

# Serumski interleukin (IL)-6 i promjene na srcu u bolesnika sa sustavnom sklerozom

---

**Jurišić, Zrinka**

**Doctoral thesis / Disertacija**

**2013**

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

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:171:267747>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-05**



*Repository / Repozitorij:*

[MEFST Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U SPLITU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Zrinka Jurišić**

**SERUMSKI INTERLEUKIN (IL)-6 I PROMJENE NA SRCU  
U BOLESNIKA SA SUSTAVNOM SKLEROZOM**

**DOKTORSKA DISERTACIJA**

**Split, srpanj 2013. godine**

Ovaj rad je izrađen u Klinici za unutarnje bolesti Kliničkog bolničkog centra Split pod voditeljstvom prof. dr. Dušanke Martinović-Kaliterna.

## Sadržaj

Popis oznaka i kratica	5
1. Uvod	7
1.1. Sustavna skleroza (SSc)	7
1.1.1. Epidemiologija SSc	7
1.1.2. Etiopatogeneza SSc	7
1.1.3. Klasifikacija SSc	9
1.1.4. Kliničke manifestacije SSc	10
1.1.4.1. Kožne i krvožilne promjene	10
1.1.4.2. Promjene na unutarnjim organima	11
1.1.5. Liječenje SSc	13
1.2. Serološki pokazatelji SSc	14
1.3. Citokini u SSc	16
1.3.1. Interleukin-6	16
1.3.2. IL-6 u SSc	17
1.4. Bolesti srca u SSc	19
1.4.1. Epidemiologija srčanih promjena u SSc	19
1.4.2. Kardiomiopatija u SSc	20
1.4.2.1. Patohistološko obilježje kardiomiopatije u SSc	20
1.4.2.2. Etiopatogeneza kardiomiopatije u SSc	20
1.4.2.3. Kliničke manifestacije kardiomiopatije u SSc	21
1.4.2.4. Sistolička i dijastolička disfunkcija lijevog ventrikula u SSc	21
1.4.2.5. Sistolička i dijastolička disfunkcija desnog ventrikula u SSc	22
1.4.2.6. Liječenje SSc kardiomiopatije	23
1.4.3. Koronarna bolest u SSc	24
1.4.4. Bolesti perikarda u SSc	24
1.4.5. Bolesti srčanih zalistaka u SSc	25
1.4.6. Poremećaji ritma i provođenja u SSc	25
1.4.7. Varijabilnost srčanog ritma u SSc	26

1.5. Kardiopulmonalna sposobnost bolesnika u SSc	26
1.6. Serološki pokazatelji bolesti srca	27
1.6.1. Natriuretski peptidi	27
1.6.2. IL-6 i kardiovaskularne bolesti	28
2. Ciljevi i hipoteze	30
2.1. Ciljevi	30
2.2. Hipoteze	30
3. Ispitanici i metode	31
3.1. Ispitanici	31
3.2. Metode	33
3.3. Ustroj istraživanja	39
3.4. Statistički postupci	39
4. Rezultati	40
5. Rasprava	49
6. Zaključak	60
7. Sažetak	61
8. Summary	63
9. Popis literature	65
10. Životopis	82

## Popis oznaka i kratica

SSc	-	sustavna skleroza
IL	-	interleukin
ARA	-	Američko reumatološko udruženje
dc SSc	-	difuzni oblik sustavne skleroze
lc SSc	-	lokalizirani oblik sustavne skleroze
NYHA	-	New York Heart Association
PAH	-	plućna arterijska hipertenzija
DLco	-	difuzijski kapacitete ugljik monokisda
RP	-	Raynaudov fenomen
cRP	-	Raynaudov fenomen srca
FVC	-	forsirani vitalni kapacitet
PASP	-	plućni arterijski sistolički tlak
mRSS	-	modificirani Rodnanov kožni zbroj
ANA	-	antinuklearna protutijela
ACA	-	anticentromerna protutijela
IL-6R	-	interleukin-6 receptor
sIL-6R	-	solubilni interleukin-6 receptor
PW-TDI	-	pulsni tkivni Doppler
MR	-	magnetska rezonanca
LV	-	lijevi ventrikul
RV	-	desni ventrikul
EF	-	istisna frakcija
EUSTAR	-	European Scleroderma Trial and Reserch
SVT	-	supraventrikularna tahikardija
HRV	-	varijabilnost srčanog ritma
BNP	-	moždani natriuretski peptid
NT-proBNP	-	N-terminalni-pro moždani natriuretski peptid
6MWT	-	6-minutni test hodanja
SD	-	sistolička disfunkcija

DD	-	dijastolička disfunkcija
s'	-	brzina sistoličkog pomaka
e'	-	brzina ranog dijastoličkog pomaka
E/e'	-	omjer brzina ranog utoka i ranog dijastoličkog pomaka
E/A	-	omjer brzine ranog i kasnog utoka
DT	-	vrijeme deceleracije
DD	-	dijastolička disfunkcija
MV	-	mitralni zalistak
TV	-	trikuspidalni zalistak
VES	-	ventrikularna ekstrasistola
SDNN	-	standardna devijacija svih NN intervala
RMSSD	-	kvadratni korijen srednje vrijednosti sume kvadrata razlika uzastopnih NN intervala
pNN50	-	omjer broja uzastopnih NN intervala koji se razlikuju za više od 50 ms i ukupnog broja zabilježenih NN intervala
MSCT	-	višeslojna kompjuterizirana tomografija
SERCA	-	Ca <sup>2+</sup> ATP-aza sarkoplazmatskog retikuluma

## 1. Uvod

### 1.1. Sustavna skleroza (SSc)

Sustavna skleroza (SSc) je kronična bolest nepoznate etiologije, heterogena u manifestaciji i nepredvidljivog kliničkog tijeka. Obilježena je krvožilnim promjenama i prekomjernim stvaranjem vezivnog tkiva u koži i unutarnjim organima uz stvaranje protutijela.<sup>1,2</sup>

#### 1.1.1. Epidemiologija SSc

Sustavna skleroza je relativno rijetka bolest. Rezultati studija o prevalenciji i incidenciji su različiti zbog metodoloških varijacija i geografskih razlika. Prema objavljenim podacima prevalencija SSc je u rasponu od 30 slučajeva na milijun stanovnika u Novom Zelandu,<sup>3</sup> do 443 slučaja na milijun stanovnika u Kanadi.<sup>4</sup> Takva razlika postoji i u incidenciji, od 1,96 do 23 nova slučaja na milijun stanovnika.<sup>5</sup> Ovakva raznolikost dijelom je posljedica različite definicije i dijagnosticiranja ove bolesti u različitim zemljama, ali svakako predstavlja i stvarnu razliku u pojedinim regijama kao posljedicu utjecaja okolišnih čimbenika i genskog nasljeđa.<sup>5,6</sup> Bolest se javlja većinom u žena s rizikom u odnosu na muškarce od 3:1 do 14:1 u reproduktivnoj fazi.<sup>2,5,6</sup> SSc se najčešće pojavljuje u dobi između 30-te i 50-te godina života, a u djetinjstvu tek iznimno.<sup>7</sup>

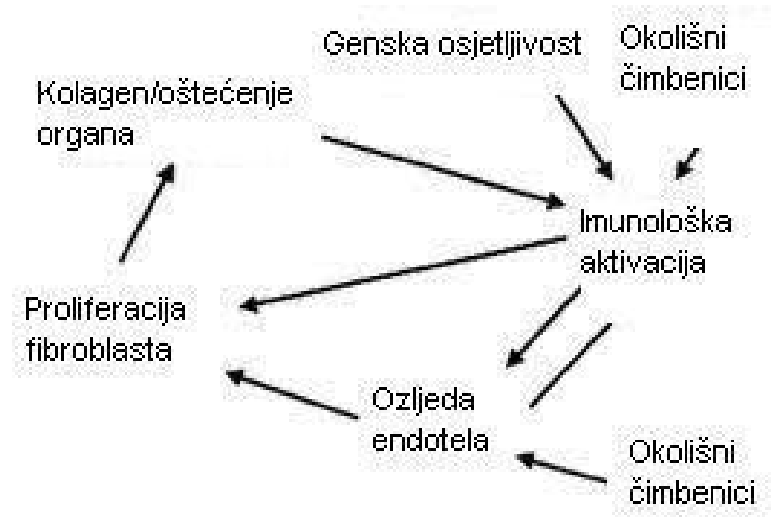
#### 1.1.2. Etiopatogeneza SSc

Etiologija bolesti je nepoznata. Inicijalni mehanizmi u ovoj bolesti nisu u potpunosti jasni te postoje brojne nedoumice. Infekcije (CMV, EBV, Parvo virus B19), okolišni čimbenici (organska otapala, lijekovi, silicij) te genotipski modalitet jesu mogući uzrok SSc.<sup>1,2</sup> Virusi mogu biti jedan od provocirajućih čimbenika koji potiču lučenje autoreaktivnih protutijela zbog molekularne *mimikrije*.<sup>8</sup> Okolišni čimbenici mogu inducirati kliničke fenotipove koji su slični ili gotovo identični sklerodermi.<sup>9</sup> Na važnost genskog nasljeđa ukazuje nakupljanje bolesti i veća učestalost drugih bolesti vezivnog tkiva unutar obitelji bolesnika sa SSc te fenotipske razlike ovisne o rasi i etničkoj pripadnosti.<sup>10</sup> Također su istraživanja pokazala povezanost SSc s humanim leukocitnim antigenima: HLA-DR1, HLA-DR3 i HLA-DR5,4.<sup>11</sup>

O patogenezi SSc ne postoji jedinstvena hipoteza kojom bi se objasnili svi aspekti bolesti, ali se prvenstveno sumnja na interakciju između vaskularnih ozljeda i imunološkog poremećaja. Bez



obzira na početni događaj, aktivacija fibroblasta predstavlja konačni te zajednički put u patogenezi SSc (sl. 1).<sup>12</sup>



Slika 1. Patogeneza sustavne skleroze.

Promjene na krvnim žilama su vjerojatno početni događaj u SSc. Oštećenje endotelne stanice mikrožilja, malih i srednjih arterija uzrokovano vaskulotropnim virusima, citokinima, granzimima, protutijelima specifičnim za endotelne stanice ili oksidativnim radikalima glavno je obilježje bolesti koje slijede upalne promjene i fibroza.<sup>13</sup> Aktivacija i apoptoza endotela uzrokuje gubitak integriteta endotelne stanice, perivaskularnu infiltraciju leukocita, obliteraciju žila i gubitak kapilara. Oštećeni endotel luči vazoaktivne molekule poput trombina. Pojačana je ekspresija međustaničnih i vaskularnih adhezijskih molekula (ICAM-1, VCAM-1) te lučenje citokina koji potiču nakupljanje leukocita. Oko oštećenog krvožilja nakupljeni leukociti oslobađaju medijatore upale i fibrogeneze. Dolazi do poliklonske aktivacije limfocita B i stvaranja protutijela te poremećaja ravnoteže između pomoćničkih T(h)1 i T(h)2 limfocita u korist Th2 limfocita te lučenja profibrotskih citokina (IL-4, IL-6, IL-13). Jednom kada započne, proces fibrogeneze se podržava brojnim amplifikacijskim petljama. Ti događaji rezultiraju akumulacijom izvanstaničnog matriksa i narušavanjem normalne arhitekture što u konačnici rezultira zatajivanjem organa.<sup>14</sup>

### 1.1.3. Klasifikacija SSc

Godine 1980. Američko reumatološko udruženje (ARA), odnosno danas *American College of Rheumatology* (ACR), dogovorilo je klasifikacijske kriterija po kojima bi razlikovali SSc od drugih bolesti vezivnoga tkiva te standardizirali izvještaje.<sup>15</sup> Iako su postojale brojne rasprave kako klasificirati bolest, podjela na difuzni (dcSSc) i lokalizirani (lcSSc) oblik je danas najprihvaćenija.<sup>16</sup> Utemeljena je prema prirodi i proširenosti kožnih promjena te prisustvu promjena na unutarnjim organima (tbl. 1).

Tablica 1. Kriteriji za klasifikaciju sustavne skleroze preuzeti od Američkog reumatološkog društva\*

#### A. VELIKI KRITERIJI

Nalaz proksimalne sklerodermije: simetrično zadebljanje i induracija kože prstiju i trupa proksimalno od metakarpofalangealnih ili metatarzofalangealnih zglobova. Promjene mogu zahvatiti cijele udove, trup, lice i vrat.

#### B. MALI KRITERIJI

1. Sklerodaktilija: opisane promjene ograničene samo na prste.
2. Trofički ožiljci i nekroza na prstima uz gubitak potkožnog masnog jastučića kao posljedica ishemijskih promjena.
3. Bilateralna fibroza pluća u bazalnim dijelovima: bilateralni mrežoliki intersticijski uzorak na standardnoj snimci prsnog koša koji nije posljedica primarne plućne bolesti.

\*Za postavljanje dijagnoze dovoljan je jedan veliki ili najmanje dva mala kriterija.<sup>15</sup>

Lokalizirani oblik (lcSSc) definiran je kožnim promjenama koje zahvaćaju lice i distalne dijelove ekstremiteta. Često su prisutna anticentromerna protutijela (ACA), a promjene unutarnjih organa su rijetke iako se s vremenom mogu razviti plućna hipertenzija i intestinalna malapsorpcija. Ovaj oblik bolesti je često povezan s drugim autoimunim bolestima kao što Sjögrenov sindrom ili bilijarna ciroza.<sup>16</sup>

U dcSSc obliku prve promjene obuhvaćaju kožu trupa i proksimalne dijelove ekstremiteta. Protutijela na topoizomerazu I (anti-topo I) su često pozitivna, a često se razvijaju i promjene na plućima, srcu i bubrezima.<sup>17</sup>

Ovakva podjela olakšava stratifikaciju bolesnika prema riziku, ali je utemeljena na uznapredovanim promjenama te onemogućava ranu dijagnozu bolesti čime je ograničen terapijski pristup.<sup>12</sup> Godine 2001. Le Roy i Medsger su predložili revidirane kriterije, uključujući protutijela i kapilaroskopiju, za dijagnozu rane SSc.<sup>18</sup>

#### 1.1.4. Kliničke manifestacije SSc

Klinička slika i razvoj bolesti značajno se razlikuju među pojedincima. Potvrđeno je da je SSc najteži oblik bolesti vezivnog tkiva, a standardizirani omjer mortaliteta je procijenjen na 1,5-7,2.<sup>19</sup> Zahvaćenost pluća, bubrega i srca predstavlja visok rizik mortaliteta osobito ako se javlja unutar prve godine bolesti.<sup>20</sup> Tyndall je sa suradnicima sugerirao da su neovisni čimbenici mortaliteta: proteinurija, plućna arterijska hipertenzija (PAH), restriktivna bolest pluća, dispneja veća od klase NYHA II (prema *New York Heart Association* klasifikaciji), smanjen difuzijski kapacitete pluća (DLco), pojava Raynaudova fenomena u starijoj dobi i veći mRSS (modificirani Rodnanov kožni zbroj).<sup>21</sup> No postoji evidencija o padu mortaliteta u SSc. Prema Steen-u i Medsger-u 10-godišnja kumulativna stopa preživljenja je porasla, od 54% u 70 godinama do 66% u 90 godinama prošlog stoljeća.<sup>22</sup>

Kliničke promjene u SSc mogu se podijeliti na kožne i krvožilne te promjene na unutarnjim organima.

