – klaster diferencijacije, prema engl. *cluster of differentiation*

CENP-B – protein centromera B, prema engl. *centromere protein B*

CH50 – 50% hemoliza komplementa klasičnog puta

CK – kreatin kinaza, prema engl. *creatine kinase*

CDK-EPI – Kolaboracija za epidemiologiju kronične bubrežne bolesti, prema engl. *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*

CRP – C-reaktivni protein

CsA – ciklosporin A

CT – kompjuterizirana tomografija, prema engl. *computerized tomography*

CTGF – čimbenik rasta vezivnog tkiva, prema engl. *connective tissue growth factor*

CYC – ciklofosfamid, prema engl. *cyclophosphamide*

D - delecija

dcSSc – difuzna kutana sistemska skleroza, prema engl. *diffuse cutaneous systemic sclerosis*

dg. - dijagnoza

DLco – difuzijski kapacitet za ugljikov monoksid, prema engl. *diffusing capacity for carbon monoxide*

DMARD – antireumatski lijekovi koji modificiraju tijek bolesti, prema engl. *disease-modifying antirheumatic drugs*

DNA – deoksiribonukleinska kiselina, prema engl. *deoxyribonucleic acid*

DNAtopol – DNA topoizomeraza I

DU – ulceracije prstiju, prema engl. *digital ulcerations*

eGFR – procijenjena glomerularna filtracija, prema engl. *estimated glomerular filtration rate*

ESRD – završna faza bubrežne bolesti, prema engl. *end-stage renal disease*

EULAR – Europska liga protiv reumatizma, prema engl. *European league against rheumatism*

EUSTAR – Europska skupina za ispitivanje i istraživanje skleroderme, prema engl. *European Scleroderma Trials and Research Group*

ERA – blokator endotelinskih receptora, prema engl. *endothelin receptor antagonist*

EScSG-AI – indeks aktivnosti Europske skupine za studije skleroderme, prema engl. *European Scleroderma Study Group – Activity Index*

ET - endotelin

FEV1 – forsirani ekspiracijski volumen tijekom prve sekunde, prema engl. *forced expiratory volume during the first second*

FGFR – receptor za čimbenik rasta fibroblasta, prema engl. *fibroblast growth factor receptor*

FTP – udaljenost između prsta i palca pri fleksiji, prema engl. *finger to palm distance in flexion*

FVC – forsirani ekspiracijski vitalni kapacitet, prema engl. *forced expiratory vital capacity*

g. - godina

GI – gastrointestinalni

GK – glukokortikoidi

GOLD – Globalna inicijativa za kroničnu opstruktivnu plućnu bolest, prema engl. *Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease*

HAPH - plućna hipertenzija povezana s nadmorskom visinom, prema engl. *high-altitude pulmonary hypertension*

Hb – hemoglobin

Hct – hematokrit, prema engl. *haematocrit*

HFpEF – srčano popuštanje s očuvanom sistoličkom funkcijom, prema engl. *heart failure with preserved ejection fraction*

HRCT – kompjuterizirana tomografija visoke rezolucije, prema engl. *high resolution computerized tomography*

I – insercija

IGF-1 – inzulinu sličan čimbenik rasta-1, prema engl. *insulin-like growth factor-1*

IL – interleukin

ILD – intersticijska bolest pluća, prema engl. *interstitial lung disease*

IQR – interkvartilni raspon, prema engl. *interquartile range*

IP – interfalangealni, prema engl. *interphalangeal*

IPF – idiopatska plućna fibroza

IPP – inhibitor protonske pumpe

KBB – kronična bubrežna bolest

KBC – Klinički bolnički centar

KOPB – kronična opstruktivna plućna bolest

lcSSc – limitirana kutana sistemska skleroza, prema engl. *limited cutaneous systemic sclerosis*

LDL – lipoprotein male gustoće, prema engl. *low-density lipoprotein*

LEF - leflunomid

LV – lijeva klijetka, prema engl. *left ventricle*

LVEF – istisna frakcija lijeve klijetke, prema engl. *left ventricular ejection fraction*

MACE – značajni kardiovaskularni događaj, prema engl. *major cardiovascular events*

maks - maksimalni

MCP – metakarpofalangealni, prema engl. *metacarpophalangeal*

MCP1 – monocitni kemotaktički protein 1, prema engl. *monocyte chemotactic protein-1*

min - minimalni

MMF – mikofenolat mofetil

MR – magnetska rezonanca, prema engl. *magnetic resonance*

mRSS – modificirani Rodnanov kožni zbroj, prema engl. *modified Rodnan skin score*

MTX – metotreksat, prema engl. *methotrexate*

NO – dušikov oksid, prema engl. *nitric oxide*

NSAID – nesteroidni protuupalni lijek, prema engl. *non-steroid anti-inflammatory drug*

NSIP – nespecifična intersticijska pneumonija, prema engl. *nonspecific interstitial pneumonia*

NYHA – funkcijska klasifikacija njujorškog društva za srce, prema engl. *New York Heart Association Functional Classification*

OA - osteoarthritis

PAD – periferna arterijska bolest, prema engl. *peripheral arterial disease*

PAH – plućna arterijska hipertenzija

PCR – lančana reakcija polimeraze, prema engl. *polymerase chain reaction*

PDE-5 – fosfodiesteraza 5, prema engl. *phosphodiesterase 5*

PDGF-β - čimbenik rasta iz trombocita-β, prema engl. *platelet-derived growth factor-β*

PsA – psorijatični artritis

RA – reumatoidni artritis

RAS – sustav renin-angiotenzin, prema engl. *renin-angiotensin system*

RP – Raynaudov fenomen, prema engl. *Raynaud's phenomenon*

RTX – rituksimab, prema engl. *rituximab*

RV – desna klijetka, prema engl. *right ventricle*

RVSP – sistolički tlak u desnoj klijetci, prema engl. *right ventricular systolic pressure*

Scl-70 – antigen skleroderma 70

SE – sedimentacija eritrocita

SpA – spondiloartritis

sPAP – sistolički tlak u plućnoj arteriji, prema engl. *systolic pulmonary artery pressure*

SSc – sistemska skleroza, prema engl. *systemic sclerosis*

STEMI – infarkt miokarda s elevacijom ST spojnice, prema engl. *ST-elevation myocardial infarction*

sur. - suradnici

TBI – indeks tlakova nožnog prsta i brahijalne arterije, prema engl. *toe brachial index*

TCZ - tocilizumab

TFR – trenje tetivnih ovojnica, prema engl. *tendon friction rubs*

TGF-β – transformirajući čimbenik rasta-β, prema engl. *transforming growth factor-β*

T_H – pomoćnički T, prema engl. *T helper*

TM – tjelesna masa

TNF-α – čimbenik nekroze tumora α, prema engl. *tumour necrosis factor-α*

UIP – uobičajena intersticijska pneumonija, prema engl. *usual interstitial pneumonia*

VEGF – čimbenik rasta žilnog endotela, prema engl. *vascular endothelial growth factor*

1. UVOD I SVRHA RADA

1.1. **Sistemska skleroza**

Sistemska skleroza (SSc) bolest je nepoznatog uzroka i kompleksne patogeneze. Glavna obilježja bolesti su autoimunost, upala, funkcijske i strukturalne promjene u krvnim žilama te široko rasprostranjena intersticijska i vaskularna fibroza koja zahvaća kožu i unutarnje organe (1,2). Riječ je o rijetkoj bolesti s prevalencijom između 38 i 341 slučaj na milijun osoba prema različitim studijama (3). Klinički se očituje pojavom Raynaudovog fenomena (prema engl. *Raynaud's phenomenon*, RP) koji je najčešće prvi znak bolesti, zatim pojavom otvrdnjavanja kože te pojavom fibroze u drugim organskim sustavima kao što su pluća, srce, bubreg i probavna cijev uz veliku različitost u prezentaciji i težini kliničke slike te brzini progresije među bolesnicima (1,2). Za bolest je karakteristično stvaranje protutijela, a rutinski se određuju dva - anticentromerna protutijela usmjerena na protein centromere B (prema engl. *centromere protein B*, CENP-B) i protutijela usmjerena na DNA topoizomerazu I (antigen Sci70) (1,2,4). Ovisno o ekstenziji kožnih promjena SSc dijelimo na difuznu kožnu SSc (prema engl. *diffuse cutaneous systemic sclerosis*, dcSSc), sa zahvaćanjem kože proksimalno od laktova i koljena, i limitirani oblik (prema engl. *limited cutaneous systemic sclerosis*, lcSSc) sa zahvaćanjem kože distalno od laktova i koljena te kože lica (1,2,4).

Premda ne postoje dijagnostički kriteriji bolesti, pri postavljanju dijagnoze pomažemo se klasifikacijskim kriterijima koji su zajednički donijeli Američko reumatološko društvo (prema engl. *American College of Rheumatology*, ACR) i Europska liga protiv reumatizma (prema engl. *European league against rheumatism*, EULAR) prikazani u Tablici 1, a zahvaćanje pojedinog organskog sustava procjenjuje se različitim laboratorijskim i radiološkim metodama te funkcionalnim pretragama (1,2,5).

Tablica 1. Klasifikacijski kriteriji sistemske skleroze Američkog reumatološkog društva (prema engl. *American College of Rheumatology*, ACR) i Europske lige protiv reumatizma (prema engl. *European league against rheumatism*, EULAR), preuzeto iz van den Hoogen i sur. (5)

Kategorija	Podkategorija	Broj bodova
Otvrdnuće kože prstiju obje šake s esktenzijom proksimalno od MCP zglobova (<i>dovoljan kriterij</i>)	-	9
Otvrdnuće kože prstiju (<i>samo računati najviši bod</i>)	Podbuhli prsti (prema engl. <i>puffy fingers</i>)	2
	Sklerodaktilija prstiju (distalno od MCP zglobova, ali proksimalno od proksimalnih IP)	4
Lezije prstiju (<i>samo računati najviši bod</i>)	DU	2
	<i>Pitting scars</i> jagodica prstiju	3
Teleangiektazija	-	2
Abnormalne kapilare ležišta nokta	-	2
PAH i/ili ILD (<i>maksimalno 2 boda</i>)	PAH	2
	ILD	2
RP	-	3
Protutijela povezana sa SSc (<i>maksimalno 3 boda</i>)	Anticentromere	3
	Anti-topoizomeraza I	
	Anti-RNA polimeraza III	

DU - ulceracije prstiju (prema engl. *digital ulcerations*), ILD - intersticijska bolest pluća (prema engl. *interstitial lung disease*), IP - interfalangealni (prema engl. *interphalangeal*), MCP - metakarpofalangealni (prema engl. *metacarpophalangeal*), PAH - plućna arterijska hipertenzija, RP - Raynaudov fenomen (prema engl. *Raynaud's phenomenon*), SSc - sistemska skleroza.

Zahvaćanje kože očituje se prvenstveno pojavom RP-a, a riječ je o bljedilu i plavilu kože prstiju uslijed vazokonstrukcije mikrovaskulature pri izlaganju stresorima, u prvom redu hladnoći, te kasnije pojavi crvenila kože prstiju kao posljedici reperfuzije (6). Nadalje, druga kožna obilježja su karakteristično otvrdnjavanje po kojem je bolest dobila ime, zatim stvaranje ulceracija prstiju (prema engl. *digital ulcerations*, DU) i potkožnih kalcifikata te promjena pigmentacije kože (1,2,7). Za procjenu kožne manifestacije bolesti koristi se kapilaroskopija kojom se korištenjem optičkog povećanja već u ranoj fazi bolesti mogu primijetiti promjene kapilara ležišta noktiju (8). U svrhu bodovanja ekstenzije kožnog zahvaćanja služimo se modificiranim Rodnanovim kožnim zbrojem (prema engl. *modified Rodnan skin score*, mRSS) kojim se stupnjevanjem od 0 (uredan nalaz) do 3 procjenjuje elastičnost kože na 17 regija tijela te mu maksimalan zbroj čini 51 (9).

Lokomotorni sustav također može biti zahvaćen bolešću te se u procjeni ove manifestacije ispituje mišićna snaga, prisutnost atrofije i sarkopenije, artritisa i kontraktura te trenja tetivnih ovojnica (prema engl. *tendon friction rubs*, TFR), a kao objektivni pokazatelj mišićne patologije može poslužiti vrijednost kreatin kinaze (prema engl. *creatine kinase*, CK) (1,2,10).

Zahvaćanje gastrointestinalnog (GI) sustava očituje se disfagijom i želučanim refluksom kao simptomima zahvaćanja jednaka, zatim osjećajem rane sitosti i povraćanja kao želučanih simptoma te pojavom kroničnih proljeva ili konstipacije, nadutosti i inkontinencije stolice kao simptoma zahvaćanja crijeva (1,2,11). Navedene tegobe mogu uzrokovati značajan gubitak tjelesne mase (TM). Za objektivnu procjenu GI sustava mogu poslužiti endoskopske pretrage kojima se mogu vidjeti makroskopske promjene gastrointestinalne sluznice, zatim manometrija jednjačnog i analnog sfinktera te radiološke pretrage kao što su dijaskopija akta gutanja, pasaža crijeva i kompjuterizirana tomografija (prema engl. *computerized tomography*, CT) ili magnetna (prema engl. *magnetic resonance*, MR) enterografija kojima se može utvrditi poremećaj peristaltike (1,2,11).

Zahvaćanje bubrega može se očitovati blagim poremećajem funkcije bubrega, sve do životno ugrožavajuće renalne krize klinički okarakterizirane akceleriranom hipertenzijom i akutnim bubrežnim oštećenjem uz mikroangiopatsku hemolizu, a patohistološki najčešće znacima trombotske mikroangiopatije (1,2,12). Osnova liječenja renalne krize su inhibitori enzima za pretvorbu angiotenzina (ACEi) (1,2,12).

Zahvaćanje srca može se očitovati također naglom i teškom srčanom bolešću, no i indolentnim tijekom te su zabilježene pojava kardiomiopatije i srčanog popuštanja, koronarne bolesti i infarkta miokarda te aritmija (1,2,13). Plućna arterijska hipertenzija (PAH) osobito je teška manifestacija bolesti koja uzrokuje znatan mortalitet (1,2,14,15). Može se procijeniti ultrazvučnom procjenom tlaka u desnom ventriklu, a kao zlatni standard koristi se kateterizacija desnog srca i direktno mjerenje tlaka u plućnoj arteriji (1,2,14).

Plućna patologija manifestira se promjenama intersticija plućnog parenhima i posljedičnom fibrozom (1,2,16). Također je jedan od osnovnih uzroka morbiditeta i mortaliteta ovih bolesnika (1,2,15,16). Morfološki se može objektivizirati kompjuteriziranom tomografijom visoke rezolucije (prema engl. *high resolution computerized tomography*, HRCT), a u procjeni plućne funkcije koristimo testove plućnih funkcija kao što je forsirani ekspiracijski volumen tijekom prve sekunde (prema engl. *forced expiratory volume during the first second*, FEV1), forsirani ekspiracijski vitalni kapacitet (prema engl. *forced expiratory vital capacity*, FVC) i difuzijski kapacitet za ugljikov monoksid (prema engl. *diffusing capacity for carbon monoxide*, DLco) (1,2,16).

U procjeni upalne aktivnosti bolesti, služimo se vrijednostima sedimentacije eritrocita (SE) i C-reaktivnog proteina (CRP) te nalazima komponenti komplementa C3 i C4 te vrijednošću 50% hemolize komplementa klasičnog puta (CH50) (1,2).

Nadalje, aktivnost bolesti možemo mjeriti zbrojevima kao što su indeks aktivnosti Europske skupine za studije skleroderme (prema engl. *European Scleroderma Study Group – Activity Index*, EScSG-AI) iz 2003. godine i indeks aktivnosti Europske skupine za ispitivanje i istraživanje skleroderme (prema engl. *European Scleroderma Trials and Research Group – Activity Index*, EUSTAR-AI) iz 2016. godine (17,18). Maksimalni zbroj bodova u EScSG-AI je 10, a aktivnu bolest predstavlja zbroj ≥ 3 , dok je maksimalni zbroj bodova u EUSTAR-AI 8,5, a aktivnu bolest predstavlja vrijednost $\geq 2,5$. Njihovi izračuni prikazani su u Tablici 2.

Tablica 2. Prikaz izračuna aktivnosti bolesti prema EScSG-AI i EUSTAR-AI, prilagođeno prema Valentini i sur. (17,18)

EScSG-AI		EUSTAR-AI	
Kategorija	Broj bodova	Kategorija	Broj bodova
mRSS >14	1,0	Ulceracije	1,5
Skleredem	0,5	mRSS >18 = 1,5 ili mRSS <18 x 0,084	(maks) 1,5
Pogoršanje kožnog statusa prema mišljenju bolesnika	2,0	TFR	2,25
DU	0,5	CRP >10 mg/L	2,25
Pogoršanje vaskularnog statusa prema mišljenju bolesnika	0,5	DLco <70%	1,0
Sinovitis	0,5		
DLco <80%	0,5		
Kardiopulmonalno pogoršanje prema bolesniku	2,0		
SE >30 mm/h	1,5		
Hipokomplementemija	1,0		
<i>*EScSG-AI ≥3 aktivna bolest, maksimalan zbroj 10</i>		<i>*EUSTAR-AI ≥2,5 aktivna bolest, maksimalan zbroj 8,5</i>	

CRP – C-reaktivni protein, DLco – difuzijski kapacitet za ugljikov monoksid (prema engl. *diffusing capacity for carbon monoxide*), DU – ulceracije prstiju (prema engl. *digital ulcerations*), EScSG-AI - indeks aktivnosti Europske skupine za studije skleroderme (prema engl. *European Scleroderma Study Group – Activity Indeks*), EUSTAR-AI – indeks aktivnosti Europske skupine za ispitivanje i istraživanje skleroderme (prema engl. *European Scleroderma Trials and Research Group – Activity Indeks*), mRSS – modificirani Rodnanov kožni zbroj (prema engl. *modified Rodnan skin score*), SE – sedimentacija eritrocita, TFR - trenje tetivnih ovojnica (prema engl. *tendon friction rubs*)

Za procjenu težine bolesti na različitim organskim sustavima i općih simptoma, koristi se Medsgerova ljestvica težine bolesti stupnjevanjem od 0 – 4 te njihov ukupni zbroj, pri čemu stupanj 0 predstavlja uredan nalaz odnosno funkciju organa, a stupanj 4 najteži oblik bolesti. Navedena ljestvica prikazana je u Tablici 3 (19).

Tablica 3. Medsgerova ljestvica težine bolesti – prilagođeno prema Medsgeru i sur. (19)

Organski sustav	0 (uredan)	1 (blagi)	2 (srednje težak)	3 (težak)	4 (terminalna faza)
1. Opći simptomi	Gubitak na TM <5%; Hct ≥37%; Hb ≥123 g/L	Gubitak na TM 5,0 – 9,9%; Hct 33 – 36,9%; Hb 110-122 g/L	Gubitak na TM 10,0-14,9%; Hct 29-32,9%; Hb 97-109 g/L	Gubitak na TM 15,0-19,9%; Hct 25-28,9%; Hb 83-96 g/L	Gubitak na TM ≥20%; Hct <25%; Hb <83 g/L
2. Periferna vaskulatura	Bez RP; RP koji ne zahtijeva vazodilatatore	RP koji zahtijeva vazodilatatore	<i>Pitting scars</i>	Ulceracije vrškova prstiju	Gangrena prstiju
3. Koža	mRSS 0	mRSS 1-14	mRSS 15-29	mRSS 30-39	mRSS ≥40
4. Zglobovi/tetive	FTP 0-0,9 cm	FTP 1,0-1,9 cm	FTP 2,0-3,9 cm	FTP 4,0-4,9 cm	FTP ≥5,0 cm
5. Mišići	Uredna snaga proksimalnih mišića	Blaga slabost proksimalnih mišića	Srednje teška slabost proksimalnih mišića	Teška proksimalna slabost	Potrebna pomagala
6. Probavni sustav	Uredan ezofagogram; normalna peristaltika tankog crijeva	Hipoperistaltika distalnog jednjaka; patološki nalaz tankog crijeva	Potrebni antibiotici za bakterijsko prerastanje	Malapsorpcijski sindrom; epizode pseudo-opstrukcije	Potrebna hiperalimentacija
7. Pluća	DLco ≥80%; FVC ≥80%; Bez radiološke fibroze; sPAP < 35 mmHg	DLco 70-79%; FVC 70-79%; bazalne krepitacije; radiografska fibroza; sPAP 35-49 mm Hg	DLco 50-69%; FVC 50-69%; sPAP 50-64 mmHg	DLco <50%; FVC <50%; sPAP ≥65 mmHg	Potrebna oksigenoterapija
8. Srce	EKG uredan; LVEF ≥50%	Poremećaj provođenja prema EKG-u; LVEF 45-49%	Aritmija u EKG-u; uvećan RV+LV; LVEF 40-44%	Aritmija u EKG-u koja zahtijeva terapiju; LVEF 30-40%	Srčano zatajenje; LVEF <30%
9. Bubreg	Bez anamneze renalne krize s kreatininom <115 µmol/L	Anamneza renalne krize s kreatininom < 133 µmol/L	Anamneza renalne krize s kreatininom 133-212µmol/L	Anamneza renalne krize s kreatininom 212-442 µmol/L	Anamneza renalne krize s kreatininom >442 µmol/L ili potrebna dijaliza

DLco - difuzijski kapacitet za ugljikov monoksid (prema engl. *diffusing capacity for carbon monoxide*), FTP- udaljenost između prsta i palca pri fleksiji (prema engl. *finger to palm distance in flexion*), FVC - forsirani ekspiracijski vitalni kapacitet (prema engl. *forced expiratory vital capacity*), Hb – hemoglobin, Hct – hematokrit, LV – lijeva klijetka (prema engl. *left ventricle*), LVEF – istisna frakcija lijeve klijetke (prema engl. *left ventricular ejection fraction*), mRSS - modificirani Rodnanov kožni zbroj (prema engl. *modified Rodnan skin score*), RP – Raynaudov fenomen (prema engl. *Raynaud's phenomenon*), RV – desna klijetka (prema engl. *right ventricle*), sPAP - sistolički tlak u plućnoj arteriji (prema engl. *systolic pulmonary artery pressure*), TM – tjelesna masa

Liječenje SSc svodi se na imunosupresivnu terapiju čiji se modalitet prilagodi težini kliničke slike, odnosno prisutnosti zahvaćanja vitalnog organa. Kao agresivna mjera liječenja, osobito u plućnim manifestacijama, obično se koriste ciklofosamid (CYC) ili mikofenolat mofetil (MMF) (1,2,20). Drugi

imunosupresivni i imunomodulacijski lijekovi, kao što su metotreksat (MTX), azatioprin (AZA), te rjeđe ciklosporin A (CsA), antimalarici ili D-penicilamin, također se mogu koristiti, kao i glukokortikodi (GK), no oni se koriste u manjoj mjeri (1,2,20). Biološki lijekovi koji modificiraju bolest (prema engl. *biologic disease-modifying drug*, bDMARD) isto su se pokazali kao terapija s povoljnim učinkom na tijek bolesti te se koriste rituksimab (RTX) koji blokira CD20+ limfocite te tocilizumab (TCZ) koji blokira interleukin-6 (IL-6) (21,22). Osim imunosupresivne terapije, koriste se i brojni drugi lijekovi ovisno o očitovanju bolesti na pojedinom organskom sustavu. Kao vazodilatacijska terapija za RP i DU koriste se kalcijски antagonisti, prostanoidi te inhibitori fosfodiesteraze 5 (PDE-5) (1,2,20). U liječenju PAH učinkovitost su pokazali također inhibitori PDE-5 i analozi prostaciklina te blokatori endotelinskih receptora (ERA) (1,2,20). U GI manifestacijama bolesti koriste se inhibitori protonске pumpe (IPP), prokinetički lijekovi i antibiotici za liječenje bakterijskog prerastanja (1,2,20). U liječenju srčanih manifestacija koriste se antiaritmici, ACEi i blokatori kalcijevih kanala, a u liječenju renalne krize ACEi su nezaobilazan lijek (1,2,20). U plućnoj bolesti učinkovitost je pokazao inhibitor receptora za čimbenik rasta fibroblasta (prema engl. *fibroblast growth factor receptor*, FGFR) nintedanib (23). Nadalje, u novije vrijeme transplantacija krvotvornih matičnih stanica sve više dobiva na važnosti kao modalitet liječenja SSc (23).

U patofiziološkom mehanizmu SSc, prema radovima Roumm i suradnika, Prescott i sur. te Freemont i sur., kako navode Ko i Noviani, smatra se da je vaskulopatija prvi korak te se očituje endotelnom ozljedom, zatim perivaskularnom upalom i agregacijom trombocita koje su vidljive i prije započinjanja same bolesti (24). Autoimunosni fenomeni su izravno uključeni u vaskulopatiju što dokazuje činjenica da SSc specifična protutijela posreduju endotelnoj ozljedi te da i druga protutijela sudjeluju u pojačanoj aktivaciji adhezijskih molekula na endotelnim stanicama, kao i izlučivanju kemokina koji dalje propagiraju autoimunosni proces (24–26). Nadalje, kako navode Ko i Noviani, u istraživanju Zhang i sur., stanice urođenog imunosnog sustava, monociti i neutrofilii, kao i stečenog, limfociti T i B, imaju važnu ulogu u nastanku i daljnjoj progresiji upale pri čemu je u koži i perifernoj krvi bolesnika sa SSc utvrđen smanjen broj regulacijskih limfocita T, a u cjelokupnom imunološkom odgovoru sudjeluju T_H1 , T_H2 i T_H17 stanice u različitom stupnju (24,27–29). Limfociti B izlučuju proupalni IL-6, kao i makrofagi fenotipa M2 za koje se smatra da su glavni posrednici u procesima koji potiču fibrozu povećavanjem izlučivanja IL-13 (30–32). Fibrozu potiče i transformirajući čimbenik rasta- β (prema engl. *transforming growth factor- β* , TGF- β) i čimbenik rasta iz trombocita (prema engl. *platelet-derived growth factor- β* , PDGF- β) koji potiču angiogenezu i diferencijaciju perivaskularnih pericita u fibroblaste (33). TGF- β djeluje također na ravnotežu izlučivanja vazokonstriktorskog endotelina-1 (ET-1) i vazodilatacijskog dušikovog oksida (NO), pomičući ravnotežu prema vazokonstrikciji (24,34). ET-1 također je uključen u proces fibroze i proliferacije stanica glatkih mišića, kako navode Ko i sur. prema Shiwen i sur. te Avouac i sur. (24). Smatra se da adipociti odnosno njihova modifikacija također imaju ulogu u procesu fibroze (35,36).

Endotelna ozljeda uzrokuje također aktivaciju trombocita čije međudjelovanje s limfocitima, fibroblastima i endotelnim stanicama te sposobnost izlučivanja čimbenika TGF- β i serotonina također doprinose fibrozi (37,38). Iz svega navedenog, vidljivo je da je patogeneza SSc vrlo kompleksna, posredovana različitim medijatorima i sustavima te bez obzira na stalni napredak u razumijevanju ove bolesti, mehanizam nastanka i progresije bolesti ostaje nedovoljno razjašnjen.

1.2. Sustav renin-angiotenzin (RAS)

Sustav renin-angiotenzin (prema engl. *renin-angiotensin system*, RAS) okosnica je kardiovaskularne regulacije te sudjeluje u patogenezi različitih krvožilnih poremećaja. Najpoznatija patološka uloga mu je u kroničnim bubrežnim i srčanim bolestima, odnosno arterijskoj hipertenziji. Njegov kaskadni sustav započinje reninom izlučenim iz jukstaglomerularnog aparata bubrega koji u daljnjim koracima sudjeluje u pretvorbi angiotenzinogena (AGT) u angiotenzin I (Ang I) (39). Zatim enzim za pretvorbu angiotenzina (prema engl. *angiotensin-converting enzyme*, ACE) katalizira pretvorbu Ang I u angiotenzin II (Ang II) (39). Ang II svoje djelovanje izvršava preko receptora tip 1 (AT1) i tipa 2 (AT2) pri čemu dominira njegovo djelovanje putem AT1 koje rezultira vazokonstrikcijom, upalom, fibrozom i staničnom proliferacijom, a djelovanje putem AT2 protuupalnim učincima i sprječavanjem fibroze (39–44).

ACE je centralna molekula RAS, ali sudjeluje i u kininskom sustavu s obzirom da katalizira razgradnju bradikina (BK) (39). Riječ je o cink metalopeptidazi koja je široko rasprostranjena na površini endotelnih i epitelnih stanica, osobito u plućnom tkivu, zatim bubrežnim epitelnim stanicama, nadbubrežnim žlijezdama, tankom crijevu i epididimisu (39).

Renin, ATG, Ang I, ACE, Ang II i AT1 čine klasični RAS čija je osnovna uloga vazokonstrikcija s pojavom povećanja perifernog vaskularnog otpora te zadržavanje natrija i vode posredstvom aldosterona (39,45–47).

Međutim, otkriven je i ACE2 koji je također membranski protein i spada u skupinu cink metaloproteinaza, a nalazi se u bubregu, crijevu, srcu, testisu i retini te katalizira pretvorbu Ang I u Ang 1-9 te Ang II u Ang 1-7 (39,48). U nastavku ACE katalizira pretvorbu Ang 1-9 u Ang 1-7 (39,48).

Tzv. alternativni RAS sačinjavaju također renin, ATG, Ang I i ACE, no i ACE2, Ang 1-9, Ang 1-5, Ang 1-7, pri čemu je Ang 1-7 posljednja molekula u lancu koja djeluje na MAS receptor te se naziva još i ACE2/Ang1-7/MAS receptorski sustav, a konačni učinak mu je vazodilatacija, inhibicija staničnog rasta, protuupalni učinak i sprječavanje fibroze te tako čini protutežu klasičnom putu (39,41,48,49).

Kao što je ranije spomenuto, Ang II proupalnim djelovanjem potiče stvaranje izvanstaničnog matriksa i fibrozu.

U modelu fibroze kože miševa koji su tretirani Ang II, dokazana je aktivacija TGF- β i čimbenika rasta vezivnog tkiva (prema prema engl. *connective tissue growth factor*, CTGF) koji sinergistički sudjeluju u poticanju odlaganja izvanstaničnog matriksa i aktivaciji fibroblasta, kao i poticanje sinteze kolagena i aktivacija makrofaga fenotipa M2 (50). Sve navedeno su mehanizmi koji doprinose fibrozi kože (50).

Nadalje, proupalni učinak Ang II očituje se poticanjem aktivacije monocitnog kemotaktičkog proteina 1 (prema engl. *monocyte chemotactic protein-1*, MCP1) koji djelovanjem kao proupalni kemokin regrutira limfocite T i B te makrofage (50). Aktivirani makrofagi M2 nađeni su u koži bolesnika s lokaliziranom sklerodermom te se smatraju mogućim izvorom citokina koji potiču fibrozu (51). Slično je opisano ranije i u patogenezi fibroze bubrega, srca i jetre (52–55).

Proupalni učinak Ang II, odnosno RAS sustava i njegovog konačnog produkta aldosterona, također se očituje poticanjem izlučivanja proupalnih citokina kao što su čimbenik nekroze tumora- α (prema prema engl. *tumour necrosis factor- α* , TNF- α) i IL-6 što je dokazano na modelu štakorskog bubrega (56,57).

Svi navedeni ispreplićući mehanizmi vaskulopatije, upale i fibroze u kojima sudjeluje Ang II, odnosno RAS, nose sličnosti s patogenezom SSc te su u određenoj mjeri većinom uključeni isti medijatori. Uključenost RAS sustava i Ang II u patogenezu SSc dodatno implicira činjenica da je u dijelu bolesnika s dcSSc nađena povišena razina Ang II u serumu i ekspresija AGT u koži (58). Nadalje, u bolesnika sa SSc, prema nekim autorima, zabilježena je niža aktivnost ACE u plazmi (59).

ACE, kao enzim koji sudjeluje u stvaranju Ang II, smatra se glavnim posrednikom navedenih puteva, stoga je njegova uloga u ravnoteži RAS sustava u praktički svim tkivima i organima, kao i u cjelokupnoj homeostazi organizma, nezamjenjiva (39).

1.3. Polimorfizam gena za ACE

Razine ACE u plazmi jedne osobe stacionarne su u višekratnim mjerenjima, ali postoje velike individualne razlike u razinama ACE u plazmi različitih ispitanika te također sličnosti unutar iste obitelji, što ukazuje na genetsku podlogu (60). Gen za ACE izoliran je na dugom kraku kromosoma 17 (17q23) te sadrži 26 egzona i 25 introna (61,62). Rigat i sur. pronašli su polimorfizam ACE-gena koji uključuje inserciju (I) ili deleciju (D) 287 parova baza sekvence DNA u intronu 16 ACE-gena (63,64). Aktivnost ACE u nosioca polimorfizma DD je dvostruko veća od nosioca polimorfizma II, a

ispitanici s genotipom ID su imali srednje razine (63). Navedeni polimorfizam odgovoran je za otprilike polovinu zapažene varijacije u razini ACE (63). Temeljem ovih saznanja, provedena su istraživanja o povezanosti ACE-polimorfizma s različitim bolestima te je pozitivna korelacija dokazana u koronarnoj bolesti, hipertrofiji lijeve klijetke, arterijskoj hipertenziji, venskom tromboembolizmu i bubrežnoj bolesti (65). U većini istraživanja alel D ili genotip DD, odnosno viša razina ACE, povezuje se s patološkim učincima (65).

Kako je ranije spomenuto da je SSc bolest koju obilježavaju, uz imunološku disregulaciju, fibrozne promjene i mikrovaskularni poremećaji te s obzirom na utvrđena saznanja o RAS i ACE u regulaciji vaskularnog sustava, uloga ovog enzima i polimorfizma odgovornog za njegove razine u bolesnika sa SSc istražena je u nekoliko radova (66–78). Naglasak je stavljen na ozljedu endotela kao najvažnijeg čimbenika koji potiče kaskadu događaja, uključujući migraciju glatkih mišićnih stanica u intimu i posljedično smanjenje lumena krvne žile što dovodi do tkivne ishemije i gangrene (79).

Tako je u radu Fatini i sur. na 73 talijanska bolesnika sa SSc utvrđen povišen rizik za razvoj SSc u osoba s alelom D (66). Međutim, s obzirom da alel D utječe na višu aktivnost ACE, to je u suprotnosti s prijašnjim istraživanjima prema kojima je u bolesnika sa SSc nađena smanjena aktivnost ACE u cirkulaciji (67–69). No autori zapažanje objašnjavaju činjenicom da uslijed kronične ozljede endotela dolazi do pojačanog lokalnog izlučivanja ACE i posljedične smanjene aktivnosti cirkulirajućeg ACE kao oblika regulacije naniže, kao i povoljan učinak ACEi u renalnoj krizi ili plućnoj hipertenziji u SSc (66,70,71).

Mayer i sur. istraživali su utjecaj polimorfizma ACE-gena na pojavu histološki potvrđene maligne vaskularne ozljede bubrega u 48 bolesnika s dijagnozama maligne hipertenzije, hemolitičko-uremičnog sindroma i SSc pri čemu je bilo samo 10 bolesnika s dijagnozom SSc (72). U usporedbi sa zdravom populacijom utvrđeno je da alel D predstavlja rizični čimbenik za razvoj maligne vaskularne ozljede te autori također zaključuju da je moguće da alel D predstavlja rizik i za razvoj SSc, a ne samo maligne vaskularne ozljede (72).

Predispozicija za razvoj SSc nije jednaka u svim promatranim populacijama. U kohorti 48 talijanskih bolesnika i 112 zdravih Talijana naspram 41 grčkog bolesnika sa SSc i 93 zdrava Grka, dokazana je povezanost alela D s pojavom SSc u Talijana, no ne u Grka kod kojih je alel D zabilježen češće u zdravih kontrola (73). Slično je utvrđeno na američkoj kohorti 164 bolesnika različitog rasnog profila (Afroamerikanci, Hispanoamerikanci i bijelci) te u korejskoj kohorti 72 bolesnika prema kojima polimorfizam ACE-gena nije predispozicijski čimbenik za SSc (74,75). U američkoj kohorti dodatno je analizirana povezanost ACE-gena s pojavom muskuloskeletnih manifestacija bolesti i sklerodaktilijom koja je bila češća u osoba genotipa DD, no nakon korekcije u multivarijatnoj analizi,

statistička značajnost nije dokazana (74). U korejskoj kohorti također nije nađena značajna razlika u učestalosti alela D s obzirom na klinička obilježja oboljelih (75).

S druge strane, analizirajući vaskularna obilježja SSc, Bartoli i sur. su u kohorti 53 bolesnika dokazali veće zadebljanje intime i medije karotidnih arterija u osoba genotipa DD i ID (76). Također je analizirana povezanost vrijednosti pedobrahijalnog indeksa (prema engl. *ankle brachial index*, ABI) s ACE-polimorfizmom, no ista nije dokazana (76).

Najveća kohorta bolesnika u istraživanju uloge ACE-gena u predispoziciji razvoja SSc bila je u studiji Wipffa i sur. (77). U ukupno 494 etnički homogenih bolesnika nije nađena povezanost ACE-genotipa s razvojem SSc (77).

Konačno, metanaliza Songa i sur. 7 studija povezanosti ACE-gena s predispozicijom za razvoj SSc na ukupno 837 bolesnika i 754 zdravih osoba nije našla navedenu povezanost (78). Razmatrane studije bile su etnički heterogene, pri čemu su 4 bile europske i po jedna studija odnosila se na azijsku, afroameričku i latinoameričku populaciju (78).

Većina navedenih istraživanja, izuzev Songa i sur. te Wipffa i sur., provedena je na malenom uzorku. Nadalje, sva dostupna istraživanja povezanosti polimorfizma gena za ACE sa SSc, odnosila su se na povezanost ACE-gena s predispozicijom razvoja bolesti, a u bibliografskim bazama podataka nedostaju radovi s temom povezanosti polimorfizma ACE-gena s težinom različitih manifestacija SSc. Zbog neupitne uloge RAS sustava koji je dijelom pod utjecajem ACE-gena, kako u SSc, tako i u drugim bolestima sa sličnim obilježjima kao SSc te nedovoljno istražene tematike na većinom malim uzorcima, ova disertacija je izrađena u svrhu ispitivanja povezanosti polimorfizma ACE-gena s težinom kliničke slike SSc analizirajući različite manifestacije bolesti.

2. HIPOTEZA

Bolesnici s polimorfizmom DD ACE-genotipa imaju težu kliničku sliku SSc, uzevši u obzir zahvaćanje pluća, bubrega, srca, GI sustava, kože i vaskularnog sustava. Dakle, postoji pozitivna povezanost polimorfizma DD ACE-gena s težinom kliničke slike bolesnika sa SSc.

3. CILJEVI RADA

3.1. Opći cilj

Ispitati povezanost ACE-genotipa s fenotipskim obilježjima oboljelih od SSc

3.2. Specifični ciljevi

1. Ispitati povezanost ACE-genotipa s početkom pojave bolesti u smislu pojave RP kao prve manifestacije bolesti te postavljanja dijagnoze bolesti
2. Ispitati povezanost ACE-genotipa s lcSSc i dcSSc
3. Ispitati povezanost ACE-genotipa s pojavom plućnih promjena, odnosno plućne fibroze, evidentirane HRCT-om te poremećaja funkcije pluća evidentirane spirometrijom i DLco
4. Ispitati povezanost ACE-genotipa sa stupnjem PAH ustanovljene ultrazvukom srca
5. Ispitati povezanost ACE-genotipa s težinom RP i perifernom vaskulopatijom s obzirom na pojavu DU i izračunatog mRSS te nalaza ABI
6. Ispitati povezanost ACE-genotipa sa stupnjem bubrežne bolesti

4. ISPITANICI I METODE

U retrospektivnom opservacijskom istraživanju provedena je analiza: (a) obilježja bolesnika sa SSc liječenih u Zavodu za kliničku imunologiju i reumatologiju KBC-a Zagreb, (b) povezanosti polimorfizma ACE-gena s manifestacijama SSc s težinom kliničke slike pojedinog organskog sustava.

4.1. Ispitanici

Ispitanici su bolesnici s dijagnozom SSc koji se liječe u Zavodu za kliničku imunologiju i reumatologiju KBC-a Zagreb te su uključeni u elektroničku bazu podataka Europske skupine za ispitivanje i istraživanje skleroderme (prema engl. *EULAR Scleroderma Trials and Research Group*, EUSTAR). Svi bolesnici detaljno su bili upoznati s ciljevima istraživanja te su prilikom redovne kliničke kontrole u Poliklinici Zavoda za kliničku imunologiju i reumatologiju KBC-a Zagreb potpisali informirani pristanak za sudjelovanje u istraživanju. Anonimnost im je bila zajamčena na način da je svakom bolesniku bio dodijeljen vlastiti broj pod kojim su upisani u bazu podataka EUSTAR odnosno u bazu podataka za izradu ovog rada.

Istraživanje je odobreno od strane Etičkog povjerenstva KBC-a Zagreb i Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

4.2. Uključni kriteriji

Uključeni su punoljetni bolesnici oba spola s dijagnozom SSc prema klasifikacijskim kriterijama ACR/EULAR iz 2013. godine (prikazani u Tablici 1). Inicijalno je pretraživanjem medicinske dokumentacije prema šifri dijagnoze pronađen ukupno 141 bolesnik s dijagnozom SSc.

4.3. Isključni kriteriji

Šestero bolesnika isključeno je iz istraživanja jer im je u međuvremenu revidirana dijagnoza, pri čemu je jedna bolesnica imala cirkumskriptnu sklerodermu, jedna ANCA-vaskulitis, jedna preklapajuću bolest (polimiozitis, reumatoidni artritis i SSc), dvoje bolesnika imalo je antisintetazni sindrom i jedna bolesnica nedeterminiranu kolagenozu. U istraživanje je stoga konačno uključeno 135 bolesnika prema jasnim klasifikacijskim kriterijama koje su uskladili ACR i EULAR.

4.4. Prikupljanje podataka

U istraživanju su korišteni podatci o bolesnicima s dijagnozom SSc koji su višekratno pregledani u Zavodu za kliničku imunologiju i reumatologiju Klinike za unutarnje bolesti Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, KBC-a Zagreb, u razdoblju od siječnja 2019. do siječnja 2022. godine. Podatci su prikupljeni iz medicinske dokumentacije bolesnika koja uključuje ambulantne kartone, arhivirane povijesti bolesti i podatke pohranjene u računalnom obliku u bazi podataka EUSTAR te Bolničkom informacijskom sustavu KBC-a Zagreb.

U prigodno oblikovanu bazu podataka upisani su najprije demografski i drugi opći podatci o bolesnicima dobiveni pretraživanjem medicinske dokumentacije.

Upisani su sljedeći podatci:

- datum rođenja;
- spol;
- podvrsta bolesti: lcSSc ili dcSSc;
- prisutnost protutijela usmjerenih na CENP-B ili Scl-70 odnosno ostalih protutijela ako su oba navedena protutijela negativna;
- dob prilikom postavljanja dijagnoze te nakon 5 i 10 godina praćenja.

Uzete su 3 vremenske točke: vrijeme postavljanja dijagnoze prema dostupnoj medicinskoj dokumentaciji te vrijeme nakon 5 i 10 godina praćenja.

Zatim su za svaku od 3 vremenske točke upisani podatci dobiveni pretraživanjem medicinske dokumentacije o tjelesnoj težini i visini, prisutnosti komorbiditeta koji predstavljaju kardiovaskularni rizik kao što su šećerna bolest, arterijska hipertenzija i dislipidemija, anamnestički podatci o simptomima zahvaćanja pojedinih organskih sustava te vrijednost laboratorijskih parametara, nalazi ehokardiografije, radiološki nalazi HRCT-a pluća i testova plućne funkcije.

Izračunat je BMI za svakog bolesnika u sve 3 vremenske točke prema formuli $BMI = \text{tjelesna masa (kg)}/\text{visina (m)}^2$.

Kako se u nekih bolesnika vrijeme mjerenja ABI preklapalo s vremenom postavljanja dijagnoze ili vremenom 5 odnosno 10 godina nakon postavljanja dijagnoze, a u ostalih je pak riječ o potpuno drugoj vremenskoj točki, dodatno su upisane sve kategorije anamnestičkih podataka i vrijednosti laboratorijskih nalaza i ostalih prethodno opisanih parametara i za četvrtu točku vremena – vrijeme mjerenja ABI.

4.4.1. Zahvaćanje kože i perifernog vaskularnog sustava

Za procjenu zahvaćanja kože i procjenu periferne vaskulopatije korišteni su podatci o mRSS i prisutnosti DU.

4.4.2. Zahvaćanje lokomotornog sustava

Za procjenu zahvaćanja lokomotornog sustava korišteni su anamnestički podatci o prisutnosti ili odsutnosti kontraktura zglobova i sinovitisa, TFR, mišićne slabosti i atrofije te nalazi CK. Međutim, u konačnici je zbog nedovoljno podataka o TFR navedena kategorija izbačena iz statističke analize.

4.4.3. Zahvaćanje gastrointestinalnog sustava

Zahvaćanje GI sustava procijenjeno je temeljem anamnestičkih podataka o pojavi disfagije i refluksa kao simptoma zahvaćanja jednjaka, zatim osjećaja rane sitosti i povraćanja kao simptoma zahvaćanja želuca te pojave kroničnog proljeva, nadutosti ili konstipacije kao simptoma zahvaćanja donjeg dijela probavnog sustava.

4.4.4. Zahvaćanje bubrega

Za opis bubrežne bolesti, odnosno procjenu bubrežnog oštećenja, korišteni su anamnestički podatci o pojavi renalne krize te vrijednosti nalaza kreatinina, procijenjene glomerularne filtracije (prema engl. *estimated glomerular filtration rate*, eGFR) i proteinurije.

Za izračun eGFR korištena je formula Kolaboracije za epidemiologiju kronične bubrežne bolesti (prema engl. *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*, CKD-EPI) iz 2009. godine s obzirom na to da je riječ o bjelačkoj populaciji (80). Patološka vrijednost eGFR određena je kao $<60 \text{ mL/min/1,73m}^2$, a patološki nalaz proteinurije određen je kao $>0,15 \text{ g/dU}$ (81). Stadiji kronične bubrežne bolesti (KBB) određeni su prema sljedećim vrijednostima eGFR: 30-59 mL/min/1,73m² stadij 3, 15-29 mL/min/1,73m² stadij 4 i $<15 \text{ mL/min/1,73m}^2$ stadij 5 (81).

4.4.5. Zahvaćanje srca

Zahvaćanje srca procijenjeno je na temelju anamnestičkog podatka o pojavi bilo kojeg oblika srčane aritmije, kao što su atrijska fibrilacija (AF), atrioventrikularni (AV) blok, i blokovi grana Hisovog snopa te vrijednosti LVEF upisane u povijest bolesti. Zabilježenim nalazom ehokardiografskog mjerenja sistoličkog tlaka u desnoj klijetci (prema engl. *right ventricular systolic pressure*, RVSP) evidentirana je sumnja na pojavu PAH koja je definirana kao RVSP $>35 \text{ mm Hg}$.

4.4.6. Zahvaćanje pluća

Plućne manifestacije bolesti objektivizirane su temeljem zabilježenih strukturnih promjena opisanih HRCT-om kao što su fibroza, zrnato staklo, saćasto pluće odnosno nespecifična intersticijska pneumonija (prema engl. *nonspecific interstitial pneumonia*, NSIP), uobičajena intersticijska pneumonija (prema engl. *usual interstitial pneumonia*, UIP) i ostali patološki obrasci te vrijednostima testova plućnih funkcija FEV1, FVC i DLco koji su dostupni u povijesti bolesti. Kao patološki nalaz FEV1 i FVC uzete su vrijednosti <80%, a DLco <76%.

4.4.7. Aktivnost i težina bolesti

Kao mjera aktivnosti bolesti uzete su vrijednosti SE, CRP te komponenti komplementa C3 i C4 koje su bile dostupne u dokumentaciji.

Tijekom sve tri vremenske točke izračunati su zbrojevi aktivnosti ukupne bolesti prema EScSG-AI iz 2003. godine, zatim prema EUSTAR-AI iz 2016. godine.

Također su u sve tri vremenske točke utvrđeni stupnjevi težine bolesti od 0-4 pojedinog organskog sustava i općih simptoma prema Medsgerovoj ljestvici težine bolesti i njihov ukupni zbroj.

4.4.8. Lijekovi

Dodatno su upisani podatci o liječenju osnovne bolesti u sve tri vremenske točke te su zabilježeni podatci o ukupnoj dozi prednizona, dozi prednizona po kilogramu tjelesne mase, korištenju drugih imunosupresivnih lijekova kao što su MTX, AZA, LEF, MMF, CyC, CsA, zatim korištenju D-penicilamina, antimalarika i antifibrotika, nesteroidnih antireumatika (NSAID), acetil-salicilne kiseline, oralnih antidijabetika, inzulina, hipolipemika, IPP, antiaritmika, terapije za liječenje plućne hipertenzije, oksigenoterapije, ACEi, blokatora angiotenzinskih receptora (prema engl. *angiotensin receptor blocker*, ARB), blokatora kalcijских kanala, analoga prostaciklina, pentoksifilina, RTX i barokomore.

4.4.9. Vrijeme pojave prvih simptoma i dijagnoze bolesti

Zabilježeno je vrijeme pojave RP, kao i vrijeme i opis prvog ne-Raynaudovog simptoma bolesti te je izračunato vrijeme proteklo od pojave RP do prvog ne-Raynaudovog simptoma bolesti u godinama. Ne-Raynaudovi simptomi bolesti podijeljeni su u sljedeće kategorije: inicijalna kožna manifestacija koja je opisana kao pojava DU i zatezanja kože, plućna manifestacija koja je opisana pojavom zaduhe, manifestacija na lokomotornom sustavu s obzirom na pojavu artralgijskih i oticanja zglobova te četvrtu kategoriju čine ostali simptomi kao što su disfagija i *sicca-sindrom*.

4.4.10. Umrli bolesnici

Zabilježen je broj umrlih bolesnika, kao i dob kada su bolesnici preminuli te vrijeme od pojave RP do smrti, kao i vrijeme od postavljanja dijagnoze do smrti.

4.5. Postupak vađenja krvi

Od svakog bolesnika je prilikom redovne kliničke kontrole nadležnog specijalista u Poliklinici Zavoda za kliničku imunologiju i reumatologiju u razdoblju od siječnja 2019. do siječnja 2022. godine jednokratno uzet uzorak periferne venske krvi u jednu epruvetu od 3 mL s antikoagulansom K₃EDTA s ciljem određivanja ACE-genotipa.