##### 1.1.4.1. Kožne i krvožilne promjene

Iako je SSc klinički raznolika bolest, gubitak elastičnosti kože koju slijedi zadebljanje i tvrdoća kože jedinstveno je obilježje bolesti.<sup>23</sup> Kožne promjene obično počinju netjestastim edemima na prstima ruku. Koža otečenih prstiju zadebljava uzrokujući sklerodaktiliju s posljedičnom fleksijskom kontrakturom proksimalnih interfalangealnih zglobova i izgledom prstiju šake poput pandža. Zahvaćena koža je zadebljana, čvrsta i sjajna uz postupan gubitak kožnih adneksa i atrofiju.<sup>23</sup> Stvaraju se zvjezdasti, trofički ožiljci, a ponavljani napadaji ishemije mogu uzrokovati ulceracije, a nakon toga i akrolizu vrškova prstiju.<sup>24</sup> S vremenom proces ostaje lokaliziran na distalnom dijelu ekstremiteta (lcSSc) ili progredira, šireći se centripetalno prema nadlakticama, prsima, vratu, trbuhu i leđima (dcSSc).<sup>16</sup> Promjene mogu zahvatiti i lice, uključujući usne i frenulum jezika. Tipične promjene na licu su teleangiektazije kože i bukalne sluznice, nos poput kljuna i reducirana oralna apertura (mikrostoma) uz perioralne, radijalne, brazde.<sup>23</sup> Katkad se

moгу pojaviti opsežne supkutane kalcifikacije, napose u bolesnika sa sindromom CREST (prema *calcinosis, Raynaud's phenomenon, esophageal malfunction, sclerodactyly, telangiectasia*) koji se ubraja u vrstu lcSSc.<sup>25</sup> Druge česte kožne manifestacije jesu stvaranje područja hiper i hipopigmentacije kože, dajući joj izgled „sol i papar“, suhoća i svrbež kože te gubitak kose.<sup>23</sup>

Krvožilne promjene u SSc čini proliferacija intime, otok medije, aktivacija trombocita te stvaranje fibrinskih depozita s posljedičnom obliteracijom lumena krvnih žila i ishemijom.<sup>2</sup> U preko 95% bolesnika sa SSc javlja se Raynaud-ov fenomen (RP), hladnoćom izazvan prolazni periferni vazospazam. To je obično prvi i nagovještavajući simptom u SSc. Klinički je obilježen trifazičnim promjenama boje kože okrajina. Na početku atake koža postaje blijeda uslijed gubitka protoka (blijeda ishemija), potom lividna zbog povratka deoksigenirane krvi (cijanoza) i nakon toga nastupa reperfuzija i crvenilo kože (crvena hiperemija).<sup>26</sup> Osnova patofiziologije RP je neravnoteža između snažne vazokonstrikcije i slabih vazodilatacijskih događaja. Poremećena ravnoteže vaskularnog tonusa može biti posljedica endotelne disfunkcije, poremećaja glatkih mišićnih stanica, ali i posljedica djelovanja solubilnih medijatora te disfunkcije autonomnog živčanog sustava. Progresivni gubitak vazodilatacijskog kapaciteta, smanjena fibrinoliza i pojačana koagulacija nesumnjivo doprinose vaskularnoj disfunkciji.<sup>27</sup>

Pretpostavlja se da u SSc postoji i visceralni Raynaud-ov fenomen. Cannon je utvrdio hladnoćom izazvanu hipoperfuziju bubrežnog korteksa,<sup>28</sup> Furst ispade plućne cirkulacije,<sup>29</sup> a hladnoćom izazvanu prolaznu ishemiju miokarda, odnosno srčani Raynaud-ov fenomen (cRP), opisao je Alexander 1986. godine.<sup>30</sup>

#### 1.1.4.2. Promjene na unutarnjim organima

Prognoza SSc prvenstveno ovisi o zahvaćenosti unutarnjih organa. Promjene na unutarnjim organima opisuju se u 80-90% SSc bolesnika.

##### *Gastrointestinalni sustav*

U gotovo polovice bolesnika zahvaćen je gastrointestinalni trakt.<sup>31</sup> Promjene mogu zahvatiti čitav probavni trakt, od usta do anusa. Gastrointestinalne manifestacije nastaju u bolesnika s oba oblika bolesti kao posljedica prekomjerne fibroze. Mogu rezultirati poremećajem motiliteta, digestije, apsorpcije i ekskrecije, a najčešće su zahvaćene 2/3 distalnog dijela jednjaka. Promjene značajno utječu na prognozu i kvalitetu života, a stopa smrtnosti u SSc uslijed gastrointestinalnih manifestacija je 6-12%.<sup>32</sup>

## *Pluća*

U SSc je česta intersticijska bolest pluća koja zajedno s plućnom arterijskom hipertenzijom (PAH) predstavlja vodeći uzrok smrti u ovoj bolesti.<sup>33</sup> Prema autopsijskim studijama abnormalnosti na plućima su prisutne u 70% bolesnika.<sup>34</sup> Najčešći patološki nalaz je fibroza intersticija s destrukcijom malih dišnih putova i bronhiektazijom, zadebljanjem malih intrapulmonalnih arterija i stvaranjem mikrocista.<sup>33</sup> Obično se javlja u bolesnika s dcSSc i prisutnim protutijelima na topoizomerazu I. U bolesnika s intersticijskom fibrozom pluća povećana je učestalost karcinoma alveolarnih stanica kao i bronhogenih karcinoma.<sup>35</sup> Klinički znaci zahvaćenosti pluća su dispneja, neproduktivni kašalj, atipična prsna bol i slabost. Plućni funkcionalni testovi su uz radiološke snimke ključni u dijagnosticiranju i evaluaciji promjena plućnog intersticija. Oštećenje DLco je rani pokazatelj intersticijske bolesti pluća kao i reducirani respiratorni volumeni od kojih se obično koristi forsirani vitalni (FVC). Proporcionalna redukcija FVC i DLco čineći FVC/DLco omjer manjim od 1,6 obično sugerira intersticijsku bolest pluća.<sup>36</sup> Radiološkom snimkom se prikazuje retikularni crtež, najčešće obostrano u donjim bazama pluća, s uzorkom znatog stakla i trakcijskim bronhiektazijama, a kako bolest napreduje opacifikacije se zamjenjuju sačastim plućima. Bolesnici s promjenama na više od 20% volumena pluća imaju proširen oblik plućne bolesti s brzim narušavanjem plućne funkcije i visokim mortalitetom.<sup>37</sup>

Plućna hipertenzija (PH) u SSc bolesnika može biti posljedica intersticijske bolesti pluća ili disfunkcije lijeve klijetke, ali i primarna plućna arterijska hipertenzija (PAH) kao posljedica obliterirajuće plućne arteriopatiije.<sup>38</sup> Faktori rizika teškog oblika PAH su lcSSc, starija dob i povećani plućni arterijski tlak pri prvom pregledu. Na prisutnost PAH ukazuju vrijednosti plućnog arterijskog sistoličkog tlaka (PASP) iznad 35 mmHg i DLco manji od 55%, osobito kada je u disproporciji s FVC ( $FVC/DLco > 1,6$ ).<sup>39</sup> Osjetljivost ehokardiografije u utvrđivanju PH je različita, ovisno o postavljenim graničnim vrijednostima za PASP.<sup>40</sup> Jedini način izravnog mjerenja vrijednosti plućnog arterijskog tlaka je kateterizacija desnog srca. Dijagnoza PH se postavlja kada su vrijednosti srednjeg plućnog arterijskog tlaka iznad 25 mmHg.<sup>41</sup>

## *Bubrezi*

Zahvaćenost bubrega koja se manifestira proteinurijom, azotemijom i/ili hipertenzijom javlja se u 45% bolesnika sa SSc.<sup>42</sup> Karakteristično patohistološko obilježje je koncentrična, subendotelna, intimalna proliferacija malih, arkuatnih i interlobularnih arterija.<sup>43</sup> Funkcionalna

korelacija te strukturne abnormalnosti je redukcija protoka krvi u korteksu koja može biti pogoršana vazospazmom, odnosno visceralnim RP. Sklerodermijska renalna kriza s malignom hipertenzijom i brzoprogresivnom bubrežnom insuficijencijom je specifična komplikacija SSc koja je do prije otkrića ACE-inhibitora, s 85% godišnjim mortalitetom, bila vodeći uzrok smrti.<sup>44,45</sup> Karakteristični prediktori renalne krize jesu starija dob, rana faza difuznog oblika bolesti, brzo progresivne kožne promjene ( $mRSS \geq 20$ ), trudnoća, uvećana sjena srca na radiološkim snimkama, kontraktura velikih zglobova i primjena glukokortikoida.<sup>46</sup>

#### *Srce*

U SSc mogu biti zahvaćene sve srčane strukture i očitovati se bolešću miokarda, perikarda i srčanih zalisaka te poremećajima ritma i provođenja.<sup>47</sup> Klinička prevalencija kardijalne manifestacije SSc je 15-35% te predstavljaju loš prognostički znak.<sup>48-50</sup>

#### *Neuromuskularni sustav*

Mišićne promjene u SSc su obilježene slabošću mišića, a miopatski se simptomi javljaju u 80% bolesnika često s normalnim vrijednostima kreatin fosfokinaze. S druge strane, neki bolesnici razviju miozitis karakteriziran mišićnom slabošću proksimalnih mišića i povećanjem mišićnih enzima koji su identični polimiozitisu (sindrom preklapanja).<sup>51</sup>

Od neuroloških simptoma opaža se sindrom karpalnoga tunela i neuralgija.<sup>52</sup>

#### 1.1.5. Liječenje SSc

SSc je kompleksna autoimuna bolest o čijoj patogenezi nema potpunih saznanja. Raznolikost kliničke slike, niska prevalencija bolesti te nedostatak objektivnih pokazatelja aktivnosti bolesti i biomarkera uzrok su malom broju ranijih intervencijskih studija.

Lijekovi koji modificiraju tijek bolesti (DMARD), a koriste se u liječenju drugih reumatskih bolesti, rabe se sporadično u liječenju SSc. Nemajući definirane bolest-modificirajuće lijekove koji bi bili usmjereni na patogenezu bolesti i globalnu manifestaciju SSc, liječenje je usmjereno na zahvaćenost pojedinih organa (tbl. 2). S obzirom na raznolik i nepredvidljiv klinički tijek bolesti liječenje mora biti individualizirano za svakog bolesnika.<sup>53</sup> Ovakav pristup u liječenju doveo je do značajnog poboljšanja kvalitete života te smanjenja morbiditeta i mortaliteta u SSc,<sup>54</sup> prvenstveno djelovanjem na sklerodermijsku renalnu krizu i PAH.<sup>45</sup>

Uz neselektivnu imunoterapiju djelovanje DMARD postoji mogućnost imunoterapije usmjerene na limfocite T ili B, odnosno stanične ili biološke imunoterapije.<sup>55</sup>

Tablica 2. Farmakoterapija u SSc

Manifestacije bolesti	Farmakoterapija
Raynaud-ov fenomen	Blokatori kalcijevih kanala, inhibitori fosfodiesteraze (sildenafil), analog prostaciklina (iloprost)
Digitalne ulceracije	Bosentan, statini, iloprost, acetilsalicilna kiselina
Sklerodermijska renalna kriza	ACE-inhibitori uz blokatore kalcijevih kanala i dodatak beta adrenergičkih blokatora ili parenteralna primjena nitrata za kontrolu arterijskog tlaka
Dismotilitet jednjaka	Inhibitori protonske pumpe
Usporeno pražnjenje želuca	Pro-motilitetni lijekovi (metoklopramid, eritromicin)
Dismotilitet crijeva	Oktreotid, antibiotici
Arterijska hipertenzija i bolesti srca	Blokatori kalcijevih kanala, ACE-inhibitori
Progresivna fibroza pluća	Ciklofosfamid, mikofenolat mofetil
Plućna arterijska hipertenzija	Analog prostaciklina (epoprostenol, treprostiril, iloprost), antagonist endotelinskih receptora (bosentan, sitaksentan, ambrisentan), inhibitori fosfodiesteraze (sildenafil)
Artritis	DMARD (hidroksiklorokin, metotreksat, sulfasalazin)
Osteoporoza	Kalcij, vitamin D, bisfosfonati

Iako se tijekom posljednjih godina intenzivno razmatra mogućnost liječenja SSc bolesnika transplantacijom koštane srži, dosadašnja su iskustva utemeljena na nekontroliranim kliničkim istraživanjima i/ili sporadičnim slučajevima. Prava potvrda terapijske učinkovitosti transplantacije koštane srži u liječenju bolesnika sa SSc očekuje se po završetku multicentričnog kliničkog istraživanja u SAD (US SCOT, *Scleroderma Cyclophosphamide or Transplant*) i Europi (ASTIS, *Autologous Stem-cell Transplantation International Scleroderma*).<sup>56</sup>

## 1.2. Serološki pokazatelji SSc

Antinuklearna protutijela (ANA) su pozitivna u više od 95% SSc seruma i povezana su sa specifičnim subtipovima bolesti. I dalje postoje rasprave radi li se o biomarkerima ili sudionicima patogeneze ove bolesti.<sup>12</sup> Iako njihova definitivna uloga u patogenezi SSc nije poznata, pojedina ANA određuju klinička obilježja, razvoj i težinu bolesti.<sup>57</sup> ANA reagiraju protiv različitih intracelularnih komponenti. Stvaranje specifičnog protutijela je ekskluzivno te jedan bolesnik rijetko ima dva ili više tipova ANA. Kada nastane, protutijelo ostaje prisutno

cijelo vrijeme bolesti, a druga se obično ne stvaraju.<sup>58</sup> Protutijela na topoizomerazu I (ranije anti Scl-70) i anticentromerna protutijela (ACA) jesu klasična ANA nađena u SSc.

Protutijela na topoizomerazu I prvi put su opisana 1979. godine. Prepoznaju jezgrin enzim, DNK topoizomerazu I.<sup>59</sup> Prosječno su prisutna u 40% bolesnika, odnosno u 28-70% bolesnika sa SSc ovisno o etničkoj pripadnosti.<sup>58</sup> U dcSSc su prisutna u 40% bolesnika te u manje od 10% bolesnika s lcSSc.<sup>58</sup> Koegzistencija s ACA je rijetka, tek u oko 0,5% SSc bolesnika.<sup>60</sup> Ova protutijela su gotovo patognomonična za SSc, rijetko se nalaze u drugim bolestima, povezana su s difuznom zahvaćenošću kože ili ranim razvojem intersticijske bolesti pluća.<sup>58</sup> Neki izvještaji govore i o povećanom riziku nastanka maligne bolesti u SSc bolesnika s prisutnim protutijelima na topoizomerazu I.<sup>61</sup> Iako su pojedina istraživanja pokazala da je razina anti-topoizomeraze I povezana sa stupnjem aktivnosti bolesti i kožnim promjenama, a seronegativna konverzija rezultira remisijom bolesti, većina autora drži da titar ovih protutijela nije sukladan stupnju aktivnosti bolesti.<sup>62</sup>

Anticentromerna (ACA) protutijela prisutna su u oko 20-30% bolesnika, ovisno o etničkoj pripadnosti.<sup>63</sup> Prvi put ih je opisao Moroi sa suradnicima 1980. godine.<sup>64</sup> Ova protutijela reagiraju s proteinskim antigenima lociranim u kinetokornoj regiji kromosoma i značajno su povezana s limitiranim kožnim promjenama, perifernim vaskularnim promjenama i kalcinozom. Prediktor su razvoja plućne hipertenzije, ali ne i plućne fibroze.<sup>65</sup> Kada su ACA prisutna u bolesnika s Raynaud-ovim fenomenom predskazatelj su lcSSc. Titar ACA je uglavnom stabilan u bolesti i nije povezan sa stupnjem aktivnosti bolesti.<sup>49,66</sup>

Pored ANA u SSc su prisutna i antinukleolarna protutijela. Anti RNK polimeraza I se nalazi u bolesnika sa SSc koji imaju veću prevalenciju bolesti bubrega ili srca.<sup>67</sup> Anti PM-Scl, prije označena kao anti-PM, može se naći u bolesnika sa SSc, polimiozitisom i bolesti bubrega.<sup>68</sup> Anti-U3 nukleolarna RNP su također visoko specifična za SSc, češća su u afro-amerikanaca i povezuje ih se s bolešću skeletnih mišića i plućnom arterijskom hipertenzijom.<sup>57</sup> Visok titar anti-RNP prisutan je u bolesnika koji pokazuju značajke miješane bolesti vezivnog tkiva. Anti-SS-A i/ili anti-SS-B su prisutna u bolesnika sa sindromom preklapanja SSc i Sjögrenova sindroma.<sup>69</sup> U približno polovice bolesnika nalazi se hipergamaglobulinemija koja nastaje pretežno na račun IgG, a u 25% pacijenata prisutan je reumatoidni faktor u niskom titru.<sup>59</sup>



### 1.3. Citokini u SSc

Naziv citokin izveden je iz dvije riječi grčkog podrijetla "cytos", što znači stanica, i "kinein", što znači micati se. Citokini su polipeptidi i glikoproteini koji u normalnim uvjetima, djelujući na autokrini ili parakrini način preko membranskih specifičnih receptora, sudjeluju u prijenosu fizioloških odgovora. Djeluju kao humoralni medijatori upalnog odgovora utječući na aktivnost stanica i tkiva tijekom normalnih i patoloških uvjeta. Njih prvenstveno stvaraju mononuklearni fagociti i limfociti te zapravo sve stanice s jezgrom. Tradicionalno se dijele na proupalne i antiupalne citokine. Kako citokini imaju pleiotropni učinak često se koristi Th1/Th2 klasifikacija prema subpopulaciji pomoćničkih (CD4+) limfocita koje ih luče. Tako se razlikuje Th1 grupa (INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-2 i IL-12) i Th2 grupa (IL-4, IL-13, IL-5, IL-6 i IL-10) citokina.<sup>70</sup> Neravnoteža između pomoćničkih limfocita u korist Th2 limfocita te povezanost Th2 citokina s proširenošću fibroze i zahvaćenošću organa jedno je od obilježja patogeneze SSc.<sup>14</sup>

#### 1.3.1. Interleukin-6

Jedan od Th2 interleukina je i interleukin (IL)-6. IL-6 je pleiotropni citokin s višestrukim biološkim učinkom na imunoregulaciju, hematopoezu, upalu i onkogenezu, a smatra se i važanim citokinom u imunopatogenezi SSc.<sup>71-73</sup>