4.6. Izdvajanje DNA

DNA potrebna za analizu ACE-genotipa zatim je izdvojena iz periferne venske krvi u Odjelu za molekularnu laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog Zavoda za laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Zagreb. Izdvajanje je provedeno na uređaju QIAcube® (Qiagen®, Nizozemska) pomoću seta reagensa QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen®, Nizozemska). Za postupak izdvajanja DNA korišten je uzorak periferne venske krvi volumena 200 µL koji je uzet u spremnik s antikoagulantom K₃EDTA. Uređaj QIAcube (Qiagen®, Nizozemska) je robotska radna stanica namijenjena za automatizirano izdvajanje nukleinskih kiselina iz raznih primarnih uzoraka (puna krv, kultura stanica, bris bukalne sluznice itd.). Postupak izdvajanja provodi se koristeći standardne komplete reagensa QIAgen (Qiagen®, Nizozemska) za izdvajanje DNA na kolonicama (membrane sa silika gelom). Za potrebe ovog istraživanja korišten je uzorak periferne venske krvi s antikoagulantom K₃EDTA, a izdvajanje je učinjeno koristeći komercijalni komplet reagensa QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen®, Nizozemska), prema protokolu proizvođača. Pomoću lizirajućeg pufera vrši se liza stanica pri čemu pH i ionska jakost lizata onemogućuju vezanje interferirajućih tvari na membranu kolonice. Enzimskom reakcijom koristeći proteinazu K uklanjaju se svi stanični proteini i ostale makromolekule. Primjenom apsolutnog etanola DNA se adsorbira iz liziranog uzorka na membranu kolonice. Nakon vezanja na membranu, DNA se pročišćava dvostrukim ispiranjem s puferima te se eluira s membrane koristeći pufer za eluciju. Dobiveni uzorak DNA se pohranjuje u hladnjaku na temperaturi od 4°C.

4.7. Analiza genotipa ACE

Utvrđivanje genotipa polimorfizma I/D u 16. intronu gena za ACE provedeno je standardom metodom lančane reakcije polimerazom (prema engl. *polymerase chain reaction*, PCR) i elektroforezom u agaroznom gelu. Reakcija PCR započinje s inicijalnom denaturacijom gdje se

razdvajaju komplementarni lanci DNA te dolazi do aktivacije DNA polimeraze. Nakon inicijalne denaturacije slijede tri koraka koja se naizmjenično ponavljaju: denaturacija, vezanje početnica te korak produljivanja u kojem se sintetiziraju novi lanci. Temperatura vezanja ovisi o samom sastavu korištenih početnica. U posljednjem koraku reakcije sintetiziraju se sve preostale jednolančane DNA. Nakon što je završena reakcija umnoženi se odsječak pohranjuje na 4 °C. Umnažanje DNA odsječaka učinjeno je u PCR uređaju MiniAmp Plus® (Applied Biosystems®, Sjedinjene Američke Države) kroz 25 ciklusa koristeći reakcijsku smjesu koja je sadržavala genomsku DNA, dvije početnice, enzim Taq DNA polimerazu, pufer s MgCl₂ i mješavinu 4 deoksiribonukleotida (dATP, dCTP, dGTP i dTTP). Genotipizacija je provedena analizom produkata reakcije PCR koristeći metodu horizontalne elektroforeze u agaroznom gelu usporedbom uzorka bolesnika s odgovarajućim molekularnim biljegom kao standardom veličine. Pripremanje agaroznog gela učinjeno je otapanjem 1 g agaroze (Agarozna DNA Grade®, Invitrogen®, Sjedinjene Američke Države) u 50 mL 1X TBE pufera (225 mM Tris, 225 mM H₃BO₃, 5 mM Na EDTA, pH 8,3) zagrijavanjem u mikrovalnoj pećnici. Nakon što je agarozna potpuno otopljena, agarozni se gel ohladi te se u njega dodaje fluorescentna boja GelRed® (Olerup SSP AB®, Švedska) koja na UV-transiluminatoru omogućava vizualizaciju DNA. Ohlađena smjesa agaroznog gela se izlijeva u kalup za pripremu gelova u koji je umetnut češljik koji će omogućiti stvaranje jažica te je za postupak polimerizacije gela potrebno oko 30 minuta. Nakon što se gel polimerizirao prenosi se u kadicu s puferom 1X TBE. Zatim se u jažice gela nanose umnoženi odsjecci DNA. Elektroforeza se provodi u trajanju od 60 minuta koristeći pufer 1X TBE uz napon struje od 110 V i jakost od 400 mA. Nakon postupka elektroforeze odsjecci DNA se vizualiziraju u uređaju za snimanje i dokumentaciju gelova G:BOX CHEMI XRQ® (SynGene®, Velika Britanija). Veličine odsječaka DNA za I/D polimorfizam su: II genotip = 490 pb, DD genotip = 190 pb, ID genotip = 490 / 190 pb.

4.8. Postupak mjerenja pedobrahijalnog indeksa (ABI)

Također je jednokratno prilikom redovne kontrole izmjeren ABI pomoću uređaja WatchBP®OfficeABI (Microlife®, Švicarska). Određena je veličina orukvice prema konstituciji bolesnika (srednja veličina, veličine 22-32 cm, i velika, veličine 32-42 cm). Nakon 5-10 minuta ležanja u mirnoj sobi, svakom bolesniku je u ležećem položaju postavljena orukvica na obje gole nadlaktice na način da je donji kraj orukvice otprilike 2-3 cm iznad lakta i izmjeren arterijski tlak na obje ruke u 3 navrata u razmaku od 1 minute čime je određena ruka s višim vrijednostima art. tlaka. Zatim je postavljena orukvica na jednu nogu, pri čemu je donji kraj orukvice 2-3 cm iznad gležnja, a prva orukvica ostala je postavljena na ruci s ranije izmjerenim višim art. tlakom te je izmjeren ABI na jednoj nozi u 3 navrata s razmakom od 1 minute. Nožna orukvica je potom zamijenjena odnosno postavljena na drugu nogu te je ponovljen postupak mjerenja u 3 navrata u razmaku 1 minute. Kao

konačni rezultat uzeta je prosječna srednja vrijednost 3 mjerenja ABI lijeve, odnosno desne noge. Stupnjevanje periferne arterijske bolesti (PAD) prema vrijednosti ABI je sljedeći: <0,5 težak PAD, 0,5 – 0,89 srednje težak PAD, 0,90 – 0,99 graničan, 1,0 – 1,39 uredan nalaz, ≥1,40 povišen ABI (82).

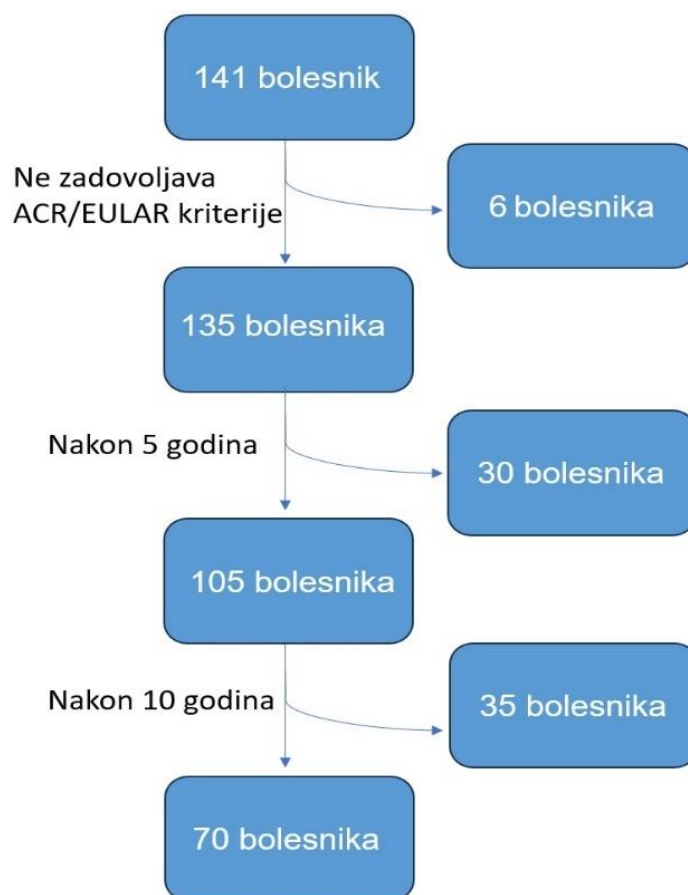
4.9. Statistička analiza

S obzirom na rezultate Kolmogorov-Smirnovljevog testa u daljnjoj analizi i načinu prikaza kontinuiranih varijabli koristili su se neparametrijski testovi. Kod razlika unutar pojedinih vremena mjerenja koristio se Kruskal-Wallisov test, dok su se razlike u pojedinim kontinuiranim vrijednostima između prvog i zadnjeg mjerenja analizirale Wilcoxonovim testom. Razlike u kategorijskim vrijednostima analizirane su Fisher-Freeman-Haltonovim egzaktnim testom. Sve p-vrijednosti manje od 0,05 su smatrane značajnima. U analizi se koristila licencirana programska podrška IBM SPSS za Windows, verzija 29.0.

5. REZULTATI

5.1. Obilježja bolesnika

Od inicijalno 141 bolesnika s dijagnozom SSc u istraživanje je u konačnici uključeno 135 bolesnika. Međutim, podatci nakon 5 godina i 10 godina praćenja bili su dostupni samo za 105, odnosno 70 osoba jer dio bolesnika još nije doživio 5 odnosno 10 godina praćenja od postavljanja dijagnoze, dio bolesnika je umro, a dio izgubljen iz praćenja. Navedeno je prikazano na Shemi 1.

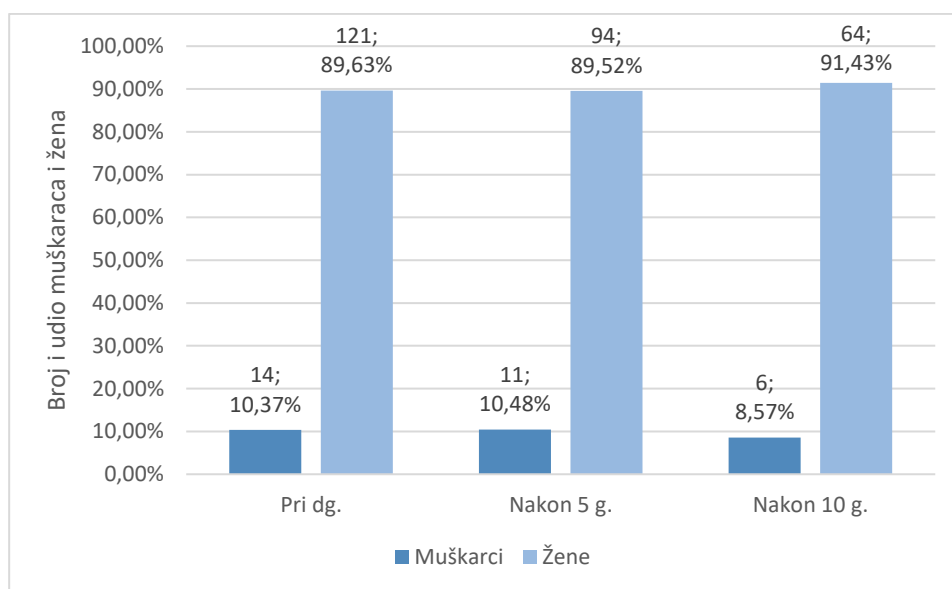


Shema 1. Isključeni bolesnici tijekom godina

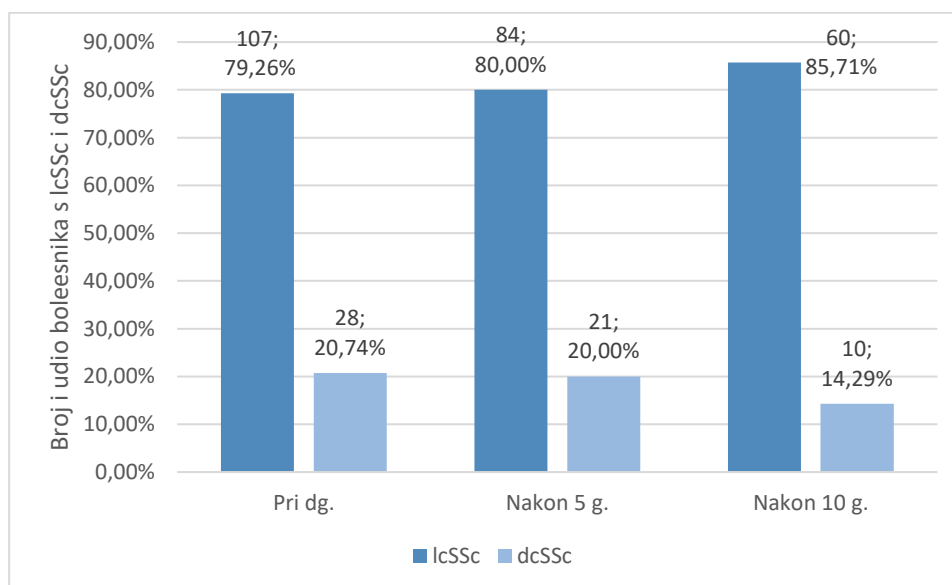
5.1.1. Opća obilježja bolesnika

5.1.1.1. Spol i tip bolesti

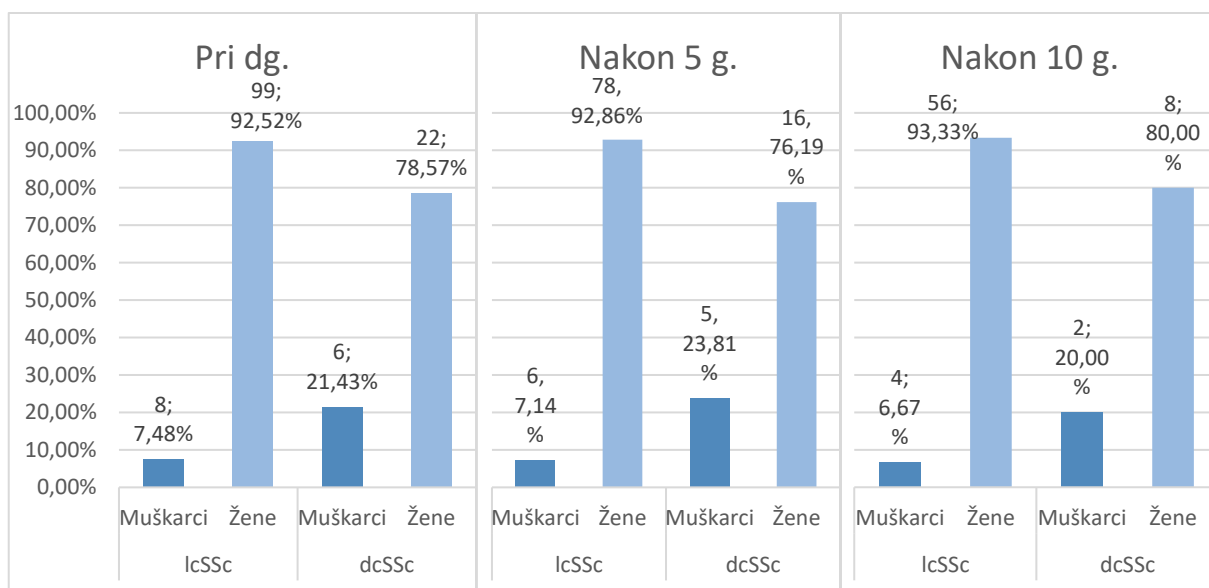
Među bolesnicima većina su bile žene, a najveći broj bolesnika imao je lcSSc oblik bolesti što je prikazano na Slikama 1-3.



Slika 1. Broj i udio muškaraca i žena u 3 vremenske točke



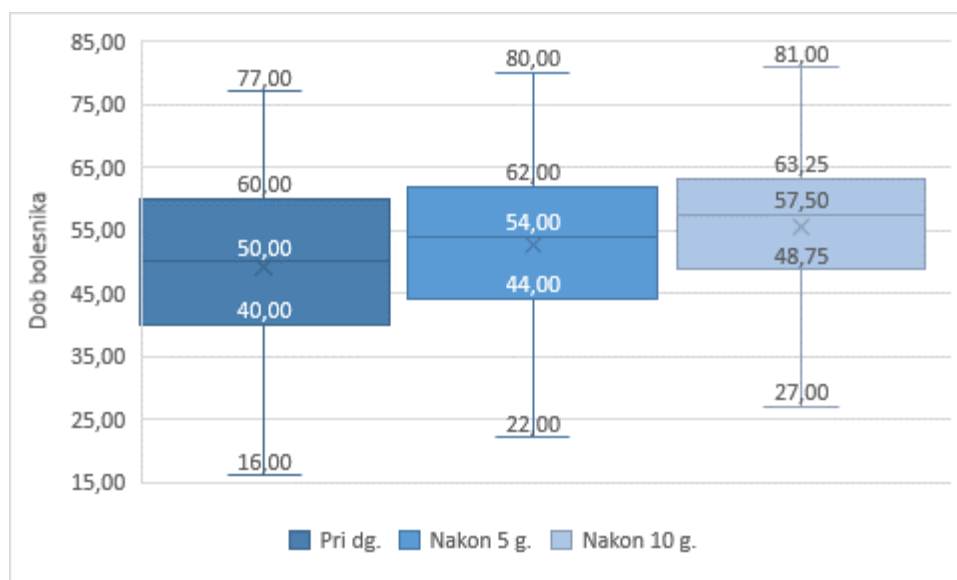
Slika 2. Broj i udio bolesnika s limitiranim (lcSSc, prema engl. *limited cutaneous systemic sclerosis*) i difuznim oblikom bolesti (dcSSc, prema engl. *diffuse cutaneous systemic sclerosis*) u 3 vremenske točke



Slika 3. Broj i udio bolesnika s limitiranim (lcSSc, prema engl. *limited cutaneous systemic sclerosis*) i difuznim oblikom bolesti (dcSSc, prema engl. *diffuse cutaneous systemic sclerosis*) po spolu u 3 vremenske točke

5.1.1.2. Dob

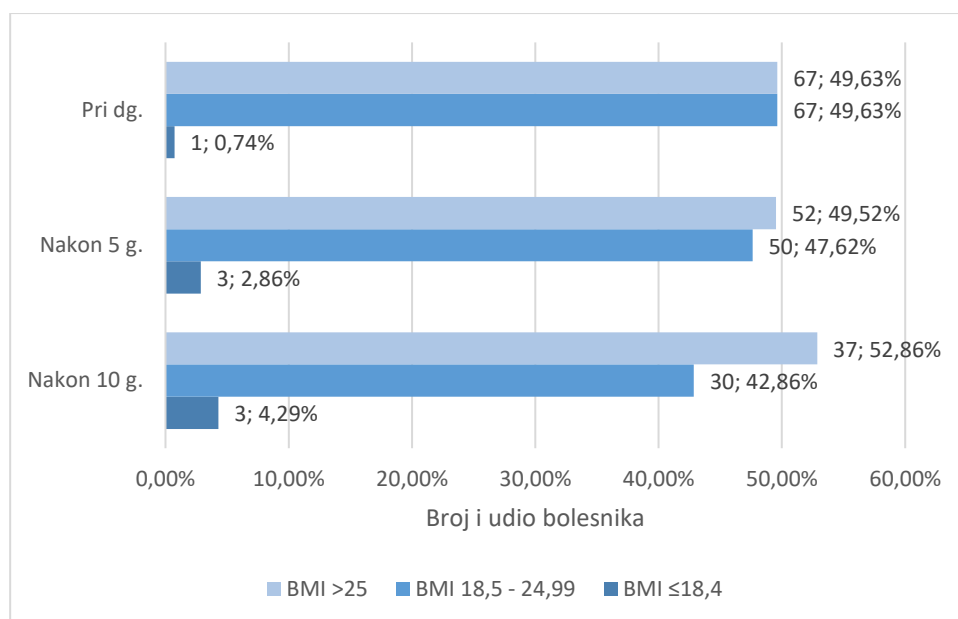
Medijani dobi bolesnika prikazani su na Slici 4. Dob od 16 godina pri postavljanju dijagnoze zabilježena je u bolesnice kojoj je dijagnoza postavljena od strane pedijatrijskog reumatologa te je nakon navršenih 18 godina prešla u našu skrb.



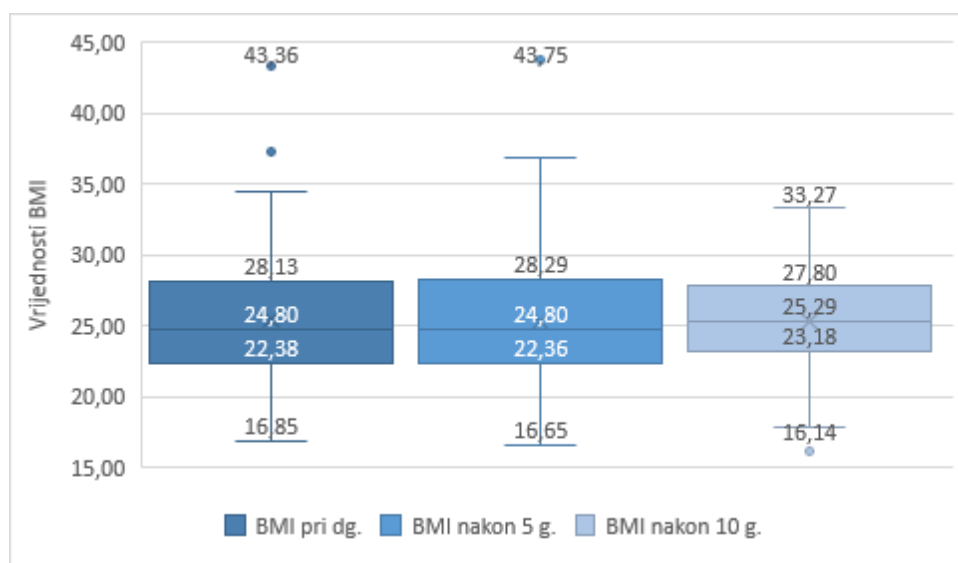
Slika 4. Prikaz bolesnika prema dobi u vrijeme postavljanja dijagnoze, nakon 5 godina praćenja i nakon 10 godina praćenja (medijani, interkvartilni rasponi (prema engl. *interquartile range*, IQR) te minimalne i maksimalne vrijednosti)

5.1.1.3. Indeks tjelesne mase (BMI)

U bolesnika je također određen BMI te je tako zabilježeno da je u vrijeme postavljanja dijagnoze jednak broj i udio bolesnika imao urednu (BMI 18,5 – 24,99) i prekomjernu (BMI ≥ 25) tjelesnu masu (Slika 5), dok je u druga dva razdoblja nakon 5 i 10 godina praćenja najviši broj i udio preuhranjenih bolesnika (Slika 5). U sve tri vremenske točke najmanji broj bolesnika bio je pothranjen (Slika 5). Vrijednosti BMI prikazani su na Slici 6.



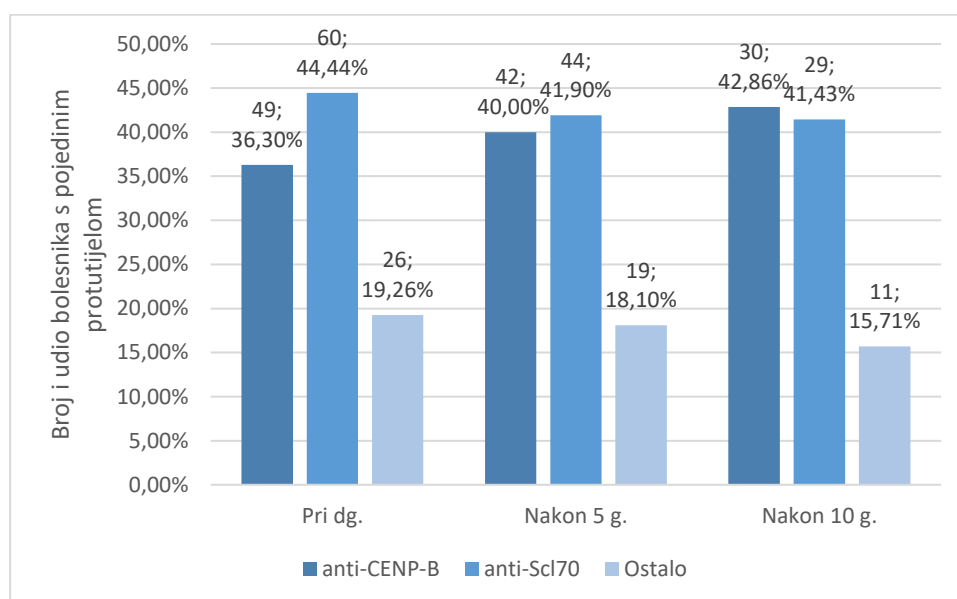
Slika 5. Raspodjela bolesnika u 3 vremenske točke s obzirom na indeks tjelesne mase (prema engl. *body mass index*, BMI)



Slika 6. Vrijednosti indeksa tjelesne mase (prema engl. *body mass index*, BMI) bolesnika u 3 vremenske točke (medijani, interkvartilni rasponi (prema engl. *interquartile range*, IQR) te minimalne i maksimalne vrijednosti)

5.1.1.4. Protutijela

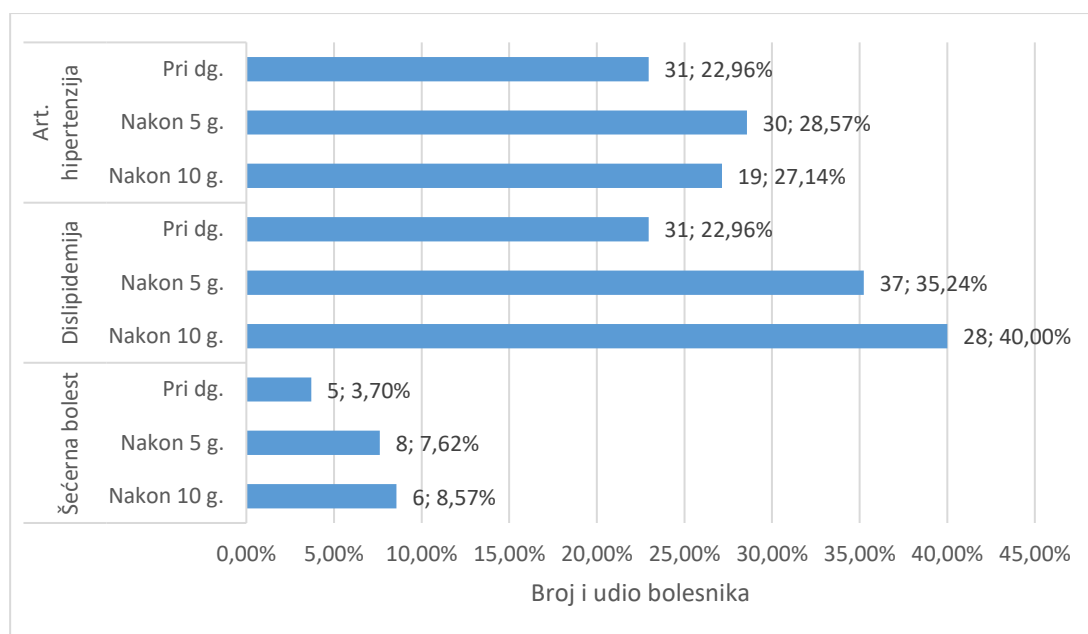
Pri analizi raspodjele bolesnika prema protutijelima vezanim uz SSc, u većine bolesnika zabilježeno je protutijelo usmjereno na Scl-70 (Slika 7). Međutim, u dijelu bolesnika označenih s „ostala protutijela“ zabilježena su druga specifična protutijela za SSc koja nisu anti-Scl-70 i anti-CENP-B ili su pak sva protutijela čije je testiranje dostupno u laboratoriju KBC-a Zagreb bilo negativna, uz pozitivan nalaz antinuklearnih protutijela (prema engl. *antinuclear antibodies*, ANA). Navedeno prikazuje Slika 7.



Slika 7. Distribucija protutijela među našim bolesnicima (anti-CENP-B, protutijelo usmjereno na protein centromera B; anti-Scl70, protutijelo usmjereno na antigen skleroderma 70)

5.1.1.5. Kardiovaskularni komorbiditeti

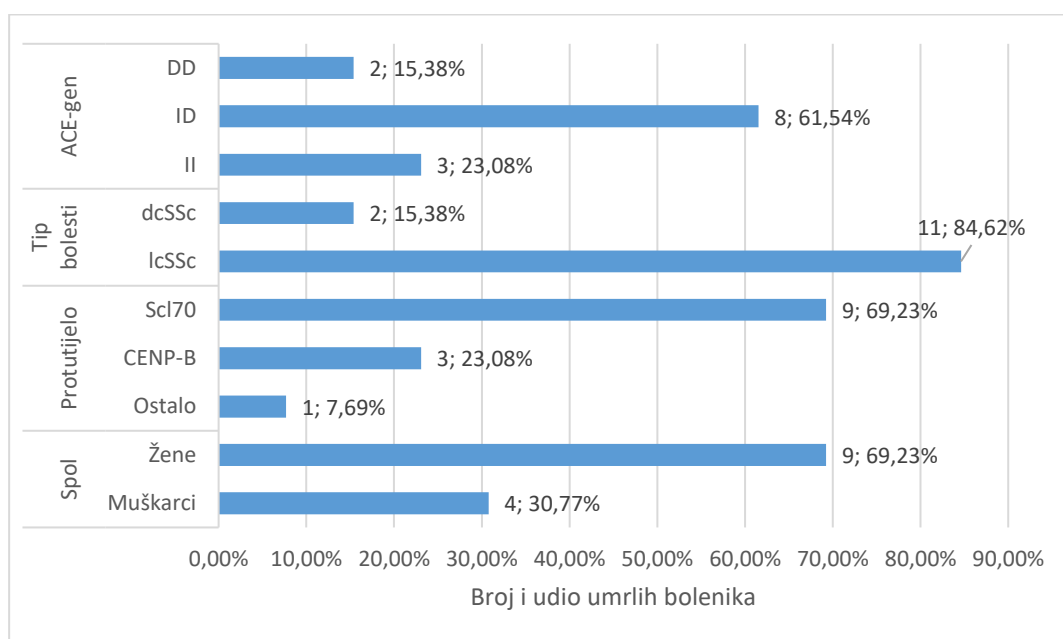
Od komorbiditeta koji predstavljaju kardiovaskularni rizik najveći broj bolesnika imao je dislipidemiju, znatan dio bolesnika imao je art. hipertenziju, a najmanje šećernu bolest. Udio bolesnika s dislipidemijom i šećernom bolešću se tijekom desetogodišnjeg perioda praćenja povisio (Slika 8). Broj bolesnika s art. hipertenzijom se tijekom desetogodišnjeg praćenja smanjio, no njihov udio je ostao uglavnom sličnih vrijednosti (Slika 8).



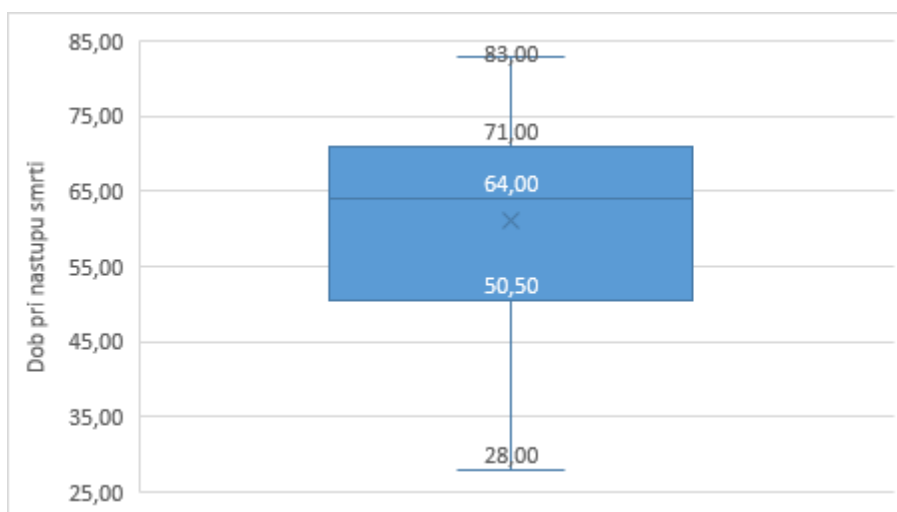
Slika 8. Broj i udio bolesnika s kardiovaskularnim čimbenicima rizika u 3 vremenske točke

5.1.1.6. Umrli bolesnici

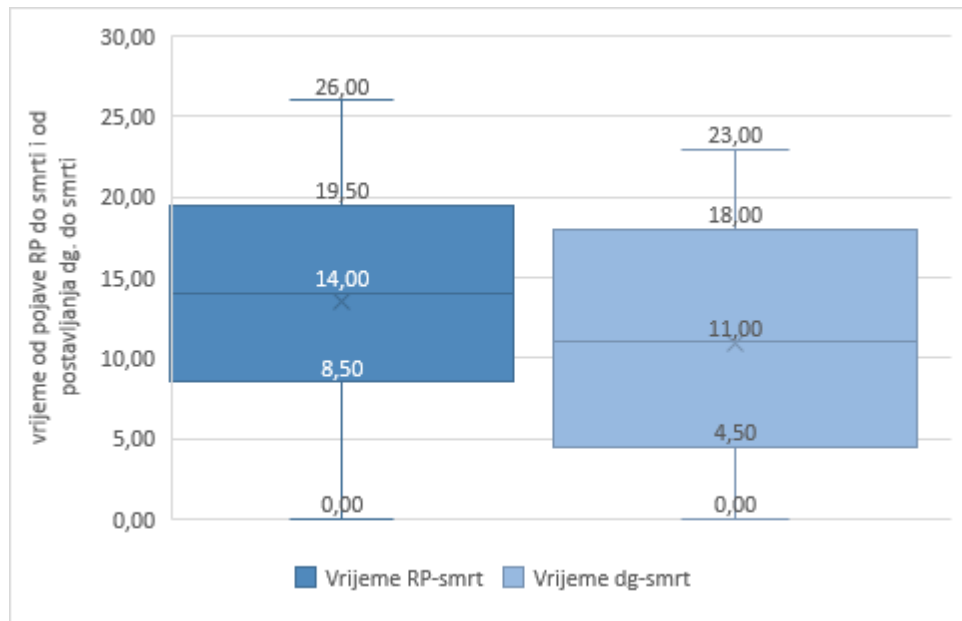
Tijekom trajanja istraživanja umrlo je ukupno 13 bolesnika (9,63%). Podatci o uzrocima smrti nisu bili poznati. Raspodjela umrlih bolesnika po spolu, tipu bolesti, protutijelu i ACE-genotipu te dob smrti i vrijeme proteklo od pojave RP i postavljanja dijagnoze do nastupa smrti prikazani su grafički na Slikama 9, 10 i 11.



Slika 9. Broj i udio umrlih bolesnika po spolu, protutijelu, tipu bolesti i ACE-genotipu (ukupno 13); u postotcima je prikazan udio umrlih u odnosu na ukupan broj umrlih



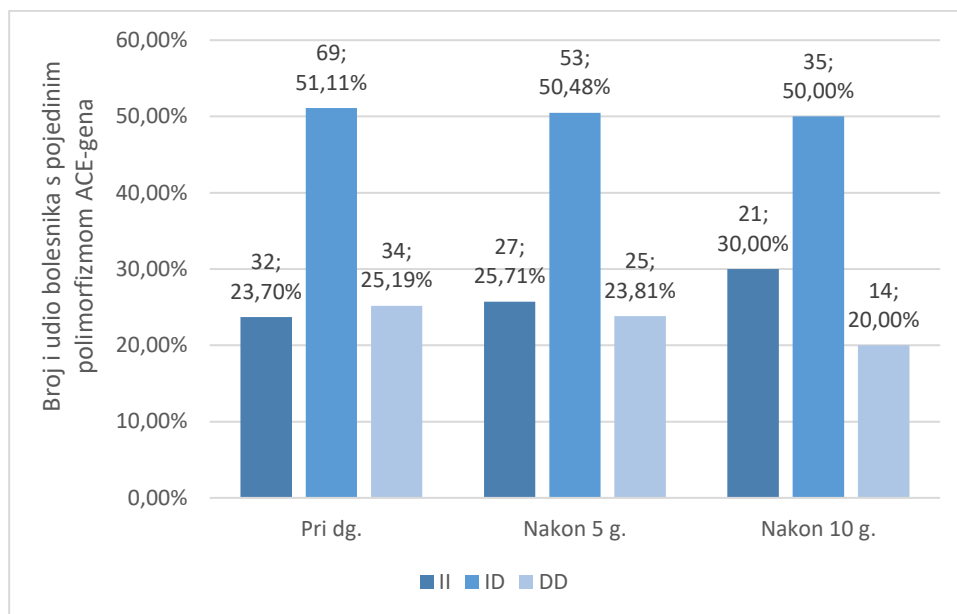
Slika 10. Umrli bolesnici, prikaz prema dobi nastupa smrti (medijan, interkvartilni raspon (prema engl. *interquartile range*, IQR) te minimalne i maksimalne vrijednosti)



Slika 11. Vrijeme od pojave Raynaudovog fenomena (RP) do smrti te od postavljanja dijagnoze (dg.) do smrti u godinama (medijani, interkvartilni rasponi (prema engl. *interquartile range*, IQR) te minimalne i maksimalne vrijednosti)

5.1.2. Polimorfizmi gena za ACE

Najčešće zabilježen polimorfizam ACE-gena je bio polimorfizam ID, dok su II i DD imali sličnu distribuciju pri dijagnozi i nakon 5 godina, no nakon 10 godina praćenja zabilježeno je najmanje bolesnika s DD polimorfizmom. Navedeno je prikazano grafički na Slici 12.

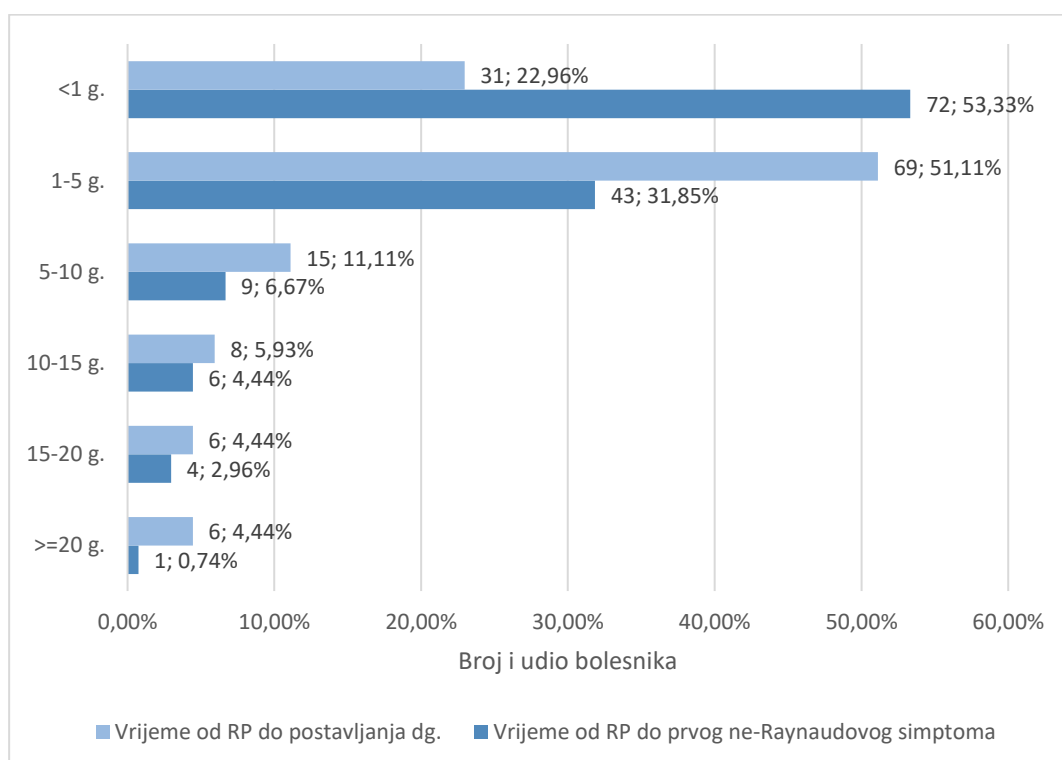


Slika 12. Distribucija polimorfizma gena za ACE u naših bolesnika

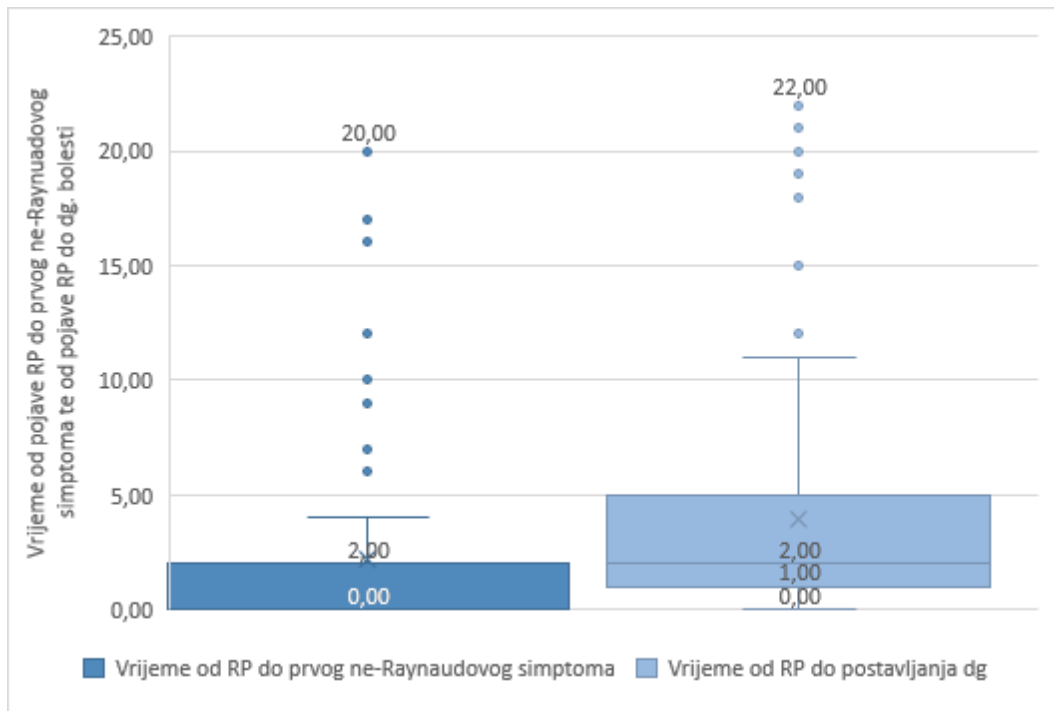
5.1.3. Vrijeme pojave Raynaudovog fenomena i prvog ne-Raynaudovog simptoma

U većine bolesnika utvrđeno je da je vrijeme proteklo od pojave RP do pojave prvog ne-Raynaudovog simptoma SSc manje od 1 godinu (Slika 13), međutim najduži zabilježeni period od pojave RP do pojave prvog ne-Raynaudovog simptoma bio je 20 godina (Slika 14).

Analizirajući vrijeme proteklo od pojave RP kao prve manifestacije bolesti do vremena postavljanja dijagnoze utvrđeno je da je u najviše bolesnika navedeno vrijeme između 1 i 5 godina (Slika 13), međutim čak u 6 bolesnika zabilježeno vrijeme iznosilo je ≥ 20 godina (Slika 13). Navedeni podatci, kao i medijani proteklog vremena prikazani su na Slici 13 i 14.

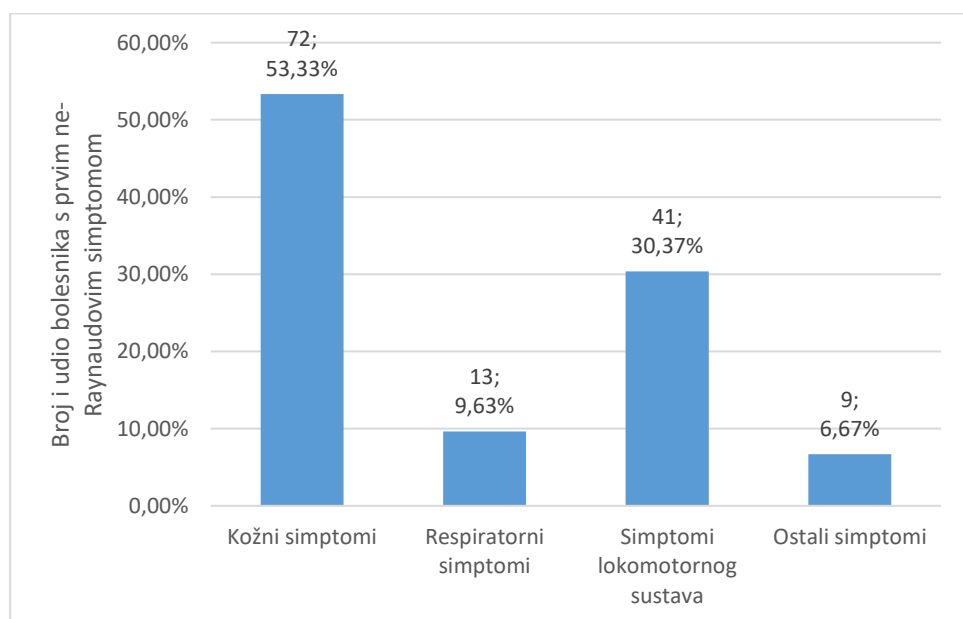


Slika 13. Broj i udio bolesnika prema pojedinim kategorijama vremena s obzirom na proteklo vrijeme od početka pojave Raynaudovog fenomena (RP) do početka prvog ne-Raynaudovog simptoma te s obzirom na vrijeme od pojave RP do postavljanja dijagnoze (dg.)



Slika 14. Vrijeme u godinama od pojave Raynaudovog fenomena (RP) do prvog ne-Raynaudovog simptoma bolesti te vrijeme u godinama od pojave RP do dijagnoze bolesti (dg.) (medijani, interkvartilni rasponi (prema engl. *interquartile range*, IQR) te minimalne i maksimalne vrijednosti)

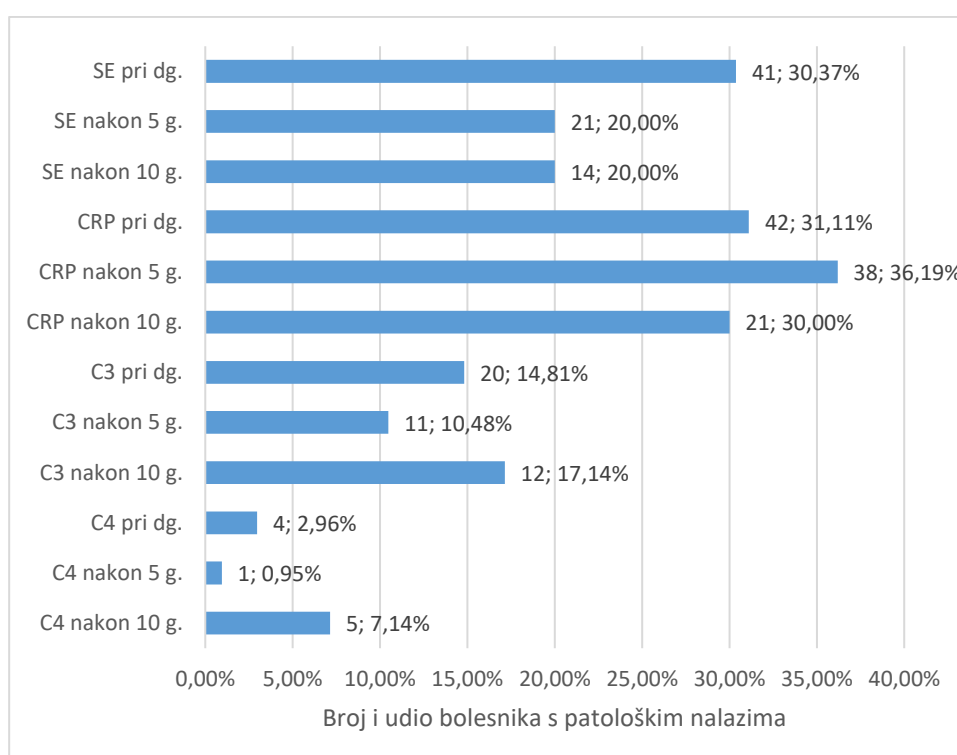
Analizirajući opis prvih simptoma nakon pojave RP, utvrdili smo da je najviše bolesnika kao prvi ne-Raynaudov simptom SSc imao kožne simptome (DU i zatezanje kože), a najmanje bolesnika imalo je disfagiju ili *sicca-sindrom*. Podatci su prikazani na Slici 15.



Slika 15. Podjela bolesnika prema prvom ne-Raynaudovom simptomu bolesti

5.1.4. Upalna aktivnost prema vrijednostima SE, CRP, C3 i C4

Promatrajući upalnu aktivnost mjerenu vrijednostima SE, CRP te komponentama komplementa C3 i C4, najviši broj bolesnika s povišenom vrijednosti SE i CRP zabilježen je u vrijeme postavljanja dijagnoze (Slika 16), a isto vrijedi i za sniženi C3 (Slika 16), te tijekom desetogodišnjeg praćenja dolazi do pada aktivnosti bolesti mjenjenih navedenim parametrima (Tablica 4). Međutim, promatrajući udio bolesnika s patološkim nalazima tijekom desetogodišnjeg praćenja, najveći udio bolesnika s povišenom SE zabilježen je u vrijeme postavljanja dijagnoze, onih s povišenim CRP nakon 5 godina, a onih sa sniženim C3, C4 nakon 10 godina (Slika 16). Vrijednosti navedenih parametara prikazuje Tablica 4.