Ovaj interleukin je glikoprotein molekularne mase 21-28 kDa, ovisno o glikozilaciji, sa strukturom od četiri dvostruke uzvojnice. Luče ga različite limfoidne i nelimfoidne stanice: limfociti T i B, monociti, fibroblasti, keratinociti, endotelne i mezangijske stanice te nekoliko vrsta tumorskih stanica. U početku je bio prepoznat kao interferon- $\beta$ 2, 26K faktor, B-stanični stimulirajući faktor 2, faktora rasta hibridoma, hepatocit stimulirajući faktor, hematopoetski faktor i diferencirajući faktor citotoksičnih T limfocita. Kada je uočeno da svi ti nazivi određuju biološku aktivnost jednog proteina nazivi su ujedinjeni u interleukin-6.<sup>75</sup> Sustav signalizacije IL-6 je složen. Specifični receptor IL-6 (IL-6R) prisutan je samo na hepatocitima, monocitima te inaktivnim formama T i B limfocita. U postizanju svog učinka IL-6 zahtjeva prisutnost ko-receptora, 130 kDa membranskog glikoproteina (gp130). Vezanjem IL-6 na membranski IL-6R nastupa mobilizacija i stvaranje kompleksa intracelularne regije s dvije gp130 molekule uz posljedičnu aktivaciju intracelularnog prijenosa podataka putem Janus kinaza (JAK1 i JAK2), a potom fosforilaciju transkripcijskog proteina STAT3. Fosforilacijom STAT3 stvara se njegov homodimer koji se translocira u jezgru i aktivira transkripciju ciljnih gena. Taj proces se naziva

klasičnim putem IL-6 signalizacije koji je glavni način prijenosa podataka u ranom imunološkom odgovoru te stvaranju proteina akutne upale u hepatocitima.<sup>75</sup>

Međutim, učinak IL-6 može se ostvariti i na stanicama bez IL-6R ukoliko izražavaju signalizacijsku podjedinicu gp 130. Pored IL-6R vezanog na staničnoj membrani postoji solubilni oblik receptora IL-6 (sIL-6R). On nastaje proteolitičkim cijepanjem IL-6 receptora s površine neutrofila, a oslobađanje se regulira putem dva neovisna procesa. Jedan je posredovan metaloproteinazom (većinom ADAM17), a drugi alternativnim prekrajanjem gena.<sup>76</sup> Vezanjem sIL-6R s IL-6 formira se kompleks (IL-6/sIL-6R) koji se veže na gp130, prisutan na brojnim stanicama uključujući endotelne stanice i fibroblaste. Nakon toga započinje kaskada intracelularnog prijenosa podatak. Taj se mehanizam naziva IL-6 trans-signalizacija i važan je u kroničnim upalnim zbivanjima i različitim formama karcinoma. Upravo postojanje solubilnog receptora sugerira pleiotropni učinak IL-6.<sup>75</sup>

Razina IL-6 je niska u zdravih ljudi. Ekspresija gena ovog citokina se brzo inducira kao odgovor na upalu, traumu ili drugo stresno stanje, osobito u monocitima i makrofazima djelovanjem endotoksina, IL-1, tumor nekrotizirajućeg faktora (TNF)- $\alpha$ , trombocitnog faktora rasta (PDGF) i interferona (INF). Dosadašnje studije su utvrdile da je fiziološka razina IL-6 nužna kako bi se upalni odgovor čuvao u pripravnosti te kako bi se regulirao metabolizam glukoze i lipida.<sup>77</sup>

### 1.3.2. IL-6 u SSc

IL-6 ima važnu ulogu u započinjanju i održavanju kroničnog upalnog odgovora, autoimunog zbivanja te aktivaciji endotela i fibroblasta što predstavlja centralno zbivanje u SSc. Brojnim studijama je dokazano da je razina IL-6 povećana u kulturama dermalnih fibroblasta i u serumu bolesnika sa SSc.<sup>71,73,78-82</sup> U kulturama fibroblasta utvrđeno je trideset puta veće stvaranje IL-6 u odnosu na kontrolne kulture, kao i brži odgovor fenotipski jednakih fibroblasta na djelovanje ovog citokina.<sup>82</sup> Dokazano je i da kultivirane mononuklearne stanice iz periferne krvi luče veću količinu IL-6 i sIL-6R.<sup>83</sup> Razina IL-6 osobito je povećana u ranoj fazi bolesti,<sup>79</sup> iako su imunocitokemijske studije pokazale da razina ovog citokina može biti povećana u zahvaćenom tkivu i u kasnijoj fazi bolesti kada se izgube drugi proupalni citokini.<sup>80</sup> Tvrdi se da je IL-6 povezan s prisutnošću anti-topoizomeraza I protutijela te da pozitivno korelira s težinom kožnih promjena, a povezuje ga se s fibrozom pluća i plućnom hipertenzijom.<sup>73,81</sup> Prema studiji Khana,

povišena ekspresija IL-6 u trenutku dijagnosticiranja dSSc povezana je s težim oblikom kožnih promjena i lošijom dugoročnom prognozom.<sup>80</sup>

U patogenezi SSc centralnu ulogu imaju aktivacija i apoptoza endotelnih stanica.<sup>13,14</sup> Na životinjskim modelima SSc potvrđeno je da rana apoptoza endotelnih stanica prethodi infiltraciji upalnih stanica i razvoju fibroze.<sup>84</sup> Važnost ozljede endotela u patogenezi SSc potvrdila je i povećana razina cirkulirajućih endotelnih stanica u serumu bolesnika koja je bila u korelaciji s indeksom aktivnosti bolesti.<sup>85</sup> Nedavno je dokazano da serum SSc bolesnika u prisustvu neutrofila, kao mogućeg izvora sIL-6R, potiče aktivaciju i apoptozu endotelnih stanica upravo putem IL-6 trans-signalizacije.<sup>86</sup> Kako endotelne stanice nemaju IL-6R njihov je odgovor na IL-6 moguć samo ukoliko je citokin povezan sa solubilnim IL-6 receptorom.<sup>75</sup> Aktivacija endotelnih stanica putem trans-signalizacije rezultira pojačanom ekspresijom međustaničnih i vaskularnih adhezijskih molekula (ICAM-1 i VCAM-1), oslobađanjem kemokina i IL-6 te tkivnog inhibitora metaloproteinaza (TIMP). Ovaj tkivni inhibitor smanjuje razgradnju matriksa djelujući na matriks metaloproteinazu (MMP) pa dolazi do pojačanog odlaganja kolagena tip I.<sup>87</sup> Oslobođeni IL-6 djeluje i na limfocite B, promovirajući diferencijaciju plazma stanica i produkciju protutijela, čime se može objasniti u SSc često viđena poliklonska ekspanzija limfocita B i hipergamaglobulinemija.<sup>87,88</sup> Lučenjem IL-6 limfociti B remete ravnotežu pomoćničkih limfocita T u korist Th2 limfocita. Th2 limfociti oslobađanjem medijatora, a među njima i IL-6, potiču prekomjernu aktivnost fibroblasta.<sup>89</sup> Aktivirani fibroblasti se diferenciraju u miofibroblaste te pojačano sintetiziraju kolagen, glikozaminoglikan, tkivni inhibitor metaloproteinaze-1 (TIMP-1) i IL-6 s posljedičnim remodeliranjem izvanstaničnog matriksa.<sup>14</sup>

U SSc modelima miševa djelovanjem mišjeg anti-CD20 monoklonskog protutijela izazvana je deplecija limfocita B s uspostavljanjem Th1 i Th2 ravnoteže i regresijom fibroze kože.<sup>89</sup>

I u bolesnika sa SSc i progresivnim kožnim promjenama, refraktornim na liječenje ciklofosfamidom, deplecija limfocita B izazvana djelovanjem anti-CD20 monoklonskog protutijela rezultirala je poboljšanjem kožnih promjena i popratnim smanjenjem serumske razine IL-6.<sup>90</sup> Stoga bi blokiranje IL-6, a osobito IL-6 trans-signalizacije moglo imati vrijednu ulogu u liječenju ove bolesti koja nema terapijskih opcija usmjerenih direktno na patogenetski mehanizam.<sup>55</sup> Trenutno dostupan lijek tocilizumab (anti-IL6R monoklonsko protutijelo) djeluje na oba puta IL-6 signalizacije. Primjena ovog lijeka prikazana je u dva bolesnika s dcSSc i rezultirala je smanjenjem kožnog zadebljanja, odnosno redukcijom kolagena u biopstatima kože.<sup>91</sup>

#### 1.4. Bolesti srca u SSc

U SSc mogu biti izmjenjene sve srčane strukture. U većine bolesnika promjene su nemanifestne (subkliničke), a klinički evidentne promjene predstavljaju loš prognostički znak. Bolesnici s jasnom kliničkom slikom kardijalne manifestacije SSc imaju povećani rizik od naglog kliničkog pogoršanja i smrti.<sup>50</sup> Promjene na srcu mogu biti primarne ili sekundarne, posljedica drugih manifestacija SSc kao što su plućna arterijska hipertenzija, intersticijska bolest pluća, bolest bubrega, odnosno arterijska hipertenzija.<sup>47</sup> Iako se nastoji razlučiti primarni i sekundarni tip bolesti, sve se više govori o koegzistenciji oba oblika srčanih promjena.<sup>92</sup>

##### 1.4.1. Epidemiologija srčanih promjena u SSc

Prevalencija sveukupne bolesti srca u SSc je raznolika s obzirom na primjenu različitih metoda dijagnosticiranja u kliničkim studijama. Klinički simptomi zatajivanja srca u većine bolesnika predstavljaju kasni događaj. Elektrokardiogram i radiološka snimka na kojima su se temeljile ranije studije neosjetljive su metode, dok ehokardiografija, osobito metode tkivnog Dopplera (TDI), te jednofotonska emisijska tomografija (SPECT), radionuklidna ventrikulografija i magnetska rezonanca (MR) dozvoljavaju detekciju ranijih funkcionalnih i strukturnih promjena na srcu.<sup>93</sup>

Prema dosadašnjim studijama učestalost reducirane LVEF,<sup>94</sup> kliničkih manifestacija,<sup>48,49</sup> abnormalne sistoličke i dijastoličke funkcije<sup>95</sup> te abnormalnih rezultata perfuzije talijem<sup>96</sup> je 5,4%, 15-35%, 40-60%, odnosno >60-70%, a u studijama u kojima je korištena MR 75% bolesnika je imalo barem jednu abnormalnost na srcu.<sup>97</sup> Učestalost promjena na MR zabilješkama bila je gotovo jednaka onoj u autopsijskim studijama gdje je u 48-81% bolesnika sa SSc potvrđena lezija pri analizi histoloških preparata.<sup>97,98</sup> Iako neke studije spominju mogućnost učestalijih promjena na srcu u bolesnika s dcSSc,<sup>94</sup> većina istraživača naglašava podjednaku učestalost zahvaćenosti srca, neovisno o obliku bolesti.<sup>99</sup> Tijekom desetogodišnjeg praćenja promjenama na srcu je objašnjena smrt u 20% SSc bolesnika, osobito u prvih pet godina bolesti.<sup>48</sup> U talijanskoj studiji ove su promjene bile odgovorne za 36% smrtnih ishoda,<sup>49</sup> a u mađarskoj su studiji kardiopulmonalne komplikacije bile uzrokom 65% smrtnih ishoda.<sup>100</sup> Iako se posljednjih godina ukupna prognoza bolesnika sa SSc poboljšala, udio smrti uslijed bolesti srca nije se značajnije izmijenio.<sup>54</sup> Rano otkrivanje i liječenje bolesti srca je važno u SSc

bolesnika te se ehokardiografija uz metode tkivnog Doppler drži ključnom u procjeni srčane funkcije i redovitom nadzoru ovih bolesnika.

#### 1.4.2. Kardiomiopatija u SSc

Na zatajivanje srca kao mogući uzrok smrti u bolesnika sa SSc prvi put je ukazao Heine 1926. godine.<sup>101</sup> Ožiljne promjene miokarda „neobičnog tipa“ koje nisu bile povezane s koronarnom bolešću prepoznao je kao posebni entitet i povezao sa sklerodermom Weiss 1943. godine.<sup>101</sup> Godine 1969. D'Angelo je sa suradnicima objavio prvu kontroliranu autopsijsku studiju na većem broju SSc bolesnika. Oni su utvrdili da je fibroza miokarda učestalija u bolesnika sa SSc u odnosu na kontrolnu skupinu.<sup>34</sup> U početku se smatralo da su promjene srca u ovoj bolesti relativno rijetke te da su posljedica plućnih i bubrežnih promjena.<sup>102</sup> Godine 1976. Bulkley je sa suradnicima ukazao na primarnu bolest miokarda u SSc kao definirani patološki entitet koji može dovesti do klinički signifikantne disfunkcije srca.<sup>103</sup>

##### 1.4.2.1. Patohistološko obilježje kardiomiopatije u SSc

Glavno obilježje srčanih promjena u SSc je fibroza miokarda. Tipični patološki nalaz uključuje fokalnu nekrozu kontrakcijskih vlakana, plakove miokardijalne fibroze, normalne epikardijalne koronarne arterije i koncentričnu intimalnu hipertrofiju arteriola.<sup>49</sup> Za razliku od promjena u aterosklerotskoj koronarnoj bolesti, u SSc je fibroza krpasta, difuzna i raspršena podjednako u miokard oba ventrikula, neovisno o distribuciji epikardijalnih koronarnih arterija. Fibroza se često širi do u sam subendokardijalni sloj, tipično pošteđen u aterosklerotskoj bolesti, a depoziti hemosiderina koji se obično prikazuju u aterosklerozi nisu nađeni u miokardu bolesnika sa SSc.<sup>98,103</sup>

##### 1.4.2.2. Etiopatogeneza kardiomiopatije u SSc

Vodeći patomehanizam kardiomiopatije u SSc je mikrovaskularno oštećenje.<sup>47</sup> Brojnim studijama se dokazalo da su prolazne opstrukcije uslijed vazospazma intramiokardijalnih arterija odgovorne za fokalno, intermitentno, ali progresivno ishemijsko oštećenje te fibrozu miokarda.<sup>104,105</sup> Kada je 1984. godine bolesnicima sa SSc i perfuzijskim ispadima miokarda u opterećenju nađen normalan angiogram koronarnih arterija posumnjalo se da je poremećaj perfuzije posljedica povećanog otpora na razini mikrocirkulacije ili intersticija miokarda.<sup>104</sup>

Sumnja je potvrđena studijom Kahana i sur. koji su dokazali da se perfuzija miokarda može poboljšati primjenom nifedipina.<sup>105</sup> Za razliku od ranijih ispitivanja koja su sugerirala fiksne i ireverzibilne smetnje perfuzije miokarda u bolesnika sa SSc, ova istraživanja su potvrdila da su ograničenja protoka vazospastična te da se normaliziraju primjenom vazodilatatora.<sup>47</sup> Tih godina su objavljene i studije u kojima su hladnoćom uzrokovane perfuzijske abnormalnosti miokarda u SSc bolesnika,<sup>106,107</sup> ali ne i u bolesnika s drugim sustavnim reumatskim bolestima u kojih je također prisutan Raynaud-ov fenomen.<sup>107</sup> Iz opisa istovremenog poremećaja perfuzije i funkcije miokarda izazvanog hladnoćom proizlazi zaključak da refleksna koronarna vazokonstrikcija rezultira prolaznom ishemijom i disfunkcijom miokarda te da kronične, ponavljane epizode vazospazma uzrokuju fibrozu miokarda.<sup>30</sup> To je osnov teorije Raynaud-ovog fenomena u srcu, odnosno prolaznog poremećaj perfuzije i funkcije lijevog ventrikula djelovanjem hladnoće.<sup>108</sup> Povezanost Raynaud-ovog fenomena srca (cRP) s trajnim posljedicama na sistoličku funkciju i remodeliranje lijevog ventrikula potvrdio je Mizuno sa suradnicima.<sup>109</sup> Oni su zaključili da su nekroza kontrakcijskih vlakana i popratna difuzna fibroza posljedica ponavljanih, jakih i dugotrajnih ishemija miokarda uslijed srčanog Raynaud-ovog fenomena, a da nepostojanje cRP ima snažan protektivni učinak.<sup>109</sup>

Smatra se da su mikrovaskularne lezije uz aktivaciju endotela, vjerojatno prvi i najvažniji događaj koji prethodi ostalim patološkim promjenama.<sup>110</sup> Vazospazam malih koronarnih arterija i arteriola reverzibilno narušava perfuziju i funkciju miokarda, a potom dolazi do strukturnih promjena žila koje su ireverzibilne i u konačnici dovode do fibroze miokarda.<sup>110</sup>

#### 1.4.2.3. Kliničke manifestacije kardiomiopatije u SSc

U SSc promjene miokarda mogu biti subkliničke, očitujući se samo regionalnom ili u naporu potaknutom disfunkcijom, ali i uzrok mijenjanja brzina utoka u ventrikule i reducirane globalne sistoličke funkcije oba ventrikula.<sup>47</sup>

#### 1.4.2.4. Sistolička i dijastolička disfunkcija lijevog ventrikula u SSc

Zatajivanje srca u SSc može biti akutno, s brzim padom istisne frakcije, ili kronično s reduciranom ili očuvanom sistoličkom funkcijom. Analizom EUSTAR-ove baze podataka utvrđeno je da su muški spol, dob bolesnika, zahvaćenost skeletnih mišića i digitalne ulceracije

nezavisni prediktori sistoličke disfunkcije lijevog ventrikula,<sup>94</sup> dok su Hinchcliff i suradnici potvrdili povezanost dijastoličke disfunkcije lijevog ventrikula s trajanjem bolesti.<sup>111</sup>

Klinička slika akutnog zatajivanja srca je rijetka u SSc. Opisana u pojedinim prikazima akutnog miokarditisa povezana je s visokim mortalitetom. U dijagnosticiranju miokarditisa i razlikovanju od fibrozne SSc kardiomiopatije korisna je MR metoda *late gadolinium enhancement*,<sup>112</sup> dok je za potvrdu mogućeg virusnog miokarditisa potrebna biopsija miokarda.<sup>113</sup>

Snižena istisna frakcije lijevog ventrikula u SSc bolesnika bila je niske prevalencije u većini istraživanja, što je u nesrazmjeru s podacima histoloških studija. Dok je u multicentričnoj francuskoj studiji prevalencija sistoličke disfunkcije bila 1,4%,<sup>115</sup> odnosno 5,4% u EUSTAR-ovom registru,<sup>94</sup> Fernandes je našao abnormalne depozite kolagena u 94% bioptata miokarda SSc bolesnika.<sup>114</sup> Mogući razlog ovog nesrazmjera jesu segmentalne promjena miokarda u SSc, a s time i nedovoljna osjetljivost utvrđivanja sistoličke disfunkcije mjerenjem globalne istisne frakcije. Drugi mogući uzrok je adrenergička hiperaktivnost u SSc bolesnika.<sup>116</sup> Primjenom novijih ehokardiografskih metoda u kliničkim istraživanjima pokazalo se da je sistolička disfunkcija lijevog ventrikula česta (14-58%) pa i u bolesnika bez kliničkih manifestacija zatajivanja srca<sup>95,117</sup> kao i u onih s očuvanom globalnom istisnom frakcijom.<sup>118</sup>

Dijastolička disfunkcija, odnosno nesposobnost lijevog ventrikula da u dijastoli primi potrebnu količinu krvi iz atrija i plućnih vena bez porasta tlaka punjenja, relativno je česta u ovoj bolesti (27-60%).<sup>95,115,117,118</sup> Neki je smatraju glavnim obilježjem sklerodermijskog srca.<sup>115</sup> Iako u SSc dijastolička disfunkcija lijevog ventrikula može biti posljedica sistemske ili plućne hipertenzije, hipertrofije lijevog ventrikula i bolesti perikarda,<sup>119</sup> većina studija je pokazala da je dijastolička disfunkcija prvenstveno posljedica primarne fibroze miokarda, odnosno mikrovaskularne ishemije.<sup>95,117</sup> Važno obilježje dijastoličke disfunkcije u SSc je da se ona javlja unatoč normalnoj debljini stijenki lijevog ventrikula, odnosno da nije povezana s hipertrofijom ventrikula.<sup>120</sup> Iako je dijastolička funkcija miokarda osjetljivija na ishemiju i promjene ekstracelularnog matriksa, metodom PW-TDI je utvrđeno istovremeno postojanje regionalne sistoličke i dijastoličke disfunkcije miokarda u SSc.<sup>95,118,121</sup>

#### 1.4.2.5. Sistolička i dijastolička disfunkcija desnog ventrikula u SSc

Podatci o tipu i točnoj prevalenciji disfunkcije desnog ventrikula su rijetki, dijelom zbog nepostojanja osjetljive dijagnostičke metode, a dijelom zbog složenog oblika ovog ventrikula.

Disfunkcija desnog ventrikula može biti posljedica plućne arterijske hipertenzije i tlačnog opterećenja<sup>121</sup> ili primarna bolest neovisna o plućnoj hipertenziji.<sup>97</sup> Meune i suradnici su radionuklidnom ventrikulografijom utvrdili oštećenje funkcije desnog ventrikula (reduciranu RVEF) u 38,2% bolesnika u ranoj fazi SSc, neovisno o tipu bolesti. Istisna frakcija desnog ventrikula bila je u korelaciji sa sistoličkom i dijastoličkom funkcijom lijevog ventrikula, a nije bila povezana s fibrozom pluća ili plućnim arterijskim tlakom.<sup>122</sup> I u ehokardiografskim studijama sistolička brzina trikuspidalnog prstena nije bila u korelaciji s PASP i disfunkcijom pluća već je bila povezana sa sistoličkom brzinom mitralnog prstena,<sup>95</sup> dok je Hachulla u presječnoj studiji korištenjem MR utvrdio dilataciju desnog ventrikula u 17% bolesnika bez plućne hipertenzije.<sup>97</sup> Ovim rezultatima je podržana hipoteza o intrizičkoj, primarnoj bolesti miokarda u SSc.

Veća učestalost dijastoličke disfunkcije desnog ventrikula u SSc bolesnika je potvrđena s nekoliko ehokardiografskih studija.<sup>123,124</sup> Javlja se neovisno o obliku bolesti, a u korelaciji je s PASP kao i s dijastoličkom disfunkcijom lijevog ventrikula.<sup>123,124</sup> Slično dijastoličkoj disfunkciji lijevog ventrikula u studiji Giunta i sur. abnormalnosti punjenja desnog ventrikula (inverzni E/A omjer) postojale su i bez hipertrofije desnog ventrikula u 40% bolesnika.<sup>123</sup> Metodom PW-TDI otkrivena je i prisutnost izolirane dijastoličke disfunkcije desnog ventrikula u pojedinih SSc bolesnika što bi se moglo objasniti većom osjetljivošću desnog ventrikula na susutavne utjecaje.<sup>124</sup> S obzirom da ne postoje patohistološki izvještaji o asimetričnoj SSc kardiomiopatiji, već su fibrozne promjene raspršene u oba ventrikula, vjerojatnije je da se radilo o posljedici poremećaja plućne hemodinamike, odnosno latentne plućne hipertenzije u osnovi koje je Raynaud-ov fenomen plućnog krvožilja.<sup>29,124</sup>

#### 1.4.2.6. Liječenje SSc kardiomiopatije

Liječenje SSc kardiomiopatije usmjereno je na zaustavljanje progresije fibroze srca. Dokazano je da angiotenzin II utječe na aktivnost fibroblasta i sintezu kolagena stimuliranjem ekspresije transformirajućeg faktora rasta (TGF) $\beta$ -1 u srčanom mišiću.<sup>125</sup> SSc bolesnici koji primaju ACE-inhibitore i blokatore angiotenzinskih receptora imaju bolje očuvanu dijastoličku funkciju u odnosu na one koji nisu primali ove lijekove.<sup>126</sup> Iako blokatori kalcijevih kanala poboljšavaju perfuziju miokarda,<sup>94</sup> njihov utjecaj na dijastoličku funkciju lijevog ventrikula nije dokazan.<sup>111</sup> Međutim zna se da blokatori kalcijevih kanala poboljšavaju funkciju desnog ventrikula,



vjerojatno snižavanjem tlačnog opterećenja i porastom simpatičkog tonusa, a manje vjerojatno poboljšanjem intrizičke funkcije miokarda.<sup>123</sup>

#### 1.4.3. Koronarna bolest u SSc

Brojne studije govore u prilog preuranjene i ubrzane ateroskleroze u upalnim reumatskim bolestima.<sup>127</sup> Za razliku od bolesti malih krvnih žila, prevalencija koronarne i cerebrovaskularne bolesti u SSc nije još dovoljno istražena. S obzirom da endotelna disfunkcija, prepoznata kao rani pokazatelj ateroskleroze,<sup>128</sup> ima važnu ulogu u patogenezi SSc ovi bi bolesnici mogli imati predispoziciju za rani razvoj ateroskleroze.<sup>129,130</sup> Međutim, rane autopsijske studije su pokazale da aterosklerotska koronarna bolest nije česta u bolesnika sa SSc,<sup>98</sup> a pojedini slučajevi infarkta miokarda opisivani su u ovih bolesnika bez okluzije epikardijalnih arterija.<sup>34,103</sup> Ni do danas nema velikih studija kojima bi se prikazala prevalencije koronarne bolesti SSc bolesnika. Akram i kolege su u retrospektivnoj studiji, bez kontrolne skupine, utvrdili koronarnu bolest u 22% SSc bolesnika što s obzirom na dob, spol i kliničku sliku nije bilo češće nego što bi se očekivalo u općoj populaciji.<sup>131</sup> Najčešći nalazi koronarografskih studija su: tortuoziteti (55%), kalcifikacije (33%), stenozе (20%), ektazije i usporen protok (20%) i spazam (<10%) dok je infarkt miokarda opisan u oko 1,09% SSc bolesnika.<sup>132</sup> Iako je prevalencija koronarne bolesti niska, određivanjem kalcijskog zbroja koronarnih arterija je utvrđeno da SSc bolesnici imaju 11 puta povećani rizik umjerene do teške kalcifikacije koronarnih arterija.<sup>133</sup>

#### 1.4.4. Bolesti perikarda u SSc

U SSc su opisani različiti oblici bolesti perikarda uključujući akutni perikarditis, restriktivni perikarditis i perikardni izljev.<sup>101</sup> Promjene perikarda su na obdukcijama bile prisutne do u 78% bolesnika, dok su simptomatske promjene opisane u 5-16% bolesnika.<sup>134</sup> Najčešće se radilo o manjim asimptomatskim izljevima.<sup>101</sup> Veći perikardni izljev bio je pokazatelj lošeg ishoda.<sup>135</sup> Patogeneza bolesti perikarda u SSc nije u cijelosti poznata. Premda se smatra primarnim zbivanjem obilježenim kroničnim upalnim promjenama i povećanim stvaranjem fibroznog tkiva, povezuje se sa zatajivanjem srca, uremijom (sklerodermijskom renalnom krizom) i plućnom hipertenzijom.<sup>134</sup> U slučaju hemodinamski značajnog izljeva nužna je perikardiocenteza, no u većini slučajeva dovoljno je samo ehokardiografsko praćenje.

#### 1.4.5. Bolesti srčanih zalistaka u SSc

Do ehokardiografskih studija, autopijske studije su pokazivale da su zalisci relativno rijetko zahvaćeni u SSc.<sup>110</sup> Nodularna zadebljanja mitralnog zalistka nađena su u 38% obduciranih bolesnika, kao i skraćene korde tendinee te vegetacije mitralnih i trikuspidalnih zalistaka.<sup>34</sup> U Meunovoj presječnoj studiji veći broj SSc bolesnika imao je insuficijenciju mitralnog zalistka (48%), dok je 18% bolesnika imalo insuficijenciju aortnog zalistka. Najčešće se radilo o blagim oblicima insuficijencije koji su bili povezani s dobi bolesnika.<sup>95</sup>

#### 1.4.6. Poremećaji ritma i provođenja u SSc

Palpitacije, sinkope i iznenadna srčana smrt česte su u SSc bolesnika. Poremećaji ritma prisutni su i u asimptomatskih bolesnika, a u GENOSIS studiji (*Genetics and Environment in Scleroderma Outcome Study*) klinički značajne aritmije bile su povezane s povećanim mortalitetom.<sup>136</sup> Glavnu ulogu u patogenezi aritmijske aktivnosti u SSc vjerojatno ima fibroza miokarda, autonomna disfunkcija te elektrofiziološke i morfološke abnormalnosti atrioventrikularnog čvora ili Hisovog snopa. Krpasta fibroza miokarda predstavlja idealnu osnovu za poremećaje ritma ovisne o kruženju (*re-entry* aritmije).<sup>137</sup> Elektrofiziološka testiranja su dokazala da su atrijske tahiaritmije učestalije uz duže vrijeme oporavka sinusnog čvora i infrahisalnog provođenja,<sup>138</sup> dok je provođenje u atrioventrikularnom čvoru bilo slično kontrolnoj skupini.<sup>139</sup>

Prolazne atrijske fibrilacije i undulacije ili paroksizmalne supraventrikularne tahikardije (SVT) prisutne su u 20-30% SSc bolesnika.<sup>137</sup> Pojedinačne ventrikularne ekstrasistole utvrđene su u 67%,<sup>140</sup> a nepostojane ventrikularne tahikardije u 7-13% SSc bolesnika neovisno o obliku bolesti i vrsti protutijela.<sup>141</sup> SSc bolesnici s učestalim polimorfnim ventrikularnim ekstrasistolama imali su 50% mortalitet kroz 33 mjeseca praćenja u usporedbi s 8% mortalitet u bolesnika sa SSc bez značajnije ektopijske aktivnosti.<sup>103</sup> Učestalost aritmija bila je povezana sa starijom životnom dobi i pogoršanjem osnovne bolesti (SSc) te pridruženom, uznapredovalom bolesti pluća.<sup>103</sup> U drugoj su studiji SSc bolesnici s patološkim elektrokardiogramom po Holter-u češće imali plućnu hipertenziju, sniženu LVEF te povećane promjere desnog ventrikula i lijevog atrija.<sup>142</sup>

Smetnje provođenja u SSc su česte uslijed fibroze sinoatrijskog čvora. Opisane su i direktne lezije provodnog sustava zbog kompromitiranja arterijske cirkulacije,<sup>137</sup> a zanimljivo je da je Volta našao protutijela na srčano provodno tkivo u 25% SSc bolesnika.<sup>143</sup> Blokovi i hemiblokovi

grana prisutni su u 25-75% SSc bolesnika, dok su atrioventrikularni blokovi II i III stupnja rijetki (u manje od 2%).<sup>144</sup> Iznenadni zastoj srca opisan je u 5-21% bolesnika sa SSc, osobito u onih sa zahvaćenim mišićima skeleta i srca.<sup>145</sup> Iskustva su o korištenju specifične terapije ili uređaja kao što su elektrostimulatori srca i implantabilni kardioverter defibrilatori oskudna. Svakako, valja istaknuti važnost ambulantne elektrokardiografije u procjeni bolesnika s povećanim rizikom iznenadne smrti.

#### 1.4.7. Varijabilnost srčanog ritma u SSc

Jedno od obilježja SSc je disfunkcija autonomnog živčanog sustava. Počinje u ranoj fazi bolesti prethodeći razvoju fibroze<sup>146</sup> te doprinosi povećanom mortalitetu u SSc bolesnika uključujući i one sa subkliničkim promjenama srca.<sup>147</sup> Autonomna disfunkcija, koja je posljedica prevage simpatikusa nad tonusom parasimpatikusa, prezentira se kroz sniženu varijabilnost srčanog ritma (HRV). Simpatikus ubrzava rad srca dok ga parasimpatikus usporava te je HRV zapravo raspon fluktuacije srčane frekvencije i odraz mogućnosti prilagodbe srca na različite događaje. Snižena varijabilnost upućuje na električnu nestabilnost s povećanim rizikom ventrikularnih tahikardija i iznenadne srčane smrti. Analiza HRV je jednostavna, neinvazivna metoda kojom se može procijeniti simpatiko-vagalna ravnoteža na sinoatrijskoj razini. Ako se izvodi u standardnim uvjetima, ima dobru reproducibilnost.<sup>148</sup> Ferri i suradnici su analizom ambulantnog elektrokardiograma utvrdili da bolesnici sa SSc imaju bržu srčanu frekvenciju uz snižene parametre varijabilnosti srčanog ritma u odnosu na zdrave ispitanike.<sup>116</sup> U analizi Othmana i suradnika parametri HRV su bili sniženi te u korelaciji s anti-topoizomeraza I protutijelom i težinom kožnih promjena.<sup>149</sup>

#### 1.5. Kardiopulmonalna sposobnost bolesnika sa SSc

Poznato je da bolesnici sa SSc imaju smanjenu kardiopulmonalnu sposobnost. Ranije su studije većinom povezivale patološke promjene na plućima s narušenom funkcionalnom sposobnošću SSc bolesnika.<sup>150</sup> Da je dijastolička disfunkcija lijevog ventrikula inducirana naporom, neprepoznata u mirovanju, osnov slabijeg podnošenja tjelesnog napora u SSc, prepoznali su Walkey i suradnici.<sup>151</sup> Yiu i sur. su utvrdili i značajnost sistoličke disfunkcije u umanjenju funkcionalne sposobnosti SSc bolesnika.<sup>152</sup> Šest-minutni test hodanja (6MWT) s mjerenjem hodne pruge i određivanjem desaturacije hemoglobina preporuča se u procjenjivanju

funkcionalne sposobnosti ovih bolesnika.<sup>153</sup> Manjkavost ovog testa je što ne otkriva mehanizme tjelesnih ograničenja niti omogućava specifične podatke o doprinosu pojedinih organskih sustava,<sup>153</sup> ali je važan u prikazu subjektivnih tegoba bolesnika.<sup>154</sup>