Slika 16. Prikaz broja i udjela bolesnika s patološkim nalazima upalnih parametara sedimentacije eritrocita (SE), C-reaktivnog proteina (CRP), komponente komplementa C3 i C4

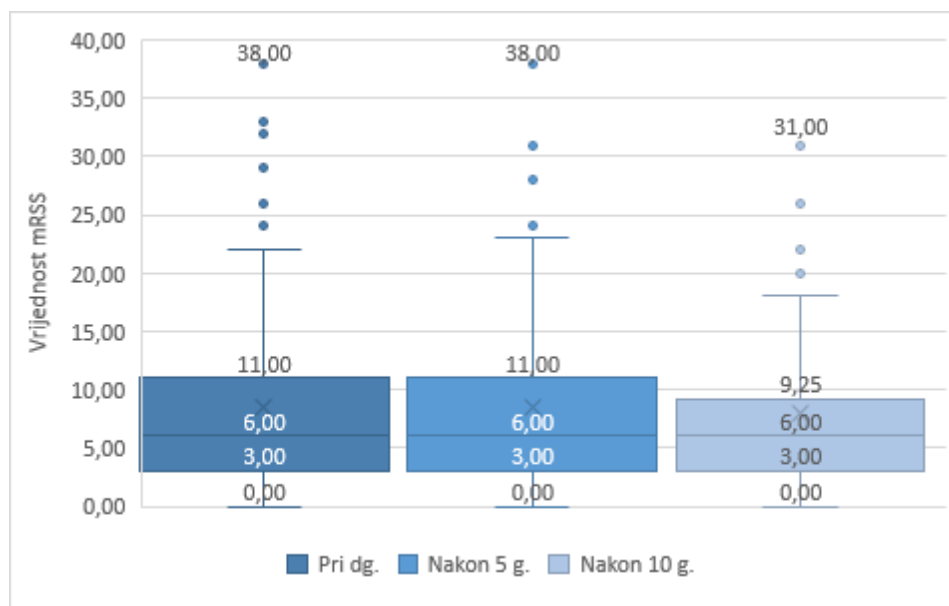
Tablica 4. Vrijednosti sedimentacije eritrocita (SE), C-reaktivnog proteina (CRP), komponenti komplementa C3 i C4 u 3 vremenske točke

	Pri dg.					Nakon 5 g.					Nakon 10 g.				
	Min	Maks	25. centila	Medijan	75. centila	Min	Maks	25. centila	Medijan	75. centila	Min	Maks	25. centila	Medijan	75. centila
SE (mm/h)	2,0	100,00	10,00	20,00	30,00	2,00	90,00	10,00	15,00	23,00	3,00	60,00	9,75	14,50	25,25
CRP (mg/L)	0,10	80,00	1,30	3,30	6,00	0,40	54,00	1,00	3,20	7,10	0,20	31,00	1,48	2,60	5,95
C3 (g/L)	0,54	1,92	0,95	1,09	1,26	0,48	1,71	0,97	1,10	1,28	0,70	1,59	0,95	1,12	1,28
C4 (g/L)	0,02	1,20	0,17	0,21	0,27	0,05	0,44	0,18	0,20	0,27	0,04	0,41	0,17	0,21	0,26

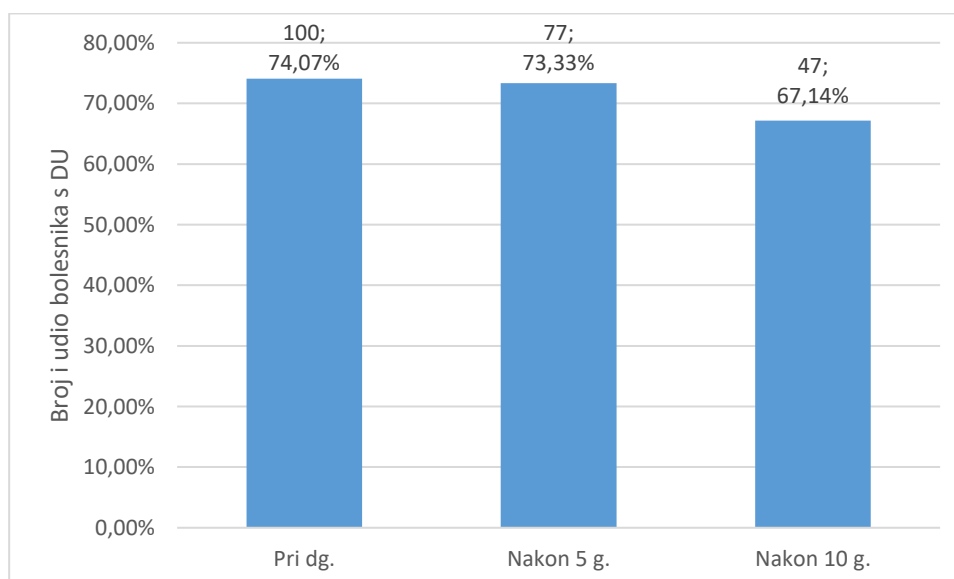
Komponenta komplementa C3 ref. vrijednost 0,90 – 1,80 g/L; C4 ref. vrijednost (0,10 – 0,40 g/L); CRP – C-reaktivni protein (ref. vrijednost <5 mg/L); SE – sedimentacija eritrocita (ref. vrijednost za žene: 5-28 mm/h, muškarce: 2-13 mm/h)

5.1.5. Zahvaćanje kože

Zahvaćanje kože procijenjeno je mRSS-om u 17 regija bodovanjem od 0 do 3 pri čemu 3 predstavlja najjaču zategnutost kože. Najviši zabilježeni mRSS zabilježeni su pri postavljanju dijagnoze i nakon 5 godina bolesti, pri čemu su medijani mRSS u sva tri vremenska razdoblja jednaki (Slika 17). Najveći apsolutni broj bolesnika s DU zabilježen je na početku bolesti, međutim udio bolesnika s DU tijekom desetogodišnjeg praćenja ostao je uglavnom nepromijenjen (Slika 18).



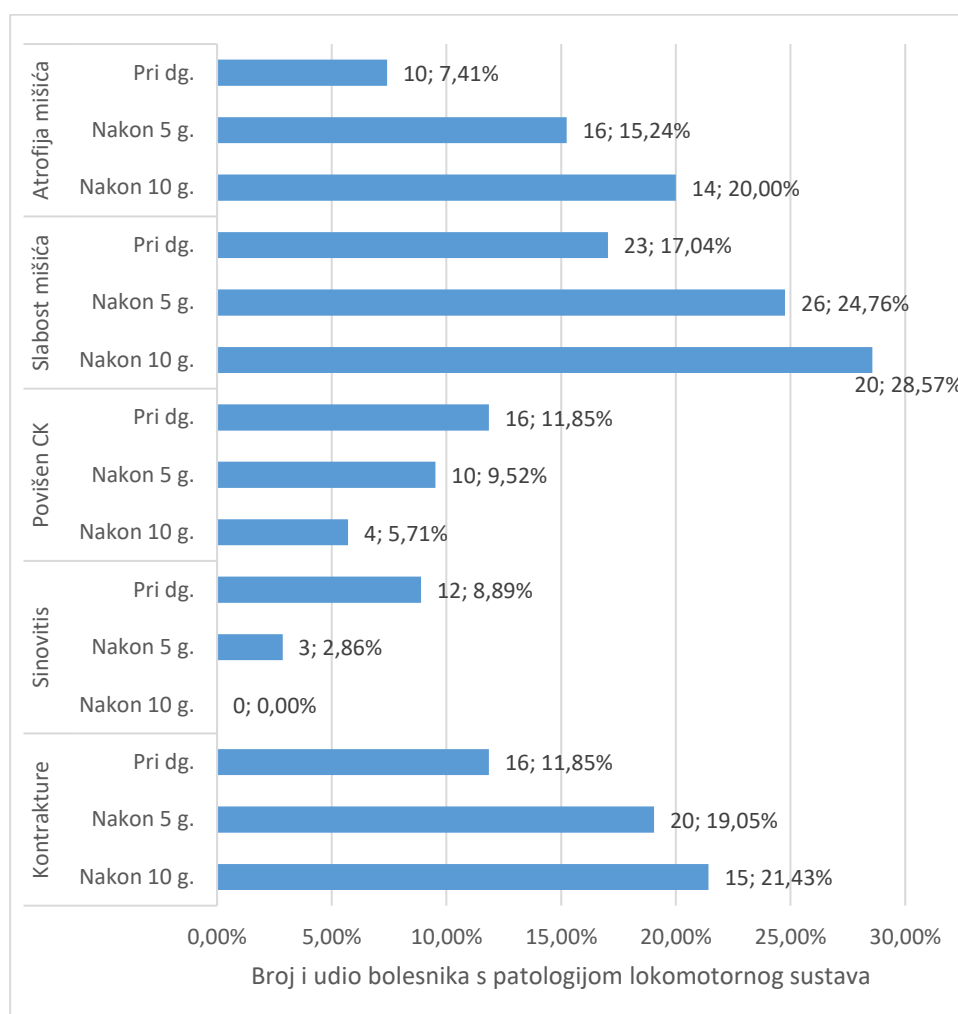
Slika 17. Vrijednosti modificiranog Rodnanovog kožnog zbroja (prema engl. *modified Rodnan skin score*, mRSS) u 3 vremenske točke (medijani, interkvartilni rasponi (prema engl. *interquartile range*, IQR) te minimalne i maksimalne vrijednosti)



Slika 18. Broj i udio bolesnika s ulceracijama prstiju (prema engl. *digital ulcerations*, DU) u 3 vremenske točke

5.1.6. Zahvaćanje lokomotornog sustava

Analiza podataka o zahvaćanju lokomotornog sustava u bolesnika pokazala je da je najviši broj bolesnika imao slabost i atrofiju mišića nakon 5 godina praćenja, međutim najveći udio bolesnika s navednim simptomima zabilježen je nakon 10 godina. Povišeni nalaz CK je najčešće zabilježen u početku bolesti. Učestalost sinovitisa se smanjuje tijekom desetogodišnjeg praćenja, dok najveći broj bolesnika ima kontrakture nakon 5 godina, međutim njihov udio raste nakon 10 godina, premda apsolutni broj pada. Navedene podatke kao i vrijednosti CK prikazuju Slika 19 i Tablica 5.



Slika 19. Broj i udio bolesnika s patologijom lokomotornog sustava, podijeljeni prema simptomima u 3 vremenske točke

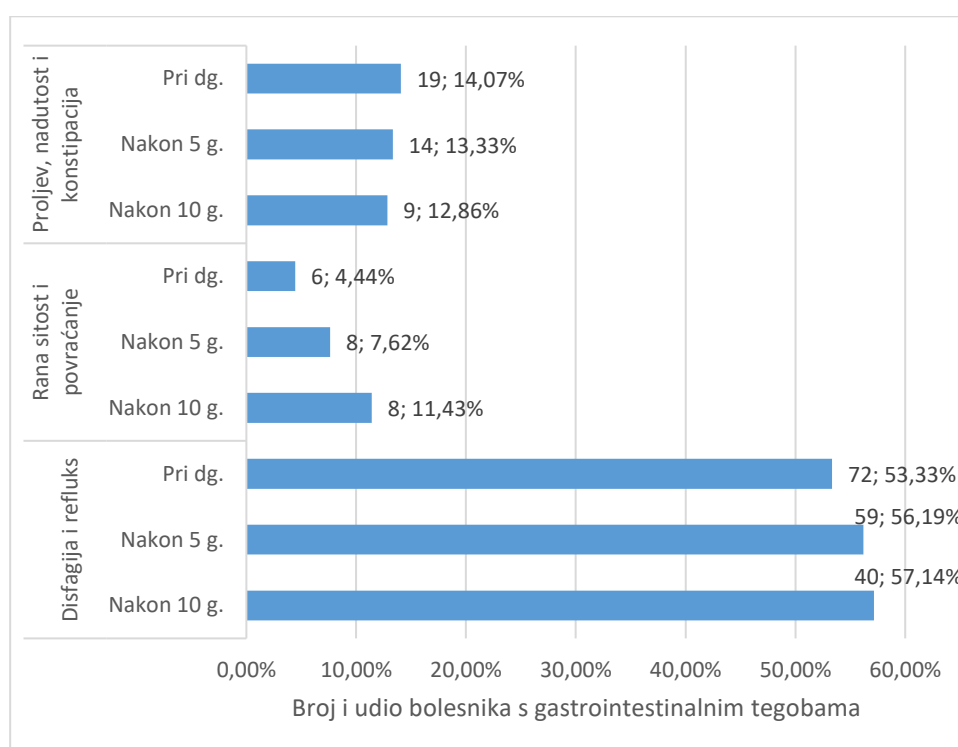
Tablica 5. Vrijednosti kreatin kinaze (CK) u 3 vremenske točke

	Pri dg.					Nakon 5 g.					Nakon 10 g.							
CK (U/L)	Min	23,00	5077,00	50,00	75,00	109,00	Min	14,00	612,00	47,75	74,50	100,75	Min	22,00	319,00	45,00	71,00	99,00
	Maks																	
	25. centila																	
	Medijan																	
	75. centila																	

CK – kreatin kinaza (prema engl. *creatine kinase*) (ref. vrijednost za žene: 0 – 153 U/L, za muškarce: 0 – 177 U/L)

5.1.7. Zahvaćanje gastrointestinalnog sustava

Zahvaćanje GI sustava procijenjeno je prema anamnestičkim podacima te je u najvećem broju slučajeva zabilježeno zahvaćanje jednjaka koje je opisano kao disfagija i refluks (Slika 20). Premda tijekom desetogodišnjeg praćenja dolazi do pada apsolutnog broja bolesnika s navedenim ezofagealnim tegobama, njihov udio u ukupnom broju bolesnika raste (Slika 20). Najmanji broj bolesnika imao je želučane simptome (rana sitost i povraćanje) te je tijekom desetogodišnjeg praćenja zabilježen pad učestalosti crijevnih tegoba (kronični proljev, osjećaj nadutosti i konstipacija), što je prikazano na Slici 20.



Slika 20. Broj i udio bolesnika s gastrointestinalnim (GI) tegobama u sklopu osnovne bolesti u 3 vremenske točke

5.1.8. Zahvaćanje bubrega

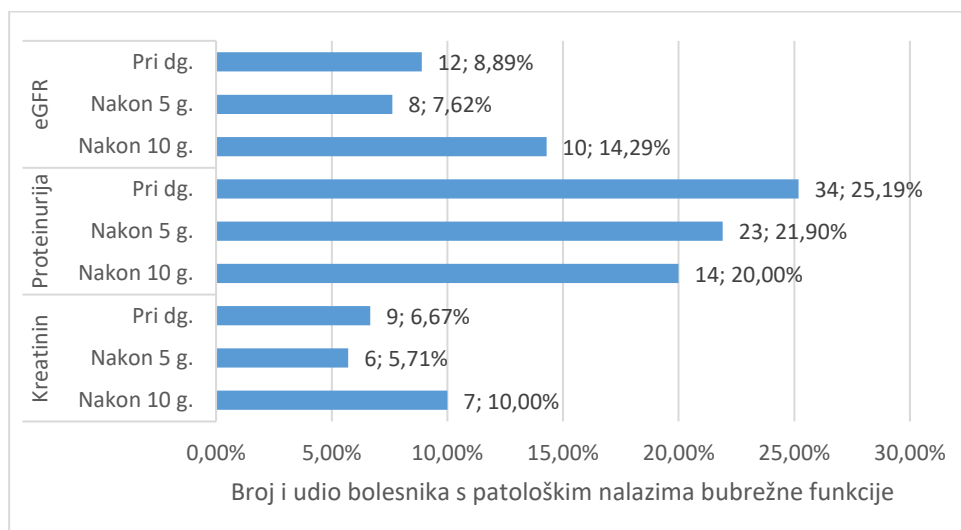
Istražena je bubrežna manifestacija bolesti mjereći vrijednost kreatinina, izračunom eGFR prema formuli CKD-EPI te proteinurije u 24-satnom urinu (80). Navedene vrijednosti prikazane su u Tablici 6. Pojava sklerodermične renalne krize zabilježena je u samo jednog bolesnika, i to nakon 10 godina praćenja.

Tablica 6. Vrijednosti kreatinina, proteinurije u 24-satnom urinu i procijenjene glomerularne filtracije (eGFR) u ispitivanoj skupini bolesnika

	Pri dg.					Nakon 5 g.					Nakon 10 g.				
	Min	Maks	25. centila	Medijan	75. centila	Min	Maks	25. centila	Medijan	75. centila	Min	Maks	25. centila	Medijan	75. centila
Kreatinin (μmol/L)	29,00	113,00	60,00	69,00	80,00	26,00	123,00	58,00	70,00	81,00	44,00	352,00	62,00	71,00	83,25
Proteinurija (g/dU)	0,01	0,48	0,08	0,13	0,19	0,02	5,70	0,07	0,11	0,18	0,03	4,07	0,07	0,12	0,20
eGFR (mL/min/1,73m ²)	46,25	138,29	76,15	90,78	107,39	41,74	130,65	72,50	87,38	103,83	11,82	129,52	70,81	82,77	101,56

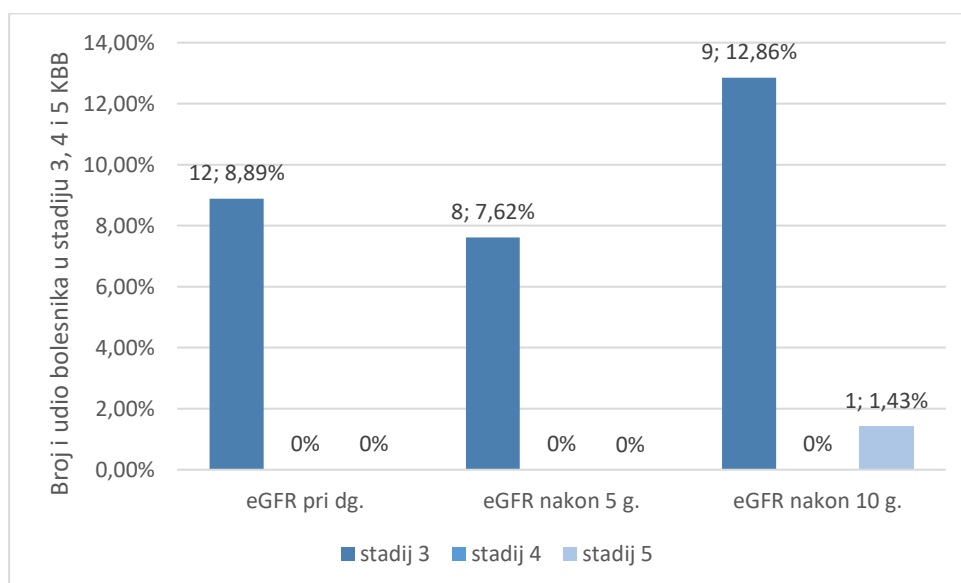
eGFR – procijenjena glomerularna filtracija (prema engl. *estimated glomerular filtration rate*), ref. vrijednost >60 mL/min/1,73m²); kreatinin ref. vrijednost za žene: 49 – 90 μmol/L, za muškarce: 60 – 104 μmol/L; proteinurija ref. vrijednost <0,15 g/dU

Učestalost patološke proteinurije tijekom desetogodišnjeg praćenja pada, no isti trend nije zabilježen pri analizi serumskog kreatinina i eGFR s obzirom da je zabilježen prolazni pad učestalosti patoloških nalaza kreatinina i eGFR nakon 5 godina praćenja, zatim ponovni blagi porast. Navedni podatci prikazani su na Slici 21.



Slika 21. Broj i udio bolesnika s patološkim nalazima bubrežne funkcije u 3 vremenske točke

Analizirajući stadij 3-5 KBB prema vrijednostima eGFR, najveći broj bolesnika imao je stadij 3, a samo jedan bolesnik imao je stadij 5 KBB, i to nakon 10 godina praćenja, dok četvrti stadij bolesti nije zabilježen ni u jednog bolesnika niti u jednoj vremenskoj točki. Podatci su prikazani na Slici 22.



Slika 22. Broj i udio bolesnika u stadiju 3, 4 i 5 kronične bubrežne bolesti (KBB) prema vrijednosti procijenjene glomerularne filtracije (prema engl. *estimated glomerular filtration rate*, eGFR) u 3 vremenske točke

5.1.9. Zahvaćanje srca i plućna hipertenzija

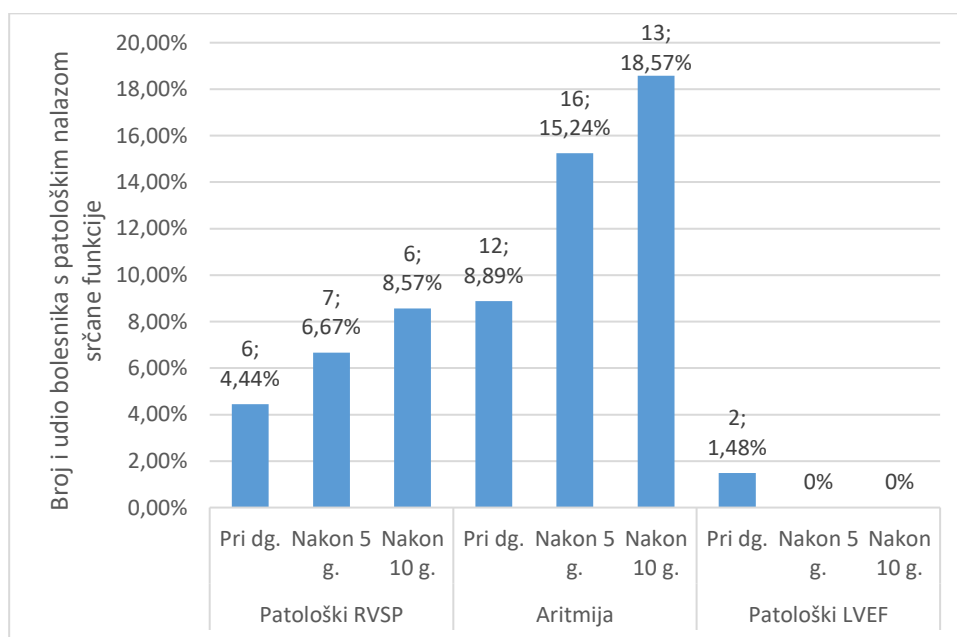
Vrijednosti RVSP i LVEF prema ehokardiografiji prikazani su u Tablici 7.

Tablica 7. Vrijednosti istisne frakcije lijeve klijetke (LVEF) i sistoličkog tlaka u desnoj klijetci (RVSP) u 3 vremenske točke u promatranoj skupini bolesnika

	Nakon 10 g.					Nakon 5 g.					Pri dg.				
	Min	Maks	25. centila	Medijan	75. centila	Min	Maks	25. centila	Medijan	75. centila	Min	Maks	25. centila	Medijan	75. centila
RVSP (mmHg)	9,00	86,00	24,00	30,00	40,00	17,00	90,00	25,50	30,50	37,75	11,00	93,00	25,00	30,00	38,25
LVEF (%)	55,00	81,00	60,00	65,00	65,25	50,00	76,00	60,00	65,00	68,00	30,00	77,00	60,00	65,00	70,00

LVEF – istisna frakcija lijeve klijetke (prema engl. *left ventricular ejection fraction*), ref. vrijednost >50%; RVSP – sistolički tlak u desnoj klijetci (prema engl. *right ventricular systolic pressure*), ref. vrijednost <35 mm Hg;

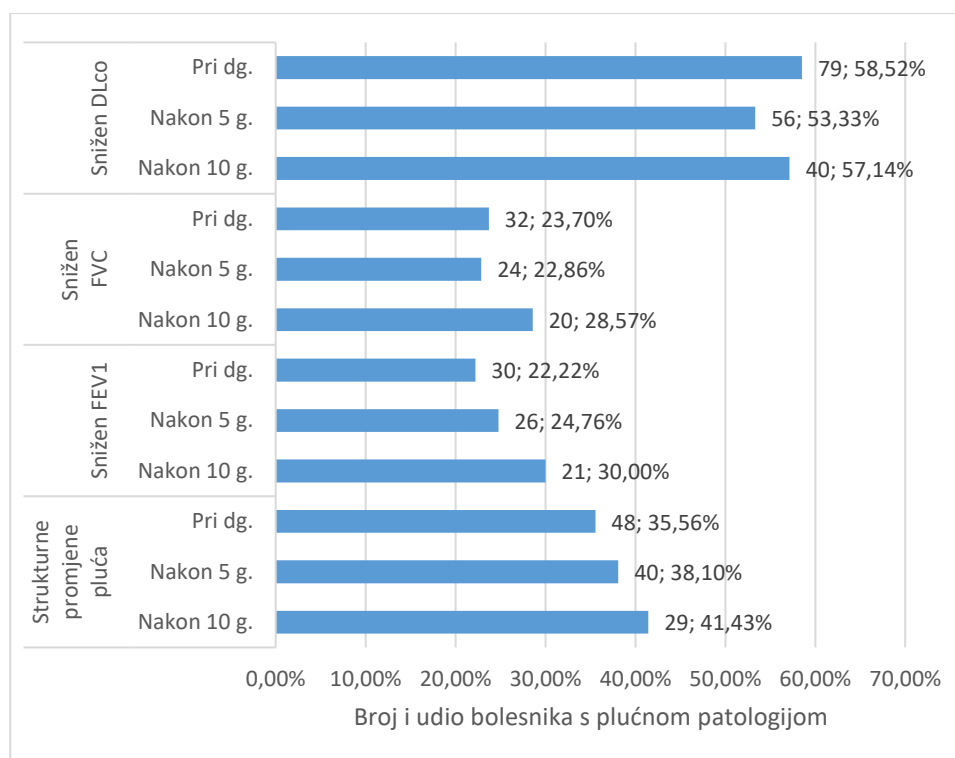
Analizom pojave srčanih tegoba zabilježeno je da je aritmija u usporedbi s pojavom povišene vrijednosti RVSP i snižene LVEF najčešća pojava te udio bolesnika s aritmijom tijekom desetogodišnjeg perioda praćenja raste (Slika 23). Povišene vrijednosti RVSP sugestivne za razvoj PAH ima uglavnom stacionaran broj bolesnika tijekom desetogodišnjeg praćenja, premda njihov udio raste (Slika 23). Najmanji broj bolesnika ima snižen LVEF sugestivan za srčanu dekompenzaciju (Slika 23). Od navedeno dvoje bolesnika sa sniženim LVEF jedan je imao blagu disfunkciju lijeve klijetke (LVEF 40-49%), a drugi srednje tešku (LVEF 30-39%).



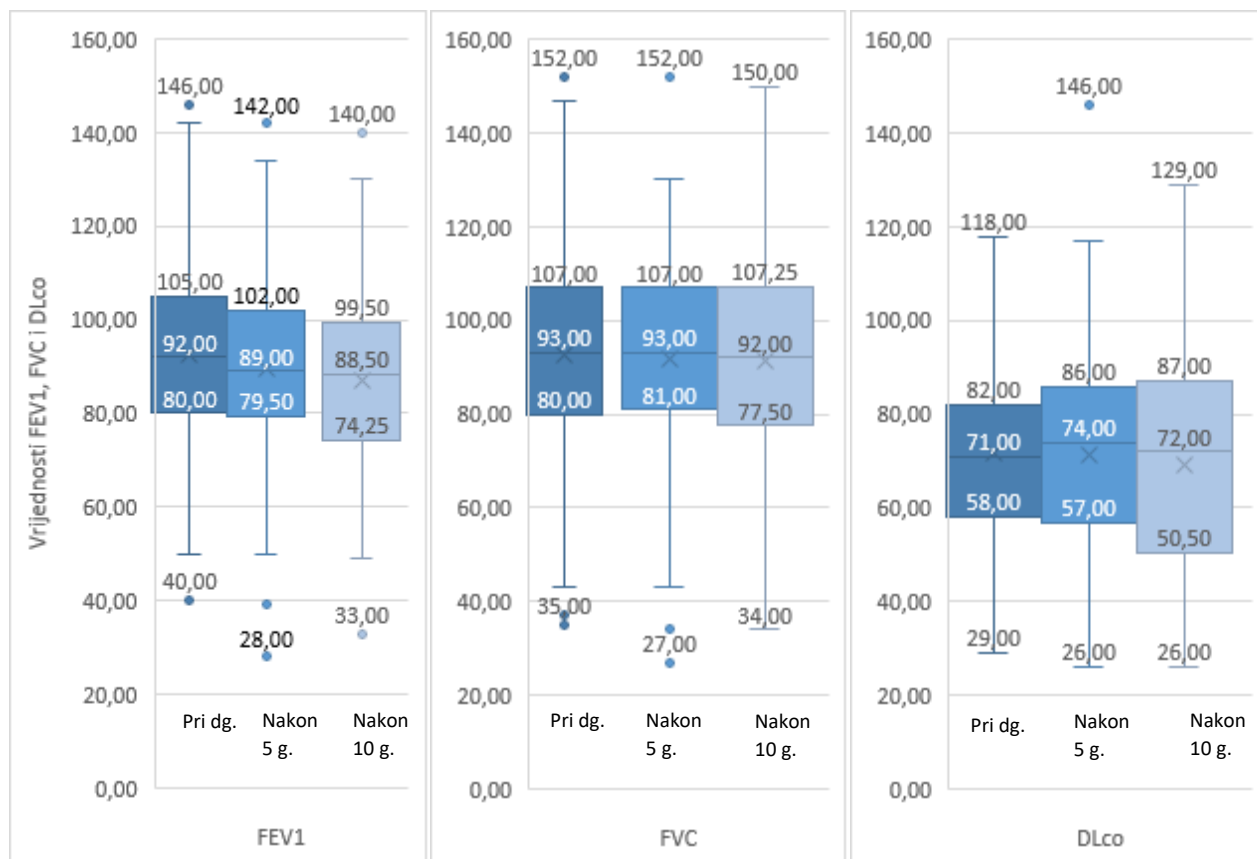
Slika 23. Prikaz broja i udjela bolesnika s patološkim nalazima istisne frakcije lijeve klijetke (prema engl. *left ventricular ejection fraction*, LVEF) i sistoličkog tlaka u desnoj klijetci (prema engl. *right ventricular systolic pressure*, RVSP) te pojave aritmije u 3 vremenske točke

5.1.10. Zahvaćanje pluća

Promatrajući plućnu funkciju tijekom 10 godina zabilježen je porast udjela bolesnika sa strukturnim promjenama pluća te sniženim FEV1 i FVC, dok je zabilježen blagi pad udjela bolesnika s patološkim nalazom DLco, premda je u sve 3 vremenske točke patološki DLco zabilježen u više od polovine bolesnika. Slika 24 prikazuje navedene podatke grafički te su vrijednosti parametara plućne funkcije prikazane na Slici 25.



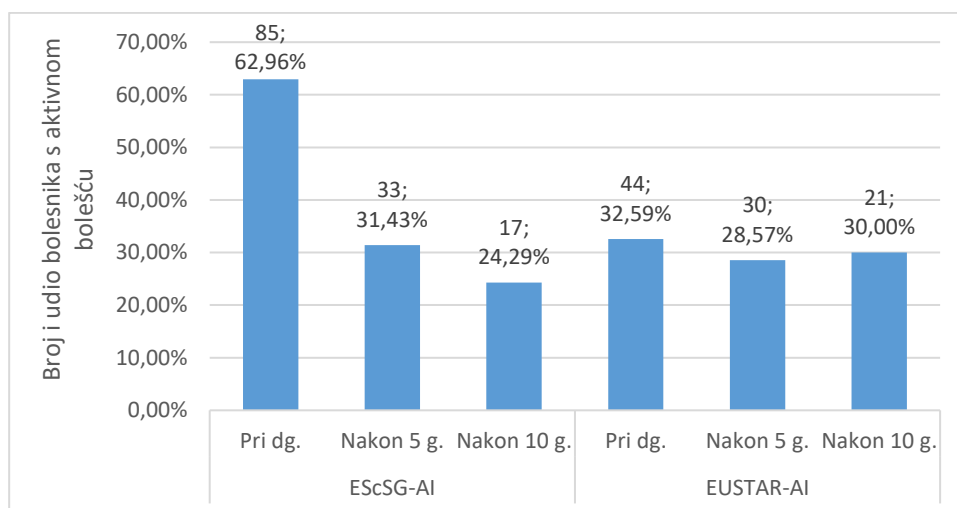
Slika 24. Broj i udio bolesnika sa strukturnim promjenama pluća i sniženim vrijednostima funkcijskih testova pluća (FEV1 – forsirani ekspiracijski volumen tijekom prve sekunde (prema engl. *forced expiratory volume during the first second*), FVC – forsirani ekspiracijski vitalni kapacitet (prema engl. *forced expiratory vital capacity*), DLco – difuzijski kapacitet za ugljikov monoksid (prema engl. *diffusing capacity for carbon monoxide*))



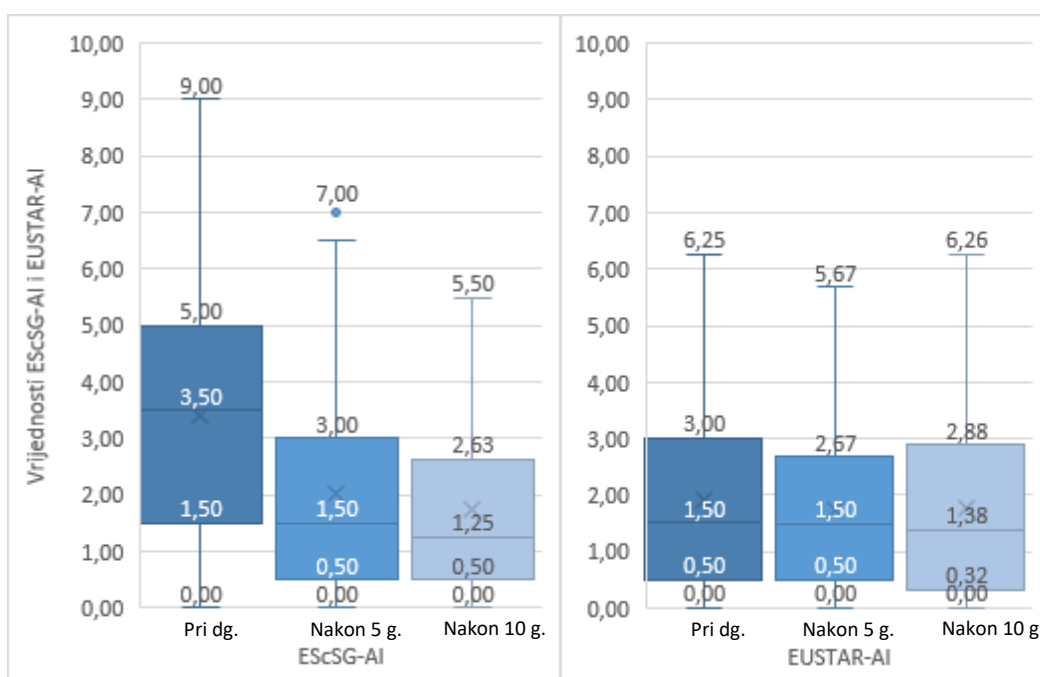
Slika 25. Vrijednosti FEV1, FVC i DLco u 3 vremenske točke (FEV1 – forsirani ekspiracijski volumen tijekom prve sekunde (prema engl. *forced expiratory volume during the first second*), FVC – forsirani ekspiracijski vitalni kapacitet (prema engl. *forced expiratory vital capacity*), DLco – difuzijski kapacitet za ugljikov monoksid (prema engl. *diffusing capacity for carbon monoxide*); medijani, interkvartilni rasponi (prema engl. *interquartile range, IQR*) te minimalne i maksimalne vrijednosti

5.1.11. Aktivnost i težina bolesti prema EScSG-AI, EUSTAR-AI i Medsgerovoj ljestvici

Mjereći indekse aktivnosti bolesti u bolesnika nađeno je da prema EScSG-AI i EUSTAR-AI tijekom desetogodišnjeg praćenja dolazi do pada aktivnosti bolesti. Podatke grafički prikazuje Slika 26, a vrijednosti EScSG-AI i EUSTAR-AI Slika 27.



Slika 26. Broj i udio bolesnika s aktivnom bolešću prema dva različita indeksa aktivnosti u 3 vremenske točke (EScSG-AI – indeks aktivnosti Europske skupine za studije skleroderme, prema engl. *European Scleroderma Study Group*, EUSTAR-AI – indeks aktivnosti Europske skupine za ispitivanje i istraživanje skleroderme, prema engl. *European Scleroderma Trials and Research Group*)



Slika 27. Vrijednosti EScSG-AI i EUSTAR-AI u 3 vremenske točke (EScSG-AI – indeks aktivnosti Europske skupine za studije skleroderme, prema engl. *European Scleroderma Study Group*, EUSTAR-AI – indeks aktivnosti Europske skupine za ispitivanje i istraživanje skleroderme, prema engl. *European Scleroderma Trials and Research Group*; medijani, interkvartilni rasponi (prema engl. *interquartile range*, IQR) te minimalne i maksimalne vrijednosti)

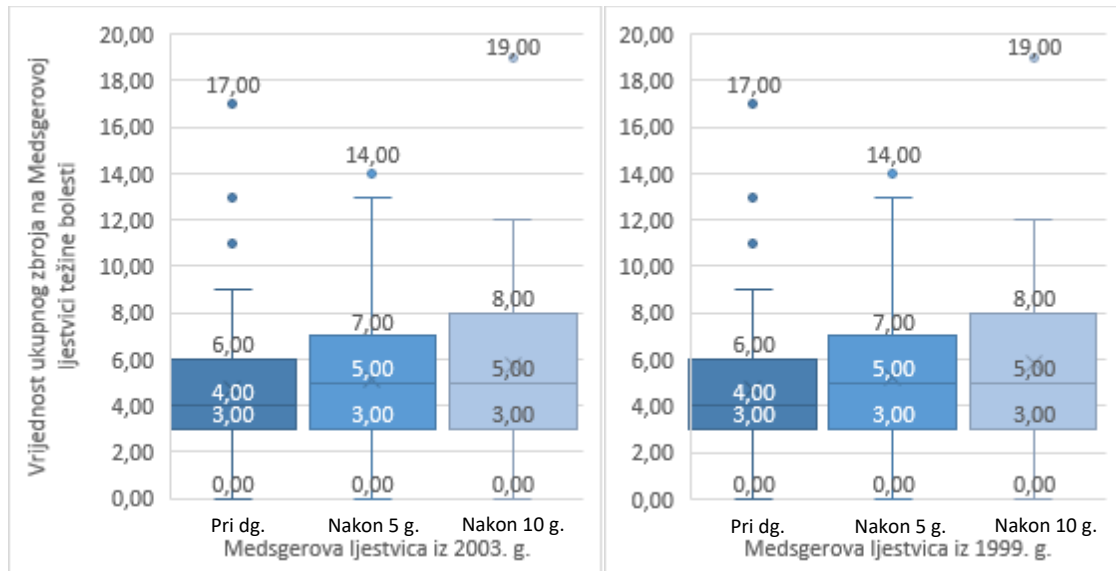
U Tablici 8 prikazan je broj bolesnika s pojedinim stupnjem težine bolesti od 1-4 prema organskim sustavima te općih simptoma prema Medsgerovoj ljestvici. Iz navedenog je razvidno da najveći broj bolesnika ima nulti stupanj težine zahvaćanja zglobova i tetiva, probavnog sustava, mišića, pluća, srca i bubrega kao i uredan opći zbroj simptoma. Također najveći broj bolesnika ima prvi stupanj zahvaćanja periferne vaskulature i kože. S obzirom da revidirana Medsgerova ljestvica bubrežne bolesti iz 2003. godine uzima u obzir samo bolesnike s anamnezom renalne krize i zatim ih stupnjuje prema vrijednostima kreatinina, a u našoj kohorti renalna kriza zabilježena je u samo jednog bolesnika, dodatno je izračunata težina bubrežne bolesti prema starijoj Medsgerovoj ljestvici iz 1999. godine koja u obzir uzima samo vrijednosti kreatinina, bez obzira na pojavu renalne krize.

Tablica 8. Broj bolesnika s urednim zbrojem na Medsgerovoj ljestvici težine bolesti odnosno 1., 2., 3. i 4. stupnjem težine bolesti prema organskim sustavima i općim simptomima u 3 vremenske točke

	Opći zbroj			Periferna vaskulatura			Koža			Zglobovi i tetive			Mišćna slabost		
	Pri dg.	Nakon 5 g.	Nakon 10 g.	Pri dg.	Nakon 5 g.	Nakon 10 g.	Pri dg.	Nakon 5 g.	Nakon 10 g.	Pri dg.	Nakon 5 g.	Nakon 10 g.	Pri dg.	Nakon 5 g.	Nakon 10 g.
Uredan	116 (85,93%)	96 (91,43%)	61 (87,14%)	33 (24,44%)	15 (14,29%)	10 (14,29%)	10 (7,41%)	6 (5,71%)	4 (5,71%)	131 (97,04%)	101 (96,19%)	65 (92,86%)	109 (80,74%)	80 (76,19%)	50 (71,43%)
Stupanj 1	7 (5,19%)	6 (5,71%)	6 (8,57%)	63 (46,67%)	46 (43,81%)	29 (41,43%)	101 (74,81%)	82 (78,10%)	54 (77,14%)	3 (2,22%)	4 (3,81%)	5 (7,14%)	23 (17,04%)	23 (21,90%)	17 (24,29%)
Stupanj 2	9 (6,67%)	3 (2,86%)	3 (4,29%)	6 (4,44%)	19 (18,10%)	11 (15,71%)	19 (14,07%)	15 (14,29%)	11 (15,71%)	1 (0,74%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	2 (1,48%)	1 (0,95%)	2 (2,86%)
Stupanj 3	1 (0,74%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	31 (22,96%)	20 (19,05%)	18 (25,71%)	5 (3,70%)	2 (1,90%)	1 (1,43%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)
Stupanj 4	2 (1,48%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	2 (1,48%)	5 (4,76%)	2 (2,86%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	1 (0,74%)	1 (0,95%)	1 (1,43%)
	GI sustav			Pluća			Srce			Bubrežna bolest (zbroj iz 2003.)			Bubrežna bolest (zbroj iz 1999.)		
	Pri dg.	Nakon 5 g.	Nakon 10 g.	Pri dg.	Nakon 5 g.	Nakon 10 g.	Pri dg.	Nakon 5 g.	Nakon 10 g.	Pri dg.	Nakon 5 g.	Nakon 10 g.	Pri dg.	Nakon 5 g.	Nakon 10 g.
Uredan	97 (71,85%)	70 (66,67%)	37 (52,86%)	40 (29,63%)	34 (32,38%)	20 (28,57%)	122 (90,37%)	86 (81,90%)	56 (80,00%)	135 (100,00%)	105 (100,00%)	69 (98,57%)	135 (100,00%)	102 (97,14%)	67 (95,71%)
Stupanj 1	38 (28,15%)	33 (31,43%)	30 (42,86%)	33 (24,44%)	24 (22,86%)	17 (24,29%)	9 (6,67%)	8 (7,62%)	7 (10,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	3 (2,86%)	2 (2,86%)
Stupanj 2	0 (0,00%)	1 (0,95%)	1 (1,43%)	44 (32,59%)	26 (24,76%)	16 (22,86%)	1 (0,74%)	4 (3,81%)	1 (1,43%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)
Stupanj 3	0 (0,00%)	1 (0,95%)	0 (0,00%)	18 (13,33%)	19 (18,10%)	17 (24,29%)	3 (2,22%)	7 (6,67%)	6 (8,57%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	1 (1,43%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	1 (1,43%)
Stupanj 4	0 (0,00%)	0 (0,00%)	2 (2,86%)	0 (0,00%)	2 (1,90%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)

GI - gastrointestinalni

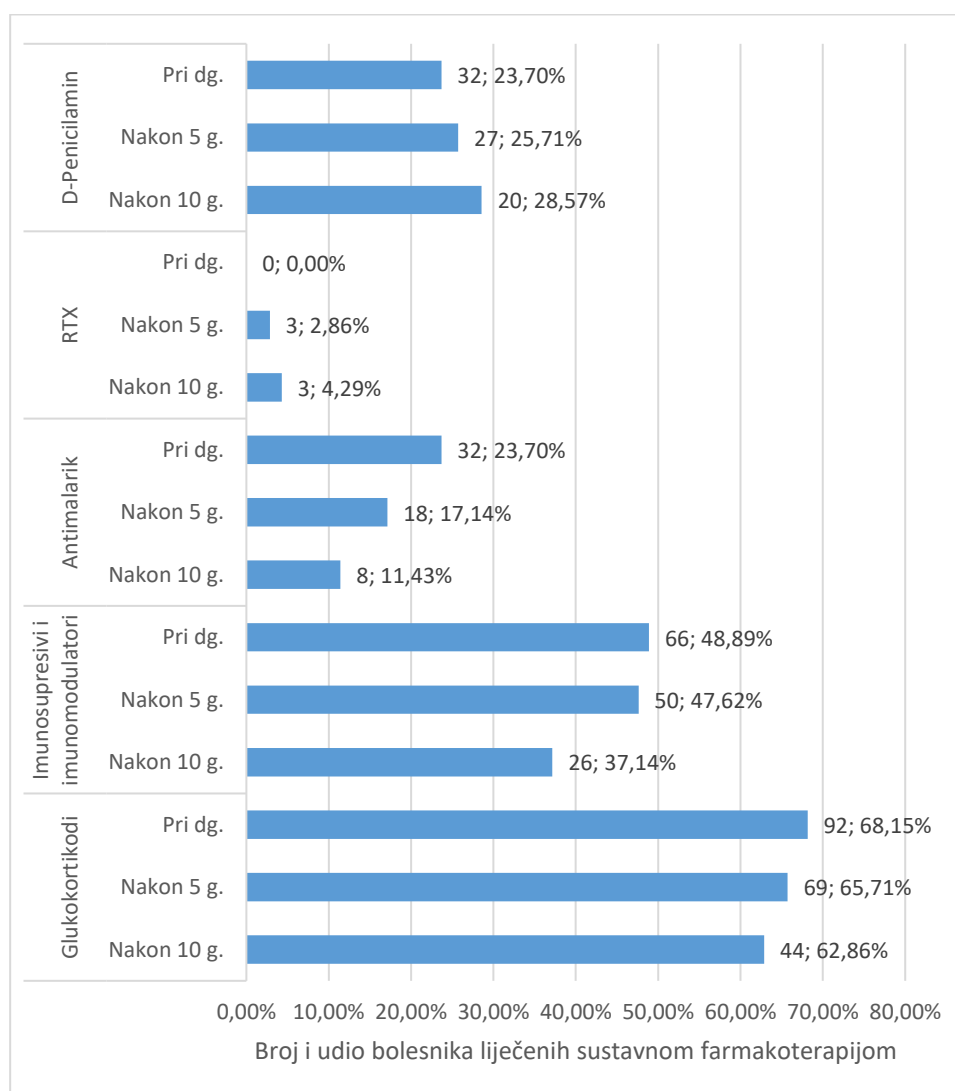
Najviša vrijednost ukupnog zbroja na Medsgerovoj ljestvici težine bolesti (19) zabilježena je u bolesnika nakon 10 godina praćenja što prikazuje Slika 28. Ovdje su također izračunati ukupni zbrojevi na Medsgerovoj ljestvici prema bodovanju iz 2003. godine i 1999. godine.



Slika 28. Ukupni zbroj na Medsgerovoj ljestvici težine bolesti za 3 vremenske točke (medijani, interkvartilni rasponi (prema engl. *interquartile range*, IQR) te minimalne i maksimalne vrijednosti)

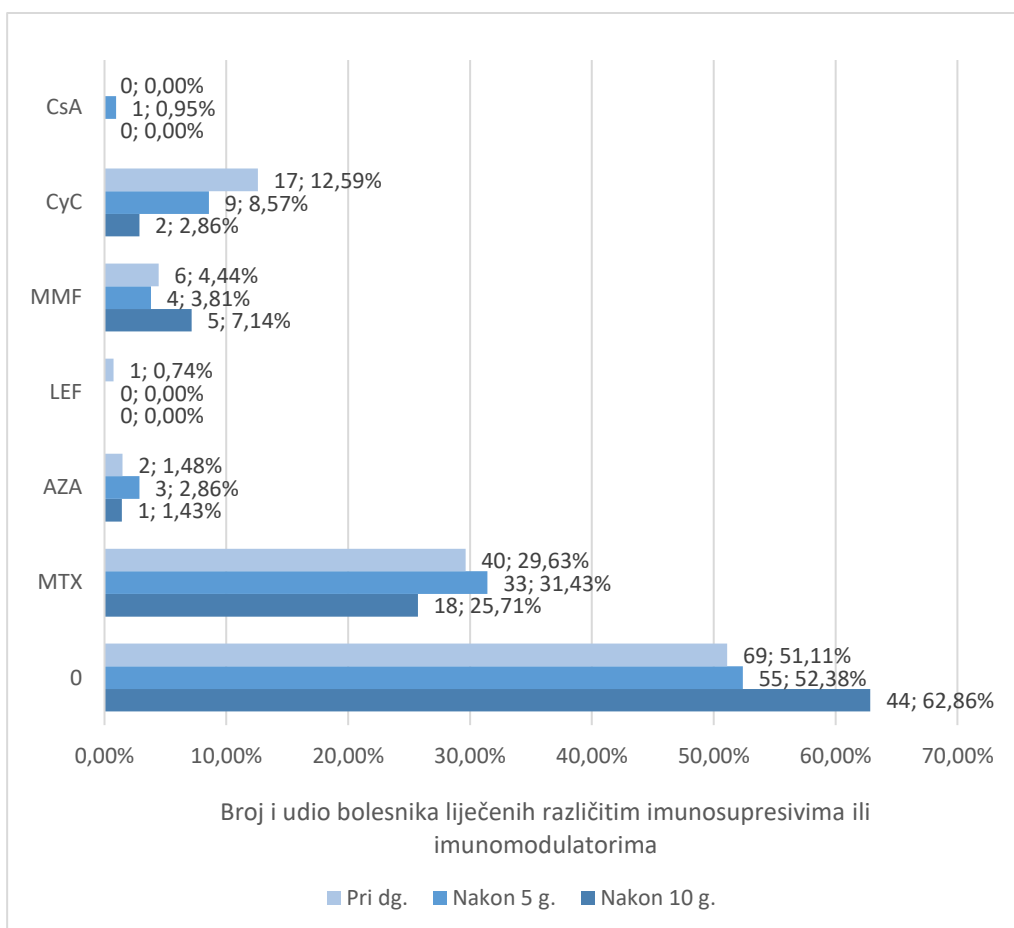
5.1.12. Terapija korištena pri liječenju bolesnika

Od specifične terapije, najčešće su korišteni GK, u više od polovine bolesnika u sve 3 vremenske točke (Slika 29). Druga najčešće korištena skupina lijekova su imunosupresivi i imunomodulatori (MTX, LEF, AZA, MMF, CyC, CsA) što prikazuje Slika 29. S vremenom uglavnom pada udio bolesnika liječenih specifičnom imunosupresivnom terapijom u desetogodišnjem periodu (Slika 29).



Slika 29. Broj i udio bolesnika liječen imunosupresivnom i imunomodulatornom terapijom u 3 vremenske točke (RTX – rituksimab)

Analizom broja bolesnika liječenih pojedinim imunosupresivom ili imunomodulatorom razvidno je da većina bolesnika nije liječena nijednim, a ukoliko jesu liječeni, najčešće korišteni lijek bio je MTX, zatim CyC, a najmanje su korišteni LEF i CsA u svega jednog bolesnika. Navedeni podatci prikazani su na Slici 30.

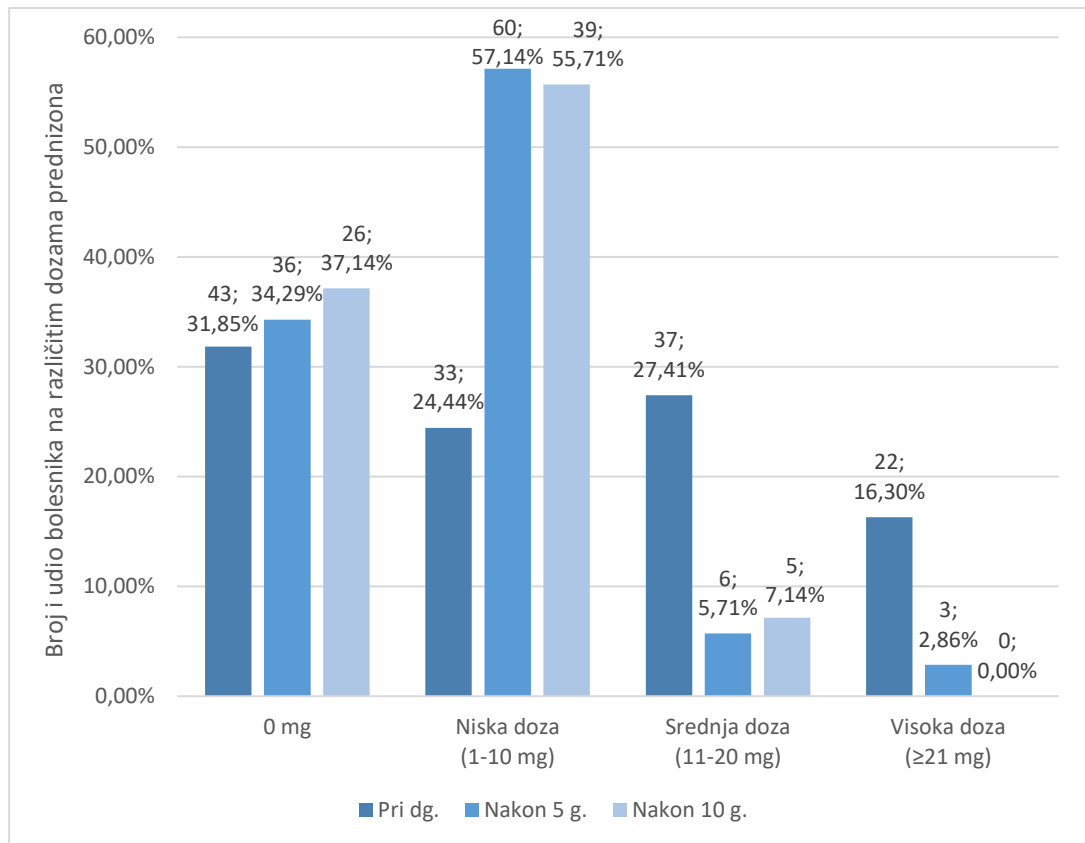


Slika 30. Broj i udio bolesnika liječenih pojedinim imunosupresivima ili imunomodulatorima u 3 vremenske točke (CsA – ciklosporin A, CyC – ciklofosamid, MMF – mikofenolat mofetil, LEF – leflunomid, AZA – azatioprin, MTX – metotreksat, 0 – bez specifične imunosupresivne ili imunomodulatorne terapije)

Analizirajući dozu prednizona, tijekom petogodišnjeg praćenja dolazi do pada doze prednizona, no nakon 10 godina stagnira (Tablica 9). Najčešće je korištena niska doza prednizona (Slika 31).

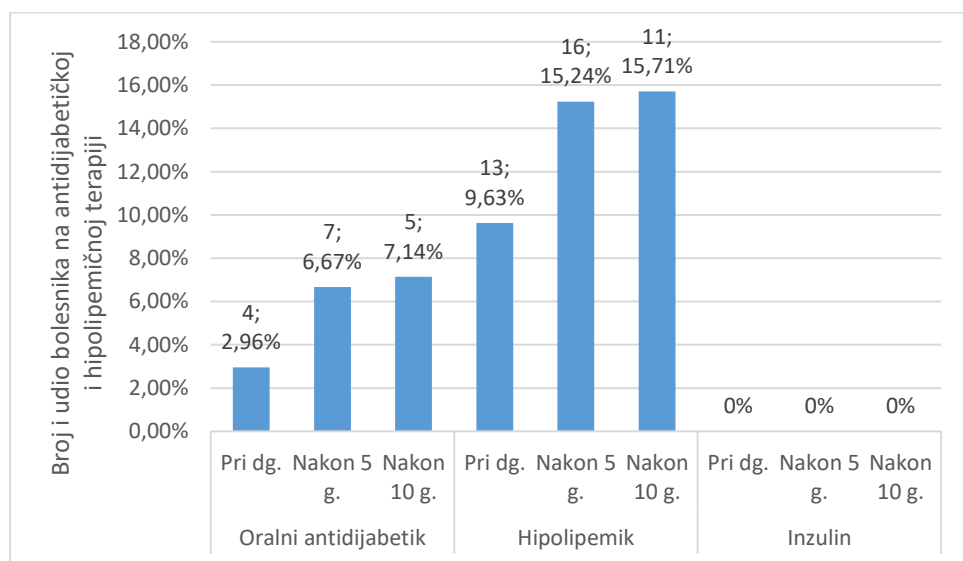
Tablica 9. Ukupna doza prednizona i doza prednizona po kilogramu tjelesne mase u 3 vremenske točke

	Pri dg.					Nakon 5 g.					Nakon 10 g.				
	Min	Maks	25. centila	Medijan	75. centila	Min	Maks	25. centila	Medijan	75. centila	Min	Maks	25. centila	Medijan	75. centila
Ukupna doza prednizona (mg)	0,00	1000,00	0,00	10,00	20,00	0,00	80,00	0,00	5,00	10,00	0,00	20,00	0,00	5,00	10,00
Doza prednizona po kg TM (mg/kg)	0,00	17,24	0,00	0,14	0,32	0,00	1,27	0,00	0,07	0,14	0,00	0,29	0,00	0,06	0,12



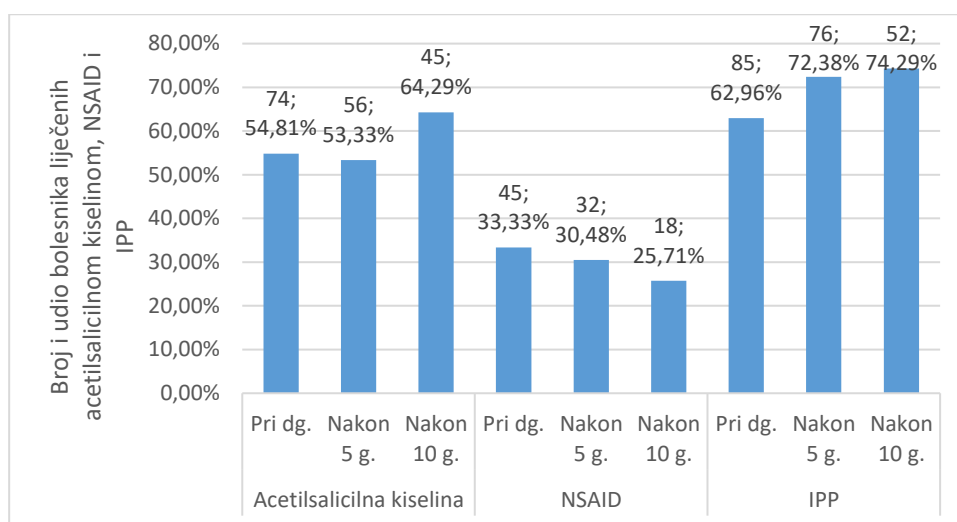
Slika 31. Distribucija bolesnika ovisno o dozi glukokortikoida u 3 vremenske točke

Analiziran je i broj bolesnika liječen antidijabetičkom i hipolipemičnom terapijom te tijekom godina dolazi do porasta udjela bolesnika liječenih oralnim antidijabetikom, a udio bolesnika liječenih hipolipemikom stagnira nakon 5 godina (Slika 32). Nijedan bolesnik nije niti u jednom razdoblju liječen inzulinom (Slika 32).



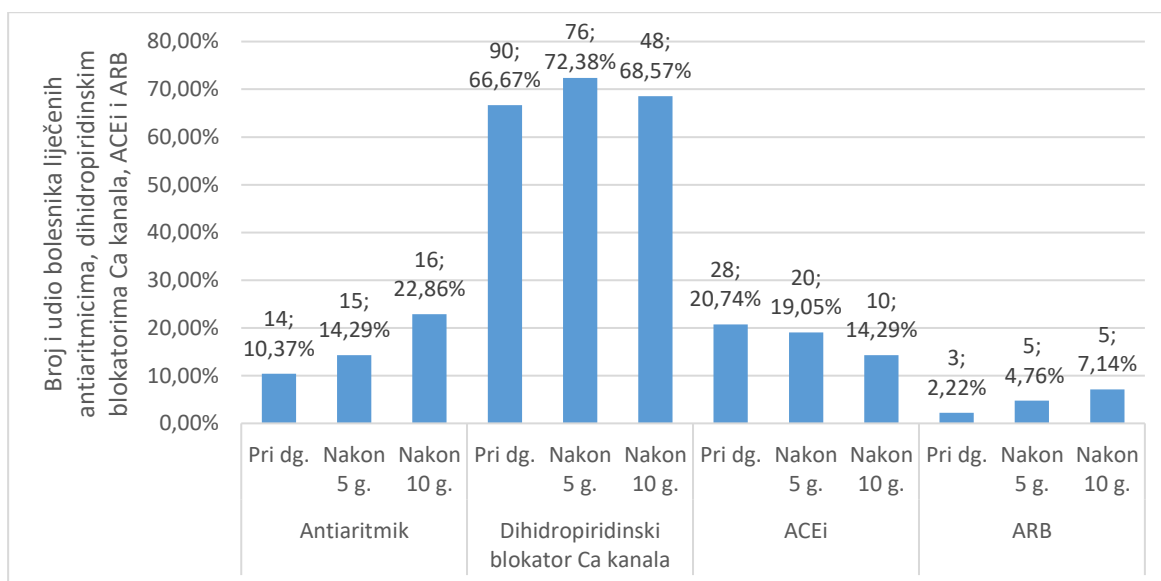
Slika 32. Broj i udio bolesnika liječenih oralnim antidijabeticima i hipolipemicima

Udio bolesnika koji je koristio NSAID pada tijekom desetogodišnjeg praćenja, a udio bolesnika liječenih acetilsalicilnom kiselinom i IPP-om raste nakon 10 godina. Navedeno prikazuje Slika 33.



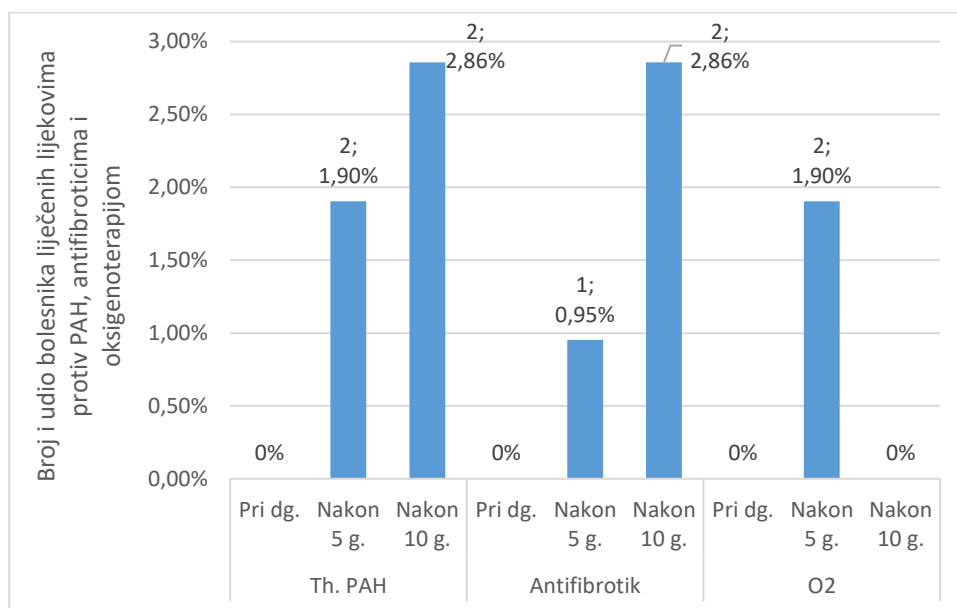
Slika 33. Broj i udio bolesnika liječenih acetilsalicilnom kiselinom, nesteroidnim protuupalnim lijekom (prema engl. *non-steroid anti-inflammatory drug*, NSAID) i inhibitorom protonске pumpe (IPP)

Za manifestacije kardiovaskularnog sustava većina bolesnika liječena je dihidropiridinskim blokatorima kalcijских kanala, razmjerno mali broj liječen je antiaritmiciма (Slika 34). Najmanji broj bolesnika liječen je s ARB (Slika 34). Mali broj bolesnika liječen je s ACEi, a tijekom vremena dolazi do pada udjela bolesnika liječenih s ACEi (Slika 34).



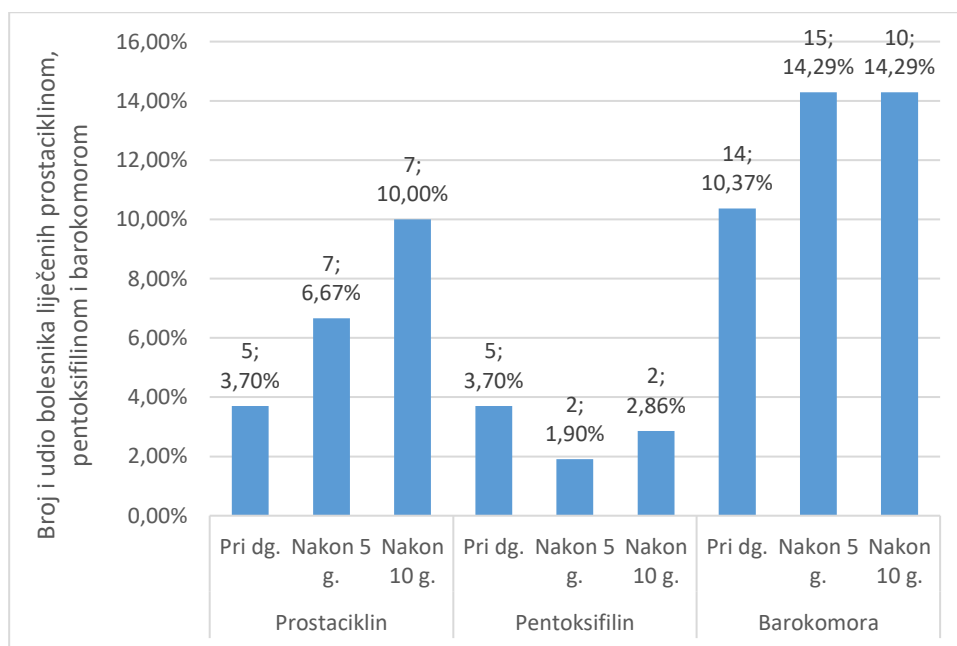
Slika 34. Broj i udio bolesnika liječenih antiaritmiciма, dihidropiridinskim blokatorima kalcijских kanala, inhibitorima enzima za pretvorbu angiotenzina (ACEi) i blokatorima angiotenzinskih receptora (prema engl. *angiotensin receptor blocker*, ARB).

U liječenju plućnih manifestacija bolesti svega je dvoje bolesnika liječeno terapijom protiv plućne hipertenzije, antifibrotikom i oksigenoterapijom što je vidljivo na Slici 35.



Slika 35. Broj i udio bolesnika liječenih lijekovima protiv plućne arterijske hipertenzije (PAH), antifibrotikom i oksigenoterapijom (O₂)

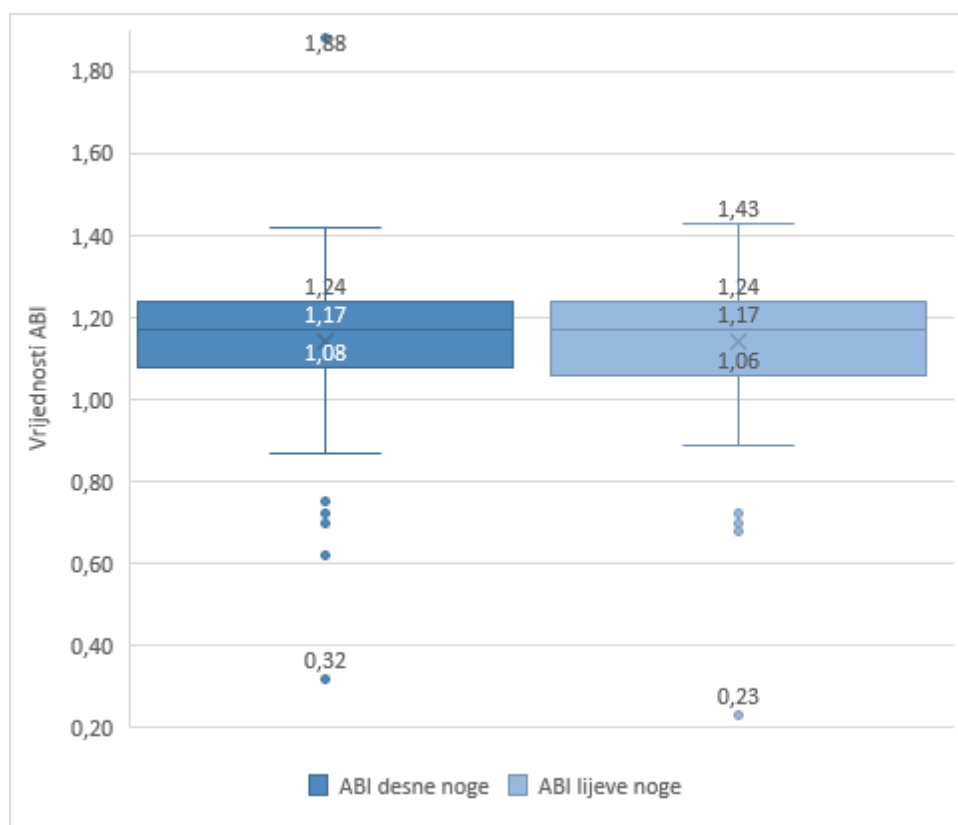
Za vazodilatacijsko liječenje vaskulopatije i RP najviše bolesnika koristilo je barokomoru, zatim prostaciklinske agoniste čija upotreba raste u desetogodišnjem periodu (Slika 36).



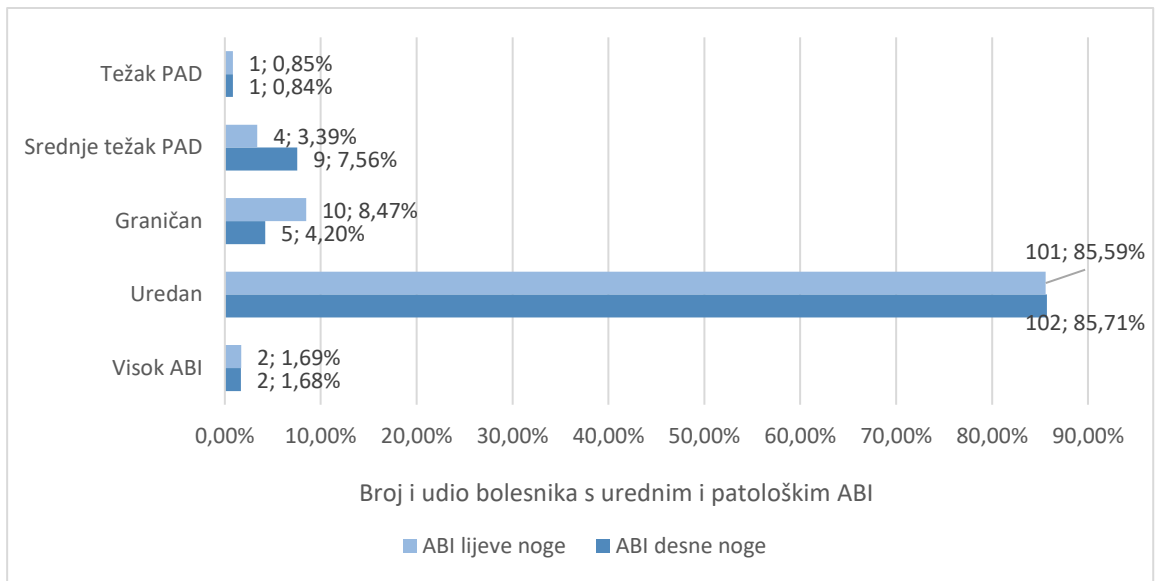
Slika 36. Broj i udio bolesnika liječenih vazodilatacijskom terapijom i barokomorom

5.1.13. Pedobrahijalni indeks

ABI je izmjeren u ukupno 120 bolesnika pri čemu je desno izmjeren u 119 bolesnika, a lijevo u 118 zbog amputacije desne noge (u jednog bolesnika), odnosno lijeve noge (u dva bolesnika). Zabilježeni su prethodni podatci o spolu, dobi, BMI, liječenju te zahvaćanju pojedinih organskih sustava u ovoj posebnoj vremenskoj točki (prikazano u prilogu). U najviše bolesnika zabilježen je uredan ABI, a najmanje bolesnika imao je tešku perifernu arterijsku bolest (PAD). Dodatno je unutar skupine bolesnika s urednim vrijednostima ABI utvrđeno petero bolesnika s graničnim ABI desne noge (4,20%) i 10 bolesnika s graničnim ABI lijeve noge (8,47%). Ukupno je u 10 bolesnika (8,40%) izmjerena patološki snižena vrijednost ABI desne noge te u 5 bolesnika (4,24%) lijeve noge. Vrijednosti ABI i distribucija bolesnika prema vrijednostima ABI prikazani su na Slikama 37 i 38.



Slika 37. Vrijednosti pedobrahijalnog indeksa (prema engl. *ankle brachial index*, ABI) desne i lijeve noge (medijani, interkvartilni rasponi (prema engl. *interquartile range*, IQR) te minimalne i maksimalne vrijednosti)



Slika 38. Broj i udio bolesnika s urednim i različitim stupnjevima patoloških nalaza pedobrahijalnog indeksa (prema engl. *ankle brachial index*, ABI) desne i lijeve noge (PAD – periferna arterijska bolest, prema engl. *peripheral arterial disease*)

5.2. Povezanost polimorfizma ACE s obilježjima sistemske skleroze

5.2.1. Povezanost polimorfizma ACE s općim determinantama bolesnika

Tablica 10 prikazuje opisnu statistiku dobi i vremena početka bolesti s obzirom na ACE-genotip. Ovom analizom je analiziran specifični cilj „Ispitati povezanost ACE-genotipa s početkom pojave bolesti“. Nije bilo statistički značajnih razlika između pojedinih genotipova. Također nije dokazana povezanost ACE-genotipa s nastupom smrti.

Tablica 10. Opisna statistika dobi i vremena početka bolesti te smrti u godinama s obzirom na ACE-genotip (Kruskal-Wallisov test)

ACE-genotip	N	Min	Maks	Centile			p	
				25.	Medijan	75.		
Vrijeme od RP do prvog ne-Raynaudovog simptoma	II	32	0,00	20,00	0,00	1,00	2,75	0,375
	ID	69	0,00	17,00	0,00	0,00	3,00	
	DD	34	0,00	17,00	0,00	0,00	1,00	
Vrijeme od RP do postavljanja dg.	II	32	0,00	21,00	1,00	2,00	4,75	0,478
	ID	69	0,00	22,00	0,50	2,00	6,00	
	DD	34	0,00	20,00	0,75	1,00	3,25	
Dob (godine) pri početku bolesti	II	32	24,00	77,00	41,25	52,00	60,00	0,799
	ID	69	16,00	69,00	39,00	49,00	60,50	
	DD	34	22,00	72,00	39,50	50,50	58,25	
Vrijeme od RP do smrti	II	3	13,00	26,00	13,00	14,00	26,00	1,052
	ID	8	0,00	23,00	4,50	11,50	15,75	
	DD	2	8,00	25,00	6,00	16,50	18,75	
Vrijeme od dg. do smrti	II	3	7,00	23,00	7,00	13,00	23,00	1,097
	ID	8	0,00	20,00	2,00	9,50	15,25	
	DD	2	7,00	20,00	5,25	13,50	15,00	
Dob smrti	II	3	64,00	83,00	64,00	70,00	83,00	2,468
	ID	8	28,00	76,00	46,75	62,00	68,50	
	DD	2	46,00	72,00	34,50	59,00	54,00	

RP – Raynaudov fenomen (prema engl. *Raynaud's phenomenon*), dg. - dijagnoza

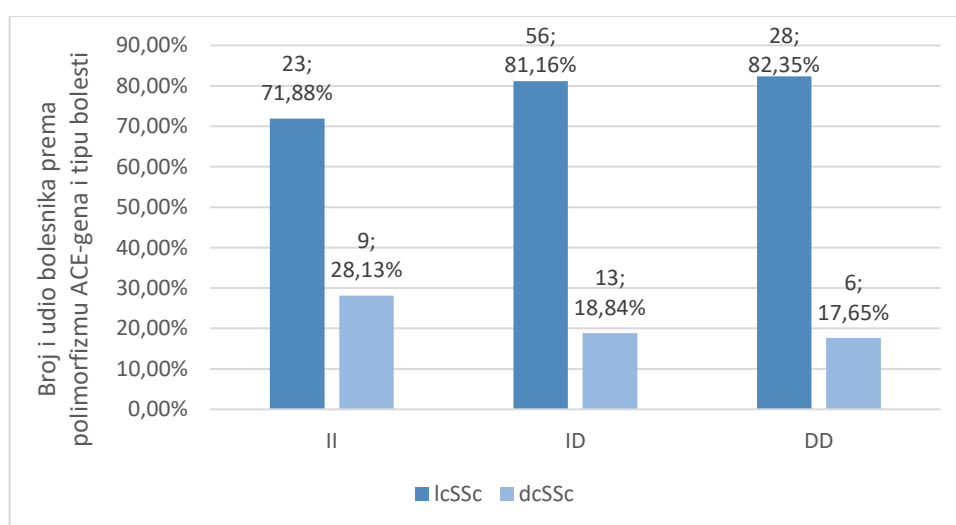
Razlike u ACE-genotipu s obzirom na spol, tip bolesti, protutijela, umrle bolesnike i na vrstu prvog ne-Raynaudovog simptoma bolesnika prikazane su u Tablici 11. Također nisu nađene statistički značajne razlike među bolesnicima s pojedinim ACE-genotipom.

Tablica 11. Razlike u ACE-genotipu s obzirom na spol, tip bolesti, protutijela, umrle bolesnike i na vrstu prvog ne-Raynaudovog simptoma (Fisher-Freeman-Haltonov test)

		ACE-genotip						p
		II		ID		DD		
		N	%	N	%	N	%	
Spol	Ženski	30	93,8%	58	84,1%	33	97,1%	0,100
	Muški	2	6,3%	11	15,9%	1	2,9%	
Vrsta prvog ne-Raynaudovog simptoma	Koža	19	59,4%	36	52,2%	17	50,0%	0,856
	Pluća	2	6,3%	8	11,6%	3	8,8%	
	Lokomotorni sustav	9	28,1%	19	27,5%	13	38,2%	
	Ostalo	2	6,3%	6	8,7%	1	2,9%	
Tip bolesti	lcSSc	23	71,9%	56	81,2%	28	82,4%	0,483
	dcSSc	9	28,1%	13	18,8%	6	17,6%	
	Ostalo	8	25,0%	9	13,0%	9	26,5%	
Protutijelo	CENP-B	12	37,5%	23	33,3%	14	41,2%	0,186
	Scl70	12	37,5%	37	53,6%	11	32,4%	
Umrli	Ne	29	90,6%	61	88,4%	32	94,1%	0,691
	Da	3	9,4%	8	11,6%	2	5,9%	

dcSSc – difuzni kutani oblik bolesti (prema engl. *diffuse cutaneous systemic sclerosis*), lcSSc – limitirani kutani oblik bolesti (prema engl. *limited cutaneous systemic sclerosis*)

Slika 39 prikazuje povezanost ACE-genotipa s lcSSc i dcSSc oblikom bolesti i time odgovara na istoimeni specifični cilj. Nije bilo statistički značajnih razlika uz $p=0,483$ i time je pokazano da je podjednaka distribucija pojedinih tipova bolesti u odnosu na ACE-genotip (Tablica 11).



Slika 39. Povezanost ACE-genotipa s limitiranim (prema engl. *limited cutaneous systemic sclerosis*, lcSSc) i difuznim (*diffuse cutaneous systemic sclerosis*, dcSSc) kutanim oblikom bolesti

U Tablici 12 prikazana je analiza povezanosti ACE-genotipa s komorbiditetima koji predstavljaju kardiovaskularni rizik kao što su art. hipertenzija, šećerna bolest i dislipidemija te također nije nađena statistički značajna razlika među grupama bolesnika s pojedinim polimorfizmom ACE.

Tablica 12. Povezanost ACE-genotipa s komorbiditetima kardiovaskularnog rizika u 3 vremenske točke (Fisher-Freeman-Haltonov test)

		ACE-genotip						p
		II		ID		DD		
		N	%	N	%	N	%	
Šećerna bolest pri dg.	Nema	32	100,0%	65	94,2%	33	97,1%	0,600
	Ima	0	0,0%	4	5,8%	1	2,9%	
Šećerna bolest nakon 5 g.	Nema	25	92,6%	48	90,6%	24	96,0%	0,889
	Ima	2	7,4%	5	9,4%	1	4,0%	
Šećerna bolest nakon 10 g.	Nema	19	90,5%	31	88,6%	14	100,0%	0,469
	Ima	2	9,5%	4	11,4%	0	0,0%	
Dislipidemija pri dg.	Nema	26	81,3%	55	79,7%	23	67,6%	0,334
	Ima	6	18,8%	14	20,3%	11	32,4%	
Dislipidemija nakon 5 g.	Nema	19	70,4%	35	66,0%	14	56,0%	0,573
	Ima	8	29,6%	18	34,0%	11	44,0%	
Dislipidemija nakon 10 g.	Nema	15	71,4%	18	51,4%	9	64,3%	0,312
	Ima	6	28,6%	17	48,6%	5	35,7%	
Art. hipertenzija pri dg.	Nema	24	75,0%	52	75,4%	28	82,4%	0,716
	Ima	8	25,0%	17	24,6%	6	17,6%	
Art. hipertenzija nakon 5 g.	Nema	19	70,4%	37	69,8%	19	76,0%	0,884
	Ima	8	29,6%	16	30,2%	6	24,0%	
Art. hipertenzija nakon 10 g.	Nema	14	66,7%	27	77,1%	10	71,4%	0,683
	Ima	7	33,3%	8	22,9%	4	28,6%	

5.2.2. Povezanost ACE-genotipa s aktivnošću bolesti

Analizirajući povezanost polimorfizma ACE gena s upalnim parametrima i indeksima aktivnosti bolesti (EScSG-AI i EUSTAR-AI) nije nađeno statistički značajnih razlika među bolesnicima u 3 vremenska razdoblja. Međutim, unakon 10 godina zabilježene su statistički značajne razlike u vrijednostima C4 pri čemu bolesnici s II polimorfizmom imaju najnižu vrijednost C4 komponente komplementa. Navedeno prikazuju Tablice 13-15.

Također, došlo je do statistički značajnog smanjenja SE nakon 10 godina ($p=0,014$, u odnosu na početne vrijednosti) u bolesnika genotipa ID (Tablica 15) te je kod svih ACE-genotipova došlo do statistički značajnog smanjenja EScSG-AI nakon 10 godina (Tablica 15).

Tablica 13. Povezanost ACE-genotipa s laboratorijskim parametrima upale u 3 vremenske točke (Kruskal-Wallisov test)

ACE-gen	N	Min	Maks	Centile			p	
				25.	Medijan	75.		
SE pri dg. (mm/h)	II	32	4,00	84,00	10,25	17,00	29,75	0,665
	ID	69	2,00	100,00	9,00	20,00	38,00	
	DD	34	4,00	70,00	13,25	19,50	28,50	
SE nakon 5 g. (mm/h)	II	27	4,00	52,00	11,00	16,00	20,00	0,694
	ID	53	3,00	80,00	10,00	15,00	20,00	
	DD	25	2,00	90,00	7,00	15,00	31,50	
SE nakon 10 g. (mm/h)	II	21	6,00	44,00	10,00	20,00	32,00	0,336
	ID	35	3,00	60,00	8,00	16,00	24,00	
	DD	14	6,00	38,00	9,75	12,00	18,00	
CRP pri dg. (mg/L)	II	32	0,30	80,00	1,35	3,00	5,86	0,879
	ID	69	0,10	53,00	1,35	3,10	7,50	
	DD	34	0,30	59,00	1,23	3,65	7,65	
CRP nakon 5 g. (mg/L)	II	27	0,44	16,60	1,70	4,00	5,70	0,810
	ID	53	0,40	54,00	1,25	3,00	7,55	
	DD	25	0,50	30,70	0,95	2,70	8,50	
CRP nakon 10 g. (mg/L)	II	21	0,50	31,00	1,25	2,80	5,20	0,928
	ID	35	0,20	30,00	1,50	2,50	6,10	
	DD	14	0,70	25,70	1,23	3,55	6,75	
C3 pri dg. (g/L)	II	32	0,54	1,89	0,91	1,00	1,20	0,274
	ID	69	0,68	1,92	0,96	1,11	1,29	
	DD	34	0,64	1,57	0,95	1,12	1,24	
C3 nakon 5 g. (g/L)	II	27	0,48	1,41	0,90	1,04	1,22	0,102
	ID	53	0,65	1,54	1,00	1,12	1,37	
	DD	25	0,85	1,71	1,01	1,10	1,27	
C3 nakon 10 g. (g/L)	II	21	0,75	1,33	0,90	1,03	1,23	0,297
	ID	35	0,70	1,59	1,00	1,16	1,31	
	DD	14	0,88	1,56	0,97	1,05	1,24	
C4 pri dg. (g/L)	II	32	0,02	0,39	0,15	0,21	0,26	0,880
	ID	69	0,08	0,46	0,18	0,21	0,28	
	DD	34	0,11	1,20	0,17	0,21	0,26	
C4 nakon 5 g. (g/L)	II	27	0,05	0,42	0,15	0,19	0,24	0,100
	ID	53	0,12	0,44	0,18	0,21	0,29	
	DD	25	0,12	0,35	0,19	0,24	0,28	
C4 nakon 10 g. (g/L)	II	21	0,04	0,29	0,16	0,20	0,21	0,023
	ID	35	0,09	0,41	0,17	0,21	0,26	
	DD	14	0,15	0,35	0,20	0,26	0,29	

Komponenta komplementa C3 ref. vrijednost 0,90 – 1,80 g/L; C4 ref. vrijednost (0,10 – 0,40 g/L); CRP – C-reaktivni protein (ref. vrijednost <5 mg/L); SE – sedimentacija eritrocita (ref. vrijednost za žene: 5-28 mm/h, muškarce: 2-13 mm/h)

Tablica 14. Povezanost polimorfizma ACE-gena s indeksima aktivnosti bolesti EScSG-AI i EUSTAR-AI (Kruskal-Wallisov test)

ACE-genotip	N	Min	Maks	Centile			p	
				25.	Medijan	75.		
EScSG-AI pri dg.	II	32	0,50	6,50	1,50	3,25	4,50	0,600
	ID	69	0,00	9,00	1,50	3,50	5,00	
	DD	34	0,50	7,50	1,88	3,00	4,50	
EScSG-AI nakon 5 g.	II	27	0,00	7,00	1,00	2,00	3,50	0,603
	ID	53	0,00	6,50	0,50	1,50	3,00	
	DD	25	0,00	5,50	0,50	1,00	3,25	
EScSG-AI nakon 10 g.	II	21	0,00	5,00	0,75	1,50	3,00	0,605
	ID	35	0,00	5,50	0,50	1,00	2,50	
	DD	14	0,00	4,50	0,00	1,25	3,25	
EUSTAR-AI pri dg.	II	32	0,00	3,75	0,42	1,50	2,96	0,328
	ID	69	0,00	6,25	0,42	1,50	3,13	
	DD	34	0,17	5,59	1,13	1,63	3,24	
EUSTAR-AI nakon 5 g.	II	27	0,17	4,00	1,18	1,50	2,00	0,789
	ID	53	0,00	5,67	0,25	1,50	2,50	
	DD	25	0,17	5,51	0,46	1,25	3,59	
EUSTAR-AI nakon 10 g.	II	21	0,34	5,17	1,05	1,50	2,13	0,324
	ID	35	0,00	6,25	0,25	1,17	2,67	
	DD	14	0,00	6,26	0,25	1,21	3,78	

EScSG-AI – indeks aktivnosti Europske skupine za studije skleroderme, prema engl. *European Scleroderma Study Group - Activity Index*, EUSTAR-AI – indeks aktivnosti Europske skupine za ispitivanje i istraživanje skleroderme, prema engl. *European Scleroderma Trials and Research Group - Activity Index*)

Tablica 15. Razlike brzine SE, vrijednosti CRP-a, komponenti komplementa C3 i C4 te EScSG-AI i EUSTAR-AI između prvog i zadnjeg mjerenja (pri dijagnozi i nakon 10 godina): Wilcoxonov test

		ACE-genotip		
		II	ID	DD
SE nakon 10 g. – SE pri dg.	Z	-0,504	-2,46	-1,101
	p	0,614	0,014	0,271
CRP nakon 10 g. – CRP pri dg.	Z	-0,191	-0,504	-0,471
	p	0,848	0,614	0,638
C3 nakon 10 g. - C3 pri dg.	Z	-0,296	-0,527	-1,288
	p	0,768	0,598	0,198
C4 nakon 10 g. - C4 pri dg.	Z	-2,146	-1,478	-1,604
	p	0,032	0,139	0,109
EScSG-AI nakon 10 g. – EScSG-AI pri dg.	Z	-2,471	-3,654	-2,526
	p	0,013	<0,001	0,012
EUSTAR-AI nakon 10 g. – EUSTAR-AI pri dg.	Z	-0,906	-0,821	-0,346
	p	0,365	0,412	0,730

C3 ref. vrijednost 0,90 – 1,80 g/L; C4 ref. vrijednost (0,10 – 0,40 g/L); CRP – C-reaktivni protein (ref. vrijednost <5 mg/L); EScSG-AI – indeks aktivnosti Europske skupine za studije skleroderme, prema engl. *European Scleroderma Study Group – Activity Index*, EUSTAR-AI – indeks aktivnosti Europske skupine za ispitivanje i istraživanje skleroderme, prema engl. *European Scleroderma Trials and Research Group – Activity Index*; SE – sedimentacija eritrocita (ref. vrijednost za žene: 5-28 mm/h, muškarce: 2-13 mm/h)

5.2.3. Povezanost ACE-genotipa s težinom periferne vaskulopatije

Povezanost ACE-genotipa s obzirom na mRSS te pojavu DU prikazana je u Tablicama 16 i 17. Nije bilo statistički značajnih razlika. Tablica 18 prikazuje razlike između prvog i zadnjeg mjerenja mRSS (pri dijagnozi i nakon 10 godina) gdje također nije nađeno statistički značajnih razlika. Dodatno je ispitana povezanost ACE-genotipa s vrijednostima ABI te također nije nađena statistički značajna razlika među skupinama (Tablica 19). Time je analiziran specifični cilj „Ispitati povezanost ACE-genotipa sa stupnjem RP i periferne vaskulopatije“.

Tablica 16. Povezanost ACE-genotipa s težinom Raynaudovog fenomena (RP) kroz analizu modificiranog Rodnanovog kožnog zbroja (mRSS) u 3 vremenske točke (Kruskal-Wallisov test)

ACE-genotip	N	Min	Maks	Centile			p	
				25.	Medijan	75.		
mRSS pri dg.	II	32	0,00	32,00	3,25	6,00	12,00	0,552
	ID	69	0,00	33,00	3,00	6,00	10,50	
	DD	34	0,00	38,00	3,75	7,00	12,50	
mRSS nakon 5 g.	II	27	2,00	28,00	4,00	6,00	9,00	0,062
	ID	53	0,00	38,00	3,00	5,00	9,00	
	DD	25	0,00	31,00	3,00	10,00	15,00	
mRSS nakon 10 g.	II	21	3,00	26,00	4,00	8,00	12,00	0,086
	ID	35	0,00	31,00	2,00	5,00	9,00	
	DD	14	0,00	22,00	3,00	7,50	15,25	

mRSS – modificirani Rodnanov kožni zbroj (prema engl. *modified Rodnan skin score*)

Tablica 17. Povezanost ACE-genotipa s težinom Raynaudovog fenomena (RP) s obzirom na pojavu ulceracija prstiju (DU): Fisher-Freeman-Haltonov test

	ACE-genotip	ACE-genotip						p
		II		ID		DD		
		N	%	N	%	N	%	
DU pri dg.	Nema	23	71,9%	52	75,4%	25	73,5%	0,934
	Ima	9	28,1%	17	24,6%	9	26,5%	
DU nakon 5 g.	Nema	20	74,1%	37	69,8%	20	80,0%	0,679
	Ima	7	25,9%	16	30,2%	5	20,0%	
DU nakon 10 g.	Nema	15	71,4%	24	68,6%	8	57,1%	0,707
	Ima	6	28,6%	11	31,4%	6	42,9%	

DU – ulceracije prstiju (prema engl. *digital ulcerations*), RP – Raynaudov fenomen (prema engl. *Raynaud's phenomenon*)

Tablica 18. Razlike modificiranog Rodnanovog kožnog zbroja (mRSS) između prvog i zadnjeg mjerenja (pri dg. i nakon 10 g.): Wilcoxonov test

		ACE-genotip		
		II	ID	DD
mRSS nakon 10 g. – mRSS pri dg.	Z	-0,242	-0,174	-0,045
	p	0,809	0,862	0,964

mRSS – modificirani Rodnanov kožni zbroj (prema engl. *modified Rodnan skin score*)

Tablica 19. Povezanost pedobrahijalnog indeksa (ABI) s ACE-genotipom (Kruskal-Wallisov test)

ACE-genotip	N	Min	Maks	Centile			p	
				25.	Medijan	75.		
ABI desne noge	II	30	0,87	1,88	1,08	1,17	1,25	0,548
	ID	59	0,32	1,42	1,04	1,14	1,23	
	DD	30	0,72	1,34	1,09	1,19	1,24	
ABI lijeve noge	II	30	0,89	1,39	1,07	1,14	1,23	0,771
	ID	58	0,23	1,40	1,06	1,17	1,24	
	DD	30	0,72	1,43	1,06	1,19	1,27	

ABI – pedobrahijalni indeks (prema engl. *ankle brachial index*)

5.2.4. Povezanost ACE-genotipa s manifestacijama na lokomotornom sustavu

Povezanost ACE-genotipa s manifestacijama SSc na lokomotornom sustavu prikazana je u Tablicama 20, 21 i 22. Nije bilo statistički značajnih razlika uzevši u obzir pojavu kontraktura, sinovitisa, mišićne slabosti i atrofije i povišenog nalaza CK.

Tablica 20. Povezanost ACE-genotipa s pojavom manifestacija na lokomotornom sustavu u 3 vremenske točke (Fisher-Freeman-Haltonov test)

		ACE-genotip						p
		II		ID		DD		
		N	%	N	%	N	%	
Kontrakture pri dg.	Nema	27	84,4%	61	88,4%	31	91,2%	0,690
	Ima	5	15,6%	8	11,6%	3	8,8%	
Kontrakture nakon 5 g.	Nema	20	74,1%	43	81,1%	22	88,0%	0,468
	Ima	7	25,9%	10	18,9%	3	12,0%	
Kontrakture nakon 10 g.	Nema	16	76,2%	28	80,0%	11	78,6%	0,929
	Ima	5	23,8%	7	20,0%	3	21,4%	
Sinovitis pri dg.	Nema	28	87,5%	61	88,4%	34	100,0%	0,073
	Ima	4	12,5%	8	11,6%	0	0,0%	
Sinovitis nakon 5 g.	Nema	26	96,3%	53	100,0%	23	92,0%	0,071
	Ima	1	3,7%	0	0,0%	2	8,0%	
Sinovitis nakon 10 g.	Nema	21	100,0%	35	100,0%	14	100,0%	1,000
	Ima	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	
Mišićna slabost pri dg.	Nema	28	87,5%	57	82,6%	27	79,4%	0,724
	Ima	4	12,5%	12	17,4%	7	20,6%	
Mišićna slabost nakon 5 g.	Nema	20	74,1%	40	75,5%	19	76,0%	1,000
	Ima	7	25,9%	13	24,5%	6	24,0%	
Mišićna slabost nakon 10 g.	Nema	16	76,2%	24	68,6%	10	71,4%	0,938
	Ima	5	23,8%	11	31,4%	4	28,6%	
Mišićna atrofija pri dg.	Nema	30	93,8%	64	92,8%	31	91,2%	1,000
	Ima	2	6,3%	5	7,2%	3	8,8%	
Mišićna atrofija nakon 5 g.	Nema	23	85,2%	45	84,9%	21	84,0%	1,000
	Ima	4	14,8%	8	15,1%	4	16,0%	
Mišićna atrofija nakon 10 g.	Nema	18	85,7%	26	74,3%	12	85,7%	0,576
	Ima	3	14,3%	9	25,7%	2	14,3%	
Povišen CK pri dg.	Uredno	30	93,8%	59	85,5%	30	88,2%	0,602
	Patološki	2	6,3%	10	14,5%	4	11,8%	
Povišen CK nakon 5 g.	Uredno	25	92,6%	46	86,8%	24	96,0%	0,519
	Patološki	2	7,4%	7	13,2%	1	4,0%	
Povišen CK nakon 10 g.	Uredno	21	100,0%	32	91,4%	13	92,9%	0,411
	Patološki	0	0,0%	3	8,6%	1	7,1%	

CK – kreatin kinaza (prema engl. *creatine kinase*; ref. vrijednost za žene: 0 – 153 U/L, za muškarce: 0 – 177 U/L)

Tablica 21. Povezanost ACE-genotipa s vrijednostima kreatin kinaze (CK) u 3 vremenske točke (Kruskal-Wallisov test)

ACE-genotip	N	Min	Maks	Centile			p	
				25.	Medijan	75.		
CK pri dg (U/L)	II	26	23,00	1428,00	53,00	85,50	100,00	0,995
	ID	57	27,00	796,00	50,00	72,00	125,50	
	DD	24	31,00	5077,00	50,50	73,50	118,00	
CK nakon 5 g. (U/L)	II	16	22,00	240,00	42,00	76,50	97,75	0,626
	ID	42	14,00	612,00	50,00	75,50	113,00	
	DD	16	24,00	264,00	40,75	71,00	97,75	
CK nakon 10 g. (U/L)	II	15	22,00	133,00	48,00	66,00	105,00	0,884
	ID	24	24,00	319,00	35,75	69,00	97,50	
	DD	8	23,00	230,00	48,25	79,00	116,50	

CK – kreatin kinaza (prema engl. *creatine kinase*; ref. vrijednost za žene: 0 – 153 U/L, za muškarce: 0 – 177 U/L)

Tablica 22. Razlike vrijednosti kreatin kinaze (CK) između prvog i zadnjeg mjerenja (pri dijagnozi i nakon 10 godina): Wilcoxonov test

	Z	ACE-genotip		
		II	ID	DD
CK nakon 10 g. - CK pri dg.		-0,934	-0,626	-1,014
	p	0,350	0,531	0,310

CK – kreatin kinaza (prema engl. *creatine kinase*; ref. vrijednost za žene: 0 – 153 U/L, za muškarce: 0 – 177 U/L)

5.2.5. Povezanost ACE-genotipa s manifestacijama bolesti na gastrointestinalnom sustavu

Nisu nađene statistički značajne razlike među skupinama bolesnika s pojedinim ACE-genotipom s obzirom na pojavu jednjačnih simptoma (disfagija i refluks), želučanih (rana sitost i povraćanje) te crijevnih (proljev, nadutost, konstipacija). Navedno prikazuje Tablica 23.

Tablica 23. Povezanost ACE-genotipa s manifestacijama bolesti na probavnom sustavu (jednjak, želudac i crijeva) u 3 vremenske točke (Fisher-Freeman-Haltonov test)

		ACE-genotip						p
		II		ID		DD		
		N	%	N	%	N	%	
Disfagija i refluks pri dg.	Nema	13	40,6%	32	46,4%	18	52,9%	0,601
	Ima	19	59,4%	37	53,6%	16	47,1%	
Disfagija i refluks nakon 5 g.	Nema	12	44,4%	21	39,6%	13	52,0%	0,598
	Ima	15	55,6%	32	60,4%	12	48,0%	
Disfagija i refluks nakon 10 g.	Nema	13	61,9%	12	34,3%	5	35,7%	0,114
	Ima	8	38,1%	23	65,7%	9	64,3%	
Rana sitost i povraćanje pri dg.	Nema	32	100,0%	64	92,8%	33	97,1%	0,311
	Ima	0	0,0%	5	7,2%	1	2,9%	
Rana sitost i povraćanje nakon 5 g.	Nema	25	92,6%	50	94,3%	22	88,0%	0,565
	Ima	2	7,4%	3	5,7%	3	12,0%	
Rana sitost i povraćanje nakon 10 g.	Nema	18	85,7%	33	94,3%	11	78,6%	0,187
	Ima	3	14,3%	2	5,7%	3	21,4%	
Proljev, nadutost, konstipacija pri dg.	Nema	27	84,4%	57	82,6%	32	94,1%	0,268
	Ima	5	15,6%	12	17,4%	2	5,9%	
Proljev, nadutost, konstipacija nakon 5 g.	Nema	23	85,2%	47	88,7%	21	84,0%	0,805
	Ima	4	14,8%	6	11,3%	4	16,0%	
Proljev, nadutost, konstipacija nakon 10 g.	Nema	16	76,2%	32	91,4%	13	92,9%	0,229
	Ima	5	23,8%	3	8,6%	1	7,1%	

5.2.6. Povezanost ACE-genotipa s bubrežnom bolešću u sklopu sistemske skleroze

Povezanost ACE-genotipa sa stupnjem bubrežne bolesti pri dijagnozi i daljnjem praćenju prikazana je u Tablicama 24 – 26 te analizira specifični cilj: „Ispitati povezanost ACE-genotipa sa stupnjem bubrežne bolesti“. Nije bilo statistički značajnih razlika u parametrima bubrežnog oštećenja, kako u pojedinim vremenima mjerenja, tako i u razlikama između početnih i završnih vrijednosti.

Tablica 24. Povezanost ACE-genotipa s pojavom renalne krize u 3 vremenske točke (Fisher-Freeman-Haltonov test)

		ACE-genotip						p
		II		ID		DD		
		N	%	N	%	N	%	
Renalna kriza pri dg.	Nema	32	100,0%	69	100,0%	34	100,0%	1,000
	Ima	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	
Renalna kriza nakon 5 g.	Nema	27	100,0%	53	100,0%	25	100,0%	1,000
	Ima	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	
Renalna kriza nakon 10 g.	Nema	20	95,2%	35	100,0%	14	100,0%	0,500
	Ima	1	4,8%	0	0,0%	0	0,0%	

Tablica 25. Povezanost ACE-genotipa s parametrima bubrežne funkcije u 3 vremenske točke (Kruskal-Wallisov test)

ACE-genotip	N	Min	Maks	Centile			p	
				25.	Medijan	75.		
Kreatinin pri dg. ($\mu\text{mol/L}$)	II	32	29,00	105,00	59,00	71,50	85,00	0,823
	ID	69	43,00	113,00	59,50	68,00	79,50	
	DD	34	36,00	97,00	60,75	67,00	81,25	
Kreatinin nakon 5 g. ($\mu\text{mol/L}$)	II	27	26,00	120,00	57,00	71,00	83,00	0,972
	ID	53	47,00	117,00	59,00	70,00	80,00	
	DD	25	48,00	123,00	56,00	70,00	81,00	
Kreatinin nakon 10 g. ($\mu\text{mol/L}$)	II	21	46,00	352,00	64,50	75,00	90,50	0,469
	ID	35	44,00	118,00	62,00	71,00	80,00	
	DD	14	57,00	87,00	59,75	70,50	77,00	
eGFR pri dg. (mL/min/1,73m^2)	II	32	46,79	138,29	71,26	81,52	106,99	0,327
	ID	69	46,25	136,05	80,87	92,59	108,81	
	DD	34	58,17	137,15	74,15	91,83	105,20	
eGFR nakon 5 g. (mL/min/1,73m^2)	II	27	55,18	128,00	66,90	79,53	102,14	0,562
	ID	53	41,74	130,65	73,22	93,07	104,53	
	DD	25	42,15	124,55	70,93	87,38	101,23	
eGFR nakon 10 g. (mL/min/1,73m^2)	II	21	11,82	117,44	60,68	78,01	95,45	0,181
	ID	35	45,26	129,52	72,75	87,45	102,80	
	DD	14	61,85	111,29	73,58	85,27	99,00	
Proteinurija pri dg. (mg/dU)	II	22	0,02	0,32	0,08	0,10	0,14	0,364
	ID	49	0,01	0,37	0,08	0,14	0,21	
	DD	17	0,03	0,48	0,09	0,14	0,19	
Proteinurija nakon 5 g. (mg/dU)	II	16	0,02	5,70	0,06	0,09	0,21	0,764
	ID	26	0,02	0,87	0,09	0,11	0,16	
	DD	16	0,02	0,62	0,06	0,11	0,21	
Proteinurija nakon 10 g. (mg/dU)	II	16	0,03	4,07	0,08	0,14	0,22	0,440
	ID	14	0,05	0,40	0,06	0,09	0,17	
	DD	7	0,05	0,21	0,08	0,13	0,16	

eGFR - procijenjena glomerularna filtracija (prema engl. *estimated glomerular filtration rate*)

Tablica 26. Razlike stupnja bubrežne bolesti između prvog i zadnjeg mjerenja (pri dijagnozi i nakon 10 godina): Wilcoxonov test

		ACE-genotip		
		II	ID	DD
Kreatinin nakon 10 g. – Kreatinin pri dg.	Z	-0,205	-0,948	-1,224
	p	0,837	0,343	0,221
eGFR nakon 10 g. - eGFR pri dg.	Z	-1,095	-1,851	-0,408
	p	0,274	0,064	0,683
Proteinurija nakon 10 g. – Proteinurija pri dg.	Z	-1,875	-0,031	0,000
	p	0,061	0,975	1,000

eGFR - procijenjena glomerularna filtracija (prema engl. *estimated glomerular filtration rate*)

5.2.7. Povezanost ACE-genotipa sa zahvaćanjem srca

Povezanost ACE-genotipa s pojavom srčane insuficijencije evidentirane LVEF te s pojavom sumnje na PAH evidentirane RVSP-om pri dijagnozi i tijekom pojedinih mjerenja prikazane su u Tablicama 27 do 29 i odgovaraju na istoimeni specifični cilj. Unutar pojedinih mjerenja vrijednosti RVSP-a nije bilo statistički značajnih razlika, no u vremenu mjerenja nakon 10 godina zabilježene su statistički značajne razlike u vrijednostima LVEF (najbolje vrijednosti LVEF u ACE genotipotu DD, Tablica 28). Kada su se promatrale zavisne vrijednosti (razlike prije i poslije) nije nađeno statistički značajne promjene vrijednosti LVEF nakon 10 godina (Tablica 29).