## 1.6. Serološki pokazatelji bolesti srca

Disfunkcija miokarda je povezana s aktivacijom neurohormonalnog i citokinskog sustava kojima se pripisuju brojne uloge u patofiziologiji nastanka i progresije bolesti, a pojedini im se članovi ističu kao mogući serološki pokazatelji srčane disfunkcije. Neurohormoni, moždani natriuretski peptid (BNP) i N-terminalni proBNP (NT-proBNP) pokazuju najbolju korelaciju s kliničkim stupnjem zatajivanja srca prema NYHA klasifikaciji, dok se među citokinima IL-6 pokazao dobrim pokazateljem oštećenja miokarda i prediktorom neželjenih događaja.<sup>155</sup>

### 1.6.1. Natriuretski peptidi

Povijest natriuretskih peptida počinje pedesetih godina 20. stoljeća opisom granula u atriju gvinejske svinje, a potom pretpostavkom moguće endokrine funkcija srca. Godine 1984. objavljeno je otkriće atrijskog natriuretskog peptida (ANP), a 1988. godine iz mozga svinja je izoliran moždani natriuretski peptid (BNP).<sup>156</sup> Sljedećim se ispitivanjima utvrdilo da je glavni izvor BNP miocit ventrikula. Danas je poznato da srce luči dva natriuretska peptida homologne strukture, ANP i BNP. Treći homologni natriuretski peptid, nazvan CNP, stvara se u mozgu i endotelu, ali ne i u srčanim miocitima.<sup>157</sup> Ljudski BNP gen nalazi se na kromosomu 1. U njemu je kod za prohormon (proBNP) sastavljen od 108 aminokiselina. ProBNP se cijepa na NT-proBNP i BNP djelovanjem cirkulirajuće endoproteaze turin. Izvor ovog peptida, uz srčane miocite, su i fibroblasti miokarda,<sup>158</sup> a glavni regulatorni mehanizam njegove produkcije je naprezanje srčane stijenke.<sup>159</sup> Za razliku od ANP koji je pohranjen u granulama, BNP se manjim dijelom nalazi u granulama te dodatno lučenje ovisi o aktivaciji gena.<sup>160</sup> Ekspresija gena za BNP u ventrikulima srca inducira se unutar sat vremena kao odgovor na volumno i tlačno opterećenje. Vezivanjem na natriuretske peptidne receptore, BNP smanjuje tonus simpatikusa, učinak renin angiotenzin aldosteronskog sustava (RAAS) i lučenje molekula s vazokonstriktorskim učinkom (katekolamina, angiotenzina-II, aldosterona i endotelina-1). Ukupnim djelovanjem smanjuje volumen krvi, arterijski tlak, centralni venski tlak, plućni kapilarni tlak i srčani udarni volumen, a

povećava stupanj glomerularne filtracije i natriurezu.<sup>161</sup> Uloga BNP u dijagnosticiranu zatajivanja srca otkrivena je 1994. godine.<sup>156</sup>

Biološki učinak NT-proBNP-a za sada je nepoznat.<sup>161</sup> Za razliku od BNP koji se brzo metabolizira, NT-proBNP je stabilniji produkt kojem je poluvrijeme života znatno duže u odnosu na BNP. Prema studiji iz 2003. godine NT-proBNP ima za 17% veću dijagnostičku specifičnost u dijagnozi zatajivanja srca u odnosu na BNP.<sup>156</sup>

S obzirom da su natriuretski peptidi kvantitativni pokazatelji zatajivanja srca njihove vrijednosti je najbolje interpretirati kao kontinuirane varijable.<sup>156</sup> Povećane vrijednosti natriuretskih peptida potvrđuju srčano zatajivanje, bilo sistoličko ili dijastoličko, a ujedno su i snažan prediktor ukupnog ishoda i mortaliteta. Važni su u dijagnosticiranju, procijeni težine i prognoze, ali i odgovora na terapiju. Također su korisni u probiru asimptomatske disfunkcije lijevog ventrikula u visoko rizičnih bolesnika.<sup>156</sup>

#### *NT-proBNP u SSc*

Prva uloga NT-proBNP u SSc je bila identifikacija rane plućne arterijske hipertenzije u SSc bolesnika bez kliničke slike zatajivanja srca.<sup>162</sup> U narednim studijama je pokazano da vrijednost NT-proBNP pozitivno korelira s plućnim arterijskim sistoličkim tlakom (PASP), plućnom vaskularnom rezistencijom, a negativno s hodnom prugom. Uz identifikaciji istaknuta mu je važnost i u predikciji SSc-PAH.<sup>163</sup> Allanore i suradnici su dokazali da NT-proBNP ne korelira samo s vrijednostima PASP već i s oslabljenom kontraktilnošću oba ventrikula i da je upravo NT-proBNP serološki pokazatelj cjelokupnih promjena na srcu u SSc.<sup>164</sup>

Jednostavnost i dostupnost određivanja ovog serološkog pokazatelja stavlja ga na prvo mjesto u otkrivanju i praćenju srčanih manifestacija SSc.

#### 1.6.2. IL-6 i kardiovaskularne bolesti

Široki spektar srčanih bolesti je povezan s aktivnošću citokinskog sustava. Danas se zna da su sve stanice miokarda s jezgrom, uključujući i miocite, sposobne lučiti proupalne citokine kao odgovor na različite ozljede miokarda.<sup>165</sup> Ekspresija ovih citokina odvija se i bez sustavne upale.<sup>165</sup> Eksperimentalni podatci promovirali su IL-6 kao važan citokin za hipertrofiju i apoptozu kardiomiocita, izvanstanične promjene u sklopu neželjene remodelacije lijevog ventrikula i progresije zatajivanja srca.<sup>166</sup> U kliničkim studijama uočene su povećane razine IL-6 u bolesnika sa zatajivanjem srca, ali i u bolesnika s asimptomatskom sistoličkom ili

dijastoličkom disfunkcijom lijevog ventrikula.<sup>167,168</sup> Rezultati ovih studija upućuju na značajnu ulogu IL-6 u progresiji iz subkliničke disfunkcije u simptomatsko zatajivanje srca.<sup>168</sup> Drži se da je IL-6 uz tumor nekrotizirajući faktor (TNF)- $\alpha$  nezavisni prediktor mortaliteta u zatajivanju srca,<sup>169</sup> a zajedno s NT-proBNP predstavlja važan prognostički podatak.<sup>170</sup>

U ranijim studijama je pokazano da je IL-6 u interakciji s autonomnim živčanim sustavom te da utječe ne samo na zatajivanje srce već i na varijabilnost srčanog ritma.<sup>171</sup> Simpatički sustav putem  $\beta$ -adrenergičkih receptora pojačava produkciju IL-6,<sup>172</sup> dok acetilkolin, djelujući na specifične receptore makrofaga, značajno smanjuje oslobađanje proupalnih citokina.<sup>173</sup> Također je poznato da i sam IL-6 stimulira simpatički živčani sustav.<sup>174</sup> U velikoj kliničkoj studiji je potvrđena pozitivna korelacija IL-6 s koncentracijom norepinefrina u serumu<sup>155</sup> te se smatra da je povišena razina IL-6 i snižena varijabilnost srčanog ritma posljedica prevage aktivnosti simpatičkog nad parasimpatičkim sustavom u bolestima srca.<sup>174</sup> Poznata je i uloga IL-6 u stvaranju aterosklerotskih plakova kao i u destabilizaciji istih. On podržava aterogenezu kroz endotelnu disfunkciju, proliferaciju i migraciju glatkih mišićnih stanica te mobilizaciju i aktivaciju upalnih stanica. Povećana razina IL-6 povezana je s rizikom infarkta miokarda u zdravih muškaraca, a ujedno je prediktor budućih neželjenih kardiovaskularnih događaja i ukupnog mortaliteta u starijoj populaciji.<sup>165</sup>

Povezanosti IL-6 s promjenama na srcu u SSc do sada nije istraživana.

## 2. Ciljevi i hipoteze

### 2.1. Ciljevi

U bolesnika sa SSc klinički jasne promjene na srcu povezane su s visokom smrtnošću. Glavno obilježje SSc je oštećenje endotela i prekomjerna fibroza, a mikrovaskularna ishemijska, nekroza kontrakcijskih vlakana i mjestimična fibroza miokarda, neovisna o epikardijalnim koronarnim arterijama, predstavljaju temeljne promjene srca u ovoj bolesti. Bolesnici sa SSc često imaju sistoličku i dijastoličku disfunkciju miokarda, promjene perikarda, bolesti srčanih zalistaka, poremećaje ritma i provođenja, sniženu varijabilnost srčane frekvencije te povišene vrijednosti NT-proBNP-a neovisno o obliku srčanih promjena.

SSc se odlikuje i neravnotežom citokinskog sustava u kojem se ističu povišene vrijednosti IL-6 u serumu i tkivu bolesnika. Prema objavljenim podacima povišena ekspresija IL-6 u SSc je povezana s težim oblikom kožnih promjena i lošijom dugoročnom prognozom. Iako je uloga IL-6 poznata u različitim kardiovaskularnim bolestima, njegova povezanost s promjenama na srcu u bolesnika sa SSc do sada nije istraživana. S obzirom na ulogu IL-6 u disfunkciji endotela i fibrogenezi te njegovu povezanost s kožnim promjenama koje su prema većini istraživanja u pozitivnoj korelaciji sa srčanim promjenama u SSc, za očekivati je povezanost serumskih razina IL-6 sa srčanim zbivanjima u SSc bolesnika.

Cilj ovog rada je istražiti moguću povezanost serumskih razina IL-6 s promjenama srca u SSc bolesnika s očuvanom istisnom frakcijom lijevog ventrikula.

### 2.2. Hipoteze

1. Postojanje sistoličke i dijastoličke disfunkcije ventrikula je u pozitivnoj korelaciji s razinom IL-6.
2. Razina IL-6 je u pozitivnoj korelaciji s prisutnošću perikardnog izljeva i promjenama na srčanim zaliscima u SSc bolesnika.
3. Razina IL-6 u SSc bolesnika pozitivno korelira s učestalošću poremećaja ritma i provođenja, a negativno s parametrima varijabilnosti srčane frekvencije.
4. Razina IL-6 je u pozitivnoj korelaciji s vrijednostima NT-proBNP u SSc bolesnika.
5. Razina IL-6 je u negativnoj korelaciji s kardiopulmonalnom sposobnošću SSc bolesnika.

### 3. Ispitanici i metode

#### 3.1. Ispitanici

U skladu s prijedlogom i planom disertacije u ispitivanje je uključen 31 SSc bolesnik (29 žena i 2 muškarca) kojem je dijagnoza bolesti postavljena temeljem revidiranih kriterija Američkog reumatološkog društva<sup>15</sup> te 32 zdrava kontrolna ispitanika sukladna po dobi ( $\pm 3$  godine), spolu, indeksu tjelesne mase (BMI) i pušačkom statusu. Svi ispitanici su prije početka istraživanja potpisali informirani pristanak u kojem je objašnjen postupak i tijek istraživanja. Ispitivanje se provodilo uz odobrenje Etičkog povjerenstva KBC Split i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu, u skladu s Nürnberškim kodeksom i najnovijom revizijom Helsinške deklaracije.

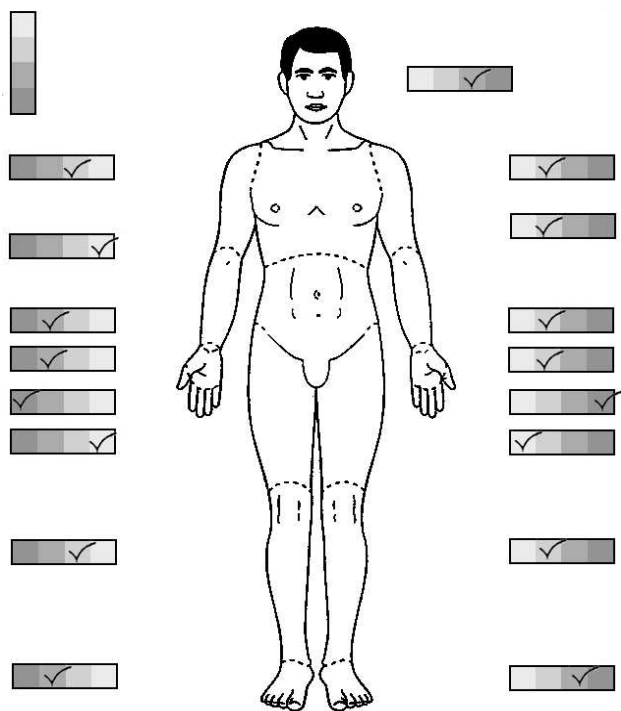
Uključni kriteriji bolesnika za ovo ispitivanje bili su: dob ispitanika starija od 18 godina, potvrđena dijagnoza SSc po ACR kriterijima, pozitivan informirani pristanak za studiju. Isključni kriteriji za studiju bili su: ispitanici mlađi od 18 godina, sindrom preklapanja, permanentna fibrilacija atrijske, prethodno postavljena dijagnoza srčanog zatajivanja, LVEF <55%, plućna arterijska hipertenzija (dijagnoza postavljena kateterizacijom desnog srca), maligna bolest kronične upalne bolesti, akutna infekcija, šećerna bolest, korištenje DMARD (ciklofosamid, azatioprin, ciklosporin, metotreksat i drugi) u liječenju.

Svim ispitanicima izmjerena je tjelesna visina i težina te izračunat indeks tjelesne mase (BMI) pomoću BMI-mjerača i izražen u  $\text{kg}/\text{m}^2$ . Tjelesna površina (BSA) izračunata je pomoću formule po Mostelleru:  $BSA = \sqrt{\text{tjelesna visina}(\text{cm}) \times \text{tjelesna težina}(\text{kg})/3600}$ .<sup>144</sup>

Bolesnicima sa SSc učinjen je klinički pregled te su uz uvid u medicinsku dokumentaciju dva reumatologa, neovisno jedan o drugom, odredila trajanje bolesti, stupanj stupanj kožnih promjena te stupanj aktivnosti bolesti. Konačni rezultati su predstavljali srednju vrijednost tih dvaju mjerenja. Prema nalazima višeslojne kompjuterizirane tomografije (MSCT) pluća, učinjenim unutar godine dana, određeno je postojanje intersticijske bolesti pluća. Trajanje bolesti je određeno prema početku prvih simptoma SSc, osim Raynaudovog fenomena.

Kožne promjene određivane su modificiranim Rodnanovim kožnim testom u skladu sa standardiziranim testnim listama.<sup>175</sup> Debljina kože se procjenjivala palpacijom na 17 regija s vrednovanjem od nula do tri (0-nezahvaćena, 1-blago zadebljanje, 2-umjereno zadebljanje, 3-izrazito zadebljanje). Ukupni ishod predstavljao je zbroj stupnjevanih promjena (sl. 2).





Slika 2. Testna lista za određivanje Rodnanovog kožnog testa.

Stupanj aktivnosti bolesti procijenjen je prema EUSTAR-ovim (*European Scleroderma Trial and Reserch*) kriterijima.<sup>176</sup> Zahvaćenost kardiopulmonalnog sustava i kože nosila je po 2 boda, sedimentacija eritrocita >30 mm/h 1,5 bod, modificirani Rodnanov kožni test >14 po 1 bod kao i snižena vrijednost komponenti komplementa, a nekroza na okrajcima prstiju ručja, skleredem, artritis, DLco<80% i Raynaudov fenomen po 0,5 bodova (tbl. 3).

Tablica 3. EUSTAR kriteriji aktivnosti sustavne skleroze

mRSS>14	1
Skleredem	0,5
Pogoršanje kožnih promjena	2
Ulceracije na vršcima prstiju ručja	0,5
Raynaud-ov fenomen	0,5
Artritis	0,5
DLco<80%	0,5
Srce/Pluća	2
SE>30 mm/h	1,5
Snižena vrijednost komponenti komplementa	1

### 3.2. Metode

#### *Laboratorijski testovi*

Rutinski hematološki i biokemijski parametri uključujući SE (Westergren metodom), CRP, hemoglobina, kreatinin, GUK, kolesterol, HDL, LDL, trigliceride mjereni su natašte u Zavodu za laboratorijsku dijagnostiku KBC Split. Autoprotutijela klase IgG na topoizomerazu I određivana su enzimski vezanom imunoapsorpcijskom metodom (ELISA, *enzyme-linked immunosorbent assay*), s osjetljivošću 97,2% i specifičnošću 99,2%.<sup>177</sup> Dobiveni rezultati izraženi su kao J/ml, a titar autoprotutijela na topoizomerazu I  $\geq 120$  J/ml smatrao se pozitivnim nalazom. Pri izvođenju metode koristio se automatski imunoanalizator BOS MINI-Full Automated Microplate FIA Immunoanalyzer, Bimedica Gruppe, Wien, Austrija. Antinuklearna autoprotutijela određivana su imunoflorescentnom tehnikom koja koristi Hep-2 stanice kao supstrat, a kozji anti-humani IgG obilježen fluorescein-izocijanatom kao konjugat (BioSystem S.A. Costa Brava 30, Barcelona, Španjolska).<sup>177</sup> Za sustavne autoimune bolesti dijagnostička osjetljivost je 98,3%, a specifičnost 93%.<sup>177</sup> Vrijednost  $\geq 1:40$  smatrala se pozitivnim nalazom. Za polukvantitativno određivanje autoprotutijela usmjerenih na različite antigene, među kojima je i centromera (centromera B) koristila se metoda mnogostrukog određivanja autoprotutijela, koja primjenjuje tehnike protočne citometrije u kombinaciji s homogenim fluoroimunokemijskim metodama (AtheNA Multi-Lyte ANA II Test System, Zeus Scientific, Inc., Raritan, NJ, 08869 USA).<sup>177</sup> Rezultati su očitavani na prilagođenom protočnom citometru Luminex 100 (Austin, SAD). Za sustavne autoimune bolesti dijagnostička osjetljivost je 80%, a specifičnost 93,8%.<sup>177</sup> Rezultati su izraženi u J/ml, a titar autoprotutijela na centromeru  $\geq 120$  J/ml smatrao se pozitivnim nalazom.