Tablica 27. Povezanost ACE-genotipa s pojavom aritmije u 3 vremenske točke (Fisher-Freeman-Haltonov test)

		ACE-genotip						p
		II		ID		DD		
		N	%	N	%	N	%	
Aritmija pri dg.	Nema	27	84,4%	66	95,7%	30	88,2%	0,142
	Ima	5	15,6%	3	4,3%	4	11,8%	
Aritmija nakon 5 g.	Nema	23	85,2%	47	88,7%	19	76,0%	0,329
	Ima	4	14,8%	6	11,3%	6	24,0%	
Aritmija nakon 10 g.	Nema	19	90,5%	26	74,3%	12	85,7%	0,336
	Ima	2	9,5%	9	25,7%	2	14,3%	

Tablica 28. Povezanost ACE-genotipa s vrijednostima LVEF i RVSP u 3 vremenske točke (Kruskal-Wallisov test)

ACE-genotip	N	Min	Max	Centile			p	
				25.	Medijan	75.		
LVEF pri dg.	II	29	45,00	75,00	60,00	65,00	69,00	0,944
	ID	63	30,00	77,00	60,00	65,00	70,00	
	DD	33	50,00	74,00	60,00	65,00	70,00	
LVEF nakon 5 g.	II	23	56,00	75,00	63,00	65,00	70,00	0,377
	ID	48	55,00	76,00	60,00	65,00	66,75	
	DD	24	50,00	70,00	60,50	65,00	67,75	
LVEF nakon 10 g.	II	20	55,00	70,00	60,00	65,00	66,50	0,026
	ID	33	55,00	81,00	60,00	65,00	65,00	
	DD	13	55,00	77,00	65,00	65,00	72,00	
RVSP pri dg.	II	11	21,00	45,00	27,00	35,00	40,00	0,521
	ID	30	11,00	93,00	25,00	29,50	38,25	
	DD	9	25,00	37,00	25,50	30,00	35,00	
RVSP nakon 5 g.	II	13	21,00	55,00	25,00	31,00	39,00	0,759
	ID	25	17,00	90,00	28,00	32,00	38,50	
	DD	6	23,00	65,00	24,50	28,50	44,00	
RVSP nakon 10 g.	II	11	15,00	48,00	23,00	35,00	40,00	0,401
	ID	16	9,00	86,00	25,50	30,00	39,25	
	DD	6	19,00	48,00	20,50	26,50	34,50	

LVEF – istisna frakcija lijeve klijetke (prema engl. *left ventricular ejection fraction*), ref. vrijednost >50%; RVSP – sistolički tlak u desnoj klijetci (prema engl. *right ventricular systolic pressure*), ref. vrijednost <35 mm Hg;

Tablica 29. Razlike LVEF i RVSP između prvog i zadnjeg mjerenja (pri dijagnozi i nakon 10 godina): Wilcoxonov test

		ACE-genotip		
		II	ID	DD
LVEF nakon 10 g. – LVEF pri dg.	Z	-0,882	-1,343	-1,247
	p	0,378	0,132	0,212
RVSP nakon 10 g. – RVSP pri dg.	Z	-1,826	-0,261	-0,73
	p	0,068	0,794	0,465

LVEF – istisna frakcija lijeve klijetke (prema engl. *left ventricular ejection fraction*), ref. vrijednost >50%; RVSP – sistolički tlak u desnoj klijetci (prema engl. *right ventricular systolic pressure*), ref. vrijednost <35 mm Hg;

5.2.8. Povezanost ACE-genotipa sa zahvaćanjem pluća

Povezanost ACE-genotipa s pojavom strukturnih promjena pluća u smislu plućne fibroze evidentirane nalazom HRCT-a te s pojavom funkcijskog poremećaja pluća evidentirane spirometrijom i DLco pri dijagnozi i tijekom pojedinih mjerenja prikazane su u Tablicama 30 do 32 i odgovaraju na istoimene specifične ciljeve.

Unutar pojedinih mjerenja nije bilo statistički značajnih razlika (Tablica 30 i 31). Međutim, kada su se promatrale zavisne vrijednosti (razlike prije i poslije), pokazano je statistički značajno sniženje vrijednosti FEV1 nakon 10 godina kod ACE-genotipa ID (Tablica 32).

Tablica 30. Povezanost ACE-genotipa s poremećajem plućne funkcije evidentirane spirometrijom i DLco u 3 vremenske točke (Kruskal-Wallisov test)

ACE-genotip	N	Min	Maks	Centile			p	
				25.	Medijan	75.		
FEV1 pri dg. (%)	II	32	40,00	142,00	76,75	91,50	100,75	0,483
	ID	69	50,00	146,00	78,50	91,00	105,50	
	DD	34	60,00	136,00	85,00	95,00	108,25	
FEV1 nakon 5 g. (%)	II	27	39,00	122,00	76,00	88,00	102,00	0,551
	ID	53	51,00	142,00	78,35	88,00	102,00	
	DD	25	28,00	130,00	82,00	95,00	106,50	
FEV1 nakon 10 g. (%)	II	21	49,00	117,00	82,00	89,00	101,50	0,589
	ID	35	33,00	140,00	69,00	84,00	99,00	
	DD	14	67,00	130,00	70,75	92,00	99,50	
FVC pri dg. (%)	II	32	35,00	152,00	79,00	88,50	104,75	0,497
	ID	69	37,00	147,00	77,50	92,00	108,00	
	DD	34	52,00	137,00	82,25	99,00	107,25	
FVC nakon 5 g. (%)	II	27	34,00	125,00	79,00	87,00	104,00	0,362
	ID	53	43,00	152,00	79,90	94,00	107,00	
	DD	25	27,00	129,00	82,00	96,00	117,50	
FVC nakon 10 g. (%)	II	21	47,00	122,00	83,00	93,00	108,00	0,328
	ID	35	34,00	150,00	71,00	86,00	106,00	
	DD	14	60,00	146,00	70,75	97,50	118,50	
DLco pri dg. (%)	II	32	29,00	111,00	50,75	73,00	81,75	0,807
	ID	69	36,00	118,00	58,00	71,00	86,00	
	DD	34	50,00	118,00	61,50	72,00	82,75	
DLco nakon 5 g. (%)	II	27	30,00	111,00	49,00	70,00	81,00	0,620
	ID	53	26,00	117,00	56,00	74,00	87,50	
	DD	25	29,00	146,00	57,00	76,00	88,00	
DLco nakon 10 g. (%)	II	21	26,00	129,00	50,50	71,00	87,00	0,992
	ID	35	31,00	102,00	49,00	72,00	89,00	
	DD	14	30,00	105,00	50,00	72,00	87,50	

DLco – difuzijski kapacitet za ugljikov monoksid (prema engl. *diffusing capacity for carbon monoxide*), FEV1 – forsirani ekspiracijski volumen tijekom prve sekunde (prema engl. *forced expiratory volume during the first second*), FVC – forsirani ekspiracijski vitalni kapacitet (prema engl. *forced expiratory vital capacity*)

Tablica 31. Povezanost ACE-genotipa sa strukturnim promjenama pluća evidentiranih HRCT-om (Fisher-Freeman-Haltonov test)

		ACE-genotip						p
		II		ID		DD		
		N	%	N	%	N	%	
Strukturne promjene pluća pri dg.	Nema	22	68,8%	40	58,0%	25	73,5%	0,270
	Ima	10	31,3%	29	42,0%	9	26,5%	
Strukturne promjene pluća nakon 5 g.	Nema	19	70,4%	28	52,8%	18	72,0%	0,163
	Ima	8	29,6%	25	47,2%	7	28,0%	
Strukturne promjene pluća nakon 10 g.	Nema	13	61,9%	19	54,3%	9	64,3%	0,853
	Ima	8	38,1%	16	45,7%	5	35,7%	

Tablica 32. Razlike spirometrijskih nalaza i DLco između prvog i zadnjeg mjerenja (pri dijagnozi i nakon 10 godina): Wilcoxonov test

		ACE genotip		
		II	ID	DD
FEV1 nakon 10 g. - FEV1 pri dg.	Z	-0,625	-2,462	-1,005
	p	0,532	0,014	0,315
FVC nakon 10 g. - FVC pri dg.	Z	-0,991	-0,983	-0,734
	p	0,322	0,325	0,463
DLco nakon 10 g. - DLco pri dg.	Z	-0,584	-1,196	-1,131
	p	0,559	0,232	0,258

DLco – difuzijski kapacitet za ugljikov monoksid (prema engl. *diffusing capacity for carbon monoxide*), FEV1 – forsirani ekspiracijski volume tijekom prve sekunde (prema engl. *forced expiratory volume during the first second*), FVC – forsirani ekspiracijski vitalni kapacitet (prema engl. *forced expiratory vital capacity*)

5.2.9. Povezanost ACE-genotipa s težinom bolesti mjerene Medsgerovom ljestvicom

Povezanost ACE-genotipa s Medsgerovom ljestvicom težine bolesti prema pojedinom organskom sustavu i ukupnim zbrojem istoga pri postavljanju dijagnoze i daljnjem praćenju prikazana je u Tablicama 33-35. Iako nije bilo statistički značajnih razlika u pojedinim zbrojevima težine bolesti unutar pojedinih mjerenja, kod ACE genotipa II i ID došlo je do statistički značajnog povećanja ukupnog zbroja na Medsgerovoj ljestvici težine bolesti tijekom 10 godina praćenja (Tablica 36).

Tablica 33. Povezanost ACE-genotipa sa stupnjem težine bolesti procijenjene Medsgerovom ljestvicom općih simptoma te simptoma periferne vaskulature, kože i zglobova u 3 vremenske točke (Kruskal-Wallisov test)

ACE-genotip	N	Min	Maks	Centile			p
				25.	Medijan	75.	
Medsgerov opći zbroj pri dg.	II	32	0,00	2,00	0,00	0,00	0,093
	ID	69	0,00	4,00	0,00	0,00	
	DD	34	0,00	2,00	0,00	0,00	
Medsgerov opći zbroj nakon 5 g.	II	27	0,00	2,00	0,00	0,00	0,561
	ID	53	0,00	2,00	0,00	0,00	
	DD	25	0,00	2,00	0,00	0,00	
Medsgerov opći zbroj nakon 10 g.	II	21	0,00	2,00	0,00	0,00	0,218
	ID	35	0,00	2,00	0,00	0,00	
	DD	14	0,00	1,00	0,00	0,00	
Medsgerov zbroj - periferna vaskulatura pri dg.	II	32	0,00	4,00	1,00	1,00	0,615
	ID	69	0,00	4,00	0,50	1,00	
	DD	34	0,00	3,00	0,00	1,00	
Medsgerov zbroj - periferna vaskulatura nakon 5 g.	II	27	0,00	4,00	1,00	1,00	0,816
	ID	53	0,00	4,00	1,00	1,00	
	DD	25	0,00	4,00	1,00	1,00	
Medsgerov zbroj - periferna vaskulatura nakon 10 g.	II	21	0,00	3,00	1,00	1,00	0,981
	ID	35	0,00	4,00	1,00	1,00	
	DD	14	0,00	3,00	0,00	1,50	
Medsgerov zbroj - koža pri dg.	II	32	0,00	3,00	1,00	1,00	0,644
	ID	69	0,00	3,00	1,00	1,00	
	DD	34	0,00	3,00	1,00	1,00	
Medsgerov zbroj – koža nakon 5 g.	II	27	1,00	2,00	1,00	1,00	0,166
	ID	53	0,00	3,00	1,00	1,00	
	DD	25	0,00	3,00	1,00	1,00	
Medsgerov zbroj - koža nakon 10 g.	II	21	1,00	2,00	1,00	1,00	0,598
	ID	35	0,00	3,00	1,00	1,00	
	DD	14	0,00	2,00	1,00	1,00	
Medsgerov zbroj - zglobovi i tetive pri dg.	II	32	0,00	0,00	0,00	0,00	0,368
	ID	69	0,00	1,00	0,00	0,00	
	DD	34	0,00	2,00	0,00	0,00	
Medsgerov zbroj - zglobovi i tetive nakon 5 g.	II	27	0,00	1,00	0,00	0,00	0,479
	ID	53	0,00	1,00	0,00	0,00	
	DD	25	0,00	0,00	0,00	0,00	
Medsgerov zbroj - zglobovi i tetive nakon 10 g.	II	21	0,00	1,00	0,00	0,00	0,868
	ID	35	0,00	1,00	0,00	0,00	
	DD	14	0,00	1,00	0,00	0,00	

Tablica 34. Povezanost ACE-genotipa sa stupnjem težine simptoma mišića, gastrointestinalnog sustava, pluća, srca i bubrega procijenjene Medsgerovom ljestvicom u 3 vremenske točke (Kruskal-Wallisov test)

ACE gen	N	Min	Maks	Centile			p	
				25.	Medijan	75.		
Medsgerov zbroj - mišićna slabost pri dg.	II	32	0,00	4,00	0,00	0,00	0,00	0,805
	ID	69	0,00	2,00	0,00	0,00	0,00	
	DD	34	0,00	1,00	0,00	0,00	0,25	
Medsgerov zbroj - mišićna slabost nakon 5 g.	II	27	0,00	4,00	0,00	0,00	1,00	0,841
	ID	53	0,00	2,00	0,00	0,00	0,50	
	DD	25	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	
Medsgerov zbroj - mišićna slabost nakon 10 g.	II	21	0,00	2,00	0,00	0,00	0,50	0,827
	ID	35	0,00	4,00	0,00	0,00	1,00	
	DD	14	0,00	1,00	0,00	0,00	1,00	
Medsgerov zbroj - probavni sustav pri dg.	II	32	0,00	1,00	0,00	0,00	1,00	0,965
	ID	69	0,00	1,00	0,00	0,00	1,00	
	DD	34	0,00	1,00	0,00	0,00	1,00	
Medsgerov zbroj - probavni sustav nakon 5 g.	II	27	0,00	2,00	0,00	0,00	1,00	0,628
	ID	53	0,00	3,00	0,00	0,00	1,00	
	DD	25	0,00	1,00	0,00	0,00	1,00	
Medsgerov zbroj - probavni sustav nakon 10 g.	II	21	0,00	4,00	0,00	0,00	1,00	0,167
	ID	35	0,00	4,00	0,00	1,00	1,00	
	DD	14	0,00	2,00	0,00	1,00	1,00	
Medsgerov zbroj - pluća pri dg.	II	32	0,00	3,00	0,25	1,00	2,00	0,584
	ID	69	0,00	3,00	0,00	1,00	2,00	
	DD	34	0,00	2,00	0,00	1,00	2,00	
Medsgerov zbroj - pluća nakon 5 g.	II	27	0,00	3,00	0,00	1,00	3,00	0,692
	ID	53	0,00	4,00	0,00	1,00	2,00	
	DD	25	0,00	4,00	0,00	1,00	2,00	
Medsgerov zbroj - pluća nakon 10 g.	II	21	0,00	3,00	0,50	2,00	2,50	0,653
	ID	35	0,00	3,00	0,00	1,00	3,00	
	DD	14	0,00	3,00	0,00	1,00	2,25	
Medsgerov zbroj - srce pri dg.	II	32	0,00	3,00	0,00	0,00	0,00	0,261
	ID	69	0,00	3,00	0,00	0,00	0,00	
	DD	34	0,00	3,00	0,00	0,00	0,00	
Medsgerov zbroj - srce nakon 5 g.	II	27	0,00	3,00	0,00	0,00	0,00	0,377
	ID	53	0,00	3,00	0,00	0,00	0,00	
	DD	25	0,00	3,00	0,00	0,00	0,50	
Medsgerov zbroj - srce nakon 10 g.	II	21	0,00	3,00	0,00	0,00	0,00	0,203
	ID	35	0,00	3,00	0,00	0,00	1,00	
	DD	14	0,00	3,00	0,00	0,00	0,00	
Medsgerov zbroj - bubreg pri dg.	II	32	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,000
	ID	69	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	DD	34	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
Medsgerov zbroj - bubreg nakon 5 g.	II	27	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,000
	ID	53	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	DD	25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
Medsgerov zbroj - bubreg nakon 10 g.	II	21	0,00	3,00	0,00	0,00	0,00	0,311
	ID	35	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	DD	14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	

Tablica 35. Povezanost ACE-genotipa sa stupnjem težine bolesti procijenjene ukupnim Medsgerovim zbrojem u 3 vremenska razdoblja (Kruskal-Wallisov test)

ACE-genotip	N	Min	Maks	Centile			P	
				25.	Medijan	75.		
Medsgerov ukupan zbroj pri dg.	II	32	1,00	13,00	3,00	4,00	6,00	0,845
	ID	69	0,00	17,00	3,00	4,00	6,00	
	DD	34	1,00	9,00	3,00	4,00	6,00	
Medsgerov ukupan zbroj nakon 5 g.	II	27	2,00	13,00	4,00	5,00	7,00	0,534
	ID	53	0,00	14,00	3,00	4,00	7,00	
	DD	25	2,00	12,00	2,50	5,00	7,00	
Medsgerov ukupan zbroj nakon 10 g.	II	21	2,00	11,00	4,00	5,00	7,50	0,774
	ID	35	0,00	19,00	3,00	5,00	9,00	
	DD	14	0,00	11,00	2,00	4,50	10,00	

Tablica 36. Razlike ukupnog zbroja na Medsgerovoj ljestvici težine bolesti između prvog i zadnjeg mjerenja (pri dijagnozi i nakon 10 godina): Wilcoxonov test

		ACE-genotip		
		II	ID	DD
Ukupni zbroj na Medsgerovoj ljestvici nakon 10 g. - ukupni zbroj na Medsgerovoj ljestvici pri dg.	Z	-1,976	-3,158	-0,249
	p	0,048	0,002	0,803

6. RASPRAVA

Kao što je ranije spomenuto, radovi s temom povezanosti polimorfizma gena za ACE sa SSc su rijetki te se svode na istraživanje utjecaja ACE-gena na predispoziciju za razvoj SSc. Međutim, polimorfizmi gena za ACE predmet su mnogih istraživanja patofizioloških mehanizama drugih bolesti koji dovode do različitih plućnih, kardiovaskularnih, GI, koštano-mišićnih, kožnih, bubrežnih, autoimunskih i upalnih manifestacija koja nose određene sličnosti s obilježjima SSc.

6.1. **Opća obilježja bolesnika, tip bolesti, komorbiditeti, smrtnost, latencija od pojave Raynaudovog fenomena do prvog ne-Raynaudovog simptoma**

Raspodjela bolesnika po spolu u ovom istraživanju ukazuje da je postotak žena veći u odnosu na muškarce, i to 8,6–10,6:1 (Slika 1). Dakle, udio žena je tek nešto veći nego u literaturnim podacima gdje se opisuje odnos 3-7:1 ili 86,1% žena naspram 13,9% muškaraca, ovisno o izvoru (1,83).

U našoj skupini, češći je lcSSc oblik bolesti (Slika 2) što također predstavlja nešto veću zastupljenost lcSSc oblika u odnosu na literaturne podatke prema kojima je distribucija lcSSc 58,5% naspram 37,1% dcSSc, uz 4% ostalih oblika (83).

Prema literaturnim podacima, SSc se obično javlja između 35. i 50. godine života, a u ovom istraživanju medijan dobi bolesnika u kojoj je postavljena dijagnoza iznosi 50 godina, s najranijim postavljenjem dijagnoze bolesti u 16. godini života i najkasnijim u 77. godini života (Slika 4) (1).

Podjela bolesnika prema BMI ukazuje na nesrazmjerno povećan udio bolesnika s prekomjernom tjelesnom masom koja je tijekom vremena u dodatnom porastu (49,6%-52,9%) te je sam medijan BMI u tri vremenske točke blizu, ili čak prelazi, 25 kg/m² (Slika 5 i 6) što je slično kao u kohorti EUSTAR gdje je zabilježen prosječan BMI od 24,1 ± 4,4 kg/m² (83). Tradicionalno se SSc povezuje uz malnutriciju i kaheksiju, međutim prema literaturnim podacima, distribucija bolesnika sa SSc prema vrijednostima BMI slična je kao u zdravoj populaciji, a istraživanja su pokazala da BMI svakako nije dobar pokazatelj nutritivnog statusa (84–87). Ipak, u ovom istraživanju, zabilježen je veći udio bolesnika s prekomjernom tjelesnom masom u odnosu na rad Krause i sur. gdje je taj udio 30,6% (85). Moguće da je na rezultate utjecala epidemija pretilosti i način života hrvatske populacije, kao i činjenica da su u našoj skupini bolesnika GI tegobe manje zastupljene nego prema literaturnim podacima (83,88).

Distribucija bolesnika prema osnovnim protutijelima povezanima sa SSc (Slika 7), anticentromernim i anti-Scl-70 protutijelima, uglavnom odgovara literaturnim podacima, primjerice u kohorti EUSTAR je odnos 32,3% za anticentromerna protutijela prema 36,8% za anti-Scl-70

protutijela (83). Druga protutijela ovdje nisu analizirana pojedinačno. Većina bolesnika s lcSSc ima pozitivna anti-CENP-B protutijela te većina bolesnika s dcSSc ima pozitivna anti-Scl-70 protutijela, kao što je i očekivano.

Od komorbiditeta analizirani su samo komorbiditeti koji predstavljaju kardiovaskularni rizik (Slika 8) s obzirom da mogu utjecati na interpretaciju rezultata istraživanja. Prema radovima Si Ahmed-Bouali i Bouali, zatim Semenov i Kuryata te Bruni i Cometi, kako navode Wielosz i sur., arterijska hipertenzija u SSc javlja se u 26-35% bolesnika, no u studiji Wielosz i sur. zabilježen je nešto veći udio bolesnika sa art. hipertenzijom, 41,7% (89). Incidencija šećerne bolesti manje je nego u zdravih kontrola, a prevalencija prema nekim radovima 5,4% (90,91). Dislipidemija u SSc je prema nekim studijama prisutna od 17,7 – 32,5% (92,93). Slična prevalencija kardiovaskularnih komorbiditeta zabilježena je u našoj kohorti.

Podatci o uzroku smrti u naših bolesnika nije poznat, a prema literaturnim podacima osnovni uzroci smrti u bolesnika su plućna fibroza, PAH i kardiovaskularni incidenti (15,94). U našoj kohorti od ukupno 13 umrlih bolesnika više je bilo žena, onih sa lcSSc oblikom bolesti i ID polimorfizmom (Slika 9) što je logično s obzirom da je u cijeloj kohorti najviše bolesnika s takvim obilježjima.

Period od pojave RP do pojave prvog ne-Raynaudovog simptoma prema literaturnim podacima u dcSSc je u prosjeku $1,8 \pm 5,5$ godina, a za lcSSc je $5,1 \pm 9,1$ godinu, odnosno u obje skupine $3,8 \pm 8,1$ (83). U ovom istraživanju u većine bolesnika navedeni period je manje od 1 godine (medijan 0 godina), dok je najduža latencija razvoja ne-Raynaudovog simptoma u odnosu na RP 20 godina (Slika 14).

Manifestacije SSc na koži u ovom istraživanju uglavnom ukazuju na stacionaran nalaz mRSS tijekom 10 godina praćenja pri čemu je medijan mRSS trajno 6 (Slika 17), slično kao u kohorti EUSTAR u kojoj je medijan mRSS 8 (83). Udio bolesnika s DU većinom je stacionaran tijekom desetogodišnjeg praćenja (Slika 18), međutim u našem istraživanju zabilježili smo puno veći udio bolesnika s DU (67,1 – 74,1%) nasuprot kohorti EUSTAR u kojoj samo 16,9% bolesnika ima DU (83).

Zahvaćanje lokomotornog sustava procijenjeno je analizom anamnestičkog podatka o slabosti i atrofiji mišića, pojavi sinovitisa, kontraktura te su bilježene vrijednosti CK. Prema rezultatima razvidno je da tijekom praćenja učestalost pojave sinovitisa te bolesnika s povišenim vrijednostima CK pada, a udio bolesnika s mišićnom slabošću i atrofijom te kontrakturama raste. Logično je da se s dugotrajnom bolešću i samim starenjem mišićna masa smanjuje te da dolazi do atrofije i posljedične slabosti te pada CK. U usporedbi s kohortom EUSTAR gdje je zabilježeno 15,7% bolesnika sa sinovitisom, 32,1% s kontrakturama, 25% s mišićnom slabošću i 12,2% s mišićnom atrofijom, u ovom istraživanju puno manje bolesnika ima lokomotorne tegobe (Slika 19) (83).

Prema podacima zahvaćanja probavnog sustava, u našoj kohorti najveći broj osoba ima tegobe od strane zahvaćanja jednjaka, više od polovine bolesnika, zatim crijeva i najmanje želudca (Slika 20). Rezultati se razlikuju od kohorte EUSTAR u kojoj je zabilježeno više bolesnika s GI manifestacijama bolesti od čega 67,3% sa simptomima zahvaćanja jednjaka, 24,1% želudca i 23,5% crijeva (83). Nešto manji udio osoba sa zahvaćanjem GI sustava moglo bi donekle objasniti ranije spomenuti podatak o povišenom udjelu bolesnika s prekomjernom tjelesnom masom u odnosu na kohortu EUSTAR.

Zahvaćanje bubrega ispitano je mjerenjem proteinurije, eGFR i vrijednosti serumskog kreatinina te udio bolesnika s patološkim nalazima proteinurije tijekom praćenja iznosi 20,0 – 25,2%, eGFR 7,6 – 14,3% i kreatinina 5,7 – 10,0% (Slika 21). Navedeno upućuje da vrijednost serumskog kreatinina odnosno eGFR možda nisu optimalan biljeg zahvaćanja bubrega s obzirom na najmanji udio bolesnika s patološkim nalazom. Samo je u jednog bolesnika (1,43%) zabilježena pojava renalne krize, naspram 2,1% bolesnika s renalnom krizom u kohorti EUSTAR (83).

Od kardioloških manifestacija bolesti, najčešće je zabilježena aritmija te udio bolesnika s aritmijom tijekom godina raste (Slika 23). PAH procijenjenu ultrazvučnim nalazom RVSP tijekom godina ima uglavnom stacionaran broj bolesnika, dok je disfunkcija lijeve klijetke procijenjena ultrazvučnim mjerenjem LVEF zabilježena samo u 2 bolesnika (1,48%), i to samo u inicijalnoj fazi bolesti (Slika 23). U kohorti EUSTAR PAH je zabilježen u 21,1% bolesnika, dijastolička disfunkcija srca u 17,4%, a blok provodnog sustava srca u 11,0% bolesnika (83). Iz navedenog možemo zaključiti da populacija naših bolesnika rjeđe ima pojavu srčanih manifestacija bolesti.

Kao mjerilo plućne patologije, patološka vrijednost DLco zabilježena je u najviše bolesnika, više od polovine, što ne prati jednak udio bolesnika sa strukturnim promjenama pluća, niti sniženim FVC, niti FEV1 (Slika 24). Zanimljivo je zapažanje da tijekom 10 godina praćenja udio bolesnika sa strukturnim promjenama pluća, patološkim nalazima FEV1 i FVC raste, a udio bolesnika s patološkim nalazom DLco je uglavnom stacionaran. Moguće da je razlog tome manji broj bolesnika koji su ostali u desetogodišnjem praćenju. Medijani vrijednosti FEV1, FVC i DLco kreću se od 88,5 – 92%, 92 – 93% i 71 – 74% ovisno o promatranoj vremenskoj točki (Slika 25), što su slični rezultati u usporedbi s kohortom EUSTAR gdje su vrijednosti navedenih parametara 90%, 92,2% i 68,3% (83).

Što se tiče aktivnosti bolesti, u kohorti EUSTAR prema EScSG-AI aktivnu bolest ima 32,6% bolesnika, dok je u našoj kohorti riječ o 24,3% nakon 10 godina do čak 62,9% bolesnika u inicijalnoj fazi bolesti (Slika 26), pri čemu s vremenom dolazi do pada aktivnosti (83). Kao mjerilo težine bolesti, korištena je Medsgerova ljestvica. No, kako je jedan od parametara za izračun težine bubrežne bolesti prema revidiranoj Medsgerovoj ljestvici iz 2003. godine pojava renalne krize, a u

našoj kohorti ista je zabilježena u samo jednog bolesnika, dodatno su bodovani podaci o zahvaćanju bubrega, kao i ukupan zbroj na Medsgerovoj ljestvici, prema ranijem bodovanju iz 1999. godine u kojem anamneza prijašnje renalne krize nije uzeta kao neizostavan parametar već je težina bolesti bubrega bodovana temeljem vrijednosti serumskog kreatinina i proteinurije (19,95). Rezultati se bez obzira ne razlikuju značajno, s obzirom da je prema starijoj Medsgerovoj ljestvici stupanj 1 težine bubrežne bolesti imalo samo troje bolesnika (2,9%) nakon 5 godina praćenja i dva bolesnika (2,9%) nakon 10 godina, a treći stupanj težine bubrežne bolesti prema starijoj i revidiranoj Medsgerovoj ljestvici imao je samo jedan bolesnik (1,4%), i to nakon 10 godina praćenja. Svi ostali bolesnici su prema obje navedene ljestvice imali nulti stupanj težine bubrežne bolesti (Tablica 8).

U imunosupresivnom liječenju naših bolesnika najviše su korišteni GK u 62,9 – 68,1%, ovisno o promatranoj vremenskoj točki (Slika 29), što je više u odnosu na kohortu EUSTAR s udjelom od 45,3% bolesnika na terapiji GK (83). Sljedeći najčešće korišten imunosupresivni lijek je MTX u 25,71 – 31,43% bolesnika (Slika 30), što je manje u odnosu na podatke iz baze EUSTAR gdje iznosi 13,7% (83). Medijan doze prednizona kretao se između 5 i 10 mg (Tablica 9), pri čemu su više doze korištene u ranijoj fazi bolesti što je usporedivo s kohortom EUSTAR u kojoj je medijan doze prednizona bio 8 mg (83). CYC se u našoj kohorti bolesnika nešto manje koristio u odnosu na EUSTAR (2,9 – 12,6% naspram 15,9%), AZA također (1,4 – 2,9% naspram 6,4%), a MMF u sličnom postotku (3,8 – 7,1% naprema 4,2%) (83). D-penicilamin se u kohorti EUSTAR jako malo koristio, svega u 2,1% bolesnika, dok se u našoj kohorti koristio u puno većoj mjeri, 23,7 – 28,6% (Slika 29) (83). Moguće da se CYC kao oblik agresivne terapije u naših bolesnika koristio u manjoj mjeri u odnosu na literaturne podatke, s obzirom da je naša kohorta etnički homogena, sastavljena od bjelačke populacije koja ima blažu klinički sliku u odnosu na azijsku populaciju kod koje je zabilježen brži nastup bolesti uz veću učestalost plućne hipertenzije, sniženog FVC i veće smrtnosti te crnaca kod kojih je veća učestalost difuznog kožnog oblika i također veće smrtnosti (96).

6.2. Upalna aktivnost prema vrijednostima SE, CRP, komponentama komplementa C3, C4 te EScSG-AI i EUSTAR-AI

Upalna aktivnost u SSc izražena je u početnoj fazi bolesti, no u kasnijem tijeku osnovna značajka bolesti je fibroza (1). S navedenim se slaže zapažanje kretanja vrijednosti SE u ovom istraživanju pri čemu je najveći udio bolesnika povišenu vrijednost SE imao pri dijagnozi bolesti (Slika 16). Nadalje, istu tvrdnju potvrđuju vrijednosti medijana SE i CRP koje padaju tijekom desetogodišnjeg praćenja, kao i vrijednost medijana komponente komplementa C3 koja raste tijekom praćenja (Tablica 4). Navedeno se može objasniti osim prirodnim tijekom bolesti i činjenicom da je započeto imunosupresivno liječenje. Međutim, kao što prikazuje Slika 16, udio bolesnika sa sniženim C4 nakon 5 godina praćenja pada, zatim nakon 10 godina ponovno raste na neznatno više vrijednosti

od onih pri postavljanju dijagnoze, pri čemu treba imati u vidu da je riječ o malom broju bolesnika, svega njih 5 nakon 10 godina (3,7%) odnosno 4 bolesnika pri postavljanju dijagnoze (2,96%). Stoga možemo zaključiti da C4 u naših bolesnika možda ipak nije dobar pokazatelj upalne aktivnosti uzevši u obzir trend pada udjela bolesnika s drugim laboratorijskim pokazateljima aktivne bolesti. Svakako su istraživanja uloge komplementa u SSc dala kontradiktorne rezultate. Tradicionalno se smatra da u patogenezi SSc komplement nema značajnu ulogu te je prema različitim studijama Della Rossa i Valentini, Cuomo i Abignano, Foocharoen i Distler te Hudson i Satoh, kako navode Cavalli i sur., prevalencija hipokomplementemije u SSc zabilježena od 5,2 – 16,5% (97). Međutim, u koži bolesnika sa SSc, kao i u bolesnika s renalnom krizom u SSc, dokazana je lokalna aktivnost komplementa, i to, komponenti C5b-C9 u koži te C4d, C1q i C3b u bubregu (97–102). Kako navode Foocharoen i sur., rad Seibolda i Medsgera upućuje na povišenu vrijednost C3 u SSc, rad Benbassata i Schlesingera na sniženu vrijednost C3 i C4, a rad autora Siminovitch i Klein urednu vrijednost C3 i povišenu C4 (103). Prema Cuomo i sur. na 302 talijanska bolesnika dokazana je povezanost hipokomplementemije s aktivnošću SSc te težinom njezinih kardiovaskularnih, plućnih i kožnih manifestacija (104). S druge strane, u radu Esposito i sur., hipokomplementemija nije pokazatelj aktivnosti ili težine SSc, međutim autori su dokazali povezanost hipokomplementemije s očitovanjima bolesti koja sugeriraju povišenu aktivnost i težinu kao što su pojava DU, TFR, snižen FVC i snižen BMI, no samo u podskupini bolesnika s preklapajućom bolesti, osobito u podskupini bolesnika s preklapajućom slikom SSc i polimiozitisa (105). Slične rezultate pokazali su Hudson i sur. (106). Hipokomplementemija je ranije uzeta kao jedan od parametara za izračunavanje indeksa aktivnosti bolesti, no temeljem naknadnih saznanja, primarno iz kohorte bolesnika EUSTAR, u novijem indeksu aktivnosti bolesti EUSTAR-AI hipokomplementemija je izbačena kao parametar aktivnosti bolesti s obzirom da u multivarijantnim analizama nije nađena povezanost hipokomplementemije s kliničkim parametrima bolesti (18,103,107). Također, pri računanju indeksa aktivnosti bolesti bez hipokomplementemije kao varijable unutar navedenog indeksa, sam indeks aktivnosti nije bio viši u grupi hipokomplementemičnih bolesnika (103). Tijekom praćenja također nije nađena razlika između hipo i normokomplementemičnih bolesnika s obzirom na mRSS, plućnu hipertenziju, DLco ili FVC (103). Novija istraživanja upućuju na povišenu razinu komponente komplementa C2 i parametra 50% hemolize komplementa klasičnog puta (CH50) u bolesnika sa SSc u usporedbi sa zdravim kontrolama te povišenu aktivnost CH50 u bolesnika sa SSc koji su u anamnezi imali DU, kao i onih s intersticijskom bolešću pluća (prema engl. *interstitial lung disease*, ILD), sniženim DLco i povišenim mRSS i višim zbrojem indeksa težine bolesti (108). Time bi CH50 mogao biti pokazatelj težine bolesti i fibroze pluća i kože, međutim isti u ovom istraživanju nije analiziran zbog nedostatka podataka u dokumentaciji (108).

Istraživanja o utjecaju ACE-genotipa na pojavu povišenih upalnih parametara u drugim bolestima, prema literaturi, većinom nisu pokazala jasnu povezanost. Tako u istraživanju utjecaja polimorfizma ACE-gena na CRP u bolesnika na hemodijalizi nije nađena povezanost polimorfizama s povišenim CRP-om, niti u istraživanju povezanosti CRP-a s polimorfizmom ACE-gena u bolesnika s koronarnom bolešću (109,110). Nadalje, prilikom istraživanja uloge polimorfizma gena za ACE u infektivnoj upali, odnosno u sepsi, rezultati također ne pokazuju jasnu vezu te nije nađena povezanost polimorfizma ACE s ishodom liječenja (111). Prilikom proučavanja Covid-19, istraživanja povezanosti polimorfizma ACE-gena s težinom bolesti, kvantificirane između ostalog i upalnim parametrima, dala su kontradiktorne rezultate, premda novija metaanaliza ipak povezuje polimorfizam DD s težim oblikom Covid-19 (112–115). Međutim, u istraživanju uloge polimorfizma ACE-gena u reumatskoj bolesti srca, pokazano je da su bolesnici s alelom D (genotip DD i ID) imali više vrijednosti upalnih parametara (SE i CRP), no nije nađeno statistički značajne povezanosti između polimorfizma ACE-gena s predispozicijom za bolest (116).

Literaturni podatci povezanosti aktivnosti ACE sa SE u bolesnika sa SSc, ukazuju na obrnutu povezanost aktivnosti ACE sa SE, pri čemu osobe s višom aktivnošću ACE imaju manje ubranu SE (67). Prema navedenom, očekivali bismo da će bolesnici s genotipom DD imati manju aktivnost bolesti kvantificiranu vrijednošću SE, međutim u ovom istraživanju navedeno nismo dokazali. Premda nismo dokazali razlike u vrijednosti SE među bolesnicima pojedinog polimorfizma gena za ACE ni u jednoj točki vremena, rezultati ovog rada ukazuju na statistički značajno smanjenje SE u bolesnika s polimorfizmom ID tijekom desetogodišnjeg praćenja u odnosu na početno mjerenje (Tablica 15). Nije jasan razlog ovog zapažanja s obzirom da bismo mogli očekivati značajno smanjenje SE u svih bolesnika kao posljedicu prirodnog tijeka bolesti te korištenja imunosupresivne terapije. Vjerojatno je iz istih razloga u sva tri polimorfizma zabilježen značajan pad EScSG-AI (Tablica 15).

U ovom radu, analizirajući povezanost polimorfizma ACE gena s upalnim parametrima i indeksima aktivnosti bolesti (EScSG-AI i EUSTAR-AI), nije nađeno značajnih razlika među bolesnicima u 3 vremenska razdoblja (Tablice 13 i 14). Međutim, nakon 10 godina zabilježene su statistički značajne razlike u vrijednostima C4 pri čemu bolesnici s polimorfizmom II, odnosno nižom aktivnošću ACE, imaju najnižu vrijednost C4 komponente komplementa (Tablica 13). Navedeno može upućivati da bi genotip II mogao biti biljeg aktivnosti bolesti nakon dugogodišnjeg praćenja, no kako je sama uloga komplementa u patogenezi SSc nedovoljno razjašnjena te uslijed nedostatka literaturnih podataka o utjecaju polimorfizma gena za ACE na serumske razine komponenti komplementa i samog RAS sustava na komponentu komplementa C4, razlog navedenom rezultatu nije jasan.

6.3. Zahvaćanje kože, Raynaudov fenomen te mikro i makrovaskularne promjene periferije

Kao što je do sada spomenuto, RAS ima važnu ulogu u proliferaciji i diferencijaciji stanica te tkivnom remodeliranju u različitim organima, pa tako i u koži (117). Povezuje se sa zarastanjem rana i nastajanjem ožiljaka, osobito hipertrofičkih keloidnih ožiljaka, utječući na aktivaciju proupalnih citokina TGF- β , TNF- α , IL-6 što dovodi do smanjena debljine epidermisa, degeneracije kolagena, atrofije supkutanog masnog tkiva, povećanog stvaranja izvanstaničnog matriksa i pretvorbe fibroblasta u miofibroblaste s posljedičnim zatezanjem granulacijskog tkiva (118–123). Studije su pokazale da ACEi utječu na smanjeno stvaranje ožiljaka, smanjujući proliferaciju fibroblasta i ekspresiju TGF- β (121,124–126). Upravo je aktivacija i proliferacija fibroblasta posljedično pojačanoj signalizaciji TGF- β jedno od obilježja SSc te bismo prema tome mogli zaključiti da smanjena aktivnost ACE, bilo da je riječ o egzogeno smanjenoj aktivaciji posljedično korištenju ACEi, ili endogeno smanjenoj aktivaciji kao što je u polimorfizmu II, mogla utjecati na blažu kožnu kliničku sliku SSc (127,128). No, navedeno nismo dokazali u ovom istraživanju.

Osim u stvaranju ožiljaka odnosno fibrozi, ACE ima ulogu u kožnim bolestima povezanim s upalom. U psorijazi nije sasvim jasna njegova uloga. Smatra se da smanjena aktivnost ACE u plazmi i koži, kakva je u osoba s polimorfizmom II, može produžiti ili pojačati aktivnost kinin-kalikeinskog sustava, no povećana aktivnost ACE kakva je u osoba s polimorfizmom DD, može imati proupalne učinke putem aktivacije IL-6 i interleukina-8 (IL-8) (129,130). Oba mehanizma mogu povećati rizik od razvoja psorijaze (129–131). Prema literaturnim podacima, inhibitori ACE mogu utjecati na egzacerbaciju psorijaze (132). Metaanaliza Liu i sur. potvrđuje povezanost alela I s psorijazom u Azijata (133). Međutim, kasnije objavljena metaanaliza ukazala je da polimorfizam ID ima protektivnu ulogu za pojavu psorijaze u bijelaca, a genotip DD je u značajnoj višoj mjeri zastupljen u osoba s teškom bolešću (131). Metanaliza Song i sur. pokazala je statistički značajnu povezanost D alela, dakle genotipa DD i ID s psorijazom, međutim navedena povezanost nije nađena u Europljana (134). U istoj metaanalizi istražena je povezanost vitiliga, kao druge autoimunosne kožne bolesti, s genotipom ACE te nije nađena značajna povezanost (134).

Premda većina navedenih studija povezuje povišenu aktivnost ACE, kakva je u osoba s polimorfizmom DD, s upalom i fibrozom, u ovom istraživanju nismo dokazali statistički značajnu razliku u težini zahvaćanja kože mjerenjem mRSS i pojavom DU među bolesnicima različitih polimorfizama (Tablica 16 i 17). Međutim, ipak nakon 5 godina praćenja p vrijednost razlika u mRSS među bolesnicima se približava značajnosti ($p=0,062$) pri čemu osobe s polimorfizmom DD imaju višu vrijednosti mRSS, dakle težu kožnu kliničku sliku (Tablica 16).

U kožnoj manifestaciji SSc promjene mikrocirkulacije imaju veliku ulogu te se mogu procijeniti kapilaroskopijom, međutim u ovom istraživanju nismo korelirali nalaze kapilaroskopije i njihov

odnos prema polimorfizmu ACE gena niti drugim obilježjima SSc s obzirom da većina bolesnika nije imala dostupan nalaz kapilaroskopije.

Osim promjena mikrocirkulacije, na kožne manifestacije utječu i promjene makrocirkulacije. Postoje radovi koji povezuju makrovaskularne promjene arterija ruku, šaka ili prstiju s pojavom DU i patološkog nalaza kapilaroskopije, premda rezultati nisu jednoznačni, a prema Schioppo i sur. te Bieber i sur., mikro i makrovaskularne promjene u SSc su dva različita procesa koji nisu istovremeno prisutni u bolesnika sa SSc (135–138). Kao jedan od uzroka poremećaja periferne makrocirkulacije, ateroskleroza je nezaobilazan entitet. Kako navode Gerasimova i sur., prema radu autora Cannarile i Valentini, mikrovaskularne patološke promjene stijenki krvnih žila u SSc nose određene sličnosti s makrovaskularnim promjenama u aterosklerozi (139). Svakako je dokazano da bolesnici sa SSc imaju viši rizik razvoja ateroskleroze i periferne arterijske bolesti (PAD), a procjena PAD može se učiniti mjerenjem ABI (140,141). Prema Zeng i sur. PAD, kojeg su autori procijenili uz pomoć ABI, češće se javlja u bolesnika sa SSc te je povezan s mRSS (142). U istraživanju uloge polimorfizma ACE gena u pojavi ateroskleroze, Woo i sur. pokazali su da je genotip DD povezan s nižom vrijednosti ABI u Kineskinja (143). Slične rezultate pokazali su Tseng i sur. u bolesnika sa šećernom bolešću gdje osobe genotipa DD uz art. hipertenziju, dislipidemiju i anamnezu pušenja imaju povišen rizik od razvoja PAD (144). Također su Fatini i sur. pronašli predispoziciju za razvoj PAD u osoba s alelom D (145). No, rezultati nisu jednoznačni. Prema ranijim istraživanjima Karagiannis i sur. te Renner i sur. nije nađena povezanost polimorfizma gena za ACE s PAD (146,147). Junusbekov i sur. također nisu našli veću učestalost alela D u bolesnika s PAD u odnosu na kontrolnu skupinu (148). Na različitosti među etničkim skupinama upozorava metaanaliza Han i sur. prema kojima je u Azijaca dokazana povezanost polimorfizma gena za ACE s razvojem PAD, no ista povezanost nije dokazana u Europljana (149). Međutim, prema novijoj metaanalizi iz 2019. godine, dokazana je povezanost alela D s višim rizikom razvoja ateroskleroze, i to osobito u Europljana (150). Sve navedeno upućuje na moguću povezanost polimorfizma ACE-gena i s makrovaskularnim promjenama u SSc.

Prema dosadašnjim istraživanjima alel D u bolesnika sa SSc je povezan s povišenim rizikom od nastanka makrovaskularne bolesti te njezinom ubrzanom pojavom (72,76). U radu Bartoli i sur., tako je dokazana veća zadebljalost intime i medije u karotidnim arterijama u bolesnika s alelom D, dakle genotipom DD i ID, što je pokazatelj veće prevalencije makrovaskularne bolesti u sklopu SSc u bolesnika s alelom D (76). Tijekom istog istraživanja nije nađena povezanost vrijednosti ABI među bolesnicima različitih polimorfizama (76). Wan i sur. također su istraživali ABI u bolesnika sa SSc, no istraživali su moguće razlike u vrijednosti ABI između bolesnika s lcSSc i dcSSc te nisu našli razlike, premda je nađena slaba povezanost anticentromernih protutijela s lošijim nalazom ABI (151). Ho i sur. također su dokazali povećanu učestalost makrovaskularne bolesti u SSc

mjereći ABI i koristeći obojeni doppler karotidnih arterija (152). Nisu pronašli razlike s obzirom na trajanje bolesti ili podtip bolesti (152).

U ovom istraživanju najveći udio bolesnika imao je uredan nalaz ABI (Slika 38), no niska specifičnost i osjetljivost pretrage u ranijim radovima pokazala se u starijih bolesnika, bolesnika sa šećernom bolešću i KBB, odnosno u bolesnika s povećanom arterijskom krutošću koja je dokazana u bolesnika sa SSc te može dati lažno povišen ili uredan nalaz ABI, što je moguće dijelom pridonijelo i našim rezultatima (153–156). Udio bolesnika s patološki sniženom vrijednošću ABI u ovom istraživanju (Slika 38) odgovara rezultatima drugih istraživanja, prvenstveno rezultatima Cassiusa i sur., gdje je patološki nizak ABI nađen samo u 3 od 86 bolesnika (3,5%) (157). No, u navedenom istraživanju kao bolja mjera distalne hipoperfuzije korišten je indeks tlakova nožnog prsta i brahijalne arterije (prema engl. *toe brachial index*, TBI) koji se osobito pokazao koristan u bolesnika s povišenim nalazom ABI, dakle onima koji imaju povišenu arterijsku krutost, jer sama arterijska krutost ne utječe na nalaz TBI i time se mogu isključiti lažno uredni ili lažno povišeni nalazi ABI (157,158). Nadalje, povišena arterijska krutost u radu Cassiusa i sur. nađena je u 28% bolesnika, što je puno više nego u našem istraživanju gdje smo povišene vrijednosti ABI, koje mogu biti odraz povišene art. krutosti, našli samo u 2 bolesnika (1,7%) (157). U 68% bolesnika s urednim ABI, u radu Cassiusa i sur., više od polovine bolesnika su imali nizak TBI, dakle bilo je riječ ili o izoliranoj mikrovaskularnoj bolesti ili o lažno urednom nalazu ABI zbog arterijske krutosti (157). Kao ograničavajući čimbenik autori navode da za navedenu pretragu TBI nema definiranog dogovora oko granice patološkog nalaza, premda je riječ o učinkovitoj neinvazivnoj pretrazi koja može imati ulogu u procjeni makrovaskularnih promjena u SSc (157,159).

U ovom istraživanju samo je u jednom navratu mjerena vrijednost ABI, u bolesnika kod kojih je SSc različite dužine trajanja, no rezultati prijašnjih istraživanja upućuju da dužina trajanja bolesti nema utjecaja na vrijednosti ABI (160). Prema navedenom istraživanju Wig i sur., niže vrijednosti ABI zabilježene su u bolesnika s lcSSc, pozitivnim anticentromernim protutijelima, te u starijih bolesnika, no tijekom medijana od 8 godina praćenja, zabilježene su stacionarne vrijednosti ABI (160). S druge strane, dob je svakako poznati čimbenik koji utječe na pojavu PAD, a time i sniženog ABI, no u ovom istraživanju nije isključen kao jedan od ometajućih čimbenika (161).