Za određivanje IL-6 primijenila se je enzimimunološka metoda (ELISA) visoke osjetljivosti (eBioscience, Bender MedSystems GmbH, Vienna, Austria). Svaki serum je testiran u duplikatu. Vrijednosti serumskog IL-6 izražene su u pg/ml.

Koncentracije NT-proBNP određivana je elektrokemiluminiscentnom imunokemijskom metodom (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) na biokemijskom analizatoru Cobas e 601 tvrtke ROCHE. Test je bio nekompetitivan s reagensom koji sadrži dva monoklonska protutijela koja prepoznaju epitope smještene na N-terminalnom kraju (1-76) proBNP (1-108). Vrijednosti su izražene u pmol/l (faktor konverzije  $8,457 \cdot \text{pmol/l} = \text{pg/ml}$ ).

Vrijednosti IL-6 i NT-proBNP određene su ispitanicima obje skupine kao i ehokardiografsko mjerenje, elektrokardiogram, elektrokardiogram po Holteru i 6-minutni test hodanja.

### *Ehokardiografsko mjerenje*

Ehokardiografsko mjerenje proveo je isti kardiolog na aparatu Xario Ultarsound prime (Toshiba) s pretvaračem od 2 MHz, Odjela za bolesti srca i krvnih žila Klinike za unutarnje bolesti KBC Split. Mjerenja konvencionalnim ehokardiografskim metodama i pulsni tkivnim Dopplerom uradila su se u tri uzastopna srčana ciklusa u ispitanika na lijevom bočnom položaju nakon 20 min mirovanja, prema preporukama Američkog društva za ehokardiografiju (ASE).<sup>178-180</sup> Prethodno se ispitanicima, ukoliko je zdravstveno stanje dozvoljavalo, izostavila terapija vazoaktivnih lijekovi u periodu od pet poluvremena života lijeka.

Metodama konvencionalne ehokardiografije, uključujući 2D-mod, M-mod, pulsni (PW), kontinuirani (CW) i obojeni Doppler, odredile su se dimenzije srčanih šupljina, debljina stijenki ventrikula, istisna frakcija s izračunom mase lijevog ventrikula, parametri transmitalnog i transtrikuspidalnog protoka, sistolički tlak u plućnoj arteriji, vrijeme akceleracije nad plućnim zaliskom te promjena na srčanim zaliscima i postojanje perikardnog izljeva.

U M-mod određeni su:

- promjer lijevog atrija na kraju dijastole (LA, mm)
- promjer lijevog ventrikula na kraju dijastole (LVDd, mm)
- dijastolička debljina interventrikularnog septuma (IVSd, mm)
- dijastolička debljina stražnje stijenke lijevog ventrikula (LVPWd, mm)
- promjer desnog atrija na kraju dijastole (RA, mm)
- promjer izlaznog trakta desnog ventrikula u dijastoli (RVDd, mm)
- debljina slobodne stijenke desnog ventrikula na kraju dijastole (RVWd, mm).

U 2D-modu istisna frakcija lijeve klijetke (LVEF) procijenjena je po Simpsonovoj metodi.<sup>178</sup>

Masa lijeve klijetke izračunata je pomoću Pennove formule:

$$LV \text{ masa (g)} = 1,04[3(LVIDd + LVPWd + IVSd) - 3(LVIDd)] - 13,6. \quad ^{178}$$

Indeks mase lijeve klijetke izračunat je dijeljenjem mase lijeve klijetke s površinom tijela (BSA). Hipertrofija lijeve klijetke definirana je indeksom mase  $>115 \text{ g/m}^2$  za muškarce i  $>95 \text{ g/m}^2$  za žene.<sup>178</sup> Hipertrofija desnog ventrikula definirana je debljinom slobodne stijenke desnog ventrikula  $>5 \text{ mm}$ .<sup>179</sup> U 2D-modu mjerena je i razdvojenost listova perikarda.

Mitralni i trikuspidalni utok određivani su PW Dopplerom iz apikalnog prikaza četiriju šupljina s volumnim uzorkom (2-3 mm) postavljenim između vrškova otvorenih kuspisa mitralne, odnosno trikuspidalne valvule.<sup>179,180</sup> Iz profila brzina mitralnog i trikuspidalnog utoka određivan je omjer

vršnih brzina ranog i kasnog utoka (E/A omjer) te deceleracijsko vrijeme ranog utoka (DT). Provođen je test po Valsalvi, a promjenom E/A omjera >50% upućivala je na pseudonormalizaciju transmitralnog utoka.<sup>180</sup> Plućni arterijski sistolički tlak (PASP), izražen u mmHg, određen je kao zbroj izmjerene transtrikuspidalnog gradijenta tlaka prema modificiranoj Bernoullijevoj jednadžbi ( $\Delta P=4V^2$ ) i tlaka u desnom atriju procijenjenog prema promjeru donje šuplje vene (VCI) i indeksu kolapsa (tbl. 4).<sup>179</sup>

Tablica 4. Izračun plućnog arterijskog sistoličkog tlaka

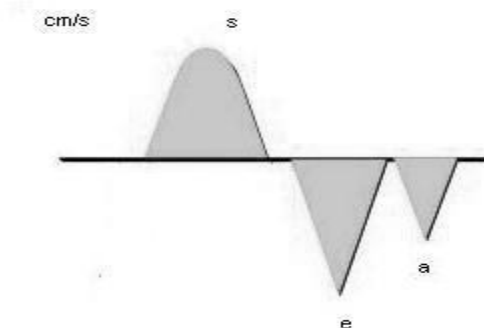
$PASP=4(V_{max} TR)^2+tlak DA$
VCI $\leq$ 2,1 s kolapsom u inspiriju >50%-tlak u DA (0-5 mm Hg)
VCI>2,1 s kolapsom u inspiriju <50%-tlak u DA (10-20 mm Hg)

Ukoliko se transtrikuspidalni gradijent nije mogao izmjeriti zbog nepostojanja trikuspidalne insuficijencije procijenjeno je da je PASP bio urednih vrijednosti. Plućna hipertenzija definirana je ukoliko je PASP bio >40 mmHg s osjetljivošću 58% i specifičnošću 87%.<sup>181</sup> Vrijeme akceleracije nad plućnim zaliskom (PVAcT) je određeno vremenom između početne i vršne brzine transpulmonalnog protoka te je izraženo u milisekundama.<sup>179</sup> Nakon uvida u morfologiju zalistaka, težina insuficijencije određena je prema veličini regurgitacijskog mlaza, težina aortne stenozе procijenjena je prema srednjem i maksimalnom gradijentu dok je težina mitralne stenozе utvrđena prema širini mitralnog ušća.<sup>178,179</sup>

#### *Pulsni tkivni Doppler (PW-TDI)*

Brzine kontrakcije i relaksacije longitudinalnih vlakana miokarda odnosno pokreta mitralnog i trikuspidalnog prstena u sistoli i dijastoli zabilježene su pulsni tkivnim Dopplerom (PW-TDI) (sl. 3).<sup>179,180</sup> Za određivanje brzina pokreta mitralnog prstena volumni uzorak je smještan unutar 10 mm od spoja mitralnog prstena i stijenke lijevog ventrikula.<sup>180</sup> Mjerenje brzina septalnog i lateralnog segmenta učinjena su iz apikalnog prikaza četiriju šupljina, a inferiornog i anteriornog segmenta iz apikalnog prikaza dviju šupljina. Iz brzina segmenata određena je srednja vrijednosti vršne brzine sistoličkog pokreta (s'), vršne brzina ranog (e') i kasnog (a') dijastoličkog pokreta mitralnog prstena.<sup>180</sup> Uz srednje vrijednosti izdvojena je sistolička brzina septalnog segmenta kao pokazatelja sistoličke funkcije lijevog ventrikula te rana dijastolička brzina septalnog i lateralnog segmenta radi procjene težine dijastoličke funkcije lijevog ventrikula.<sup>180</sup> Tlak punjenja

lijevog ventrikula procijenjen je određivanjem omjera brzina ranog transmitralnog utoka i srednje vrijednosti ranog dijastoličkog pokreta mitralnog prstena (Mit E/e').<sup>180</sup>

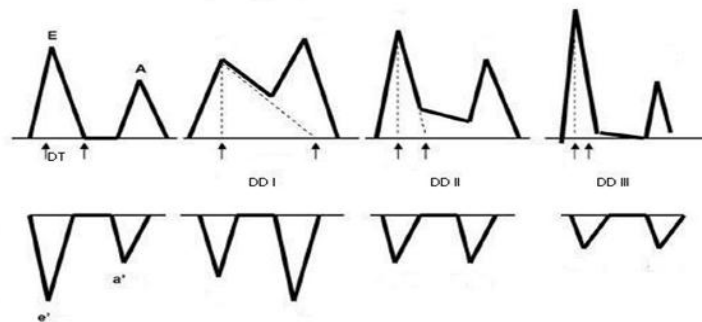


Slika 3. *Parametri pulsno tkivnog Dopplera.*

Za utvrđivanje brzina pokreta trikuspidalnog prstena (s', e', a'), odnosno miokarda desnog ventrikula volumni uzorak je postavljan na spoj slobodne stijenke desnog ventrikula i trikuspidalnog prstena iz apikalnog prikaza četiri šupljine.<sup>179</sup> Iz omjera rane brzine transtrikuspidalnog utoka i vršne brzine ranog dijastoličkog pokreta trikuspidalnog prstena određen je Tr E/e' omjer, kao pokazatelj tlaka punjenja desnog ventrikula.<sup>179</sup>

#### *Definicije sistoličke i dijastoličke disfunkcije*

Vršna brzina sistoličkog pokreta septalnog segmenta bila je pokazatelj ukupne kontraktilnosti lijevog ventrikula. Vrijednost septalnog  $s' < 7,5$  cm/s definirala je sistoličku disfunkciju lijevog ventrikula (SDLV) uz osjetljivost 79% i specifičnost 88%.<sup>182</sup> Sistolička disfunkcija desnog ventrikula (RVSD) definirana je sistoličkom brzinom trikuspidalnog prstena (Tr s')  $< 10$  cm/s uz osjetljivost 90%, a specifičnost 85%.<sup>179</sup> Dijastolička disfunkcija ventrikula definirana je prema smjernicama ASE (sl. 4).<sup>180</sup> Poremećaj relaksacije lijevog ventrikula definirao se ukoliko su bili zadovoljeni uvjeti: E/A omjer  $< 0,8$ , DT  $> 200$  ms, lateralni  $e' < 10$  cm/s, septalni  $e' < 8$  cm/s i  $E/e' \leq 8$ . Pseudonormalizacija transmitralnog utoka je dijagnosticirana ukoliko je E/A omjer bio 0,8-1,5, DT iznosio 160-200 ms, lateralni  $e' < 10$  cm/s, septalni  $e' < 8$  cm/s, te  $E/e' 9-12$  uz promjene E/A omjera  $> 50\%$  pri testu po Valsalvi, a restriktivni utok kada je E/A omjer bio  $> 2$ , DT  $< 160$  ms, lateralni  $e' < 10$  cm/s, septalni  $e' < 8$  cm/s, a  $E/e' \geq 13$ .



Slika 4. Dijastolička disfunkcija.

Omjer E/A transtrikuspidalnog utoka  $<0,8$  upućivao je na poremećaj relaksacije desnog ventrikula. Omjer E/A transtrikuspidalnog utoka koji je iznosio  $0,8-2,1$  uz E/e' omjer  $>6$  definirao je pseudonormalizaciju trikuspidalnog utoka, a E/A  $>2,1$  s DT  $<120$  ms restriktivni utok u desni ventrikul.<sup>179</sup>

#### Šest-minutni test hodanja (6MWT)

Šest-minutnim testom hodanja procijenjena je submaksimalna funkcionalna sposobnost ispitanika. Test je proveden prema smjernicama Američkog torakalnog društva (ATS) od strane kardiologa.<sup>153</sup> Uz verbalnu potporu ispitivača, ispitanici obje skupine su hodali niz hodnik dužine 23 m. Dozvoljavana je promjena brzine hoda, kao i zaustavljanje. Mjeren je ukupno pređeni puta kroz vrijeme od 6 minuta. Prije i nakon hodanja mjerena je saturacija hemoglobina pomoću kožnog oksimetra uz određivanje razlike saturacije hemoglobina. Pad vrijednosti saturacije hemoglobina za  $\geq 4\%$  definiran je kao naporom inducirana hipoksija.<sup>183</sup> Testiranje je prekidano u slučaju prsne boli, preznojavanja, malaksalosti te nepodnošljive boli u nogama.

#### Elektrokardiogram po Holteru

Ispitanicima je nakon učinjenog elektrokardiograma bilježen elektrokardiogram po Holteru u trajanju od najmanje 18 sati. Bilježen je na aparatima Rozzin (RZ 153) u trokanalnom modu. Elektronička kartica se kompjuterski analizirala uz konačnu interpretaciju kardiologa. Analiziran je osnovni ritam, postojanje, vrsta i učestalost ektopijske aktivnosti, smetnje provođenja te varijabilnost srčane frekvencije. Supraventrikularna ektopijska aktivnost definirana je postojanjem epizoda supraventrikularnih tahikardija, atrijske tahikardije, fibrilacije i undulacije

atrija. Učestalost i tip ventrikularnih aritmija određena je prema Lown-Wolf klasifikaciji (tbl. 5).<sup>184</sup>

Tablica 5. Lown-Wolf klasifikacija ventrikularne aritmije

Klasa	Aritmija
0	bez VES
I	<30 VES/sat
II	>30 VES/sat
III	polimorfne VES
IVa	parovi VES
IVb	ventrikularne tahikardije
V	R na T fenomen

Smetnje provođenja su definirane ukoliko su postojale smetnje sinuatrijskog ili atrioventrikularnog provođenja. Varijabilnost srčanog ritma evaluirana je metodom vremenske domene.<sup>185</sup> Uz određivanje prosječne frekvencije određivan je SDNN, RMSSD te pNN50 (tbl. 6).

Tablica 6. Parametri varijabilnosti srčane frekvencije (HRV) u vremenskoj domeni

Parametri	Jedinica	Opis
SDNN	ms	standardna devijacija svih NN intervala
RMSSD	ms	kvadratni korijen srednje vrijednosti sume kvadrata razlika uzastopnih NN intervala
pNN50	%	omjer broja uzastopnih NN intervala koji se razlikuju za više od 50 ms i ukupnog broja zabilježenih NN intervala

### 3.3. Ustroj istraživanja

Istraživanje je usporedba parova tako da su sva mjerenja provedena na ispitanicima sa SSc i kontrolnoj skupini sastavljenoj od zdravih dobrovoljaca. Nedostaci ovog istraživanja proizlaze iz retrospektivnosti uzimanja podataka. Zbog toga su se mogle potkrasti pogreške u anamnestičkim podacima, trajanju bolesti i postojanju pridruženih bolesti i uzimanju lijekova. Pogreške su minimalizirane standardiziranim načinom pregleda te uvidom u medicinsku dokumentaciju ispitanika. Seleksijski nedostaci umanjeni su sukcesivnim uključivanjem svih SSc bolesnika koji su dolazili na pregled ili bli hospitalizirani, a zadovoljavali su kriterije uključivanja. Pristranost mjeritelja umanjena je uključivanjem dva reumatologa u izračun stupnja aktivnosti bolesti i mRSS. Kardiolog koji je provodio ehokardiografska mjerenja nije bio upoznat s kliničkim podacima ispitanika, kao ni kardiolog koji je provodio 6-minutni test hodanja i analizirao elektrokardiografski zapis.