Na nepouzdanost ABI kao mjere makrovaskularnih promjena u SSc upozoravaju Hashimoto i sur. (162). Poznato je da vrijednost $ABI \leq 0,90$ ima visoku specifičnost (83,3-99,0%) i preciznost (72,1-89,2%) za otkrivanje $\geq 50\%$ stenoza, no prema literaturnim podacima zabilježena je različita osjetljivost (15-79%) (153). U radu Hashimoto i sur. u 7 bolesnika s gangrenom prstiju nije zabilježen izrazito nizak ABI $< 0,4$ kakav bi se očekivao s obzirom na pojavu gangrene (162). Navedeno zapažanje objašnjava se pojavom da u SSc za razliku od obliterirajuće ateroskleoze, obično ne budu zahvaćene sve potkoljenične arterije te je bolja vrijednost ABI moguće posljedica

izračuna tlaka na „zdravoj“ arteriji, kao i ranije spomenutoj pojavi nekompresibilnih kalcificiranih arterija u SSc koje mogu dati lažno povišene ili uredne rezultate (156,162). Moguće je da je zbog istih razloga u ovom istraživanju zabilježen premalen broj bolesnika s patološki promijenjenim nalazom ABI. Svakako nismo uspjeli dokazati razlike između skupina bolesnika različitog ACE-genotipa s obzirom na nalaz ABI (Tablica 19).

Ograničenja ovog istraživanja povezanosti polimorfizma ACE-gena s mikro i makrovaskularnim promjenama periferije i kože predstavljaju prisutnost kardiovaskularnih komorbiditeta (dislipidemija, art. hipertenzija i šećerna bolest), korištena terapija, starost bolesnika, kao i nepoznat podatak o anamnezi pušenja, s obzirom da mogu djelovati kao ometajući čimbenici.

6.4. Zahvaćanje lokomotornog sustava

Polimorfizmi ACE-gena povezuju se uz različite tipove artritisa, miopatija i sarkopenije. Istraživanja su pokazala da RAS ima ulogu u razvoju osteoartritisa (OA) utječući na upalu i hipertrofiju hondrocita te povećavajući ekspresiju čimbenika rasta žilnog endotela (prema engl. *vascular endothelial growth factor*, VEGF) što pogoduje angiogenezi (163,164). Dostupno je istraživanje turskih autora koji su pokazali da je genotip DD povezan s razvojem OA u turskoj populaciji u usporedbi sa zdravim pojedincima, kao i istraživanje Poornima i sur. koja potvrđuje veću učestalost OA koljena u osoba s alelom D u indijskoj populaciji (165–167). U kineskoj Han populaciji također je dokazana povezanost alela D gena za ACE s razvojem OA i artralgijske te su isti autori metaanalizom ukazali na povezanost polimorfizma ACE-gena s razvojem OA u Azijaca i bijelaca (168). Međutim, korejski autori pokazali su povezanost alela I s OA koljena ranog nastupa i OA težeg oblika (169). Kod kuvajtskih bolesnika s OA koljena nije nađena povezanost polimorfizma niti s razvojem niti težinom bolesti (170).

Polimorfizmi gena za ACE istraživani su i u upalnim artritima, no rezultati ne upućuju jednoznačno na D alel kao važan čimbenik za razvoj bolesti. Primjerice u psorijatičnom artritisu (PsA) nije dokazana jasna povezanost polimorfizma gena za ACE s rizikom razvoja bolesti u Kuvajtu, no genotip II znatno je više zastupljen u PsA kasnog nastupa (171). U drugim istraživanjima genotip ID pokazao je protektivnu ulogu u razvoju PsA u bijelaca (131). U istraživanju na španjolskoj populaciji nije nađena povezanost polimorfizma ACE s razvojem PsA (172). Analizirajući cijelu grupu seronegativnih spondiloartritisa (SpA) u kuvajtskih bolesnika, bilo da je riječ o PsA ili reaktivnom artritisu, ankilozantnom spondilitisu (AS) ili nediferenciranoj artropatiji, nađena je povezanost alela I s razvojem bolesti SpA, no unutar podskupina bolesti nije nađeno značajne povezanosti (173). U turskoj populaciji nađena je značajna povezanost genotipa DD s razvojem oftalmoloških manifestacija AS te zahvaćanja sakroilijakalnih zglobova (174). Druga studija ukazuje na veću zastupljenost polimorfizma II u osoba oboljelih od AS u odnosu na zdrave

bolesnike, međutim nositelji genotipa ID i DD imali su više razine CRP-a te više izraženu bol prema numeričkim skalama (175).

U osoba s reumatoidnom artritisa (RA) nađene su povišene razine ACE u sinovijalnoj tekućini u odnosu na osobe s OA (164,176–178). Navedeno bi moglo upućivati na značajnu ulogu D alela odnosno DD genotipa u razvoju RA, što i potvrđuje nekoliko studija, no polimorfizmi ACE-gena nemaju utjecaj na težinu RA, barem prema istraživanju na egipatskoj populaciji (179–182). Metaanaliza Song i sur. potvrđuje navedenu povezanost alela D s razvojem RA, osobito u arapskoj populaciji (134).

Dakle, u koštano-zglobnoj patologiji nije jasna uloga polimorfizma ACE. Rezultati prijašnjih istraživanja su kontradiktorni. U ovom istraživanju nismo dokazali povezanost pojedinog polimorfizma gena za ACE s težom koštano-zglobnom manifestacijom SSc (Tablica 20). S obzirom da je riječ o retrospektivnom istraživanju, objektivni pokazatelji sinovitisa, kao što su ultrazvučni nalaz zglobova ili analiza punktata sinovijalne tekućine, nisu bili dostupni, već su uzeti u obzir klinički i anamnestički podatci o pojavi sinovitisa i kontraktura.

ACE također sudjeluje u fiziološkim procesima u mišićima, međutim, kako navode Malendowicz i sur., prema radu autora Horiuchi i Akishita, u mišićima je dokazana prisutnost samo AT1 čime je otklonjen kontraefekt koji Ang II ima preko AT2 (183). Nadalje, kako je ranije spomenuto, ACE razgrađuje bradikinin čime kaskadno smanjuje koncentraciju prostaglandina i NO što može doprinijeti oksidativnom stresu i oštećenju (184). NO u mišiću ima pozitivan učinak koji se očituje povećanjem broja sarkomera (185,186). Nadalje, Ang II smanjuje koncentraciju inzulinu sličnog čimbenika rasta-1 (prema engl. *insulin-like growth factor-1*, IGF-1) čime povećava mišićnu atrofiju (187). Zbog svega navedenog jasna je značajna uloga RAS odnosno ACE u mišićnoj funkciji, stoga je polimorfizam ACE-gena zanimljiv predmet istraživanja i u mišićnoj patologiji.

Većina radova upućuje na D alel kao protektivni za razvoj sarkopenije, odnosno ukazuje na višu zastupljenost D alela u osoba veće mišićne mase ili bolje mišićne funkcije, dakle u osoba s većom aktivnošću ACE (188).

Literaturni podaci upućuju na etničke razlike. One su najuočljivije u radovima prema kojima Azijci imaju najveću učestalost alela I, a afroamerikanci najmanju, što je u suglasju s podatkom da je rizik sarkopenije najveći u Azijaca, a najmanji u afroamerikanaca (189,190).

Istraživanje sarkopenične pretilosti u starijih žena, dakle pojave povećanog udjela masti u odnosu na mišićnu masu, ukazala je na protektivan učinak genotipa DD, dok je drugo istraživanje genetskih determinanti odgovornih za razvoj sarkopenije pokazalo povezanost genotipa II s razvojem sarkopenije u osoba starijih od 60 godina (191,192). Međutim, suprotne rezultate pokazala je studija na indonezijskim ispitanicima gdje je pokazana povezanost smanjene mišićne mase u

osoba s genotipom DD, što je u suglasju s mišljenjem nekih autora da bi ACEi mogli biti korisni u sarkopeniji (193,194). Nadalje, prema rezultatima LACE studije iz 2023. na sarkopeničnim osobama zaključeno je da su sarkopenični muškarci s genotipom DD slabije mišićne snage u usporedbi s ostalim osobama drugih genotipova, a ACEi nisu utjecali na povećanje mišićne snage ili mišićne mase bez obzira na polimorfizam (195). Isto tako, prilikom istraživanja polimorfizma gena za ACE u španjolskih osamdesetogodišnjaka i devedesetogodišnjaka nije nađena povezanost genotipa ACE s mišićnim fenotipom odnosno sarkopenijom (196,197).

Uloga genotipa ACE nije dovoljno istražena u upalnim miopatijama. Dostupno je istraživanje Shinjo i sur. koji opisuju povećan rizik razvoja dermatomiozitisa u bolesnika s genotipom DD (198).

Zaključno, u dostupnim studijama povezanosti genotipa ACE s razvojem sarkopenije, rezultati su kontradiktorni, dijelom i zbog različitog pristupa mjerenju sarkopenije, kao i zbog etničkih razlika među ispitanicima (199). Ipak se većinom u vezu s pojavom oslabljene mišićne funkcije dovodi alel I koji je odgovoran za manju aktivnost ACE. Nejasna je pritom uloga ACEi koji isto tako smanjuju aktivnost ACE.

U ovom istraživanju bolesnika sa SSc nije nađena značajna razlika među skupinama bolesnika određenog polimorfizma ACE s prisutnošću mišićne slabosti ili atrofije (Tablica 20). Međutim, korišteni su anamnestički odnosno klinički podatci o prisutnosti mišićne slabosti ili atrofije u bolesnika, a kao objektivna mjera mišićne patologije uzeta je samo vrijednost CK (Tablica 21). Podatci o objektivnim mjerama sarkopenije, poput testova snage stiska, brzine hoda i sl. odnosno indeksi sarkopenije te nalazi radioloških metoda procjene sarkopenije, nisu bili dostupni (200).

6.5. Zahvaćanje gastrointestinalnog sustava

Polimorfizmi gena za ACE nedovoljno su istraženi u GI bolestima s poremećajem motiliteta crijeva kao što je SSc. U istraživanju Malika i sur. dokazano je da je alel D i genotip DD povezan s višim rizikom razvoja poremećaja motiliteta crijeva u dijabetičkih bolesnika (201).

Patofiziološki mehanizam, odnosno molekula, koja povezuje polimorfizam gena za ACE s motilitetom crijeva je neurotransmiter tvar P. Riječ je o peptidu iz tahikininske obitelji koji vezanjem na receptore NK1, NK2 i NK3 izvršava stimulaciju ili inhibiciju motiliteta crijeva (202). Prema Nielu, kako navode Malik i sur., za razgradnju tvari P odgovoran je upravo ACE te je time moguće da polimorfizam ACE-gena ima ulogu u poticanju odnosno inhibiciji motiliteta crijeva (201). Kako navode Malik i sur., studije Granot i Wengrover, Tzavella i Riepl te Lysy i Karmeli, potvrđuju da je koncentracija tvari P niža u bolesnika s konstipacijom, a viša u bolesnika s proljevom te da se u bolesnika genotipa DD bilježi niža koncentracija tvari P (201).

Navedeno bi značilo da su osobe s genotipom DD i višom koncentracijom ACE skloniji slabijem motilitetu crijeva, no u ovom istraživanju nismo našli razlike u bolesnika ovisno o njihovom polimorfizmu s obzirom na pojavu jednjačnih, želučanih ili crijevnih tegoba (Tablica 23).

U istraživanju uloge neuropeptida u SSc nađeno je da bolesnici sa SSc imaju veću koncentraciju tvari P u odnosu na kontrolnu zdravu skupinu (203). Navedeno upućuje da bi bolesnici sa SSc trebali imati čak pojačan motilitet crijeva.

Također nema puno podataka o ulozi polimorfizma ACE-gena u upalnim bolestima crijeva. Dostupna je studija Saibeni i sur. prema kojoj polimorfizmi ACE ne utječu na rizik razvoja upalnih bolesti crijeva, ulceroznog kolitisa ili Crohnove bolesti, no alel D je povezan uz viši rizik ekstraintestinalnih manifestacija u ulceroznom kolitisu (204).

S obzirom na karakter našeg istraživanja te nedostupnost podataka o objektivnim mjerama zahvaćanja GI sustava u SSc kao što su koncentracija tvari P, rezultati manometrije jednjačnog odnosno analnog sfinktera ili nalazi radioloških pretraga koji ukazuju na poremećaj pasaže ili dilatacije jednjaka, za procjenu zahvaćanja GI sustava uzeti su anamnestički podatci o prisutnosti simptoma zahvaćanja jednjaka, želuca odnosno crijeva.

6.6. Zahvaćanje bubrega

Možda najpoznatija uloga RAS upravo je u bubrežnim bolestima te su dostupni brojni radovi o povezanosti ACE-gena s art. hipertenzijom, različitim oblicima bubrežnih bolesti poput dijabetičke i IgA nefropatije, lupusnog nefritisa (LN), autosomno dominantne policistične bolesti bubrega (prema engl. *autosomal dominant polycystic kidney disease*, ADPKD) i drugih.

U nekoliko metaanaliza na temu povezanosti IgA nefropatije s genom za ACE, dobiveni su donekle kontradiktorni rezultati, no čini se da većinom ovise o etničkoj pripadnosti bolesnika. U metaanalizi iz 2001. godine nije nađeno povezanosti polimorfizma ACE-gena s pojavom niti težinom IgA nefropatije u bijelaca i Azijaca (205). Međutim, prema dvije metaanalize iz 2006. godine, ipak se doima da je u progresiji IgA nefropatije važan genotip DD, kako u bijelaca tako i u Azijaca, no samo u Azijaca je zabilježena sklonost razvoju IgA nefropatije u usporedbi sa zdravom kontrolom, dok u bijelaca isto nije dokazano (206,207). Rezultati vezani uz viši rizik razvoja bolesti u Azijaca genotipa DD za razliku od bijelaca potvrđeni su metaanalizom iz 2011. godine, no tada nije nađena povezanost genotipa s progresijom IgA nefropatije niti u jednoj etničkoj skupini (208). Veća sklonost razvoja završne faze bubrežne bolesti (prema engl. *end stage renal disease*, ESRD) također je zabilježena u osoba genotipa DD u obje ove rase prema metaanalizi iz 2013. godine (209). U djece se sklonost ka IgA nefropatiji i lošija prognoza bolesti također veže uz alel D (210). U najnovijoj

metaanalizi iz 2021. godine, ponovno se alel D veže uz pojačanu sklonost i progresiju IgA nefropatije u Azijaca, no isto nije dokazano u bijelaca (211).

Slične rasne razlike utvrđene su i u metaanalizi pojave fokalne segmentalne glomeruloskleroze (FSGS) pri čemu se bolest veže uz alel D i genotip DD u Azijaca, no ne u bijelaca, Arapa, Afrikanaca ili Židova (212).

U SLE je također dokazana sklonost nastanku bolesti u osoba genotipa DD te je prema dvije metaanalize iz 2012. i 2013. godine također zabilježena povezanost nastanka LN u osoba s genotipom DD odnosno alelom D, no rizik nastanka LN nije potvrđen u metaanalizi iz 2018. godine (213–215).

Nadalje, razvoj esencijalne arterijske hipertenzije prema metaanalizi iz 2019. godine povezan je s alelom D u Afrikanaca, a druga metaanaliza iz 2021. godine potvrđuje isti rezultat i prilikom analize etničkih podskupina Azijaca i bijelaca (216,217).

U dijabetičkoj nefropatiji, prema metaanalizama, alel I pokazao se kao protektivan u Azijaca, odnosno alel D kao predisponirajući čimbenik razvoja ESRD (218–220).

Međutim, kod ADPKD metaanaliza nije potvrdila patološku ulogu alela D u razvoju teže slike (221).

Metaanaliza predispozicije polimorfizma ACE-gena za razvoj ESRD, bez obzira na uzrok same ESRD, pokazala je također povezanost alela D ili genotipa DD s povišenim rizikom razvoja ESRD u cjelokupnoj populaciji, odnosno genotipa DD u bijelaca (222).

Premda većina studija povezuje alel D, s pojavom ili težim oblikom bubrežnih bolesti, dakle alel koji se veže uz povišenu aktivnost ACE, prema analizi kohorte EUSTAR, ACEi koji smanjuju aktivnost ACE, u SSc predstavljaju rizik razvoja renalne krize (223).

Rezultati ovog istraživanja nisu potvrdili povezanost alela D s težim oblikom bubrežne bolesti u SSc analizirajući pojavu renalne krize, vrijednosti kreatinina, eGFR i proteinurije (Tablica 24 i 25). Renalna kriza zabilježena je u samo jednog bolesnika te navedni rezultat ne može imati statističku značajnost.

6.7. Zahvaćanje srca i plućna hipertenzija

Kardiovaskularna bolest predstavlja značajno zdravstveno opterećenje u bolesnika sa SSc te je dokazana povišena prevalencija koronarne bolesti u SSc (92). Premda su PAH i ILD osnovni uzroci smrti u bolesnika sa SSc, kardiovaskularna bolest svakako povećava mortalitet ovih bolesnika (15,224). Bolesnici sa SSc imaju viši rizik, kako periferne ishemijske arterijske bolesti, tako i koronarne, osobito bolesnici s anticentromernim protutijelima (225).

Polimorfizmi gena za ACE u velikoj mjeri su istraživani u bolestima srca, kao što su koronarna bolest, srčano popuštanje i pojava aritmija, no često također s kontradiktornim rezultatima.

U koronarnoj bolesti, većina autora povezuje alel D s višim rizikom razvoja bolesti ili njezinim težim tijekom u različitim etničkim skupinama. Tako je u bolesnika s prvim incidentom infarkta miokarda, a nositelji su genotipa DD, utvrđen teži oblik koronarne bolesti (226). Isti autori su pokazali da ACE-genotip nema utjecaja na dvanaestomjesečno preživljenje nakon infarkta miokarda, no u skupini bolesnika koji nisu koristili ACEi ili ARB, ipak su oni s genotipom DD imali višu smrtnost (227). Slične rezultate prikazali su Vladeanu i sur. prema kojima nositelji alela D imaju veći rizik akutne koronarne bolesti i teži oblik stenozе koronarnih arterija (228). U Tunižana se također alel D povezuje s višim rizikom koronarne bolesti (229). Isti alel, odnosno genotip DD, je povezan s većim rizikom koronarne bolesti u Talijana (230). Prema radu Woo i sur. genotip DD češći je u Kineskinja s infarktom miokarda, a u muškaraca je povezan s mortalitetom (143). Prilikom istraživanja iranske populacije, donesen je isti zaključak pri kojem osobe genotipa DD imaju viši rizik rane koronarne bolesti (231). U analizi pojave značajnih kardiovaskularnih događaja (prema engl. *major cardiovascular events, MACE*), u tajvanskih bolesnika sa SSc nije dokazan veći rizik od navedenih događaja, no prilikom analize pojedinačnih kardiovaskularnih događaja, dokazan je veći rizik od infarkta miokarda i PAD, no ne i moždanog udara (232). Međutim, u bolesnika s infarktom miokarda s elevacijom ST spojnice (prema engl. *ST-elevation myocardial infarction, STEMI*) nije dokazana razlika u ishodu odnosno mortalitetu bolesnika ovisno o njihovom genotipu ACE (233). U Kineza je dokazana veća učestalost genotipa DD u osoba umrlih od nagle srčane smrti (234). U Indijaca je prema nekim autorima također uočena povezanost genotipa DD s koronarnom bolešću (235). No, prema drugim autorima, u indijskoj populaciji se genotip II pokazao kao nezavisni prediktivni čimbenik infarkta miokarda (236). Slično su uočili litavski autori prema kojima su genotip II i ID povezani s razvojem STEMI što je suprotno prijašnjim rezultatima drugih autora (237). Također Briongos-Figuero i sur. nisu našli povezanost genotipa ACE s kardiovaskularnim rizikom u bolesnika s art. hipertenzijom, premda na malom uzorku od 71 osobe (238).

Prema metaanalizi iz 1997. godine alel D je povezan s višim rizikom infarkta miokarda (239). Također je prema novijoj metaanalizi iz 2016. godine o utjecaju gena za ACE s povezanošću s koronarnom bolešću i infarktom miokarda, utvrđeno da alel D ima patogenu ulogu u Azijaca i Europljana, no povezanost nije dokazana u Amerikanaca (240). Međutim, prema metaanalizi iz 2000. godine u bjelačkoj populaciji u najvećim studijama nije dokazana povezanost polimorfizma ACE-gena s ishemijskom bolešću srca i infarktom miokarda (241).

Polimorfizam ACE gena ima ulogu u razvoju hipertrofije srca te kardiomiopatije. U metaanalizi Fajara i sur. uočena je povezanost alela D s višim rizikom hipertrofije lijeve klijetke (242). U radu Rani i sur., osobe s genotipom DD imaju viši rizik razvoja hipertrofične i dilatacijske kardiomiopatije

(243). U dvije metaanalize pojave hipertrofične kardiomiopatije, dokazan je veći rizik razvoja bolesti u osoba s alelom D (244,245). U novijoj metaanalizi Jia i sur. iz 2024. godine, analizirana je, između ostalih gena, i uloga gena za ACE u pojavi svih oblika kardiomiopatije te je ponovno alel D povezan s višim rizikom bolesti (246).

Polimorfizmi ACE povezuju se i sa srčanim popuštanjem, no rezultati također nisu jednoznačni. Prema Voronkov i sur., polimorfizmi ACE-gena nemaju jasnu prediktivnu vrijednost na pojavu srčanog popuštanja (247). U Poljaka nije dokazana povezanost polimorfizma gena za ACE s rizikom od srčanog popuštanja (248). U brazilskoj populaciji genotip DD i ID povezan je s lošijom srčanom funkcijom, odnosno težim srčanim popuštanjem u odnosu na nositelje genotipa II (249). Bahramali i sur. dokazali su povezanost alela D s pojavom hipertrofije lijeve klijetke u osoba s art. hipertenzijom i srčanim popuštanjem s očuvanom sistoličkom funkcijom (HFpEF) (250). Slične rezultate pokazali su Wu i sur. prema kojima je alel D povezan s mortalitetom i MACE u osoba s HFpEF, a propisivanje ACEi su utjecali na smanjenje mortaliteta i MACE (251). Međutim, metaanaliza iz 2012. godine nije pokazala povezanost genotipa ACE s rizikom srčanog popuštanja (252). Tawfeeq i sur. su dokazali veću učestalost težeg oblika srčanog popuštanja u nosioca alela D (253).

Prema literaturnim podacima RAS ima ulogu i u nastanku poremećaja srčanog ritma, prvenstveno atrijske fibrilacije (AF). Mehanizam ove pojave objašnjava se strukturnim remodeliranjem pod utjecajem RAS i poticanjem fibroze atrija te poticanjem električnog remodeliranja skraćujući atrijski efektivni refraktorni period (prema engl. *atrial effective refractory period*, AERP) i trajanje akcijskog potencijala (254). No, radovi na tu temu također su kontradiktorni. Prema nekim autorima, polimorfizam ACE-gena nema ulogu u pojavi AF (255). S druge strane, metaanaliza iz 2010. godine povezuje alel D s višim rizikom AF (256). Nadalje, prema metaanalizi iz 2011. godine povezanost polimorfizma gena za ACE s AF nije dokazana, osim u bolesnika s art. hipertenzijom (257). Ipak, novija metaanaliza iz 2015. godine ukazuje na povezanost genotipa DD s višim rizikom AF (258). Alel D također se povezuje s pojavom reperfuzijskih ventrikulskih aritmija nakon infarkta miokarda i može imati ulogu u nagloj srčanoj smrti (259). Nadalje, alel D ima ulogu u repolarizacijskim parametrima, prolongirajući QT disperziju što se dovodi u vezu s nastankom aritmije (260,261).

Što se tiče PAH, nije dostupno puno radova na temu povezanosti primarne PAH s polimorfizmom gena za ACE, a literaturni podatci na temu povezanosti PAH u SSc s polimorfizmom ACE-gena su insuficijentni. Većinom su dostupna istraživanja uloge gena za ACE u sekundarnoj PAH, primjerice posljedično kroničnoj opstruktivnoj plućnoj bolesti (KOPB) ili kroničnoj plućnoj emboliji. Tako je prema Kanazawa i sur. tlak u plućnoj arteriji nakon vježbanja u bolesnika s KOPB-om genotipa DD viši nego u bolesnika genotipa II ili ID (262). Slične rezultate pokazali su Tkáčová i sur. prema kojima je u bolesnika s KOPB-om koji su nositelji genotipa DD zabilježena viša vrijednost tlaka u

plućnoj arteriji (263). Prema Tanabe i sur. alel D se pokazao kao negativan prediktivni čimbenik preživljenja bolesnika s PAH uzrokovanom kroničnom tromboembolijom (264). U drugom istraživanju nije nađeno razlika u distribuciji pojedinog gena za ACE među osobama s KOPB-om s PAH u odnosu na one bez PAH (265). Shaw i sur. također nisu pronašli povezanost polimorfizma ACE-gena s pojavom PAH u osoba s KOPB-om, kao ni Ulasli i sur. koji su analizirali pojavu i težinu PAH u bolesnika s KOPB-om (266,267). Međutim u Kirgiza je genotip II povezan s višim plućnim arterijskim tlakom u osoba s plućnom hipertenzijom povezanom s nadmorskom visinom (*high-altitude pulmonary hypertension*, HAPH) (268). Prema metaanalizi iz 2018. godine ipak je utvrđen veći rizik razvoja KOPB-a i KOPB-a s PAH u nositelja genotipa DD, no samo u azijskoj populaciji (269). U bolesnika s primarnom PAH zabilježena je veća učestalost genotipa DD, premda su osobe s navedenim genotipom imale očuvanu funkciju desnog atrija (270). Alel D je povezan i s pojavom PAH u novorođenčadi s urođenom dijafragmalnom hernijom (271). Međutim, pri analizi perzistentne PAH u novorođenčadi De Jesusa i sur. nije nađeno razlike u učestalosti niti težini PAH u bolesnika s obzirom na polimorfizam gena za ACE (272). U bolesnika s atrijskim septalnim defektom također nije dokazana uloga polimorfizma ACE-gena u pojavi PAH (273).

Sve navedene srčane bolesti, dakle ishemijska bolest srca, srčano popuštanje, poremećaji srčanog ritma i PAH, mogu biti dio kliničke slike SSc koja zahvaća srce (274).

U ovom istraživanju pokušali smo dokazati utjecaj alela D na težu kliničku sliku srčanih manifestacija SSc, no istu nismo dokazali u dva mjerenja, pri dijagnozi i nakon 5 godina praćenja. Ipak, nakon 10 godina zabilježena je statistički značajna razlika između 3 genotipa u vrijednostima LVEF, pri čemu su nosioci genotipa DD imali najviše izmjerene vrijednosti, a nosioci genotipa ID najniže (Tablica 28). Kao mjerilo PAH uzeta je vrijednost RVSP s obzirom da većina bolesnika nije imala precizno izmjerene tlakove u plućnoj arteriji dobivene kateterizacijom srca.

6.8. Zahvaćanje pluća

ACE se nalazi u vaskularnom endotelu većine organa, no najveća koncentracija ACE zabilježena je u plućima (275–277). Prema ranijim istraživanjima, snižena razina ACE u serumu biljeg je endotelnog oštećenja te je je dokazana snižena aktivnost ACE u plazmi bolesnika sa SSc (59,68). Navedeno je poslužilo Orfanosu i sur. koji su dokazali da se snižena aktivnost ACE vezanog za kapilarni endotel pluća javlja rano u SSc, u odsutstvu ILD i PAH te je naglašenija u dcSSc obliku bolesti (69). Međutim, u istraživanju Matucci-Cerinic i sur., značajna povezanost razine ACE sa zahvaćanjem pluća u SSc nije dokazana (67).

Pri istraživanju antiendotelnih protutijela u SSc nađena je pozitivna korelacija navedenih protutijela sa SE u dcSSc te značajna povezanost s DLco, PAH, DU i patološkim nalazom kapilaroskopije u

dcSSC, no ne s pojavom intersticijske fibroze pluća, dok je utvrđena značajna negativna korelacija antiendotelnih protutijela s razinom ACE u plazmi (278). U drugom radu, Salojina i sur., zaključeno je da povišenje titra antiendotelnih protutijela korelira s težinom SSc, no nije nađena korelacija između razine antiendotelnih antitijela s razinom ACE (279).

Sve navedeno upućuje na značajnu ulogu razine ACE u patofiziološkim mehanizmima odgovornim za razvoj odnosno aktivnost plućnih očitovanja SSc, no uz kontradiktorne rezultate.

Polimorfizmi gena za ACE vežu se uz pojavu različitih plućnih bolesti, no većina dostupnih studija stavlja naglasak na povezanost polimorfizma s rizikom nastanka bolesti u usporedbi sa zdravom populacijom, a rijetke su studije koje istražuju stupanj težine plućnih bolesti ovisno o polimorfizmu. U većini studija alel D se veže uz nastanak ili veću težinu plućnih bolesti (280). Studije povezanosti navedenih polimorfizama s težinom ILD u SSc nisu dostupne.

U metaanalizi Deng i sur. dokazana je povezanost genotipa DD s visokim rizikom razvoja akutnog respiratornog distres sindroma (ARDS) u bijelaca, kao i u odraslih osoba, no ne u djece (281). Kako navode Deng i sur., prema radovima autora Fourrier i Chopin, zatim Yamamoto i Wang te Marshall i Puddicombe, navedena povezanost ARDS-a objašnjava se smanjenim preživljenjem alveolarnih epitelnih stanica, promjenama vaskularne permeabilnosti i proliferacijom fibroblasta posljedično aktivaciji RAS (281). Neki od ovih mehanizama, osobito proliferacija fibroblasta, ima veliku ulogu u patofiziologiji SSc (282).

Povišene vrijednosti ACE nađene su u bronhoalveolarnom lavatu bolesnika s ILD što je potaklo daljnja istraživanja uloge polimorfizma gena za ACE u ILD (283). Tako su Morrison i sur. ukazali na veću učestalost alela D u idiopatskoj plućnoj fibrozi (IPF), a u nedavnoj metaanalizi Wu i sur. nađen je povećan rizik razvoja IPF u nositelja alela D u kineskoj Han populaciji uspoređujući 292 bolesnika i 351 zdrave kontrole (284,285).

Uključenost polimorfizma gena ACE u razvoj bronhoopstruktivnih bolesti kao što su astma i KOPB također je istraživana te je u metaanalizi Zhang i sur. na 1946 bolesnika s astmom i 2152 zdrave kontrole nađen 59% viši rizik razvoja astme u nositelja genotipa DD, osobito u Azijaca (286). U pojedinim studijama razvoj KOPB-a se povezuje uz alel D, no metanaliza Xu i sur. nije dokazala navedenu povezanost (287,288). Međutim, ista metaanaliza pokazala je da nositelji genotipa ID imaju značajno niži FEV1 u skupini bolesnika GOLD I i II stupnja KOPB-a (288). Navedni podaci donekle se slažu s rezultatima ovog istraživanja s obzirom da u naših bolesnika s genotipom ID tijekom deset godina praćenja dolazi do značajnog sniženja FEV1 (Tablica 32). Druga metaanaliza ipak je dokazala povezanost genotipa DD s povećanim rizikom razvoja KOPB-a, kao i razvoja KOPB-a s PAH, no samo u Azijaca (269).

U sustavnim autoimunskim bolestima koja zahvaćaju pluća, dostupni su radovi povezanosti polimorfizma gena ACE sa sarkoidozom. Metaanaliza Songa i sur. dokazala je povišen rizik razvoja sarkoidoze u istočnoazijskih bolesnika s alelom D, odnosno u nositelja genotipa ID i DD, no također je dokazala i povišen rizik razvoja sarkoidoze u europskih nositelja genotipa DD (289).

Nedavna pandemija virusom SARS-CoV-2 ponukala je znanstvenike na istraživanja genetskih čimbenika koji utječu na različitu kliničku sliku bolesti Covid-19. Između ostalih gena, također je istraživana uloga gena za ACE te je dokazana povezanost polimorfizma ACE-gena s višim rizikom razvoja bolesti ili teže kliničke slike Covid-19, no postojale su razlike ovisno o etničkoj pripadnosti. Tako se prema nekim studijama genotip II pokazao kao rizični čimbenik, a u drugima DD (112). Nedavna metaanaliza Saengsiwaritta i sur. pokazala je da nositelji genotipa DD imaju teži oblik Covid-19 (113).

Poljska grupa autora istraživala je polimorfizme gena ACE 2 na X kromosomu u SSc te dokazala povezanost pojedinih polimorfizama s GI i kožnim očitovanjima bolesti, no nisu dokazali značajnu povezanost polimorfizma gena ACE 2 s pojavom ILD u SSc (290).

U većini navedenih studija naglašene su razlike ovisno o genetskim, okolišnim i geografskim obilježjima bolesnika, osobito između bijelaca i Azijaca. Ovo istraživanje učinjeno na homogenoj skupini hrvatskih bolesnika pri čemu nije nađena povezanost polimorfizma gena ACE s težinom plućne bolesti u SSc analizirajući pojavu strukturnih promjena na HRCT-u te vrijednosti plućnih funkcijskih testova. Međutim, nakon deset godina praćenja u skupini bolesnika nositelja genotipa ID, nađen je statistički značajan pad vrijednosti FEV1 (Tablica 32). Slične rezultate pokazali su Shaw i sur. koji su u bolesnika s KOPB-om utvrdili niže vrijednosti FEV1 u osoba s genotipom II i ID (266). Rezultat je nejasnog kliničkog značenja s obzirom da bolesnici sa SSc imaju restriktivni obrazac plućne bolesti čije je mjerilo snižen FVC, a ne FEV1 (291).

6.9. Težina bolesti prema Medsgerovoj ljestvici

Težina do sada spomenutih manifestacija SSc na različitim organskim sustavima mogu se procijeniti Medsgerovom ljestvicom stupnjevanjem od 0-4 pojedinog organskog sustava i općih simptoma te njihovim ukupnim zbrojem (19). U ovom istraživanju nije dokazana razlika u zbrojevima nijednog organskog sustava, općih simptoma niti njihovog ukupnog zbroja, među grupama bolesnika s tri ispitivana polimorfizma u tri statične vremenske točke (Tablice 33-35). Međutim, tijekom desetogodišnjeg praćenja u bolesnika genotipa II i ID došlo je do statistički značajnog povećanja ukupnog zbroja bodova na Medsgerovoj ljestvici težine bolesti (Tablica 36). Navedeno može upućivati da bi, suprotno hipotezi, genotip DD mogao djelovati protektivno na progresiju težine bolesti te da je alel I odgovoran za pogoršanje kliničke slike tijekom dugotrajne

bolesti. Ipak, s obzirom na manji uzorak nakon 10 godina, navedeno bi se trebalo ispitati na većem broju bolesnika što se može postići daljnjim praćenjem naših bolesnika.

7. ZAKLJUČAK

Na temelju rezultata provedenog istraživanja moguće je zaključiti sljedeće:

1. Po prvi puta je učinjena analiza povezanosti polimorfizma ACE-gena s obilježjima SSc po svim organskim sustavima u etnički homogenoj bjelačkoj populaciji u tri vremenske točke.
2. Hipoteza da bolesnici s polimorfizmom DD ACE-gena imaju težu kliničku sliku SSc, uzevši u obzir zahvaćanje pluća, bubrega, srca, GI sustava, kože i periferne vaskulature, nije potvrđena. Na rezultate je mogla utjecati činjenica da je riječ o vrlo heterogenoj bolesti, različitih podtipova, s vrlo širokim spektrom manifestacija po organskim sustavima, kao i činjenica da su bolesnici tijekom godina liječeni raznovrsnom terapijom.
3. Nije nađena statistički značajna povezanost ACE-genotipa s početkom pojave bolesti uzevši u obzir vrijeme proteklo između pojave RP i prvog ne-Raynaudovog fenomena odnosno vrijeme proteklo između pojave RP i postavljanja dijagnoze bolesti.
4. Nisu pronađene značajne razlike u distribuciji ACE-genotipa s obzirom na spol i dob bolesnika, tip bolesti i protutijela karakterističnih za SSc.
5. Nisu pronađene značajne razlike u distribuciji ACE-genotipa s obzirom na sljedeće komorbiditete - arterijsku hipertenziju, šećernu bolest i dislipidemiju.
6. Nije pronađena značajna povezanost pojedinog genotipa gena za ACE s aktivnošću bolesti mjerene vrijednostima SE i CRP te EScSG-AI i EUSTAR-AI. Međutim, nakon deset godina praćenja zabilježena je statistički značajna razlika između 3 genotipa u vrijednosti komponente komplementa C4, pri čemu je u bolesnika genotipa II zabilježena najniža vrijednost ($p=0,023$). Navedeno upućuje da bi genotip II mogao biti biljeg aktivnosti bolesti nakon dugogodišnjeg praćenja. S druge strane, uspoređujući početne vrijednosti SE pri dijagnozi i one nakon 10 godina, one se statistički značajno smanjuju u nosioca ID polimorfizma. Također se tijekom desetogodišnjeg praćenja bilježi statistički značajan pad EScSG-AI u nosioca sva tri polimorfizma.
7. Nije dokazana povezanost ACE-genotipa s težom kožnom kliničkom slikom bolesti i perifernom vaskulopatijom vrednovanom uz pomoć mRSS, pojavom DU i vrijednostima ABI. Međutim, nakon 5 godina praćenja analizirajući mRSS, u osoba genotipa DD, vrijednost p se približava statističkoj značajnosti ($p=0,062$). Navedeno upućuje da bi bolesnici genotipa DD ipak mogli imati težu kožnu manifestaciju bolesti što nalaže daljnja istraživanja na većem broju bolesnika uz isključenje ometajućih čimbenika, u prvom redu terapije ACEi koja potencijalno najviše utječe na rezultate.
8. Nije dokazana povezanost ACE-genotipa s težom kliničkom slikom SSc na lokomotornom sustavu objektivizirane mjerenjem vrijednosti CK te analizirajući anamnestičke podatke o pojavi kontraktura, mišićne slabosti i mišićne atrofije.

9. Nije dokazana povezanost ACE-genotipa s težim GI obilježjem bolesti prema anamnestičkim podacima o pojavi disfagije i refluksa, rane sitosti i povraćanja te proljeva, nadutosti i konstipacije.
10. Nije nađena povezanost ACE-genotipa s bubrežnom bolešću u sklopu SSc analizirajući anamnestičke podatke o pojavi renalne krize te mjereći vrijednosti kreatinina, eGFR i proteinurije.
11. Pri analizi zahvaćanja srca, nakon 10 godina praćenja, dokazana je statistički značajna razlika između 3 genotipa u vrijednosti LVEF, pri čemu je u bolesnika genotipa DD zabilježena najviša vrijednost, a u genotipa ID najniža ($p=0,026$).
12. Nije dokazana razlika među bolesnicima pojedinog ACE-genotipa s obzirom na težinu PAH koja je procijenjena ultrazvučnim mjerenjem vrijednosti RVSP. Također nije nađena razlika među bolesnicima s obzirom na anamnestički podatak o pojavi aritmije.
13. Nisu nađene značajne razlike među bolesnicima različitog polimorfizma ACE-genotipa s obzirom na plućne manifestacije SSc koje su objektivizirane testovima plućnih funkcija i nalazom HRCT-a pluća. Međutim, u bolesnika genotipa ID zabilježeno je statistički značajno sniženje vrijednosti FEV1 nakon 10 godina koja je nejasne kliničke važnosti te se ne može jasno povezati s restriktivnim promjenama pluća karakterističnih za SSc ($p=0,014$).
14. Prema Medsgerovoj ljestvici težine općih manifestacija bolesti i Medsgerovoj ljestvici težine bolesti svakog organskog sustava (kože, periferne vaskulature, zglobova i tetiva, mišića, GI sustava, respiratornog, kardiovaskularnog sustava i bubrega) kao i ukupnom zbroju bodova na Medsgerovoj ljestvici u 3 vremenske točke, nismo dokazali težu kliničku sliku SSc u nekom od genotipa ACE-gena. No, tijekom 10 godina praćenja, došlo je do statistički značajnog povećanja ukupnog zbroja bodova na Medsgerovoj ljestvici težine bolesti u bolesnika genotipa II i ID ($p=0,002$). Navedeno upućuje da bolesnici genotipa DD nemaju jasnu progresiju težine bolesti tijekom 10 godina praćenja.

8. SAŽETAK

Uvod: Sistemska skleroza (SSc) obilježava autoimunost, upala, vaskulopatija i fibroza. U sličnim patofiziološkim mehanizmima sudjeluje sustav renin-angiotenzin (RAS) čija je središnja molekula enzim za pretvorbu angiotenzina (ACE). Njegova aktivnost ovisi o insercijskom (II), delecijijskom (DD) i kodominantnom (ID) polimorfizmu u intronu 16 ACE-gena, pri čemu nosioci polimorfizma DD naspram II imaju dvostruko veću aktivnost ACE.

Hipoteza: Bolesnici s polimorfizmom DD ACE-genotipa imaju težu kliničku sliku SSc.

Cilj: Ispitati povezanost ACE-genotipa s fenotipskim obilježjima oboljelih od SSc.

Ispitanici i metode: Provedena je retrospektivna analiza povezanosti polimorfizma ACE-gena s težinom manifestacija SSc na više organskih sustava pri postavljanju dijagnoze u 135 bolesnika, nakon 5 godina u 105 i nakon 10 godina praćenja u 70 bolesnika.

Rezultati: Nije nađena statistički značajna povezanost polimorfizma ACE-gena s težinom kliničke slike SSc. Međutim, u vremenskoj točki nakon deset godina zabilježena je statistički značajna razlika između 3 genotipa u vrijednosti komponente komplementa C4 (najniža vrijednost u genotipu II, a najviša u genotipu DD) te istisne frakcije lijeve klijetke (LVEF; najniža vrijednost u genotipu ID, a najviša u DD). Tijekom desetogodišnjeg perioda došlo je do statistički značajnog pada vrijednosti sedimentacije eritrocita (SE) i forsiranog ekspiracijskog volumena tijekom prve sekunde (FEV1) u genotipu ID te do značajnog povećanja ukupnog zbroja bodova na Medsgerovoj ljestvici težine bolesti u genotipu II i ID.

Zaključak: Hipoteza da bolesnici s polimorfizmom DD ACE-gena imaju težu kliničku sliku SSc nije potvrđena. Međutim, genotipovi II i ID mogli bi biti prediktori progresije bolesti.

9. SUMMARY

Title: Association between ACE gene polymorphism and severity of clinical presentation in patients with systemic sclerosis

Author: Boris Karanović, MD Year: 2024

Introduction: Systemic sclerosis (SSc) is characterized by autoimmunity, inflammation, vasculopathy and fibrosis. Renin-angiotensin system (RAS) is implicated in similar pathophysiological mechanisms. The central molecule of RAS is angiotensin converting enzyme (ACE) whose activity is regulated by the insertion (II), deletion (DD) or codominant (ID) polymorphism in introne 16 of the ACE gene. DD polymorphism carriers have twice the ACE activity of those with II polymorphism.

Hypothesis: ACE DD polymorphism carriers have more severe multiorgan manifestations of SSc.

Aim: Analysis of the association between ACE gene polymorphism and phenotypic features of SSc.

Patients and methods: Analysis of the association between severity of SSc multiorgan manifestations and ACE gene polymorphism was performed in 135, 105 and 70 patients at the time of diagnosis, after 5 and 10 years of follow-up, respectively.

Results: No statistically significant association between ACE gene polymorphism and the severity of multiorgan SSc manifestations was found. At a time point after 10 years of follow-up, statistically significant differences between the 3 genotypes were found in C4 complement levels (lowest values in II, highest in DD genotype) and left ventricular ejection fraction (LVEF; lowest values in ID, highest in DD genotype). During 10 years of follow-up, there was a statistically significant decrease in erythrocyte sedimentation rate (ESR) and forced expiratory volume during the first second (FEV1) in genotype ID and increase in total sum of Medsger severity index in genotypes II and ID.

Conclusion: Hypothesis that ACE DD polymorphism carriers have more severe multiorgan SSc manifestations has been rejected. II and ID genotype could be biomarkers of disease progression.

10. POPIS LITERATURE

1. Wigley FM, Boin F. Clinical features and treatment of Scleroderma. U: Firestein GS, Budd RC, Gabriel SE, Koretzky GA, McInnes IB, O'Dell JR, ur. Firestein & Kelley's textbook of rheumatology. 11. izd. Philadelphia: Elsevier; 2021. Str. 1499–538.
2. Denton CP, Khanna D. Systemic sclerosis. *Lancet*. 2017;390(10103):1685–99.
3. Ingegnoli F, Ughi N, Mihai C. Update on the epidemiology, risk factors, and disease outcomes of systemic sclerosis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2018;32(2):223–40.
4. LeRoy EC, Black C, Fleischmajer R, Jablonska S, Krieg T, Medsger TA, i sur. Scleroderma (systemic sclerosis): classification, subsets and pathogenesis. *J Rheumatol*. 1988;15(2):202–5.
5. van den Hoogen F, Khanna D, Fransen J, Johnson SR, Baron M, Tyndall A, i sur. 2013 classification criteria for systemic sclerosis: an American college of rheumatology/European league against rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis*. 2013;72(11):1747–55.
6. Wigley FM, Flavahan NA. Raynaud's phenomenon. *N Engl J Med*. 2016;375(6):556–65.
7. Ferrelli C, Gasparini G, Parodi A, Cozzani E, Rongioletti F, Atzori L. Cutaneous manifestations of scleroderma and scleroderma-like disorders: a comprehensive review. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2017;53(3):306–36.
8. Smith V, Ickinger C, Hysa E, Snow M, Frech T, Sulli A, i sur. Nailfold capillaroscopy. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2023;37(1):101849.
9. Khanna D, Furst DE, Clements PJ, Allanore Y, Baron M, Czirjak L, i sur. Standardization of the modified Rodnan skin score for use in clinical trials of systemic sclerosis. *J Scleroderma Relat Disord*. 2017;2(1):11–8.
10. Morrisroe KB, Nikpour M, Proudman SM. Musculoskeletal manifestations of systemic sclerosis. *Rheum Dis Clin North Am*. 2015;41(3):507–18.
11. Nassar M, Ghernautan V, Nso N, Nyabera A, Castillo FC, Tu W, i sur. Gastrointestinal involvement in systemic sclerosis: An updated review. *Medicine*. 2022;101(45):e31780.
12. Cole A, Ong VH, Denton CP. Renal disease and systemic sclerosis: an update on scleroderma renal crisis. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2023;64(3):378–91.

13. Bruni C, Ross L. Cardiac involvement in systemic sclerosis: getting to the heart of the matter. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2021;35(3):101668.
14. Bahi M, Li C, Wang G, Korman BD. Systemic sclerosis-associated pulmonary arterial hypertension: from bedside to bench and back again. *Int J Mol Sci*. 2024;25(9):4728.
15. Tyndall AJ, Bannert B, Vonk M, Airò P, Cozzi F, Carreira PE, i sur. Causes and risk factors for death in systemic sclerosis: a study from the EULAR scleroderma trials and research (EUSTAR) database. *Ann Rheum Dis*. 2010;69(10):1809–15.
16. Khanna D, Tashkin DP, Denton CP, Renzoni EA, Desai SR, Varga J. Etiology, risk factors, and biomarkers in systemic sclerosis with interstitial lung disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2020;201(6):650–60.
17. Valentini G, Bencivelli W, Bombardieri S, D'Angelo S, Della Rossa A, Silman AJ, i sur. European scleroderma study group to define disease activity criteria for systemic sclerosis. III. Assessment of the construct validity of the preliminary activity criteria. *Ann Rheum Dis*. 2003;62(9):901–3.
18. Valentini G, Iudici M, Walker UA, Jaeger VK, Baron M, Carreira P, i sur. The European scleroderma trials and research group (EUSTAR) task force for the development of revised activity criteria for systemic sclerosis: derivation and validation of a preliminarily revised EUSTAR activity index. *Ann Rheum Dis*. 2017;76(1):270–6.
19. Medsger TA, Bombardieri S, Czirjak L, Scorza R, Della Rossa A, Bencivelli W. Assessment of disease severity and prognosis. *Clin Exp Rheumatol*. 2003;21(3 Suppl 29):S42-46.
20. Kowal-Bielecka O, Fransen J, Avouac J, Becker M, Kulak A, Allanore Y, i sur. Update of EULAR recommendations for the treatment of systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*. 2017;76(8):1327–39.
21. Macrea M, Ghazipura M, Herman D, Barnes H, Knight SL, Silver RM, i sur. Rituximab in patients with systemic sclerosis-associated interstitial lung disease: a systematic review and meta-analysis. *Ann Am Thorac Soc*. 2024;21(2):317–27.
22. Ghazipura M, Macrea M, Herman D, Barnes H, Knight SL, Silver RM, i sur. Tocilizumab in patients with systemic sclerosis-associated interstitial lung disease: a systematic review and meta-analysis. *Ann Am Thorac Soc*. 2024;21(2):328–37.
23. Bukiri H, Volkmann ER. Current advances in the treatment of systemic sclerosis. *Curr Opin Pharmacol*. 2022;64:102211.

24. Ko J, Noviani M, Chellamuthu VR, Albani S, Low AHL. The pathogenesis of systemic sclerosis: the origin of fibrosis and interlink with vasculopathy and autoimmunity. *Int J Mol Sci.* 2023;24(18):14287.
25. Raschi E, Privitera D, Bodio C, Lonati PA, Borghi MO, Ingegnoli F, i sur. Scleroderma-specific autoantibodies embedded in immune complexes mediate endothelial damage: an early event in the pathogenesis of systemic sclerosis. *Arthritis Res Ther.* 2020;22(1):265.
26. Liu XD, Guo SY, Yang LL, Zhang XL, Fu WY, Wang XF. Anti-endothelial cell antibodies in connective tissue diseases associated with pulmonary arterial hypertension. *J Thorac Dis.* 2014;6(5):497–502.
27. Klein S, Kretz CC, Ruland V, Stumpf C, Haust M, Hartschuh W, i sur. Reduction of regulatory T cells in skin lesions but not in peripheral blood of patients with systemic scleroderma. *Ann Rheum Dis.* 2011;70(8):1475–81.
28. Krasimirova E, Velikova T, Ivanova-Todorova E, Tumangelova-Yuzeir K, Kalinova D, Boyadzhieva V, i sur. Treg/Th17 cell balance and phytohaemagglutinin activation of T lymphocytes in peripheral blood of systemic sclerosis patients. *World J Exp Med.* 2017;7(3):84–96.
29. Yoshizaki A, Yanaba K, Iwata Y, Komura K, Ogawa A, Akiyama Y, i sur. Cell adhesion molecules regulate fibrotic process via Th1/Th2/Th17 cell balance in a bleomycin-induced scleroderma model. *J Immunol.* 2010;185(4):2502–15.
30. Frantz C, Pezet S, Avouac J, Allanore Y. Soluble CD163 as a potential biomarker in systemic sclerosis. *Dis Markers.* 2018;2018:8509583.
31. Al-Adwi Y, Westra J, van Goor H, Burgess JK, Denton CP, Mulder DJ. Macrophages as determinants and regulators of fibrosis in systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford).* 2023.;62(2):535–45.
32. Brown M, O'Reilly S. The immunopathogenesis of fibrosis in systemic sclerosis. *Clin Exp Immunol.* 2019;195(3):310–21.
33. Rodriguez A, Friman T, Kowanetz M, van Wieringen T, Gustafsson R, Sundberg C. Phenotypical differences in connective tissue cells emerging from microvascular pericytes in response to overexpression of PDGF-B and TGF- β 1 in normal skin in vivo. *Am J Pathol.* 2013;182(6):2132–46.
34. Meng XM, Nikolic-Paterson DJ, Lan HY. TGF- β : the master regulator of fibrosis. *Nat Rev Nephrol.* 2016;12(6):325–38.

35. Martins V, Gonzalez De Los Santos F, Wu Z, Capelozzi V, Phan SH, Liu T. FIZZ1-induced myofibroblast transdifferentiation from adipocytes and its potential role in dermal fibrosis and lipoatrophy. *Am J Pathol.* 2015;185(10):2768–76.
36. Korman B, Marangoni RG, Lord G, Olefsky J, Tourtellotte W, Varga J. Adipocyte-specific repression of PPAR-gamma by NCoR contributes to scleroderma skin fibrosis. *Arthritis Res Ther.* 2018;20(1):145.
37. Ntelis K, Bogdanos D, Dimitroulas T, Sakkas L, Daoussis D. Platelets in systemic sclerosis: the missing link connecting vasculopathy, autoimmunity, and fibrosis? *Curr Rheumatol Rep.* 2019;21(5):15.
38. Ramirez GA, Franchini S, Rovere-Querini P, Sabbadini MG, Manfredi AA, Maugeri N. The role of platelets in the pathogenesis of systemic sclerosis. *Front Immunol.* 2012;3:160.
39. Vargas Vargas RA, Varela Millán JM, Fajardo Bonilla E. Renin-angiotensin system: basic and clinical aspects - a general perspective. *Endocrinol Diabetes Nutr (Engl Ed).* 2022;69(1):52–62.
40. Lavoie JL, Sigmund CD. Minireview: overview of the renin-angiotensin system--an endocrine and paracrine system. *Endocrinology.* 2003;144(6):2179–83.
41. Paz Ocaranza M, Riquelme JA, García L, Jalil JE, Chiong M, Santos RAS, i sur. Counter-regulatory renin-angiotensin system in cardiovascular disease. *Nat Rev Cardiol.* 2020;17(2):116–29.
42. Satou R, Penrose H, Navar LG. Inflammation as a regulator of the renin-angiotensin system and blood pressure. *Curr Hypertens Rep.* 2018;20(12):100.
43. de Gasparo M, Catt KJ, Inagami T, Wright JW, Unger T. International union of pharmacology. XXIII. The angiotensin II receptors. *Pharmacol Rev.* 2000;52(3):415–72.
44. Sumners C, Peluso AA, Haugaard AH, Bertelsen JB, Steckelings UM. Anti-fibrotic mechanisms of angiotensin AT2 -receptor stimulation. *Acta Physiol (Oxf).* 2019;227(1):e13280.
45. Higuchi S, Ohtsu H, Suzuki H, Shirai H, Frank GD, Eguchi S. Angiotensin II signal transduction through the AT1 receptor: novel insights into mechanisms and pathophysiology. *Clin Sci (Lond).* 2007;112(8):417–28.
46. Riordan JF. Angiotensin-I-converting enzyme and its relatives. *Genome Biol.* 2003;4(8):225.

47. Schrotten NF, Gaillard CAJM, van Veldhuisen DJ, Szymanski MK, Hillege HL, de Boer RA. New roles for renin and prorenin in heart failure and cardiorenal crosstalk. *Heart Fail Rev.* 2012;17(2):191–201.
48. Burrell LM, Johnston CI, Tikellis C, Cooper ME. ACE2, a new regulator of the renin-angiotensin system. *Trends Endocrinol Metab.* 2004;15(4):166–9.
49. Simões e Silva AC, Silveira KD, Ferreira AJ, Teixeira MM. ACE2, angiotensin-(1-7) and Mas receptor axis in inflammation and fibrosis. *Br J Pharmacol.* 2013;169(3):477–92.
50. Stawski L, Han R, Bujor AM, Trojanowska M. Angiotensin II induces skin fibrosis: a novel mouse model of dermal fibrosis. *Arthritis Res Ther.* 2012;14(4):R194.
51. Higashi-Kuwata N, Makino T, Inoue Y, Takeya M, Ihn H. Alternatively activated macrophages (M2 macrophages) in the skin of patient with localized scleroderma. *Exp Dermatol.* 2009;18(8):727–9.
52. Mezzano SA, Ruiz-Ortega M, Egido J. Angiotensin II and renal fibrosis. *Hypertension.* 2001;38(3 Pt 2):635–8.
53. Brecher P. Angiotensin II and cardiac fibrosis. *Trends Cardiovasc Med.* 1996;6(6):193–8.
54. Bataller R, Sancho-Bru P, Ginès P, Brenner DA. Liver fibrogenesis: a new role for the renin-angiotensin system. *Antioxid Redox Signal.* 2005;7(9–10):1346–55.
55. Min LJ, Cui TX, Yahata Y, Yamasaki K, Shiuchi T, Liu HW, i sur. Regulation of collagen synthesis in mouse skin fibroblasts by distinct angiotensin II receptor subtypes. *Endocrinology.* 2004;145(1):253–60.
56. Ruiz-Ortega M, Ruperez M, Lorenzo O, Esteban V, Blanco J, Mezzano S, i sur. Angiotensin II regulates the synthesis of proinflammatory cytokines and chemokines in the kidney. *Kidney Int.* 2002;62:S12–22.
57. Luther JM, Gainer JV, Murphey LJ, Yu C, Vaughan DE, Morrow JD, i sur. Angiotensin II induces interleukin-6 in humans through a mineralocorticoid receptor-dependent mechanism. *Hypertension.* 2006;48(6):1050–7.
58. Kawaguchi Y, Takagi K, Hara M, Fukasawa C, Sugiura T, Nishimagi E, i sur. Angiotensin II in the lesional skin of systemic sclerosis patients contributes to tissue fibrosis via angiotensin II type 1 receptors. *Arthritis Rheum.* 2004;50(1):216–26.

59. Matucci-Cerinic M, Pignone A, Lotti T, Spillantini G, Curradi C, Leoncini G, i sur. Reduced angiotensin converting enzyme plasma activity in scleroderma. A marker of endothelial injury? *J Rheumatol.* 1990;17(3):328–30.
60. Cambien F, Alhenc-Gelas F, Herbeth B, Andre JL, Rakotovo R, Gonzales MF, i sur. Familial resemblance of plasma angiotensin-converting enzyme level: the Nancy Study. *Am J Hum Genet.* 1988;43(5):774–80.
61. Mattei M, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Roeckel N, Corvol P, Soubrier F. Angiotensin I converting enzyme gene is on chromosome 17. *Cytogenet Cell Genet.* 1989;51:1041–5.
62. Hubert C, Houot AM, Corvol P, Soubrier F. Structure of the angiotensin I-converting enzyme gene. Two alternate promoters correspond to evolutionary steps of a duplicated gene. *J Biol Chem.* 1991;266(23):15377–83.
63. Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Cambien F, Corvol P, Soubrier F. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest.* 1990;86(4):1343–6.
64. Rigat B, Hubert C, Corvol P, Soubrier F. PCR detection of the insertion/deletion polymorphism of the human angiotensin converting enzyme gene (DCP1) (dipeptidyl carboxypeptidase 1). *Nucleic Acids Res.* 1992;20(6):1433.
65. Crisan D, Carr J. Angiotensin I-converting enzyme: genotype and disease associations. *J Mol Diagn.* 2000;2(3):105–15.
66. Fatini C, Gensini F, Sticchi E, Battaglini B, Angotti C, Conforti ML, i sur. High prevalence of polymorphisms of angiotensin-converting enzyme (I/D) and endothelial nitric oxide synthase (Glu298Asp) in patients with systemic sclerosis. *Am J Med.* 2002;112(7):540–4.
67. Matucci-Cerinic M, Pignone A, Iannone F, Lotti T, Pesciullesi E, Spillantini G, i sur. Clinical correlations of plasma angiotensin converting enzyme (ACE) activity in systemic sclerosis: a longitudinal study of plasma ACE level, endothelial injury and lung involvement. *Respir Med.* 1990;84(4):283–7.
68. Matucci-Cerinic M, Jaffa A, Kahaleh B. Angiotensin converting enzyme: an in vivo and in vitro marker of endothelial injury. *J Lab Clin Med.* 1992;120(3):428–33.
69. Orfanos SE, Psevdi E, Stratigis N, Langleben D, Catravas JD, Kyriakidis M, i sur. Pulmonary capillary endothelial dysfunction in early systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 2001;44(4):902–11.

70. Maddison P. Prevention of vascular damage in scleroderma with angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibition. *Rheumatology (Oxford)*. 2002;41(9):965–71.
71. Guiducci S. Angiotensin-converting enzyme in systemic sclerosis: from endothelial injury to a genetic polymorphism. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;1069(1):10–9.
72. Mayer NJ. Association of the D allele of the angiotensin I converting enzyme polymorphism with malignant vascular injury. *Mol Pathol*. 2002;55(1):29–33.
73. Guiducci S, Fatini C, Georgountzos A, Sticchi E, Cinelli M, Kaloudi O, i sur. Etrurians vs Greeks: May ACE I/D polymorphism still be considered as a marker of susceptibility to SSc? *Clin Exp Rheumatol*. 2006;24(4):432–4.
74. Assassi S, Mayes MD, McNearney T, Fischbach M, Reveille JD, Arnett FC, i sur. Polymorphisms of endothelial nitric oxide synthase and angiotensin-converting enzyme in systemic sclerosis. *Am J Med*. 2005;118(8):907–11.
75. Joung CI, Park YW, Kim SK, Uhm WS, Kim TH, Yoo DH. Angiotensin-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism in Korean patients with systemic sclerosis. *J Korean Med Sci*. 2006;21(2):329.
76. Bartoli F, Angotti C, Fatini C, Conforti ML, Guiducci S, Blagojevic J, i sur. Angiotensin-converting enzyme I/D polymorphism and macrovascular disease in systemic sclerosis. *Rheumatology*. 2007;46(5):772–5.
77. Wipff J, Gallier G, Dieude P, Avouac J, Tiev K, Hachulla E, i sur. Angiotensin-converting enzyme gene does not contribute to genetic susceptibility to systemic sclerosis in European Caucasians. *J Rheumatol*. 2009;36(2):337–40.
78. Song GG, Lee YH. Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism and susceptibility to systemic sclerosis: a meta-analysis. *Genet Mol Res*. 2014;13(4):8174–83.
79. LeRoy EC. Systemic sclerosis. A vascular perspective. *Rheum Dis Clin North Am*. 1996;22(4):675–94.
80. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF, Feldman HI, i sur. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med*. 2009;150(9):604–12.

81. Kidney Disease: improving global outcomes (KDIGO) CKD work group. KDIGO 2024 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2024;105(4S):S117–314.
82. Hirsch AT, Haskal ZJ, Hertzler NR, Bakal CW, Creager MA, Halperin JL, i sur. ACC/AHA 2005 practice guidelines for the management of patients with peripheral arterial disease (lower extremity, renal, mesenteric, and abdominal aortic): a collaborative report from the American association for vascular surgery/Society for vascular surgery, Society for cardiovascular angiography and interventions, Society for vascular medicine and biology, Society of interventional radiology, and the ACC/AHA task force on practice guidelines (writing committee to develop guidelines for the management of patients with peripheral arterial disease): endorsed by the American association of cardiovascular and pulmonary rehabilitation; National heart, lung, and blood institute; Society for vascular nursing; Transatlantic inter-society consensus; and Vascular disease foundation. *Circulation.* 2006;113(11):e463-654.
83. Meier FMP, Frommer KW, Dinser R, Walker UA, Czirjak L, Denton CP, i sur. Update on the profile of the EUSTAR cohort: an analysis of the EULAR scleroderma trials and research group database. *Ann Rheum Dis.* 2012;71(8):1355–60.
84. Baron M, Hudson M, Steele R, Canadian Scleroderma Research Group. Malnutrition is common in systemic sclerosis: results from the Canadian scleroderma research group database. *J Rheumatol.* 2009;36(12):2737–43.
85. Krause L, Becker MO, Brueckner CS, Bellinghausen CJ, Becker C, Schneider U, i sur. Nutritional status as marker for disease activity and severity predicting mortality in patients with systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis.* 2010;69(11):1951–7.
86. Spanjer MJ, Bultink IEM, de van der Schueren MAE, Voskuyl AE. Prevalence of malnutrition and validation of bioelectrical impedance analysis for the assessment of body composition in patients with systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford).* 2017;56(6):1008–12.
87. Radić M, Kolak E, Đogaš H, Gelemanović A, Bučan Nenadić D, Vučković M, i sur. Body composition parameters in systemic sclerosis-a systematic review and meta-analysis. *Rheumatology (Oxford).* 2024;63(1):16–25.
88. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Worldwide trends in underweight and obesity from 1990 to 2022: a pooled analysis of 3663 population-representative studies with 222 million children, adolescents, and adults. *Lancet.* 2024;403(10431):1027–50.

89. Wielosz E, Dryglewska M, Górak A, Łyś E, Majdan M. Arterial hypertension in systemic sclerosis. *Postepy Dermatol Alergol.* 2022;39(5):865–71.
90. Tseng CC, Chang SJ, Tsai WC, Ou TT, Wu CC, Sung WY, i sur. Reduced incidence of type 1 diabetes and type 2 diabetes in systemic sclerosis: a nationwide cohort study. *Joint Bone Spine.* 2016;83(3):307–13.
91. Ursini F, D'Angelo S, Padula A, Gilio M, Russo E, Naty S, i sur. Retrospective analysis of type 2 diabetes prevalence in a systemic sclerosis cohort from southern Italy: comment on „Reduced incidence of type 1 diabetes and type 2 diabetes in systemic sclerosis: a nationwide cohort study“ by Tseng et al., *Joint Bone Spine* 2016;83:307-13. *Joint Bone Spine.* 2016;83(5):611–2.
92. Ngjan GS, Sahhar J, Proudman SM, Stevens W, Wicks IP, Van Doornum S. Prevalence of coronary heart disease and cardiovascular risk factors in a national cross-sectional cohort study of systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis.* 2012;71(12):1980–3.
93. Panopoulos S, Tektonidou M, Drosos AA, Lioussis SN, Dimitroulas T, Garyfallos A, i sur. Prevalence of comorbidities in systemic sclerosis versus rheumatoid arthritis: a comparative, multicenter, matched-cohort study. *Arthritis Res Ther.* 2018;20(1):267.
94. Steen VD, Medsger TA. Changes in causes of death in systemic sclerosis, 1972-2002. *Ann Rheum Dis.* 2007;66(7):940–4.
95. Medsger TA, Silman AJ, Steen VD, Black CM, Akesson A, Bacon PA, i sur. A disease severity scale for systemic sclerosis: development and testing. *J Rheumatol.* 1999;26(10):2159–67.
96. Jaeger VK, Tikly M, Xu D, Siegert E, Hachulla E, Airò P, i sur. Racial differences in systemic sclerosis disease presentation: a European scleroderma trials and research group study. *Rheumatology (Oxford).* 2020;59(7):1684–94.
97. Cavalli S, Lonati PA, Gerosa M, Caporali R, Cimaz R, Chighizola CB. Beyond Systemic lupus erythematosus and anti-phospholipid syndrome: the relevance of complement from pathogenesis to pregnancy outcome in other systemic rheumatologic diseases. *Front Pharmacol.* 2022;13:841785.
98. Sprott H, Müller-Ladner U, Distler O, Gay RE, Barnum SR, Landthaler M, i sur. Detection of activated complement complex C5b-9 and complement receptor C5a in skin biopsies of patients with systemic sclerosis (scleroderma). *J Rheumatol.* 2000;27(2):402–4.

99. Scambi C, Ugolini S, Jokiranta TS, De Franceschi L, Bortolami O, La Verde V, i sur. The local complement activation on vascular bed of patients with systemic sclerosis: a hypothesis-generating study. *PLoS One*. 2015;10(2):e0114856.
100. Batal I, Domsic RT, Shafer A, Medsger TA, Kiss LP, Randhawa P, i sur. Renal biopsy findings predicting outcome in scleroderma renal crisis. *Hum Pathol*. 2009;40(3):332–40.
101. Devresse A, Aydin S, Le Quintrec M, Demoulin N, Stordeur P, Lambert C, i sur. Complement activation and effect of eculizumab in scleroderma renal crisis. *Medicine (Baltimore)*. 2016;95(30):e4459.
102. Okrój M, Johansson M, Saxne T, Blom AM, Hesselstrand R. Analysis of complement biomarkers in systemic sclerosis indicates a distinct pattern in scleroderma renal crisis. *Arthritis Res Ther*. 2016;18(1):267.
103. Foocharoen C, Distler O, Becker M, Müller-Ladner U, von Mühlen C, Leuchten N, i sur. Clinical correlations of hypocomplementaemia in systemic sclerosis: an analysis of the EULAR scleroderma trial and research group (EUSTAR) database. *Scand J Rheumatol*. 2012;41(3):243–6.
104. Cuomo G, Abignano G, Ruocco L, Vettori S, Valentini G. [Hypocomplementemia in systemic sclerosis]. *Reumatismo*. 2008;60(4):268–73.
105. Esposito J, Brown Z, Stevens W, Sahhar J, Rabusa C, Zochling J, i sur. The association of low complement with disease activity in systemic sclerosis: a prospective cohort study. *Arthritis Res Ther*. 2016;18(1):246.
106. Hudson M, Walker JG, Fritzler M, Taillefer S, Baron M. Hypocomplementemia in systemic sclerosis--clinical and serological correlations. *J Rheumatol*. 2007;34(11):2218–23.
107. Valentini G, Della Rossa A, Bombardieri S, Bencivelli W, Silman AJ, D'Angelo S, i sur. European multicentre study to define disease activity criteria for systemic sclerosis. II. Identification of disease activity variables and development of preliminary activity indexes. *Ann Rheum Dis*. 2001;60(6):592–8.
108. Pellicano C, Miglionico M, Romaggioli L, Colalillo A, Vantaggio L, Napodano C, i sur. Increased complement activation in systemic sclerosis patients with skin and lung fibrosis. *J Pers Med*. 2022;12(2):284.

109. de Carvalho SS, Simões e Silva AC, Sabino A de P, Evangelista FCG, Gomes KB, Dusse LMS, i sur. Influence of ACE I/D polymorphism on circulating levels of plasminogen activator inhibitor 1, D-dimer, ultrasensitive C-reactive protein and transforming growth factor β 1 in patients undergoing hemodialysis. *PLoS One*. 2016;11(3):e0150613.
110. Bahramali E, Firouzabadi N, Jonaidi-Jafari N, Shafiei M. Renin-angiotensin system genetic polymorphisms: lack of association with CRP levels in patients with coronary artery disease. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. 2014;15(4):559–65.
111. Tsantes A, Tsangaris I, Kopterides P, Nikolopoulos G, Kalamara E, Antonakos G, i sur. Angiotensin converting enzyme (ACE) insertion/deletion (I/D) polymorphism and circulating ACE levels are not associated with outcome in critically ill septic patients. *Clin Chem Lab Med*. 2011;50(2):293–9.
112. Yamamoto N, Nishida N, Yamamoto R, Gojobori T, Shimotohno K, Mizokami M, i sur. Angiotensin-converting enzyme (ACE) 1 gene polymorphism and phenotypic expression of COVID-19 symptoms. *Genes*. 2021;12(10):1572.
113. Saengsiwaritt W, Jittikoon J, Chaikledkaew U, Udomsinprasert W. Genetic polymorphisms of ACE1, ACE2, and TMPRSS2 associated with COVID-19 severity: a systematic review with meta-analysis. *Rev Med Virol*. 2022;32(4):e2323.
114. Mahmood ZS, Fadhil HY, Abdul Hussein TA, Ad'hiah AH. Severity of coronavirus disease 19: profile of inflammatory markers and ACE (rs4646994) and ACE2 (rs2285666) gene polymorphisms in Iraqi patients. *Meta Gene*. 2022;31:101014.
115. Faridzadeh A, Mahmoudi M, Ghaffarpour S, Zamani MS, Hoseinzadeh A, Naghizadeh MM, i sur. The role of ACE1 I/D and ACE2 polymorphism in the outcome of Iranian COVID-19 patients: a case-control study. *Front Genet*. 2022;13:955965.
116. Almazroea AH, Yousef S, Ahmad SMS, AlHiraky HN, Al-Haidose A, Abdallah AM. The impact of ACE gene variants on acute-phase reactants in children with rheumatic heart disease. *Diagnostics (Basel)*. 2023;13(10):1672.
117. Liao X, Xiao J, Li SH, Xiao LL, Cheng B, Fu XB, i sur. Critical role of the endogenous renin-angiotensin system in maintaining self-renewal and regeneration potential of epidermal stem cells. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2019;1865(10):2647–56.

118. Hedayatyanfard K, Haddadi NS, Ziai SA, Karim H, Niazi F, Steckelings UM, i sur. The renin-angiotensin system in cutaneous hypertrophic scar and keloid formation. *Exp Dermatol.* 2020;29(9):902–9.
119. Aleksiejczuk M, Gromotowicz-Poplawska A, Marcinczyk N, Przyłipiak A, Chabielska E. The expression of the renin-angiotensin-aldosterone system in the skin and its effects on skin physiology and pathophysiology. *J Physiol Pharmacol.* 2019;70(3):325-336.
120. Faghih M, Hosseini SM, Smith B, Ansari AM, Lay F, Ahmed AK, i sur. Knockout of angiotensin AT2 receptors accelerates healing but impairs quality. *Aging (Albany NY).* 2015;7(12):1185–97.
121. Hedayatyanfard K, Khalili A, Karim H, Nooraei S, Khosravi E, Haddadi NS, i sur. Potential use of angiotensin receptor blockers in skin pathologies. *Iran J Basic Med Sci.* 2023;26(7):732–7.
122. Silva IMS, Assersen KB, Willadsen NN, Jepsen J, Artuc M, Steckelings UM. The role of the renin-angiotensin system in skin physiology and pathophysiology. *Exp Dermatol.* 2020;29(9):891–901.
123. Maranduca MA, Cosovanu MA, Clim A, Pinzariu AC, Filip N, Drochioi IC, i sur. The renin-angiotensin system: the challenge behind autoimmune dermatological diseases. *Diagnostics (Basel).* 2023;13(22):3398.
124. Tan WQ, Fang QQ, Shen XZ, Giani JF, Zhao TV, Shi P, i sur. Angiotensin-converting enzyme inhibitor works as a scar formation inhibitor by down-regulating Smad and TGF- β -activated kinase 1 (TAK1) pathways in mice. *Br J Pharmacol.* 2018;175(22):4239–52.
125. Fang QQ, Wang XF, Zhao WY, Ding SL, Shi BH, Xia Y, i sur. Angiotensin-converting enzyme inhibitor reduces scar formation by inhibiting both canonical and noncanonical TGF- β 1 pathways. *Sci Rep.* 2018;8(1):3332.
126. Greif T, Alsawas M, Reid AT, Liu V, Prokop L, Murad MH, i sur. Targeting the angiotensin pathway in the treatment of cutaneous fibrosis: a systematic review. *JID Innov.* 2023;3(6):100231.
127. Ihn H, Yamane K, Kubo M, Tamaki K. Blockade of endogenous transforming growth factor beta signaling prevents up-regulated collagen synthesis in scleroderma fibroblasts: association with increased expression of transforming growth factor beta receptors. *Arthritis Rheum.* 2001;44(2):474–80.
128. Derk CT. Transforming growth factor-beta (TGF-beta) and its role in the pathogenesis of systemic sclerosis: a novel target for therapy? *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov.* 2007;1(2):142–5.

129. Chang YC, Wu WM, Chen CH, Lee SH, Hong HS, Hsu LA. Association between the insertion/deletion polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene and risk for psoriasis in a Chinese population in Taiwan. *Br J Dermatol.* 2007;156(4):642–5.
130. Elnem AIA, Al-Dhubaibi MS, Alrheam AIAA. Angiotensin-converting enzyme (ACE) D allele as a risk factor for increase serum interleukin-6 and interleukin-8 in psoriasis patients. *Open Access Maced J Med Sci.* 2018;6(5):772–6.
131. Ramezani M, Zavattaro E, Sadeghi M. Angiotensin-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism and susceptibility to psoriasis: a systematic review and meta-analysis. *BMC Med Genet.* 2020;21(1):8.
132. Wolf R, Tamir A, Brenner S. Psoriasis related to angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Dermatologica.* 1990;181(1):51–3.
133. Liu T, Han Y, Lu L. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphisms and the risk of psoriasis: a meta-analysis. *Clin Exp Dermatol.* 2013;38(4):352–8.
134. Song GG, Bae SC, Kim JH, Lee YH. The angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism and susceptibility to rheumatoid arthritis, vitiligo and psoriasis: A meta-analysis. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2015;16(1):195–202.
135. Rosato E, Gigante A, Barbano B, Cianci R, Molinaro I, Pisarri S, i sur. In systemic sclerosis macrovascular damage of hands digital arteries correlates with microvascular damage. *Microvasc Res.* 2011;82(3):410–5.
136. Schioppo T, Orenti A, Boracchi P, De Lucia O, Murgio A, Ingegnoli F. Evidence of macro- and micro-angiopathy in scleroderma: an integrated approach combining 22-MHz power doppler ultrasonography and video-capillaroscopy. *Microvasc Res.* 2019;122:125–30.
137. Soulaïdopoulos S, Pagkopoulou E, Katsiki N, Triantafyllidou E, Karagiannis A, Garyfallos A, i sur. Arterial stiffness correlates with progressive nailfold capillary microscopic changes in systemic sclerosis: results from a cross-sectional study. *Arthritis Res Ther.* 2019;21(1):253.
138. Bieber A, Dolnikov K, Chizik V, Novofastovsky I, Fawaz A, Balbir-Gurman A, i sur. Microangiopathy and forearm arterial blood flow in systemic sclerosis: a controlled study. *Clin Rheumatol.* 2020;39(9):2671–6.

139. Gerasimova EV, Shayakhmetova RU, Gerasimova DA, Popkova TV, Ananyeva LP. Systemic sclerosis and atherosclerosis: potential cellular biomarkers and mechanisms. *Front Biosci (Schol Ed)*. 2023;15(4):16.
140. Hsieh MC, Chen HH, Chou TY, Su TW, Lin CL, Kao CH. Association between systemic sclerosis and peripheral arterial disease: a nationwide observation retrospective claim records cohort study in Taiwan. *BMJ Open*. 2021;11(9):e048149.
141. Au K, Singh MK, Bodukam V, Bae S, Maranian P, Ogawa R, i sur. Atherosclerosis in systemic sclerosis: a systematic review and meta-analysis. *Arthritis Rheum*. 2011;63(7):2078–90.
142. Zeng Y, Li M, Xu D, Hou Y, Wang Q, Fang Q, i sur. Macrovascular involvement in systemic sclerosis: evidence of correlation with disease activity. *Clin Exp Rheumatol*. 2012;30(2 Suppl 71):S76-80.
143. Woo J, Tang NLS, Leung J, Kwok T. The Alu polymorphism of angiotensin I converting enzyme (ACE) and atherosclerosis, incident chronic diseases and mortality in an elderly Chinese population. *J Nutr Health Aging*. 2012;16(3):262–8.
144. Tseng CH, Tseng FH, Chong CK, Tseng CP, Cheng JC. Angiotensin-converting enzyme genotype and peripheral arterial disease in diabetic patients. *Exp Diabetes Res*. 2012;2012:698695.
145. Fatini C, Sticchi E, Sofi F, Said AA, Pratesi G, Pulli R, i sur. Multilocus analysis in candidate genes ACE, AGT, and AGTR1 and predisposition to peripheral arterial disease: role of ACE D/-240T haplotype. *J Vasc Surg*. 2009;50(6):1399–404.
146. Renner W, Pabst E, Paulweber B, Malaimare L, Iglseider B, Wascher TC, i sur. The angiotensin-converting-enzyme insertion/deletion polymorphism is not a risk factor for peripheral arterial disease. *Atherosclerosis*. 2002;165(1):175-8.
147. Karagiannis A, Balaska K, Tziomalos K, Gerasimidis T, Karamanos D, Papayeoryiou A, i sur. Lack of an association between angiotensin converting enzyme gene polymorphism and peripheral arterial occlusive disease. *Vasc Med*. 2004;9(3):189–92.
148. Junusbekov Y, Bayoglu B, Cengiz M, Dirican A, Arslan C. AGT rs699 and AGTR1 rs5186 gene variants are associated with cardiovascular-related phenotypes in atherosclerotic peripheral arterial obstructive disease. *Ir J Med Sci*. 2020;189(3):885–94.

149. Han C, Han X, Liu F, Huang J. Ethnic differences in the association between angiotensin-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism and peripheral vascular disease: a meta-analysis. *Chronic Dis Transl Med.* 2017;3(4):230–41.
150. Xia MM, Wang M, Jiang H, Liu Y, Ma L, Lu C, i sur. Association of Angiotensin-Converting Enzyme Insertion/Deletion Polymorphism with the Risk of Atherosclerosis. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2019;28(6):1732–43.
151. Wan MC, Moore T, Hollis S, Herrick AL. Ankle brachial pressure index in systemic sclerosis: influence of disease subtype and anticentromere antibody. *Rheumatology (Oxford).* 2001;40(10):1102–5.
152. Ho M, Veale D, Eastmond C, Nuki G, Belch J. Macrovascular disease and systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis.* 2000;59(1):39–43.
153. Dachun Xu null, Jue Li null, Liling Zou null, Yawei Xu null, Dayi Hu null, Pagoto SL, i sur. Sensitivity and specificity of the ankle--brachial index to diagnose peripheral artery disease: a structured review. *Vasc Med.* 2010;15(5):361–9.
154. Timár O, Soltész P, Szamosi S, Dér H, Szántó S, Szekanecz Z, i sur. Increased arterial stiffness as the marker of vascular involvement in systemic sclerosis. *J Rheumatol.* 2008;35(7):1329–33.
155. Ngian GS, Sahhar J, Wicks IP, Van Doornum S. Arterial stiffness is increased in systemic sclerosis: a cross-sectional comparison with matched controls. *Clin Exp Rheumatol.* 2014;32(6 Suppl 86):S161-166.
156. Aerden D, Massaad D, von Kemp K, van Tussenbroek F, Debing E, Keymeulen B, i sur. The ankle--brachial index and the diabetic foot: a troublesome marriage. *Ann Vasc Surg.* 2011;25(6):770–7.
157. Cassius C, Seta V, Monfort JB, Baudot NA, Rivière S, Mekinian A, i sur. Systemic sclerosis is associated with lower limb vascular stiffness and microvascular impairment: results from a prospective study. *Clin Rheumatol.* 2021;40(9):3679–86.
158. Høyer C, Sandermann J, Petersen LJ. The toe-brachial index in the diagnosis of peripheral arterial disease. *J Vasc Surg.* 2013;58(1):231–8.
159. Muro Y, Sugiura K, Morita Y, Tomita Y. An evaluation of the efficacy of the toe brachial index measuring vascular involvement in systemic sclerosis and other connective tissue diseases. *Clin Exp Rheumatol.* 2009;27(3 Suppl 54):26–31.

160. Wig S, Wilkinson J, Moore T, Manning J, Chevance A, Vail A, i sur. A longitudinal study of ankle brachial pressure indices in a cohort of patients with systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)*. 2014;53(11):2009–13.
161. Selvin E, Erlinger TP. Prevalence of and risk factors for peripheral arterial disease in the United States: results from the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999-2000. *Circulation*. 2004;110(6):738–43.
162. Hashimoto T, Satoh T, Yokozeki H. Toe gangrene associated with macroangiopathy in systemic sclerosis: a case series on the unreliability of the ankle-brachial pressure index. *Acta Derm Venereol*. 2018;98(5):532–3.
163. Wu Y, Lu X, Li M, Zeng J, Zeng J, Shen B, i sur. Renin-angiotensin system in osteoarthritis: a new potential therapy. *Int Immunopharmacol*. 2019;75:105796.
164. Wu Y, Li M, Zeng J, Feng Z, Yang J, Shen B, i sur. Differential expression of renin-angiotensin system-related components in patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Am J Med Sci*. 2020;359(1):17–26.
165. Bayram B, Sayın E, Güneş HV, Değirmenci I, Türkoğlu Z, Doganer F, i sur. DD genotype of ace gene I/D polymorphism is associated in a Turkish study population with osteoarthritis. *Mol Biol Rep*. 2011;38(3):1713–6.
166. Inanir A, Yigit S, Tural S, Cecen O, Yildirim E. MTHFR gene C677T mutation and ACE gene I/D polymorphism in Turkish patients with osteoarthritis. *Dis Markers*. 2013;34(1):17–22.
167. Poornima S, Subramanyam K, Khan IA, Hasan Q. The insertion and deletion (I28005D) polymorphism of the angiotensin I converting enzyme gene is a risk factor for osteoarthritis in an Asian Indian population. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. 2015;16(4):1281–7.
168. Chen G, Hu S, Lai Z, Qiu B. Association between ACE gene I/D polymorphism and knee osteoarthritis in a Chinese population. *Biosci Rep*. 2019;39(2):BSR20181713.
169. Hong SJ, Yang HI, Yoo MC, In CS, Yim SV, Jin SY, i sur. Angiotensin converting enzyme gene polymorphism in Korean patients with primary knee osteoarthritis. *Exp Mol Med*. 2003;35(3):189–95.
170. Shehab DK, Al-Jarallah KF, Alawadhi AM, Al-Herz A, Nahar I, Haider MZ. Prevalence of angiotensin-converting enzyme gene insertion-deletion polymorphism in patients with primary knee osteoarthritis. *Clin Exp Rheumatol*. 2008;26(2):305–10.

171. Al-Awadhi AM, Hasan EA, Sharma PN, Haider MZ, Al-Saeid K. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism in patients with psoriatic arthritis. *Rheumatol Int.* 2007;27(12):1119–23.
172. Coto-Segura P, Alvarez V, Soto-Sánchez J, Morales B, Coto E, Santos-Juanes J. Lack of association between angiotensin I-converting enzyme insertion/deletion polymorphism and psoriasis or psoriatic arthritis in Spain. *Int J Dermatol.* 2009;48(12):1320–3.
173. Shehab DK, Al-Jarallah KF, Al-Awadhi AM, Al-Herz A, Nahar I, Haider MZ. Association of angiotensin-converting enzyme (ACE) gene insertion-deletion polymorphism with spondylarthropathies. *J Biomed Sci.* 2008;15(1):61–7.
174. Inanır A, Yigit S, Tural S, Ozturk SD, Akkanet S, Habiboğlu A. Significant association between insertion/deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene and ankylosing spondylitis. *Mol Vis.* 2012;18:2107–13.
175. İnal EE, Görükmez O, Eroğlu S, Görükmez Ö, Solak Ö, Topak A, i sur. Association of GSTM1, GSTT1, GSTP1-ILE105VAL and ACE I/D polymorphisms with ankylosing spondylitis. *Rheumatol Int.* 2016;36(1):17–23.
176. Cobankara V, Oztürk MA, Kiraz S, Ertenli I, Haznedaroglu IC, Pay S, i sur. Renin and angiotensin-converting enzyme (ACE) as active components of the local synovial renin-angiotensin system in rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int.* 2005;25(4):285–91.
177. Veale D, Yanni G, Bresnihan B, FitzGerald O. Production of angiotensin converting enzyme by rheumatoid synovial membrane. *Ann Rheum Dis.* 1992;51(4):476–80.
178. Walsh DA, Catravas J, Wharton J. Angiotensin converting enzyme in human synovium: increased stromal [(125)I]351A binding in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2000;59(2):125–31.
179. Uppal SS, Haider MZ, Hayat SJ, Abraham M, Sukumaran J, Dhaunsi GS. Significant association of insertion/deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 2007;34(12):2395–9.
180. Yigit S, Inanir A, Tural S, Ates O. Association of angiotensin converting enzyme (ACE) gene I/D polymorphism and rheumatoid arthritis. *Gene.* 2012;511(1):106–8.
181. Elshazli RM, Elsaid AM, Shawky DM, Barakat LAA. Genetic polymorphisms of ACE I/D, IL-1 β G > A and IL-4 VNTR among Egyptian subjects with rheumatoid arthritis. *Arch Physiol Biochem.* 2022;128(3):576–85.

182. Ahmed AZ, El-Shahaly HA, Omar AS, Ghattas MH. Patterns of angiotensin converting enzyme insertion/deletion gene polymorphism among an Egyptian cohort of patients with rheumatoid arthritis. *Int J Rheum Dis*. 2013;16(3):284–90.
183. Malendowicz SL, Ennezat PV, Testa M, Murray L, Sonnenblick EH, Evans T, i sur. Angiotensin II receptor subtypes in the skeletal muscle vasculature of patients with severe congestive heart failure. *Circulation*. 2000;102(18):2210–3.
184. Kayashima Y, Smithies O, Kakoki M. Kinins - the kallikrein-kinin system and oxidative stress. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2012;21(1):92–6.
185. Koh TJ, Tidball JG. Nitric oxide synthase inhibitors reduce sarcomere addition in rat skeletal muscle. *J Physiol*. 1999;519 (Pt 1):189–96.
186. Wang MX, Murrell DF, Szabo C, Warren RF, Sarris M, Murrell GA. Nitric oxide in skeletal muscle: inhibition of nitric oxide synthase inhibits walking speed in rats. *Nitric Oxide*. 2001;5(3):219–32.
187. Brink M, Price SR, Chrast J, Bailey JL, Anwar A, Mitch WE, i sur. Angiotensin II induces skeletal muscle wasting through enhanced protein degradation and down-regulates autocrine insulin-like growth factor I. *Endocrinology*. 2001;142(4):1489–96.
188. Pratt J, Boreham C, Ennis S, Ryan AW, De Vito G. Genetic associations with aging muscle: a systematic review. *Cells*. 2019;9(1):12.
189. Jeng C, Zhao LJ, Wu K, Zhou Y, Chen T, Deng HW. Race and socioeconomic effect on sarcopenia and sarcopenic obesity in the Louisiana Osteoporosis Study (LOS). *JCSM Clin Rep*. 2018;3(2):e00027.
190. Al-Hinai AT, Hassan MO, Simsek M, Al-Barwani H, Bayoumi R. Genotypes and allele frequencies of angiotensin converting enzyme (ACE) insertion/deletion polymorphism among Omanis. *J Sci Res Med Sci*. 2002;4(1–2):25–7.
191. da Silva JRD, Freire IV, Ribeiro ÍJS, Dos Santos CS, Casotti CA, Dos Santos DB, i sur. Improving the comprehension of sarcopenic state determinants: an multivariate approach involving hormonal, nutritional, lifestyle and genetic variables. *Mech Ageing Dev*. 2018;173:21–8.
192. Romero Blanco C, Artiga González MJ, Cabanillas Cruz E, Casajús Mallén JA, Ara Royo I, Aznar Laín S. [Sarcopenic obesity in elderly women: influence of I/D polymorphism of the angiotension converter enzyme]. *Nutr Hosp*. 2017;34(5):1099–104.

193. Handayani MDN, Sadewa AH, Farmawati A, Rochmah W. Deletion polymorphism of angiotensin-converting enzyme gene is associated with low muscle mass in elderly people in Jakarta, Indonesia. *Kobe J Med Sci.* 2018;64(3):E119–25.
194. Sumukadas D, Struthers AD, McMurdo MET. Sarcopenia - a potential target for angiotensin-converting enzyme inhibition? *Gerontology.* 2006;52(4):237–42.
195. Rossios C, Bashir T, Achison M, Adamson S, Akpan A, Aspray T, i sur. ACE I/D genotype associates with strength in sarcopenic men but not with response to ACE inhibitor therapy in older adults with sarcopenia: results from the LACE trial. *PLoS One.* 2023;18(10):e0292402.
196. Garatachea N, Fiuza-Luces C, Torres-Luque G, Yvert T, Santiago C, Gómez-Gallego F, i sur. Single and combined influence of ACE and ACTN3 genotypes on muscle phenotypes in octogenarians. *Eur J Appl Physiol.* 2012;112(7):2409–20.
197. Bustamante-Ara N, Santiago C, Verde Z, Yvert T, Gómez-Gallego F, Rodríguez-Romo G, i sur. ACE and ACTN3 genes and muscle phenotypes in nonagenarians. *Int J Sports Med.* 2010;31(4):221–4.
198. Shinjo SK, Uno M, Oba-Shinjo SM, Marie SKN. Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion gene polymorphism is associated with dermatomyositis. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2015;16(3):666–71.
199. Bueno V, Frasca D. Mini-review: Angiotensin-converting enzyme 1 (ACE1) and the impact for diseases such as Alzheimer's disease, sarcopenia, cancer, and COVID-19. *Front Aging.* 2023;4:1117502.
200. Tagliafico AS, Bignotti B, Torri L, Rossi F. Sarcopenia: how to measure, when and why. *Radiol Med.* 2022;127(3):228–37.
201. Malik A, Saha S, Morya RK, Bhadada SK, Singh PK, Rana SV. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism influences gastrointestinal motility in type 2 diabetes mellitus. *Biochem Genet.* 2021;59(1):335–45.
202. Lecci A, Altamura M, Capriati A, Maggi CA. Tachykinin receptors and gastrointestinal motility: focus on humans. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2008;12 Suppl 1:69–80.
203. Hausteil UF, Weber B, Seikowski K. [Substance P and vasoactive intestinal peptide in patients with progressive scleroderma. Determination of plasma level before and after autogenic training]. *Hautarzt.* 1995;46(2):102–6.

204. Saibeni S, Spina L, Virgilio T, Folcioni A, Borsi G, de Franchis R, i sur. Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion gene polymorphism in inflammatory bowel diseases. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2007;19(11):976–81.
205. Schena FP, D'Altri C, Cerullo G, Manno C, Gesualdo L. ACE gene polymorphism and IgA nephropathy: an ethnically homogeneous study and a meta-analysis. *Kidney Int.* 2001;60(2):732–40.
206. Wiwanitkit V. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism is correlated to the progression of disease in patients with IgA nephropathy: a meta-analysis. *Ren Fail.* 2006;28(8):697–9.
207. Yong D, Qing WQ, Hua L, Kan JJ, Xi CJ, Jin QQ, i sur. Association of angiotensin I-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism and IgA nephropathy: a meta-analysis. *Am J Nephrol.* 2006;26(5):511–8.
208. Qin YH, Zhou TB, Su LN, Lei FY, Huang WF, Zhao YJ. Association between ACE polymorphism and risk of IgA nephropathy: a meta-analysis. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2011;12(3):215–23.
209. Zhou TB, Yin SS, Liang R. A meta-analysis of the association between angiotensin-converting enzyme insertion/deletion gene polymorphism and end-stage renal disease risk in IgA nephropathy patients. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2013;14(3):235–41.
210. Hui G, Cheng Z, Ran H, Ziwei W, Fang D. A pooled study of angiotensin-converting enzyme insertion/deletion gene polymorphism in relation to risk, pathology and prognosis of childhood immunoglobulin A vasculitis nephritis. *Biochem Genet.* 2021;59(1):202–18.
211. Chu FF, Yang SK, Zeng WL. The influence of ACE insertion/deletion gene polymorphism on the risk of IgA nephropathy: a debatable topic. *Genet Res (Camb).* 2021;2021:3112123.
212. Zhou TB, Qin YH, Su LN, Lei FY, Huang WF, Zhao YJ, i sur. The association between angiotensin-converting enzyme insertion/deletion gene variant and risk of focal segmental glomerulosclerosis: a systematic review and meta-analysis. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2011;12(4):624–33.
213. Lee YH, Choi SJ, Ji JD, Song GG. Association between the angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism and susceptibility to systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2013;14(3):248–54.

214. Zhou TB, Liu YG, Lin N, Qin YH, Huang K, Shao MB, i sur. Relationship between angiotensin-converting enzyme insertion/deletion gene polymorphism and systemic lupus erythematosus/lupus nephritis: a systematic review and metaanalysis. *J Rheumatol*. 2012;39(4):686–93.
215. Huang AF, Li H, Ke L, Yang C, Liu XY, Yang ZC, i sur. Association of angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism with susceptibility to systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. *Int J Rheum Dis*. 2018;21(2):447–57.
216. Liu M, Yi J, Tang W. Association between angiotensin converting enzyme gene polymorphism and essential hypertension: a systematic review and meta-analysis. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. 2021;22(1):147032032199507.
217. Mengesha HG, Petrucka P, Spence C, Tafesse TB. Effects of angiotensin converting enzyme gene polymorphism on hypertension in Africa: a meta-analysis and systematic review. *Devaney J, urednik. PLoS One*. 2019;14(2):e0211054.
218. Ng DPK, Tai BC, Koh D, Tan KW, Chia KS. Angiotensin-I converting enzyme insertion/deletion polymorphism and its association with diabetic nephropathy: a meta-analysis of studies reported between 1994 and 2004 and comprising 14,727 subjects. *Diabetologia*. 2005;48(5):1008–16.
219. Smyth LJ, Cañadas-Garre M, Cappa RC, Maxwell AP, McKnight AJ. Genetic associations between genes in the renin-angiotensin-aldosterone system and renal disease: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*. 2019;9(4):e026777.
220. Yu ZY, Chen LS, Zhang LC, Zhou TB. Meta-analysis of the relationship between ACE I/D gene polymorphism and end-stage renal disease in patients with diabetic nephropathy. *Nephrology (Carlton)*. 2012;17(5):480–7.
221. Pereira TV, Nunes ACF, Rudnicki M, Magistrini R, Albertazzi A, Pereira AC, i sur. Influence of ACE I/D gene polymorphism in the progression of renal failure in autosomal dominant polycystic kidney disease: a meta-analysis. *Nephrol Dial Transplant*. 2006;21(11):3155–63.
222. Zhou TB, Yin SS, Qin YH. Association between angiotensin-converting enzyme insertion/deletion gene polymorphism and end-stage renal disease susceptibility. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. 2014;15(1):22–31.
223. Bütikofer L, Varisco PA, Distler O, Kowal-Bielecka O, Allanore Y, Riemekasten G, i sur. ACE inhibitors in SSc patients display a risk factor for scleroderma renal crisis-a EUSTAR analysis. *Arthritis Res Ther*. 2020;22(1):59.

224. Psarras A, Soulaïdopoulos S, Garyfallos A, Kitas G, Dimitroulas T. A critical view on cardiovascular risk in systemic sclerosis. *Rheumatol Int.* 2017;37(1):85–95.
225. Nordin A, Jensen-Urstad K, Björnådal L, Pettersson S, Larsson A, Svenungsson E. Ischemic arterial events and atherosclerosis in patients with systemic sclerosis: a population-based case-control study. *Arthritis Res Ther.* 2013;15(4):R87.
226. Tran DC, Le LHG, Thai TT, Hoang SV, Do MD, Truong BQ. Association between ACE I/D genetic polymorphism and the severity of coronary artery disease in Vietnamese patients with acute myocardial infarction. *Front Cardiovasc Med.* 2023;10:1091612.
227. Tran DC, Do MD, Le LHG, Thai TT, Hoang SV, Truong BQ. Predictive value of ACE I/D genetic polymorphism for 12-month all-cause mortality in patients with acute myocardial infarction. *Medicine (Baltimore).* 2023;102(35):e34976.
228. Vladeanu MC, Bojan IB, Bojan A, Iliescu D, Badescu MC, Badulescu OV, i sur. Angiotensin-converting enzyme gene D-allele and the severity of coronary artery disease. *Exp Ther Med.* 2020;20(4):3407–11.
229. Amara A, Mrad M, Sayeh A, Lahideb D, Layouni S, Haggui A, i sur. The effect of ACE I/D polymorphisms alone and with concomitant risk factors on coronary artery disease. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2018;24(1):157–63.
230. Fatini C, Abbate R, Pepe G, Battaglini B, Gensini F, Ruggiano G, i sur. Searching for a better assessment of the individual coronary risk profile. The role of angiotensin-converting enzyme, angiotensin II type 1 receptor and angiotensinogen gene polymorphisms. *Eur Heart J.* 2000;21(8):633–8.
231. Poorzand H, Fazeli B, Khajavi O, Gholoobi A, Keihanian F, Morovatdar N. Association of polymorphisms of renin angiotensin system and endothelial nitric oxide synthase genes with premature cardiovascular disease in an Iranian population. *BMC Cardiovasc Disord.* 2023;23(1):254.
232. Yen TH, Chen YW, Hsieh TY, Chen YM, Huang WN, Chen YH, i sur. The risk of major adverse cardiovascular events in patients with systemic sclerosis: a nationwide, population-based cohort study. *Rheumatology (Oxford).* 2024;63(8):2074-2081.