### 3.4. Statistički postupci

Obrada podataka izvršena je pomoću statističkog paketa SPSS 15.0 za operativni sustav *Windows* (SPSS Inc., Chicago, IL). Za sve ispitivane varijable provjeren je normalitet raspodjela Kolmogorov-Smirnov testom. Prema raspodjeli podataka korišteni su odgovarajući deskriptivni pokazatelji za kontinuirane varijable: aritmetička sredina i standardna devijacija za normalno raspodijeljene te medijan i interkvartilni raspon za nenormalno raspodijeljene varijable. Kategorijske varijable su izražene u broju i/ili postotku. Za usporedbu različitih vrijednosti između SSc bolesnika i kontrolnih ispitanika korišten je Studentov t-test ili njegov neparametrijski ekvivalent, Mann-Whitney test u slučajevima narušene pretpostavke o normalnosti raspodjela. Za usporedbu kategorijskih varijabli korišten je  $\chi^2$ -test. Kada se radilo o 2x2 tablicama korištena je Yatesova korekcija. Bivarijatne povezanosti ispitane su Spearmanovim koeficijentom korelacije. Rezultati su interpretirani na razini značajnosti  $p < 0,05$ .



#### 4. Rezultati

U istraživanju je sudjelovao 31 bolesnik sa SSc i 32 zdrava kontrolna ispitanika. U skupini SSc bolesnika bilo je 30 žena i jedan muškarac. Srednja dob SSc bolesnika bila je 64 godine, a kontrolne skupine 63,5 godina. Dvadeset osam (90,3%) bolesnika imalo je dcSSc, a troje (9,7%) lcSSc oblik bolesti. Prosječno trajanje bolesti bilo je 12,1±9,9 godina dok je prosječni mRSS iznosio 19,7±6,44.

Tablica 7. Demografska, klinička i laboratorijska obilježja SSc bolesnika i kontrolnih ispitanika (Mann-Whitney test)

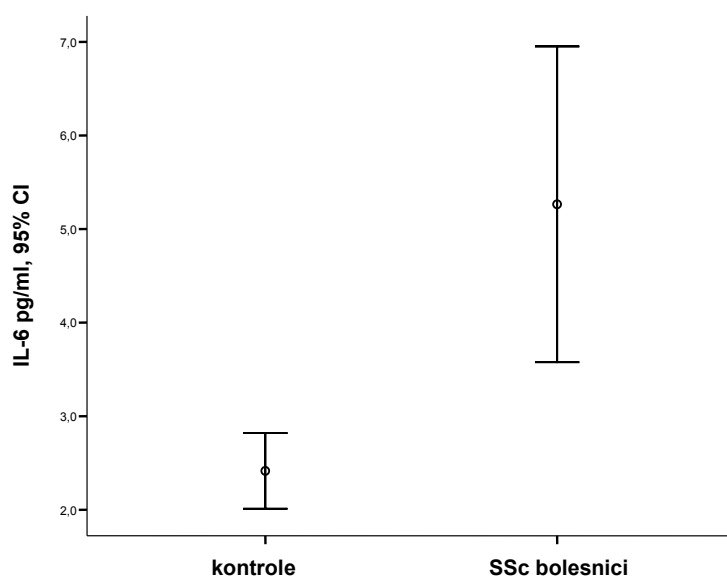
Parametar*	SSc bolesnici (n=31)	Zdravi ispitanici (n=32)	p <sup>a</sup>
Dob (godine)	64 (49-71)	63,5 (49-68,5)	0,831
Spol (muški/ženski)	30/1	31/1	-
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	24,7 (22-27,5)	25,9 (24-28,3)	0,522
Sistolički tlak (mm Hg)	130 (120-150)	137 (124,5-153)	0,531
Dijastolički tlak (mm Hg)	78 (70-85)	80 (73,5-86,5)	0,367
Srčana frekvencija (otkucaji/min)	77 (70-82)	72 (78-81)	0,995
Hemoglobin (g/l)	119±11,6	130±17,6	0,805
SE (mm/h)	18,4±15,1	9,75±5,31	0,460
Kreatinin (μmol/l)	78,12±16,2	68±11,4	0,675
NT-proBNP (pmol/L)	11,6 (5,23-30,6)	9,59 (4,29-16,7)	0,132
IL-6 (pg/mL)	3,2 (2,4-6,2)	2,2 (1,7-2,8)	<0,001
SSc oblik (dcSSc/lcSSc)	28/3	-	-
Trajanje bolesti (god)	12 ±9,9	-	-
mRSS	19,7±6,44	-	-
EUSTAR zbroj	4,48±2,12	-	-
ANA (n/%)	28 (90,3)	-	-
Anti-topo I (n/%)	15 (48,4)	-	-
ACA (n/%)	6 (19,4)	-	-
Fibroza pluća, MSCT (n/%)	11 (35,4)	-	-

\*Vrijednosti su izražene kao medijan (Q1-Q3) ili srednja vrijednost ± S.D.; <sup>a</sup> Mann-Whitney test;

BMI-indeks tjelesne mase, SE-brzina sedimentacije eritrocita; NT-proBNP-N-terminalni pro-moždani natriuretski peptid; IL-interleukin, SSc-sustavna skleroza; lcSSc-ograničena sustvana skleroza; dcSSc-difuzna sustavna skleroza; mRSS-modificirani Rodnanov kožni zbroj, ANA-antinuklearna protutijela; ACA-protutijela na centromeru; Anti-topo I-protutijela na topoizomerazu I; MSCT-višeslojna kompjuterizirana tomografija.

Srednja vrijednost stupnja aktivnosti bolesti prema EUSTAR kriterijima bila je  $4,48 \pm 2,12$ . Većina bolesnika (90,3%) bila su ANA pozitivna, 19,4% je imalo ACA, a 48,4% anti-topoizomeraza I protutijela. Jedanaest (35,4%) bolesnika imalo je utvrđenu fibrozu pluću ranije učinjenim MSCT-om prsišta (tbl. 7). U odnosu na kontrolnu skupinu nije bilo statistički značajne razlike s obzirom na demografska obilježja, pušački status, sistolički i dijastolički tlak te srčanu frekvenciju.

U bolesnika sa SSc razina IL-6 bila je značajno povećana u odnosu na kontrolnu skupinu ( $5,26 \pm 4,6$  prema  $2,42 \pm 1,12$ ,  $p < 0,001$ ) (tbl. 7; sl. 5).



Slika 5. Razina IL-6 u odnosu na prisutnost sustavne skleroze (stupci prikazuju 95% interval pouzdanosti, kružići u stupcima prikazuju srednje vrijednosti;  $p < 0,001$ ).

Bolesnici sa SSc su imali veće promjere srčanih šupljina osobito desnog atrija i ventrikula. Debljina stijenki i indeks mase lijevog ventrikula nije bio značajno veći u odnosu na kontrolnu skupinu za razliku od debljine slobodne stijenke desnog ventrikula (tbl. 8).

Tablica 8. Razlike između parametara konvencionalne ehokardiografije SSc bolesnika i kontrolnih ispitanika (Mann-Whitney test)

<b>Parametar*</b>	<b>SSc bolesnici</b> (n=31)	<b>Zdravi ispitanici</b> (n=32)	<b>p<sup>a</sup></b>
LVDd (mm)	50 (46-52)	46,8 (44-50)	0,033
IVSd (mm)	9 (8,4-10,4)	9 (7,6-10,2)	0,563
LVPWd (mm)	9,3 (8-10,5)	8,5 (7,5-9,5)	0,110
LVEF (%)	68 (64-73)	65 (60,5-71,5)	0,248
LVM indeks g/m <sup>2</sup>	78,74 (60,5-84)	73,8 (64-82,3)	0,674
LA (mm)	38 (35-43)	36,5 (32-38)	0,025
RV (mm)	24,3 (22-26)	21,75 (21-23)	0,001
RVWd (mm)	3,5 (3-4,2)	3 (2,8-3,5)	0,030
RA (mm)	34 (30-40)	29,5 (27-32)	<0,001
E/A MV	1 (0,81-1,2)	1,11 (0,88-1,42)	0,312
DT MV(ms)	180 (160-213)	180 (150-210)	0,725
E/A TV	1,28 (1,06-1,44)	1,2 (1,13-1,38)	0,815
DT TV (ms)	213 (180-227)	182,5 (163,5-208,5)	0,016
PASP (mm Hg)	36,5 (31-44,5)	26 (22-29)	0,003
PVAcT (ms)	107 (87-147)	147 (130-160)	<0,001

\*Vrijednosti su izražene kao medijan (Q1-Q3); <sup>a</sup> Mann-Whitney test;

LVDd-promjer lijevog ventrikula na kraju dijastole; IVSd-debljina interventrikularnog septuma; LVPWd-debljina stražnje stijenke lijevog ventrikula; LVEF-istisna frakcija lijevog ventrikula; LVM-masa lijevog ventrikula; LA-promjer lijevog atrij; RV-promjer desnog ventrikula u dijastoli; RVWd-debljina slobodne stijenke desnog ventrikula; RA-desni atrij; E/A-omjer vršnih brzina ranog i kasnog utoka; DT-brzina deceleracije E vala; PASP-sistolički tlak u plućnoj arteriji; PVAcT-brzina akceleracije na pulmonalnoj valvuli; MV-mitralna valvula; TV-trikuspidalna valvula.

Između skupina nije postojala značajna razlika u vrijednostima LVEF, ali je prosječna brzina sistoličkog pomaka mitralnog prstena kao i septalnog segmenta bila značajno manja u SSc bolesnika u odnosu na kontrolnu skupinu ( $p < 0,001$ ) (tbl. 9). Iako su svi ispitanici imali  $LVEF > 55\%$ , septalni  $s' < 7,5$  cm/s imalo je 18 (58,1%) SSc bolesnika te 5 (15,6%) iz kontrolne skupine ( $p = 0,01$ ) (tbl. 10). Time je utvrđena značajno veća prisutnost subkliničke sistoličke disfunkcije lijevog ventrikula u SSc ispitanika. Među vrijednostima sistoličke brzine trikuspidalnog prstena ( $Tr s'$ ) nije postojala značajna razlika (tbl. 9). Međutim,  $Tr s' < 10$  cm/s, odnosno sistolička disfunkcija desnog ventrikula, zapažena je u 6 (19,3%) SSc bolesnika, a nije nađena u kontrolnoj skupini ( $p = 0,03$ ) (tbl. 10). Mjerenjem parametara transmitralnog utoka nisu nađene značajne razlike u srednjim vrijednostim E/A MV i DT MV među ispitanicima obiju

skupina (tbl. 8). Mjerenjem brzina dijastoličkih pokreta mitralnog prstena, i procjenjivanjem tlaka punjenja lijevog ventrikula računajući Mit E/e', uočene su značajne razlike. Rane dijastoličke brzine septuma i lateralne stijenke lijevog ventrikula kao i prosječna rana i kasna brzina stijenki, odnosno mitralnog prstena bile su znatno manje dok je Mit E/e' kao pokazatelj tlak punjena bio znatno veći u ispitanika sa SSc (tbl. 9). Prema smjernicama ASE 18 (58,1%) SSc bolesnika imalo je LVDD te 9 (28,1%) iz kontrolne skupine ( $p=0,032$ ). Smetnje relaksacije LV utvrđene su u 4 (12,9%), psudonormalizacija u 12 (38,7%) i restriktivni tip dijastoličke disfunkcije LV u 2 (6,5%) SSc bolesnika. U ispitanika s LVDD iz kontrolne skupine utvrđene su samo smetnje relaksacije (tbl. 10). Evaluacijom dijastoličke funkcije desnog ventrikula, odnosno transtrikuspidalnog utoka, nije nađena značajna razlika u vrijednostima E/A omjera dok je DT bio značajno produžen (tbl. 8). Korištenjem PW TDI metode utvrđene su značajno smanjene brzine ranog dijastoličkog pomaka slobodne stijenke desnog ventrikula (Tr e'). Srednja vrijednost Tr e' bila je manja u odnosu na vrijednost kontrolne skupine ( $p=0,044$ ), a pokazatelj tlaka punjena desnog ventrikula (Tr E/e') značajno veći ( $p=0,008$ ) u SSc bolesnika (tbl. 9). Prema smjernicama ASE 5 (16%) bolesnika je imalo RVDD, a nitko u kontrolnoj skupini ( $p=0,024$ ). Dvoje (6,4%) SSc bolesnika imalo je smetnje relaksacije, a preostalih troje (9,7%) pseudonormalizacijski oblik RVDD (tbl. 10).

Unatoč značajnoj razlici u učestalosti LVDD nije postojala razlika u učestalosti hipertrofije lijevog ventrikula među SSc bolesnicima i zdravim ispitanicima. Petoro (16,1%) SSc bolesnika imalo je hipertrofiju lijevog ventrikula u odnosu na 2 (6,3%) zdrava ispitanika ( $p=0,397$ ). Za razliku od lijevog ventrikula, hipertrofiju desnog ventrikula imalo je 7 (22,6%) SSc bolesnika te nitko iz kontrolne skupine ( $p=0,014$ ) (tbl. 10). Parametar sistoličke funkcije desnog ventrikula (Tr s') nije bio u korelaciji s prisutnošću promjena na MSCT-u pluća ( $r=0,12$ ;  $p=0,552$ ) kao ni parametri dijastoličke funkcije Tr e' ( $r=-0,37$ ;  $p=0,055$ ) i Tr E/e' ( $r=0,16$ ;  $p=0,412$ ).

Mitralna insuficijencija, blaga ili umjerena, zapažena je u 13 (41,9%) bolesnika te u jednog (3,1%) zdravog ispitanika ( $p=0,003$ ), dok je blaga aortna insuficijencija bila prisutna u 5 (16,1%) bolesnika i 2 (6,3%) ispitanika iz kontrolne skupine ( $p=0,38$ ). Nekoliko ispitanika (9,7%) sa SSc imalo je blagu, odnosno umjerenu aortnu stenozu te nitko iz kontrolne skupine ( $p=0,197$ ). Kriteriji mitralne stenozе nisu nađeni niti u jednog ispitanika (tbl. 10).

Tablica 9. Razlike između PW TDI parametara SSc bolesnika i kontrolnih ispitanika (Mann-Whitney test)

Parametar*	SSc bolesnici (n=31)	Zdravi ispitanici (n=32)	p <sup>a</sup>
Septalni e' (cm/s)	7,2 (6-9,4)	8,55 (7,25-10,4)	0,035
Lateralni e' (cm/s)	9,3 (8,2-14)	11,9 (9,75-14,9)	0,013
Srednji e' (cm/s)	8,7 (7,15-12)	10,3 (8,54-12,7)	0,014
Srednji a' (cm/s)	11,3 (9,22-12,3)	11,7 (9,75-14,9)	0,032
Mit E/e'	9,04 (7,2-11,6)	7,37 (6,2-7,99)	0,001
Septalni s' (cm/s)	7,2 (6,6-7,5)	8,1 (7,8-9,5)	<0,001
Srednji s' (cm/s)	7,7 (6,67-7,5)	9,25 (8,11-10,5)	<0,001
Tr e' (cm/s)	11,7 (9,7-14,6)	13,7 (12,3-15)	0,044
Tr a' (cm/s)	13,8 (10,5-16,6)	14,3 (12,2-16,3)	0,429
Tr E/e'	4,3 (3,25-5,15)	3,38 (2,93-3,87)	0,008
Tr s' (cm/s)	13 (11,3-15)	13,9 (12,5-15,2)	0,105

\*Vrijednosti su izražene kao medijan (Q1-Q3); <sup>a</sup> Mann-Whitney test;  
e'-vršna brzina ranog dijastoličkog pomaka; a'-vršna brzina kasnog dijastoličkog pomaka; E/e'-omjer vršne brzine ranog utoka i ranog pomaka; s'-vršna brzina sistoličkog pomaka; LA-lijevi ventrikul, DV-desni ventrikul.

Tablica 10. Usporedba ehokardiografskih obilježja SSc bolesnika i kontrolnih ispitanika ( $\chi^2$  test)

Parametar*	SSc bolesnici (n=31)	Zdravi ispitanici (n=32)	p <sup>a</sup>
HLV	5 (16,1)	2 (6,3)	0,397
HDV	7 (22,6)	0	0,014
DD LV	18 (58,1)	9 (28,1)	0,032
SD LV	18 (58,1)	5 (15,6)	0,01
DD RV	5 (16)	0	0,024
SD RV	6 (19,3)	1 (3,1)	0,03
MI	13 (41,9)	1 (3,1)	0,003
AI	5 (16,8)	2 (6,3)	0,38
AS	3 (9,7%)	0	0,197
PH	10 (32,3%)	0	0,002
Perikardni izljev	8 (25,8)	1 (3,1)	0,027

\*Vrijednosti su izražene kao broj (postotak-%); <sup>a</sup>  $\chi^2$ -test;  
HLV-hipertrofija lijevog ventrikula; HDV-hipertrofija desnog ventrikula; DD LV-dijastolička disfunkcija lijevog ventrikula; SD LV-sistolička disfunkcija lijevog ventrikula; DD RV-dijastolička disfunkcija desnog ventrikula; SD RV-sistolička disfunkcija lijevog ventrikula; MI-mitralna insuficijencija, AI-aortna insuficijencija; AS-aortna stenoza, PH-plućna hipertenzija.