233. Moorthy N, Saligrama Ramegowda K, Jain S, Bharath G, Sinha A, Nanjappa MC, i sur. Role of angiotensin-converting enzyme (ACE) gene polymorphism and ACE activity in predicting outcome after acute myocardial infarction. *Int J Cardiol Heart Vasc.* 2021;32:100701.
234. Liu A, Wang S, Zhang C, Sun D, Song X. Role of angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism in sudden cardiac arrest. *J Cell Biochem.* 2019;120(3):3474–8.
235. Bhatti GK, Bhatti JS, Vijayvergiya R, Singh B. Implications of ACE (I/D) gene variants to the genetic susceptibility of coronary artery disease in Asian Indians. *Indian J Clin Biochem.* 2017;32(2):163–70.
236. Baruah S, Chaliha MS, Borah PK, Rajkakati R, Borua PK, Mahanta J. Insertion/insertion genotype of angiotensin I-converting-enzyme gene predicts risk of myocardial infarction in North East India. *Biochem Genet.* 2016;54(2):134–46.
237. Žaliaduonytė-Pekšienė D, Lesauskaitė V, Liutkevičienė R, Tamakauskas V, Kviesulaitis V, Šinkūnaitė-Maršalkienė G, i sur. Association of the genetic and traditional risk factors of ischaemic heart disease with STEMI and NSTEMI development. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2017;18(4):1470320317739987.
238. Briongos-Figuero LS, Cuadrado-Medina F, Abad-Manteca L, Vega-Tejedor G, Pineda-Alonso M, Pérez-Castrillón JL. Relationship among angiotensin-converting enzyme polymorphism, cardiovascular risk, and osteoporotic fractures. *Eur J Rheumatol.* 2016;3(1):10–2.
239. Samani NJ, Thompson JR, O’Toole L, Channer K, Woods KL. A meta-analysis of the association of the deletion allele of the angiotensin-converting enzyme gene with myocardial infarction. *Circulation.* 1996;94(4):708–12.
240. You FJ, Shen DM. Association between angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphisms and the risk of heart disease: an updated meta-analysis. *Genet Mol Res.* 2016;15(1):15017194.
241. Agerholm-Larsen B, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A. ACE gene polymorphism in cardiovascular disease: meta-analyses of small and large studies in whites. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000;20(2):484–92.
242. Fajar JK, Pikir BS, Sidarta EP, Berlinda Saka PN, Akbar RR, Heriansyah T. The gene polymorphism of angiotensin-converting enzyme intron deletion and angiotensin-converting

- enzyme G2350A in patients with left ventricular hypertrophy: a meta-analysis. *Indian Heart J.* 2019;71(3):199–206.
243. Rani B, Kumar A, Bahl A, Sharma R, Prasad R, Khullar M. Renin-angiotensin system gene polymorphisms as potential modifiers of hypertrophic and dilated cardiomyopathy phenotypes. *Mol Cell Biochem.* 2017;427(1–2):1–11.
244. Yang J, Zhao Y, Hao P, Meng X, Dong M, Wang Y, i sur. Impact of angiotensin I converting enzyme insertion/deletion polymorphisms on dilated cardiomyopathy and hypertrophic cardiomyopathy risk. *PLoS One.* 2013;8(5):e63309.
245. Yuan Y, Meng L, Zhou Y, Lu N. Genetic polymorphism of angiotensin-converting enzyme and hypertrophic cardiomyopathy risk: a systematic review and meta-analysis. *Medicine.* 2017;96(48):e8639.
246. Jia X, Meng L, Tang W, Sun L, Peng F, Zhang P. Impact of the gene polymorphisms in the renin-angiotensin system on cardiomyopathy risk: a meta-analysis. *PLoS One.* 2024;19(1):e0295626.
247. Voronkov LH, Horovenko NH, Mazur ID, Liashenko AV. [I/D angiotensin-converting enzyme gene polymorphism: structural changes in the myocardium and predictive value in chronic heart failure]. *Lik Sprava.* 2012;(8):36–42.
248. Gorący I, Gorący A, Kaczmarczyk M, Rosik J, Lewandowska K, Ciechanowicz A. The genetic variants in the renin-angiotensin system and the risk of heart failure in Polish patients. *Genes (Basel).* 2022;13(7):1257.
249. Duque GS, Silva DA da, Albuquerque FN de, Schneider RS, Gimenez A, Pozzan R, i sur. Influence of angiotensin-converting-enzyme gene polymorphism on echocardiographic data of patients with ischemic heart failure. *Arq Bras Cardiol.* 2016;107(5):446–54.
250. Bahramali E, Rajabi M, Jamshidi J, Mousavi SM, Zarghami M, Manafi A, i sur. Association of ACE gene D polymorphism with left ventricular hypertrophy in patients with diastolic heart failure: a case-control study. *BMJ Open.* 2016;6(2):e010282.
251. Wu CK, Lee JK, Chiang FT, Lin LY, Lin JW, Hwang JJ, i sur. Prognostic factors of heart failure with preserved ejection fraction: a 12-year prospective cohort follow-up study. *Int J Cardiol.* 2014;171(3):331–7.
252. Bai Y, Wang L, Hu S, Wei Y. Association of angiotensin-converting enzyme I/D polymorphism with heart failure: a meta-analysis. *Mol Cell Biochem.* 2012;361(1–2):297–304.

253. Tawfeeq RD, Ismael AT, Alwan MH. Correlation between the insertion-deletion variant of the angiotensin-converting enzyme gene and various classes of heart failure. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. 2023;69(13):149–55.
254. Novo G, Guttilla D, Fazio G, Cooper D, Novo S. The role of the renin–angiotensin system in atrial fibrillation and the therapeutic effects of ACE-Is and ARBS. *Br J Clin Pharmacol*. 2008;66(3):345–51.
255. Yamashita T, Hayami N, Ajiki K, Oikawa N, Sezaki K, Inoue M, i sur. Is ACE gene polymorphism associated with lone atrial fibrillation? *Jpn Heart J*. 1997;38(5):637–41.
256. Xiao P, Ling Z, Woo K, Du H, Su L, Liu Z, i sur. Renin-angiotensin system–related gene polymorphisms are associated with risk of atrial fibrillation. *Am Heart J*. 2010;160(3):496–505.
257. Liu T, Korantzopoulos P, Xu G, Shehata M, Li D, Wang X, i sur. Association between angiotensin-converting enzyme insertion/deletion gene polymorphism and atrial fibrillation: a meta-analysis. *Europace*. 2011;13(3):346–54.
258. Ma R, Li X, Su G, Hong Y, Wu X, Wang J, i sur. Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion gene polymorphisms associated with risk of atrial fibrillation: a meta-analysis of 23 case-control studies. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. 2015;16(4):793–800.
259. Takezako T, Zhang B, Serikawa T, Fan P, Nomoto J, Saku K. The D allele of the angiotensin-converting enzyme gene and reperfusion-induced ventricular arrhythmias in patients with acute myocardial infarction. *Jpn Circ J*. 2001;65(7):603–9.
260. Lin TH, Chiu HC, Su HM, Juo SHH, Lee YT, Voon WC, i sur. D-allele of ACE polymorphism is associated with increased magnitude of QT dispersion prolongation in elderly Chinese: 4-year follow-up study. *Circ J*. 2007;71(1):39–45.
261. Woods DR, Brull D, Montgomery H. Increased QT dispersion with the D-allele of the ACE polymorphism. *Eur Heart J*. 2001;22(8):618–21.
262. Kanazawa H, Okamoto T, Hirata K, Yoshikawa J. Deletion polymorphisms in the angiotensin converting enzyme gene are associated with pulmonary hypertension evoked by exercise challenge in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000;162(4 Pt 1):1235–8.

263. Tkáčová R, Joppa P, Stancák B, Salagovic J, Misíková S, Kalina I. The link between angiotensin-converting enzyme genotype and pulmonary artery pressure in patients with COPD. *Wien Klin Wochenschr.* 2005;117(5–6):210–4.
264. Tanabe N, Amano S, Tatsumi K, Kominami S, Igarashi N, Shimura R, i sur. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphisms and prognosis in chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Circ J.* 2006;70(9):1174–9.
265. Yildiz P, Oflaz H, Cine N, Erginel-Unaltuna N, Erzenin F, Yilmaz V. Gene polymorphisms of endothelial nitric oxide synthase enzyme associated with pulmonary hypertension in patients with COPD. *Respir Med.* 2003;97(12):1282–8.
266. Shaw JG, Dent AG, Passmore LH, Burstow DJ, Bowman RV, Zimmerman PV, i sur. Genetic influences on right ventricular systolic pressure (RVSP) in chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *BMC Pulm Med.* 2012;12(1):25.
267. Ulasli SS, Eyuboglu FO, Verdi H, Atac FB. Associations between endothelial nitric oxide synthase A/B, angiotensin converting enzyme I/D and serotonin transporter L/S gene polymorphisms with pulmonary hypertension in COPD patients. *Mol Biol Rep.* 2013;40(10):5625–33.
268. Aldashev AA, Sarybaev AS, Sydykov AS, Kalmyrzaev BB, Kim EV, Mamanova LB, i sur. Characterization of high-altitude pulmonary hypertension in the Kyrgyz: association with angiotensin-converting enzyme genotype. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;166(10):1396–402.
269. Ma Y, Tong X, Liu Y, Liu S, Xiong H, Fan H. ACE gene polymorphism is associated with COPD and COPD with pulmonary hypertension: a meta-analysis. *COPD.* 2018;Vol13:2435–46.
270. Abraham WT, Raynolds MV, Badesch DB, Wynne KM, Groves BM, Roden RL, i sur. Angiotensin-converting enzyme DD genotype in patients with primary pulmonary hypertension: increased frequency and association with preserved haemodynamics. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2003;4(1):27–30.
271. Solari V, Puri P. Genetic polymorphisms of angiotensin system genes in congenital diaphragmatic hernia associated with persistent pulmonary hypertension. *J Pediatr Surg.* 2004;39(3):302–6.
272. De Jesus LC, Kazzi SNJ, Dahmer MK, Chen X, Quasney MW. Role of angiotensin-converting enzyme gene polymorphism in persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Acta Paediatr.* 2011;100(10):1326–30.

273. Jaafar NI, Vasudevan R, Ismail P, Abdul Aziz AF, Mohamad NA, Kandavello G, i sur. Analysis of angiotensin converting enzyme, endothelial nitric oxide synthase & serotonin gene polymorphisms among atrial septal defect subjects with and without pulmonary arterial hypertension. *J Cardiovasc Dev Dis*. 2018;5(3):48.
274. Ferri C, Giuggioli D, Sebastiani M, Colaci M, Emdin M. Heart involvement and systemic sclerosis. *Lupus*. 2005;14(9):702–7.
275. Caldwell PR, Seegal BC, Hsu KC, Das M, Soffer RL. Angiotensin-converting enzyme: vascular endothelial localization. *Science*. 1976;191(4231):1050–1.
276. Ryan JW, Ryan US, Schultz DR, Whitaker C, Chung A. Subcellular localization of pulmonary antiotensin-converting enzyme (kininase II). *Biochem J*. 1975;146(2):497–9.
277. Das M, Soffer RL. Pulmonary angiotensin-converting enzyme. Structural and catalytic properties. *J Biol Chem*. 1975;250(17):6762–8.
278. Pignone A, Scaletti C, Matucci-Cerinic M, Vázquez-Abad D, Meroni PL, Del Papa N, i sur. Anti-endothelial cell antibodies in systemic sclerosis: significant association with vascular involvement and alveolo-capillary impairment. *Clin Exp Rheumatol*. 1998;16(5):527–32.
279. Salojin KV, Le Tonquèze M, Saraux A, Nassonov EL, Dueymes M, Piette JC, i sur. Antiendothelial cell antibodies: useful markers of systemic sclerosis. *Am J Med*. 1997;102(2):178–85.
280. Gintoni I, Adamopoulou M, Yapijakis C. The impact of ACE and ACE2 gene polymorphisms in pulmonary diseases including COVID-19. *In Vivo*. 2022;36(1):13–29.
281. Deng X, Zhang S, Jin K, Li L, Gu W, Liu M, i sur. Angiotensin-converting enzyme I/D polymorphism and acute respiratory distress syndrome. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. 2015;16(4):780–6.
282. Medsger TA. Systemic sclerosis (scleroderma): clinical aspects. U: Koopman WJ, ur. *Arthritis and allied conditions: a textbook of rheumatology*. Philadelphia: Williams & Wilkins; 1997. Str. 1433–65.
283. Specks U, Martin WJ, Rohrbach MS. Bronchoalveolar lavage fluid angiotensin-converting enzyme in interstitial lung diseases. *Am Rev Respir Dis*. 1990;141(1):117–23.
284. Morrison CD, Papp AC, Hejmanowski AQ, Addis VM, Prior TW. Increased D allele frequency of the angiotensin-converting enzyme gene in pulmonary fibrosis. *Hum Pathol*. 2001;32(5):521–8.

285. Wu X, Li W, Huang G, Luo Z, Chen Y. Increased frequency of angiotensin converting enzyme D allele in Chinese Han patients with idiopathic pulmonary fibrosis: a systematic review and meta-analysis. *Medicine*. 2022;101(40):e30942.
286. Zhang YG, Li XB, Zhang J, Huang J, He C, Tian C, i sur. The I/D polymorphism of angiotensin-converting enzyme gene and asthma risk: a meta-analysis: asthma risk and ACE polymorphism. *Allergy*. 2011;66(2):197–205.
287. Kuzubova NA, Chukhlovin AB, Morozova EB, Totolian AA, Titova ON. Common intronic D variant of ACE gene is associated with endothelial dysfunction in COPD. *Respir Med*. 2013;107(8):1217–21.
288. Xu G, Fan G, Sun Y, Yu L, Wu S, Niu W. Association of angiotensin-converting enzyme gene I/D polymorphism with chronic obstructive pulmonary disease: a meta-analysis. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. 2018;19(2):147032031877054.
289. Song GG, Kim JH, Lee YH. Associations between the angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism and susceptibility to sarcoidosis: a meta-analysis. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. 2015;16(1):219–26.
290. Miziołek B, Kruszniewska-Rajs C, Gola J, Bultrowicz M, Miszczyk J, Pieczyrak R, i sur. Correlation between angiotensin-converting-enzyme 2 gene polymorphisms and systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol*. 2023;41(8):1652–8.
291. Steen VD, Conte C, Owens GR, Medsger TA. Severe restrictive lung disease in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*. 1994;37(9):1283–9.

11. ŽIVOTOPIS

Boris Karanović rođen je 1986. godine u Splitu. Diplomirao je na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu 2011. godine. 2010. godine mjesec dana je boravio u odjelu Infektologije Sveučilišne bolnice „Hospital Universitário João de Barros Barreto“ u Belemu, Brazil, te 2011. u odjelu Opće interne medicine u „Hospital San José“ u Santiagu, Čile. Zbog višegodišnjeg rada na međunarodnim studentskim projektima dobitnik je posebne Dekanove nagrade za opći doprinos radu i ugledu Fakulteta te je nagrađen Dekanovom nagradom za uspjeh na petoj godini studija.

Od travnja 2013. godine radi kao specijalizant alergologije i kliničke imunologije u Zavodu za kliničku imunologiju i reumatologiju Klinike za unutarnje bolesti KBC-a Zagreb. Dio usavršavanja u trajanju 6 mjeseci obavio je u Sveučilišnoj klinici „Hospital Universitario Gregorio Marañón“ u Madridu, Španjolska.

Specijalistički ispit položio je u studenom 2018. godine.

Od 2022. godine član je Upravnog odbora *European Society for Immunodeficiencies*, ESID, u sklopu kojeg je organizirao nekoliko međunarodnih edukacijskih skupova.

Suradnik je u nastavi integriranog dodiplomskog i diplomskog studija na hrvatskom i engleskom jeziku Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Autor je nekoliko radova objavljenih u međunarodno indeksiranim časopisima te je do sada sudjelovao na domaćim i inozemnim skupovima kao pozvani predavač.

Tečno govori engleski, talijanski i španjolski, a služi se i njemačkim i portugalskim jezikom.

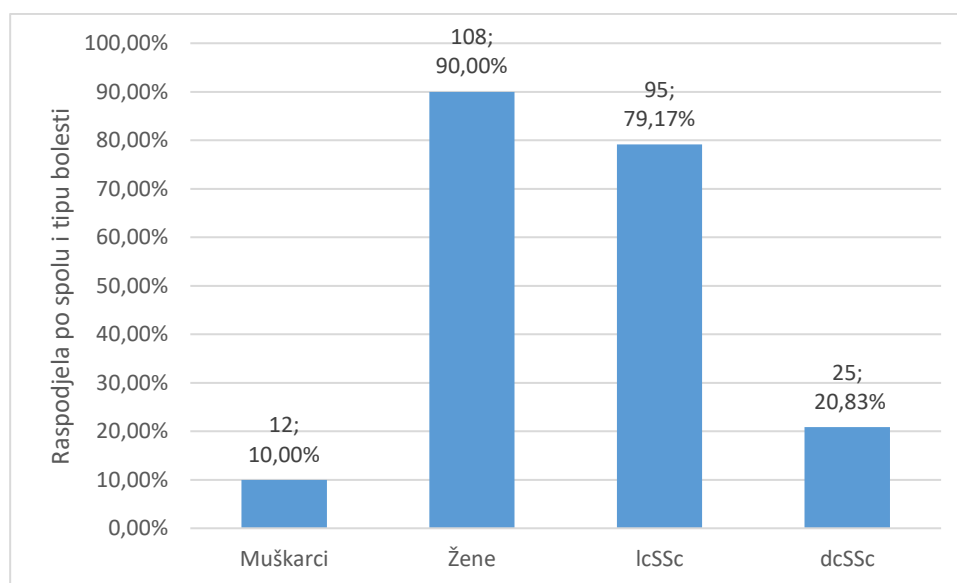
PRILOZI

Kako je ranije spomenuto, s obzirom da je ABI mjereno u različito vrijeme kod bolesnika te se kod nekih poklapa s vremenom kada je postavljena dijagnoza ili 5 godina ili 10 godina nakon dijagnoze, a kod nekih bolesnika je riječ o novoj vremenskoj točki, ovdje su prikazana obilježja bolesnika u 4. vremenskoj točki.

Nadalje, s obzirom na zabilježen visok udio bolesnika s prekomjernom tjelesnom masom, dodatno je analizirana povezanost ACE-genotipa s BMI, no nije nađena statistički značajna povezanost.

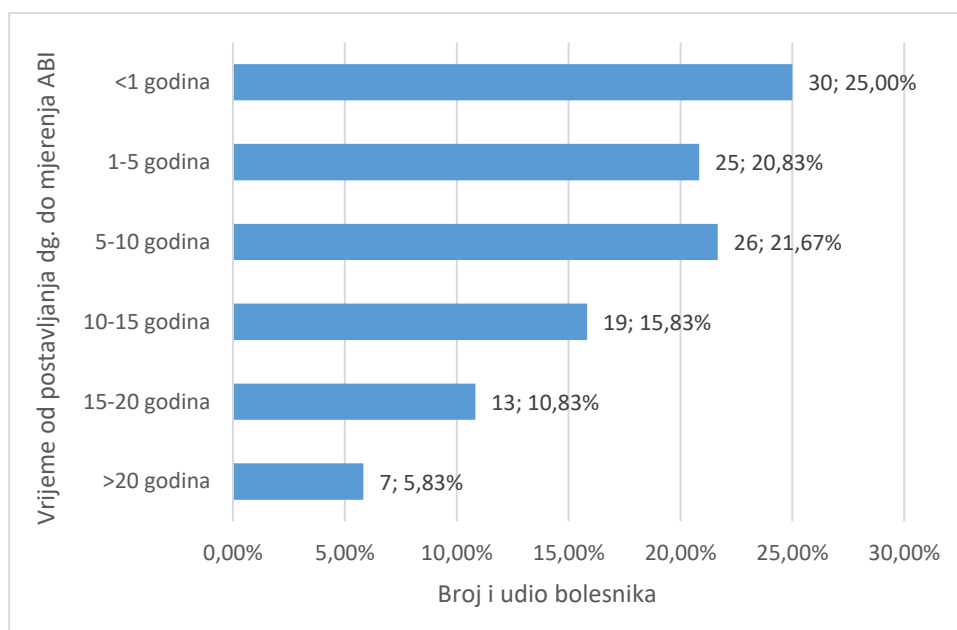
Analiza obilježja bolesnika u 4. vremenskoj točki, pri mjerenju ABI

Na Slici 40 prikazana je distribucija bolesnika po spolu i tipu bolesti u četvrtoj vremenskoj točki kada je izmjeren ABI.

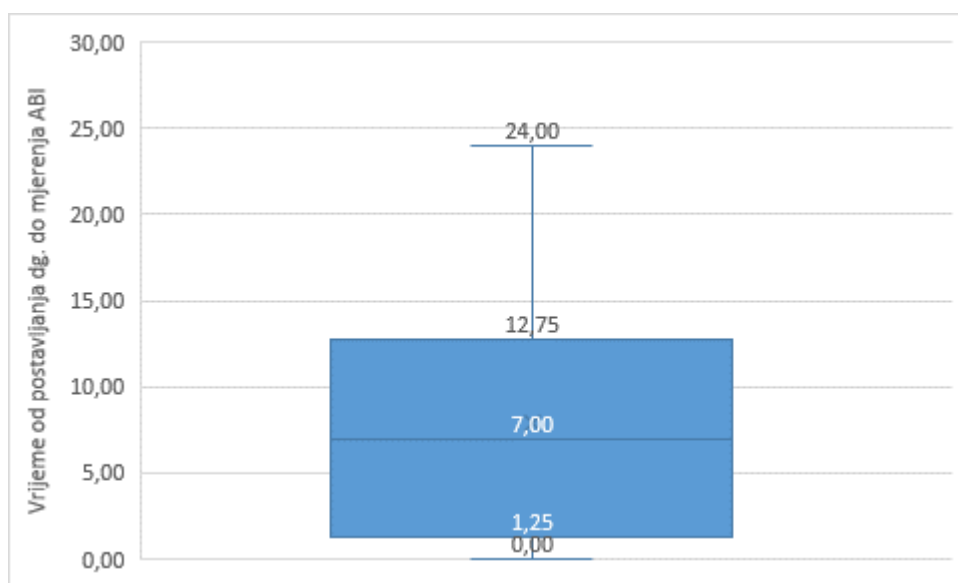


Slika 40. Distribucija bolesnika po spolu i tipu bolesti u vremenskoj točki kada je mjereno pedobrahijalni indeks (ABI) (dcSSc – difuzna kutana sistemska skleroza, prema engl. *diffuse cutaneous systemic sclerosis*; lcSSc – limitirana kutana sistemska skleroza, prema engl. *limited cutaneous systemic sclerosis*)

Kako je riječ o četvrtom vremenskom periodu, zabilježeno je vrijeme proteklo od postavljanja dijagnoze do točke u vremenu kada je mjereno ABI te je u najviše bolesnika bilo riječ o vremenu kraćem od godinu dana u odnosu na postavljanje dijagnoze, a u najmanje bolesnika više od 20 godina. Vrijeme proteklo od postavljanja dijagnoze do mjerenja ABI prikazuju Slike 41 i 42.

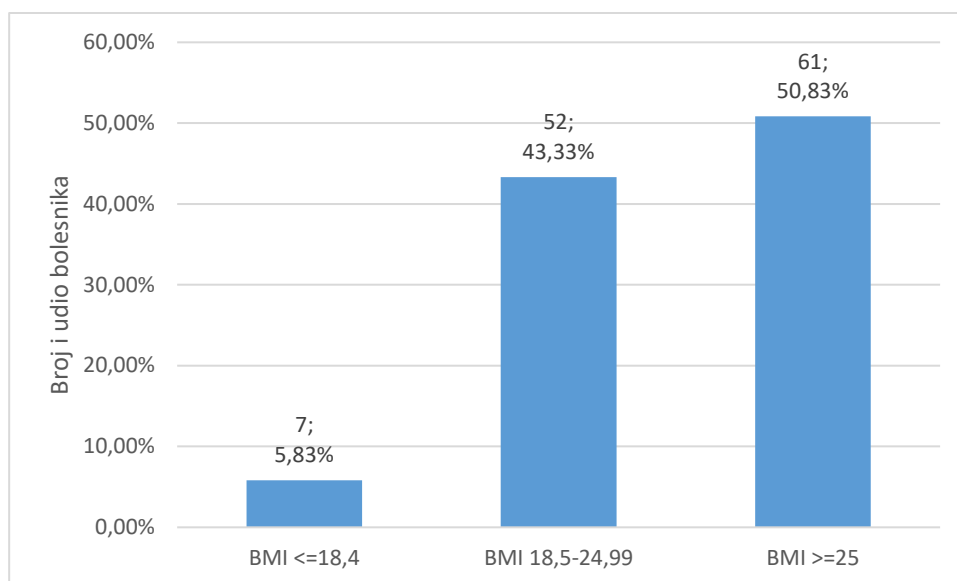


Slika 41. Broj i udio bolesnika u pojedinom vremenskom razdoblju s obzirom na vrijeme proteklo od postavljanja dijagnoze do vremena kada je izmjeren pedobrahijalni indeks (ABI)



Slika 42. Vrijeme proteklo od postavljanja dijagnoze do mjerenja pedobrahijalnog indeksa (ABI) (medijan, interkvartilni raspon (prema engl. *interquartile range*, IQR), minimalna i maksimalna vrijednost)

Izračunate su vrijednosti BMI te je zabilježen najveći broj bolesnika s prekomjernom tjelesnom težinom što prikazuje Slika 43.



Slika 43. Raspodjela bolesnika prema indeksu tjelesne mase (BMI) u vremenu kada je mjeran pedobrahijalni indeks (ABI)

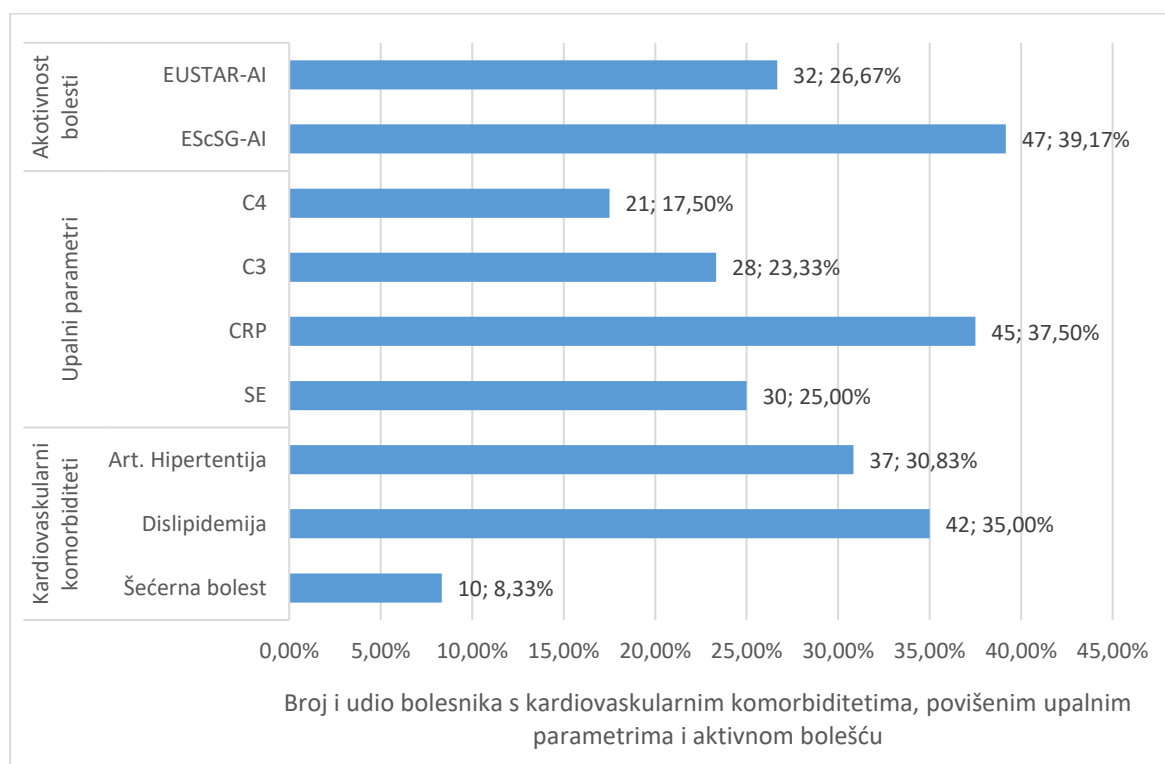
Vrijednosti BMI te vrijednosti upalnih parametara (SE i CRP), kao i komponenti komplementa, CK, bubrežne, srčane i plućne funkcije, aktivnosti bolesti prema različitim indeksima i doze prednizona prikazane su u Tablici 37.

Tablica 37. Vrijednosti indeksa tjelesne mase, dobi, SE, CRP, komponenti komplementa C3 i C4, EScSG-AI, EUSTAR-AI, mRSS, CK, kreatinina, proteinurije, eGFR, RVSP, LVEF, FEV1, FVC, DLco, ukupne doze prednizona i doze prednizona po kilogramu tjelesne mase u vrijeme mjerenja pedobrahijalnog indeksa (ABI)

	Min	Maks	25. centila	Medijan	75. centila
Dob	25,00	82,00	49,00	59,00	67,00
BMI	16,73	43,36	21,76	25,18	27,36
SE (mm/h)	1,00	100,00	11,00	16,00	28,00
CRP (mg/L)	0,30	31,00	1,70	3,30	6,48
C3 (g/L)	0,59	1,80	0,95	1,13	1,30
C4 (g/L)	0,03	0,41	0,16	0,21	0,26
EScSG-AI	0,00	7,00	0,50	2,00	3,50
EUSTAR-AI	0,00	6,26	0,59	1,50	2,50
mRSS	0,00	31,00	3,00	7,00	11,00
CK (U/L)	16,00	5077,00	48,00	76,00	108,50
	Min	Maks	25. centila	Medijan	75. centila
Kreatinin (μmol/L)	29,00	179,00	58,00	68,50	80,00
Proteinurija (g/dU)	0,03	0,63	0,09	0,15	0,21
eGFR (mL/min/1,73m²)	34,35	129,59	73,05	87,83	101,78
RVSP (mm Hg)	9,00	90,00	26,00	32,00	40,00
LVEF (%)	25,00	78,00	60,00	65,00	65,00
FEV1 (%)	28,00	146,00	75,25	88,00	102,00
FVC (%)	27,00	137,00	76,00	91,50	108,75
DLco (%)	23,00	146,00	54,00	70,00	84,00
Prednizon ukupno	0,00	50,00	0,00	5,00	10,00
Prednizon mg/kg	0,00	0,98	0,00	0,07	0,14

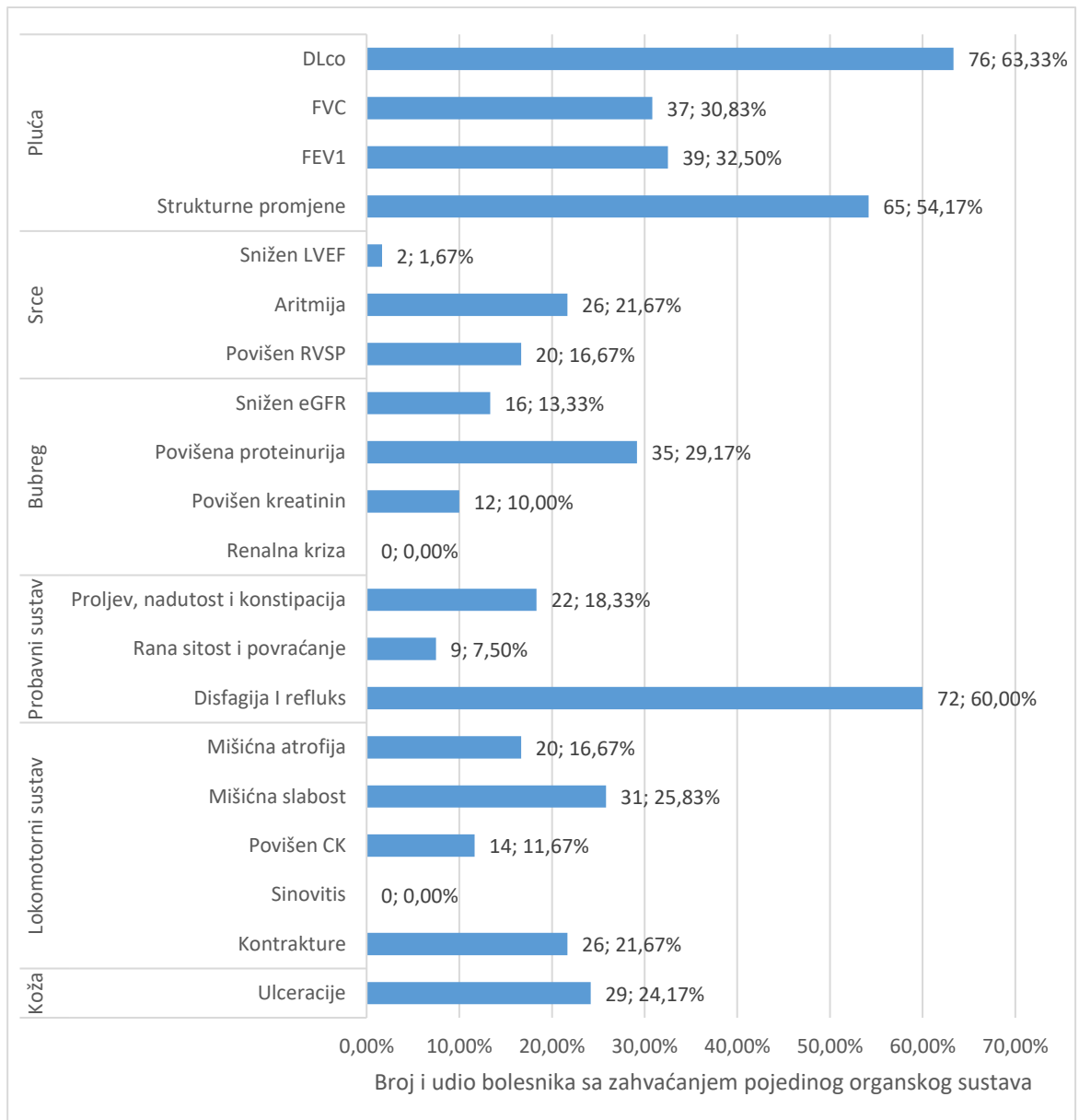
BMI - indeks tjelesne mase (prema engl. *body mass index*), CK - kreatin kinaza (prema engl. *creatin kinase*), CRP - C-reaktivni protein, DLco - difuzijski kapacitet za ugljikov monoksid (prema engl. *diffusing capacity for carbon monoxide*), eGFR - procijenjena glomerularna filtracija (prema engl. *estimated glomerular filtration rate*), EScSG-AI - indeks aktivnosti Europske skupine za studije skleroderme (prema engl. *European Scleroderma Study Group – Activity Index*), EUSTAR-AI - indeks aktivnosti Europske skupine za ispitivanje i istraživanje skleroderme (prema engl. *European Scleroderma Trials and Research Group – Activity Index*), FEV1 - forsirani ekspiracijski volumen tijekom prve sekunde (prema engl. *forced expiratory volume during the first second*), FVC - forsirani ekspiracijski vitalni kapacitet (prema engl. *forced expiratory vital capacity*), LVEF - istisna frakcija lijeve klijetke (prema engl. *left ventricular ejection fraction*), mRSS - modificirani Rodnanov zbroj (prema engl. *modified Rodnan skin score*), RVSP - sistolički tlak u desnoj klijetci (prema engl. *right ventricular systolic pressure*), SE - sedimentacija eritrocita

U ovom vremenskom periodu također je izračunat broj bolesnika s patološkim nalazom upalnih parametara, kardiovaskularnih rizika te aktivnom bolešću prema EScSG-AI i EUSTAR-AI što prikazuje Slika 44. Vidljivo je da značajan broj bolesnika ima aktivnu bolest i povišene upalne parametre te da je najčešći kardiovaskularni komorbiditet dislipidemija.



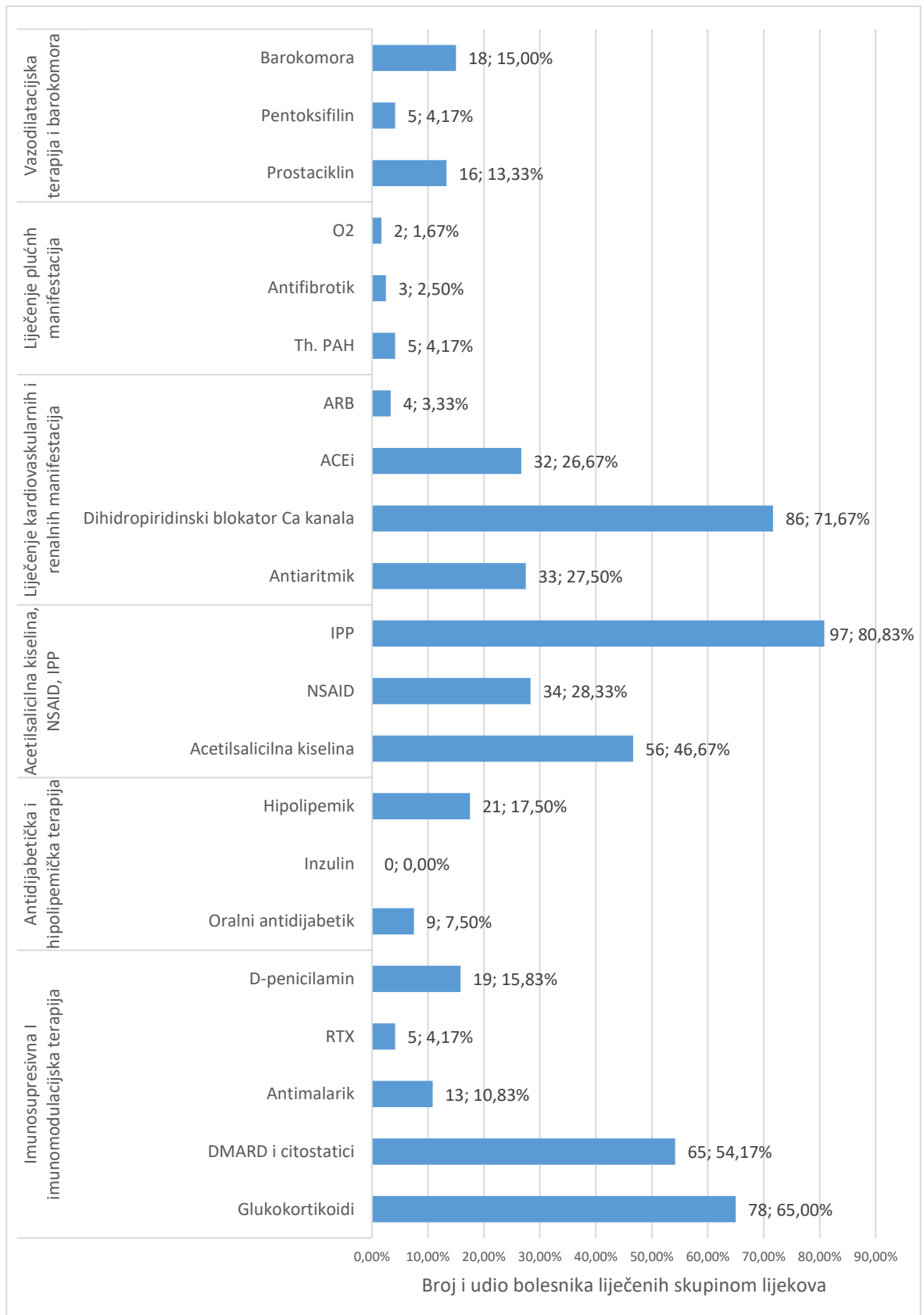
Slika 44. Broj bolesnika s kardiovaskularnim komorbiditetima, povišenim upalnim parametrima i aktivnom bolešću prema EScSG-AI i EUSTAR-AI u vremenskoj točki kada je izmjeren pedobrahijalni indeks (ABI) (CRP – C-reaktivni protein, EScSG-AI - indeks aktivnosti Europske skupine za studije skleroderme (prema engl. *European Scleroderma Study Group – Activity Index*), EUSTAR-AI – indeks aktivnosti Europske skupine za ispitivanje i istraživanje skleroderme (prema engl. *European Scleroderma Trials and Research Group – Activity Index*), SE – sedimentacija eritrocita)

Analizirajući anamnestičke podatke o zahvaćanju pojedinih organskih sustava te patološke vrijednosti bubrežne, srčane i plućne funkcije te kreatin kinaze u ovom razdoblju najveći broj bolesnika ima patologiju jednjaka te pluća prema nalazu sniženog DLco. Renalna kriza i sinovitis nisu zabilježeni ni u jednog bolesnika. Podatci su prikazani grafički na Slici 45.



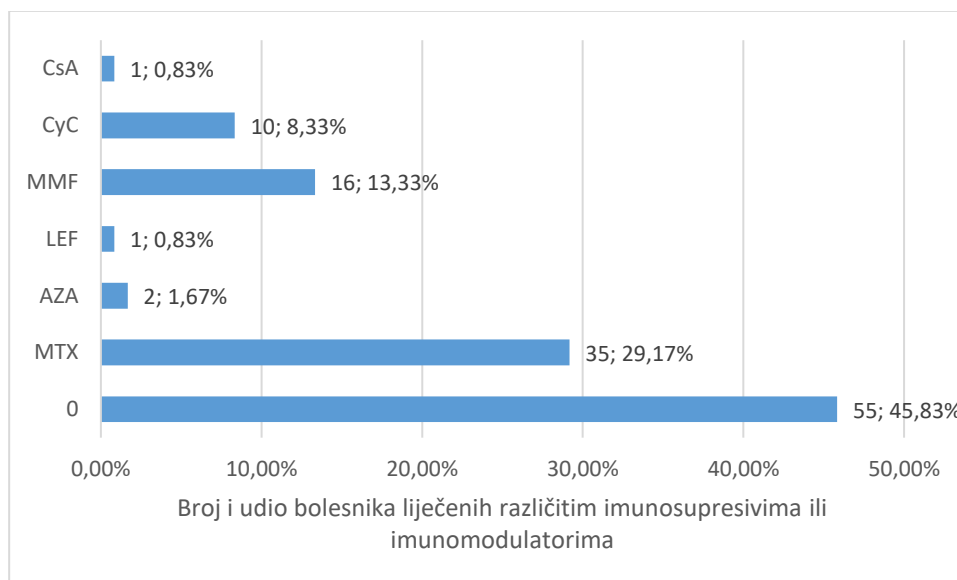
Slika 45. Broj i udio bolesnika sa zahvaćanjem pojedinog organskog sustava prema anamnestičkim podacima o simptomima i patološkim nalazima u vremenskoj točki kada je mjereno pedobrahijalni indeks (ABI) (CK – kreatin kinaza (prema engl. *creatine kinase*), DLco - difuzijski kapacitet za ugljikov monoksid (prema engl. *diffusing capacity for carbon monoxide*), eGFR - procijenjena glomerularna filtracija (prema engl. *estimated glomerular filtration rate*), FEV1 - forsirani ekspiracijski volumen tijekom prve sekunde (prema engl. *forced expiratory volume during the first second*), FVC - forsirani ekspiracijski vitalni kapacitet (prema engl. *forced expiratory vital capacity*), LVEF - istisna frakcija lijeve klijetke (prema engl. *left ventricular ejection fraction*), RVSP - sistolički tlak u desnoj klijetki (prema engl. *right ventricular systolic pressure*))

Što se tiče liječenja, najveći broj bolesnika liječen je IPP-om, zatim blokatorom kalcijevih kanala te glukokortikoidima, a najmanje ih je liječeno oksigenoterapijom te ponovno nijedan bolesnik nije liječen inzulinom. Podatci su prikazani na Slici 46.



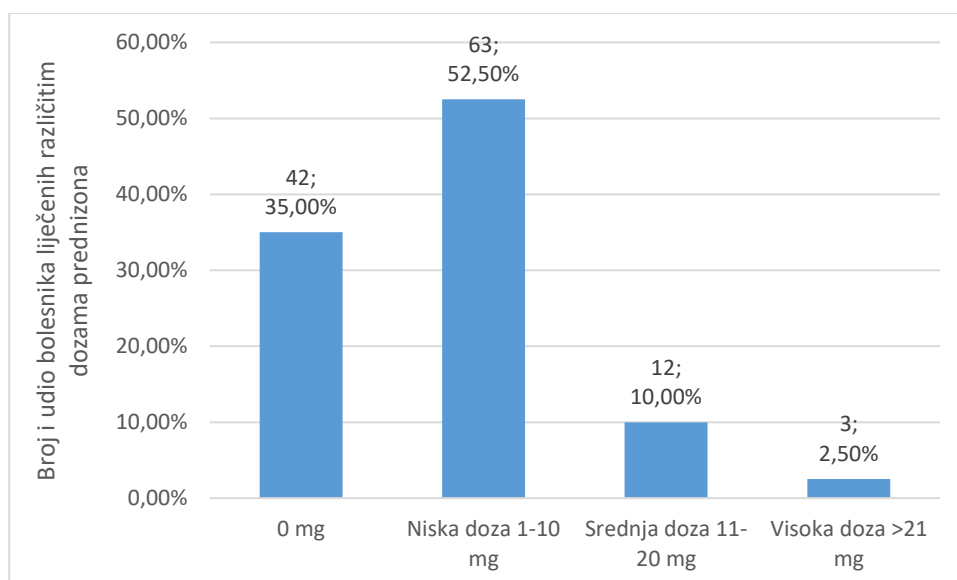
Slika 46. Broj i udio bolesnika liječenih pojedinom skupinom lijekova u vremenskoj točki kada je mjereno pedobrahijalni indeks (ABI) (ACEi – inhibitor enzima za pretvorbu angiotenzina (prema engl. *angiotensin converting enzyme inhibitor*), ARB – blokator angiotenzinskih receptora (prema engl. *angiotensin receptor blocker*), DMARD – antireumatski lijekovi koji modificiraju bolest (prema engl. *disease-modifying antirheumatic drugs*), IPP – inhibitor protonске pumpe, NSAID – nesteroidni protuupalni lijek (prema engl. *non-steroid anti-inflammatory drug*), O2 – oksigenoterapija, th. PAH – terapija plućne arterijske hipertenzije, RTX – rituksimab)

Analiziran je broj bolesnika liječenih pojedinim imunosupresivnim i imunomodulatornim lijekom te je razvidno da je najčešće korišten lijek MTX, zatim MMF, no najveći broj bolesnika (55, 45,83%) nije liječen niti jednim lijekom ove skupine. Slika 47 prikazuje navedeno.



Slika 47. Broj i udio bolesnika liječenih pojedinim imunosupresivima i imunomodulatorima u vremenu kada je mjeran pedobrahijalni indeks (ABI) (0 – bez specifične imunosupresivne ili imunomodulatorne terapije, AZA – azatioprin, CsA – ciklosporin A, CyC – ciklofosamid, LEF – leflunomid, MMF – mikofenolat mofetil, MTX – metotreksat)

Ako analiziramo dozu prednizona korištenu pri liječenju, najveći broj bolesnika u ovom vremenskom periodu liječen je niskom dozom što prikazuje Slika 48.



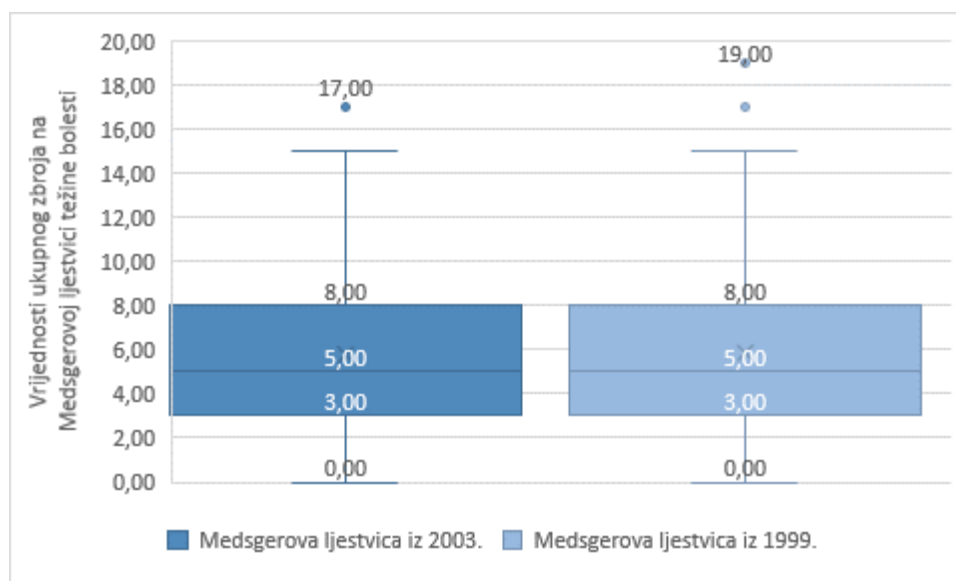
Slika 48. Broj i udio bolesnika liječenih različitim dozama prednizona u vremenu kada je mjeran pedobrahijalni indeks (ABI)

Nadalje, prema Medsgerovoj ljestvici bodovana je težina zahvaćanja pojedinog organskog sustava te je u ovom vremenskom periodu zabilježeno da najveći broj bolesnika ima normalnu funkciju zglobova i tetiva, mišića, probavnog sustava, srca i bubrega kao i opću težinu bolesti, međutim najveći broj bolesnika ima prvi stupanj zahvaćanja periferne vaskulature i kože. Navedene podatke prikazuje Tablica 38.

Na Slici 49 prikazane su vrijednosti medijana, minimalne i maksimalne vrijednosti te interkvartilni rasponi (prema engl. *interquartile range*, IQR) ukupnog zbroja bodova na Medsgerovoj ljestvici težine bolesti pri čemu je vidljivo da je najveći zabilježeni zbroj 19 prema računanju bubrežnog zahvaćanja prema bodovanju iz 1999. godine.

Tablica 38. Pri mjerenju pedobrahijalnog indeksa (ABI) stupanj zahvaćanja pojedinog organskog sustava prema Medsgerovoj ljestvici iz 2003. godine te posebno za bubrežni zahvaćanja iz 1999. godine s obzirom na razlikovanje bodovanja bubrežnog zahvaćanja

	Opći	Periferna vaskularura	Koža	Zglobovi i tetive	Mišićna slabost	Probavn i sustav	Pluća	Srce	Bubrežna bolest (zbroj iz 2003.)	Bubrežna bolest (zbroj iz 1999.)
Uredan	102 (85%)	17 (14,17%)	6 (5,00%)	116 (96,67%)	89 (74,17%)	67 (55,83%)	32 (26,67%)	92 (76,67%)	120 (100,00%)	118 (98,33%)
Stupanj 1	12 (10,00%)	56 (46,67%)	93 (77,50%)	4 (3,33%)	24 (20,00%)	45 (37,50%)	28 (23,33%)	11 (9,17%)	0 (0,00%)	1 (0,83%)
Stupanj 2	4 (3,33%)	21 (17,50%)	19 (15,83%)	0 (0,00%)	5 (4,17%)	1 (0,83%)	36 (30,00%)	3 (2,50%)	0 (0,00%)	1 (0,83%)
Stupanj 3	1 (0,83%)	23 (19,17%)	2 (1,67%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	3 (2,50%)	21 (17,50%)	13 (10,83%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)
Stupanj 4	1 (0,83%)	3 (2,50%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	2 (1,67%)	4 (3,33%)	3 (2,50%)	1 (0,83%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)



Slika 49. Vrijednosti ukupnog zbroja na Medsgerovoj ljestvici iz 2003. i 1999. godine pri mjerenju pedobrahijalnog indeksa (ABI) (medijani, interkvartilni rasponi (prema engl. *interquartile range*, IQR), minimalne i maksimalne vrijednosti)

Povezanost polimorfizma ACE-gena s indeksom tjelesne mase (BMI)

U Tablici 39 prikazana je povezanost ACE-genotipa s indeksom tjelesne mase te također nisu nađene statistički značajne razlike među bolesnicima s pojedinim genotipom. Također nije nađena statistički značajna promjena indeksa tjelesne mase u desetogodišnjem praćenju među skupinama bolesnika što prikazuje Tablica 40.

Tablica 39. Povezanost ACE-genotipa s indeksom tjelesne mase (BMI) u 3 vremenska razdoblja (Fisher-Freeman-Haltonov test)

ACE-genotip	N	Min	Max	Centile			p	
				25.	Medijan	75.		
BMI pri dg.	II	32	16,85	37,29	22,31	25,84	27,39	0,648
	ID	69	18,66	43,36	22,42	24,22	28,20	
	DD	34	18,75	33,61	22,54	25,20	28,94	
BMI nakon 5 g.	II	27	16,65	32,03	22,31	25,50	28,34	0,179
	ID	53	16,79	43,75	22,01	23,88	27,16	
	DD	25	19,75	36,85	24,02	25,65	29,95	
BMI nakon 10 g.	II	21	19,71	33,27	23,63	25,18	28,30	0,515
	ID	35	16,14	30,47	21,56	25,61	27,39	
	DD	14	20,37	32,63	24,21	25,16	28,76	

BMI – indeks tjelesne mase (prema engl. *body mass index*)

Tablica 40. Razlike indeksa tjelesne mase (BMI) između prvog i zadnjeg mjerenja (pri dijagnozi i nakon 10 godina): Wilcoxonov test

		ACE genotip		
		II	ID	DD
BMI nakon 10 g. – BMI pri dg.	Z	-0,149	-0,972	-1,664
	p	0,881	0,331	0,096

BMI – indeks tjelesne mase (prema engl. *body mass index*)