Blaga plućna insuficijencija postojala je u većine bolesnika, a srednja vrijednost PVAcT je bila kraća u odnosu na kontrolnu skupinu ( $p=0,005$ ). Trikuspidalna insuficijencija nađena je u 22 (70,9%) SSc bolesnika i u 5 (15,6%) zdravih ispitanika. Srednja vrijednost PASP u ispitanika sa SSc bila je značajno veća u odnosu na zdrave ispitanike ( $p=0,005$ ). Prema vrijednostima PASP plućna hipertenzije je definirana u 10 (32,3%) bolesnika, a nije utvrđena u ispitanika kontrolne skupine ( $p=0,002$ ). Vrijednosti PASP u SSc bolesnika nisu bile u korelaciji s parametrima sistoličke ( $r=0,25$ ;  $p=0,255$ ), dijastoličke funkcije ( $r=0,56$ ;  $p=0,25$ ) desnog ventrikula, kao ni prisutnošću fibroze pluća ( $r=0,48$ ;  $p=0,37$ ) dok su bile u korelaciji s debljinom stijenke desnog ventrikula ( $r=0,532$ ;  $p=0,011$ ) te tlakom punjenja lijeve klijetke ( $r=0,66$ ;  $p=0,001$ ).

Manji perikardni izljev nađen je u 8 (25,8%) SSc bolesnika, dok je u jednog ispitanika kontrolne skupine ( $p=0,027$ ) nađeno samo trivijalno razdvajanje listova perikarda (tbl. 10).

Među parametrima srčane funkcije naj snažniju povezanost s IL-6 imali su septalni e' ( $r=-0,61$ ;  $p<0,001$ ), lateralni e' ( $r=-0,40$ ;  $p=0,025$ ), srednji e' ( $r=-0,58$ ;  $p=0,001$ ) i Mit E/e' ( $r=0,55$ ;  $p=0,001$ ) (tbl. 11). Također je pozitivna korelacija postojala između IL-6 i LVPWd ( $r=0,48$ ;  $p=0,006$ ), RA ( $r=0,44$ ;  $p=0,012$ ), LA ( $r=0,37$ ;  $p=0,043$ ) i PASP ( $r=0,71$ ;  $p<0,001$ ).

Tablica 11. Korelacije dobi, trajanja i parametara aktivnosti bolesti te seroloških obilježja SSc bolesnika s ehokardiografskim varijablama (Spearman-ov test korelacije)

Parametar	Sept. e'	Lat. e'	Sr. e'	LV E/e'	Sept. s'	Sr. s'	PASP
Dob	-0,61**	-0,83**	-0,86**	0,65**	-0,61**	-0,61**	0,66**
Trajanje bolesti	-0,35	-0,31	-0,36	0,32	-0,39*	-0,39*	0,66**
EUSTAR zbroj	-0,66**	-0,57**	-0,67**	0,48**	-0,56**	-0,56**	0,63**
mRSS	-0,28	-0,32	-0,31	0,18	-0,31	-0,33	0,25
IL-6	-0,61**	-0,40**	-0,57**	0,55**	-0,31	-0,10	0,71**
NT-proBNP	-0,56**	-0,53**	-0,51**	0,59**	-0,47**	-0,47**	0,64**

\* $p<0,05$ , \*\* $p<0,01$

mRSS-modificirani Rodnanov kožni zbroj; IL-interleukin; NT-proBNP-N-terminalni pro-moždani natriuretski peptid; e'-vršna brzina ranog dijastolička pomaka; s'-vršna brzina sistoličkog pomaka; PASP-sistolički tlak u plućnoj arteriji; sept.-septalni; lat.-lateralni; sr.-srednji, LV-lijevi ventrikul.

U svih ispitanika osnovni ritam je bio sinus ritam. Nije nađena značajne razlika prema srednjoj vrijednosti srčane frekvencije ( $p=0,57$ ). Supraventrikularne tahikardije bile su značajno učestalije

u SSc bolesnika (25,8% prema 3,1%,  $p=0,027$ ). Ektopijska aktivnost ventrikula zabilježena je u 15 (48,3%) ispitanika sa SSc te u 5 (15,7%) iz kontrolne skupine ( $p=0,046$ ). Kada je učinjena podjela prema Lown-Wolf klasifikaciji nije nađena značajnija razlika između ove dvije skupine ( $p=0,178$ ). Nitko iz obje skupine nije imao klasu IV ili V ventrikularne aritmije. Analizirajući postojanje smetnji provođenja, u jedne bolesnice je utvrđen povremeni atrioventrikulski blok II stupnja, Mobitz I ( $p=0,987$ ). Postojanje supraventrikularnih tahikardija ( $r=0,50$ ;  $p=0,004$ ) i ventrikularnih ekstrasistola ( $r=0,27$ ;  $p=0,035$ ) bilo je u korelaciji s razinom IL-6. Učestalost supraventrikularnih tahikardija bila je i u korelaciji sa EUSTAR zbrojem ( $r=0,42$ ;  $p=0,019$ ) te mRSS ( $r=0,37$ ;  $p=0,042$ ).

Varijable vremenske domene HRV bile su manje u SSc bolesnika, ali je od praćenih varijabli samo SDNN bio statistički značajno niži u SSc bolesnika u odnosu na kontrolnu skupinu ( $p=0,047$ ). Niti jedna varijabla nije bila u korelaciji s razinom IL-6 nego je nađena povezanost RMMSD i pNN50 sa stupnjem kožnih promjena (mRSS).

Šest minutni test hodanja uspješno je izveden u svih ispitanik osim u jedne bolesnice zbog ograničenja od strane lokomotornog sustava. Hodna pruga u bolesnika sa SSc bila je značajno kraća u odnosu na kontrolnu skupinu ( $p=0,004$ ) uz značajniji postotak desaturacije hemoglobina ( $p<0,001$ ). U 8 (25,8%) SSc bolesnika utvrđena je naporom inducirana hipoksija (tbl. 12).

Tablica 12. Usporedba varijabli 6-minutnog testa hodanja između SSc bolesnika i zdravih ispitanika (Mann-Whitney test,  $\chi^2$ -test)

Parametar	SSc bolesnici (n=31)	Zdravi ispitanici (n=32)	p
Hodna pruga (m)*	364 (299-416)	407,5 (378-495,5)	0,004 <sup>¥</sup>
$\Delta\text{HbO}_2$ (%)*	-3 (-4-(-2))	0 (0-1)	<0,001 <sup>¥</sup>
$\Delta\text{HbO}_2 \geq 4\%$ <sup>a</sup>	8 (25,8)	0	0,014 <sup>b</sup>

\*Vrijednosti su izražene kao medijan (Q1-Q3) ili kao <sup>a</sup>broj (postotak-%); <sup>¥</sup>Mann-Whitney test;

<sup>b</sup> $\chi^2$ -test;  $\Delta\text{Hb}$ -razlika saturacije hemoglobina prije i nakon hodanja.

Dužina hodne pruge bila je u negativnoj korelaciji s razinom IL-6, ali bez statističke značajnosti. Između dužine hodne pruge i stupnja aktivnosti bolesti te mRSS nađena je značajna negativna korelacija. Negativna korelacija hodne pruge potvrđena je i s pokazateljem tlaka punjena lijeve

klijetke, vrijednostima NT-proBNP te s dobi bolesnika. Pozitivna korelacija hodne pruge potvrđena je s parametrom sistoličke funkcije lijevog ventrikula (tbl. 13).

Tablica 13. Korelacije dobi, trajanja i parametara aktivnosti bolesti, ehokardiografskih i seroloških obilježja SSc bolesnika s varijablama 6-minutnog testa hodanja (Spearman-ov test korelacije)

Parametar	Hodna pruga	$\Delta\text{HbO}_2$
Dob	-0,63**	0,49**
Trajanje bolesti	-0,28	0,50**
EUSTAR zbroj	-0,42*	0,35
mRSS	-0,47**	0,44**
LV E/e'	-0,47**	0,39*
Septalni s'	0,39*	-0,38*
PASP	-0,61**	0,58**
IL-6	-0,253	0,32
NT-proBNP	-0,60**	0,25

\*p<0,05, \*\*p<0,01

mRSS-modificirani Rodnan-ov kožni zbroj; LV-lijevi ventrikul; E/e'-omjer vršne brzine ranog utoka i ranog pomaka; s'-vršna brzina sistoličkog pomaka; PASP-sistolički tlak u plućnoj arteriji; IL-interleukin; NT-proBNP-N-terminalni pro-moždani natriuretski peptid.

Razine serumskog NT-proBNP bile su veće u bolesnika sa SSc u usporedbi sa zdravim ispitanicima, ali razlika nije bila statistički značajna (p=0,132) (tbl. 7). Vrijednosti NT-proBNP korelirale su s ehokardiografskim parametrima sistoličke i dijastoličke funkcije lijevog ventrikula, PASP (tbl. 11) te dužinom hodne pruge (tbl. 13). Korelacija je potvrđena i s postojanjem SDLV (r=0,41; p=0,021), prisutnošću (r=0,58; p=0,001), težinom LVDD (r=0,63; p<0,001), plućne hipertenzije (r=0,38; p=0,036), perikardnog izljeva (r=0,51; p=0,003) te supraventrikularne tahikardije (r=0,52; p=0,003).

Konačno, statistički značajna korelacija IL-6 potvrđena je s prisutnošću i težinom LVDD, postojanjem disfunkcije aortnog zalistka, plućne hipertenzije i aritmije srca. Potvrđena je i statistički značajna povezanost razina IL-6 s razinom NT-proBNP u SSc bolesnika (tbl. 14).

U zdravih ispitanika nije postojala korelacija između IL-6 i drugih varijabli, pa čak ni s NT-proBNP.



Tablica 14. Korelacijski koeficijent između postojanja srčane disfunkcije i razine IL-6 u serumu ispitanika obje skupina (Spearman-ov korelacijski test)

<b>Parametar*</b>	<b>IL-6 SSc bolesnici (n=31)</b>	<b>IL-6 Zdravi ispitanici (n=32)</b>
DD LV	0,46**	0,02
DD LV skala	0,54**	0,02
SD LV	0,26	0,22
DD RV	0,10	0,11
SD RV	0,07	0,08
AI	0,39*	0,30
AS	0,49**	-
MI	0,19	-0,24
Perikardni izljev	0,17	0,27
SVT	0,50**	0,30
VES	0,27*	0,20
PAH	0,50**	0,34
NT-proBNP	0,52**	-0,05

\*p<0,05, \*\*p<0,01;

IL-interleukin; DD LV-dijastolička disfunkcija lijevog ventrikula; SD LV-sistolička disfunkcija lijevog ventrikula; DD RV-dijastolička disfunkcija desnog ventrikula; SD RV-sistolička disfunkcija desnog ventrikula; AI-aortna insuficijencija; AS aortna stenoza; MI-mitralna insuficijencija; SVT-supraventrikularna tahikardija; VES-ventrikularna ekstrasistola; NT-proBNP-N-terminalni pro-moždani natriuretski peptid.

Osim s parametrima srčane funkcija, korelacija je utvrđena između IL-6 i EUSTAR zbroja ( $r=0,79$ ;  $p<0,001$ ) te trajanja bolesti ( $r=0,36$ ;  $p=0,044$ ). Povezanost je postojala i s mRSS, ali nije bila statistički značajna ( $r=0,34$ ;  $p=0,061$ ) dok povezanost s razinom antinuklearnih antitijela nije nađena.

## 5. Rasprava

IL-6, pleiotropni citokin Th2 imunološkog odgovora, privlači značajan interes kao mogući cilj liječenja u SSc.

Rezultati istraživanja ove doktorske disertacije potvrdili su da je serumska razina IL-6 povećana u SSc bolesnika te da je disfunkcija miokarda u ovih bolesnika često prisutna unatoč normalnim vrijednostima istisne frakcije i nepostojanju kliničkih znakova zatajivanja srca. Povezanost serumske razine IL-6 s parametrima dijastoličke disfunkcije u SSc bolesnika najvažniji je rezultat ovog istraživanja. Iako je značaj IL-6 poznat u širokom spektru bolesti srca, njegova uloga u razvoju srčanih manifestacija SSc, prema našim saznanjima, nije do sada istraživana.

U našem istraživanju razina IL-6 je bila značajno veća u SSc bolesnika u odnosu na zdrave ispitanike. Snažno je pozitivno korelirala sa stupnjem aktivnosti bolesti određenom prema EUSTAR zbroju i umjereno s trajanjem bolesti. Pozitivna korelacija IL-6 s pokazateljem težine kožnih promjena (mRSS) nije bila statistički značajna, a s razinom protutijela nije potvrđena. Među pokazateljima srčanih promjena u SSc najzamjetnija je povezanost IL-6 s ehokardiografskim pokazateljima dijastoličke disfunkcije lijevog ventrikula i plućne hipertenzije, s prisutnošću bolesti aortnog zaliska i poremećaja ritma te razinom NT-proBNP. Zbog malog broja bolesnika s ISSc nije postojala mogućnost usporedbe između bolesnika u odnosu na oblik bolesti.

Prevalencija srčanih promjena u SSc zavisna je o definiciji te metodi pretraživanja. Razlike u prevalenciji postoje i među samim ehokardiografskim studijama. U EUSTAR-ovom registru prevalencija sistoličke disfunkcije lijevog ventrikula (LVEF<55% ili <50%) bila je 5,4%,<sup>94</sup> dok je u multicentričnoj francuskoj studiji prevalencija LVEF<45% bila 1,4%.<sup>115</sup> U istoj studiji prevalencija dijastoličke disfunkcije, utvrđena konvencionalnom ehokardiografijom (E/A<1), bila je 17,7%.<sup>115</sup> Prema novijim studijama u kojima je korišten PW-TDI veća je učestalost sistoličke i dijastoličke disfunkcije miokarda u bolesnika sa SSc. Ipak, prevalencija je bila različita zavisno o postavljenim definicijama disfunkcije miokarda i obilježjima praćenih bolesnika. Tako je u presječnoj studiji sa 100 bolesnika Meune-a i suradnika sistolička disfunkcija (septalni s'<7,5 cm/s) utvrđena u 14%, a dijastolička disfunkcija lijevog ventrikula (lateralni e'<10 cm/s) u 30% bolesnika.<sup>95</sup> U ovoj studiji isključivani su bolesnici s potvrđenom dijagnozom PAH i znacima zatajivanja srca (NYHA>II). U studiji Dimitroulas i sur. mjerenjem

longitudinalne brzine lateralne stijenke potvrđena je sistolička disfunkcija u 28,8% te dijastolička disfunkcija lijevog ventrikula u 46,2% SSc bolesnika s LVEF>55%, a bez plućne hipertenzije.<sup>118</sup> Korištenjem PW-TDI metode Rosato je odredio regionalnu dijastoličku abnormalnost ( $e'/a' < 1$ ) u 61% bolesnika, dok je konvencionalnom metodom ( $E/A < 1$ ) potvrdio dijastoličku disfunkciju lijevog ventrikula u 36% SSc bolesnika s očuvanom LVEF.<sup>121</sup> Njegovo istraživanje je uključivalo bolesnike u sinus ritmu, bez simptoma zatajivanja srca i bez kočimbenika dijastoličke disfunkcije.

Bolesnici, uključeni u naše istraživanje, bili su u sinus ritmu, bez znakova zatajivanja srca, bez poznate PAH, s očuvanom LVEF, a prema kočimbenicima dijastoličke disfunkcije bili su slični ispitanicima kontrolne skupine. Prosječne vrijednosti parametara sistoličke i dijastoličke funkcije, dobivene konvencionalnom ehokardiografijom, nisu se značajnije razlikovale između SSc bolesnika i zdravih ispitanika, dok je prema parametrima tkivnog Dopplera postojala statistički značajna razlika u funkciji miokarda. Brzina kontrakcije longitudinalnih vlakana lijevog ventrikula bila je manja u odnosu na kontrolnu skupinu. Iako je jedan od isključnih kriterija bio LVEF<55%, sistolička je disfunkcija ( $s' < 7,5$  cm/s) utvrđena u 18 (58,1%) SSc bolesnika. Također su postojale značajne razlike u brzini dijastoličkih pomaka mitralnog prstena i E/e' omjera unatoč nepostojanja značajne razlike u vrijednosti transmitralnog E/A omjera. Prema smjericama ASE, dijastolička disfunkcija lijevog ventrikula određena je u 58,1% bolesnika. Veću osjetljivost E/e' omjera u detekciji dijastoličke disfunkcije lijevog ventrikula u SSc bolesnika u odnosu na E/A omjer naglasio je Lee sa suradnicima.<sup>126</sup> Oni su u presječnoj studiji s 35 SSc bolesnika potvrdili neznačajnu razliku transmitralnog E/A omjera uz statistički značajnu razliku E/e' omjera između SSc i zdravih ispitanika.<sup>126</sup>

PW-TDI je novija te u odnosu na konvencionalnu ehokardiografiju osjetljivija metoda, manje ovisna o volumnom i tlačnom opterećenju.<sup>180</sup> Danas je širom dostupna i u usporedbi s magnetskom rezonancom je lakše ponovljiva te znatno jeftinija.<sup>95</sup> PW-TDI-om se mogu mjeriti vršne brzine pokreta mitralnog i triksupidalnog prstena, odnosno longitudinalnih vlakana miokarda te određivati regionalna i globalna funkcija miokarda.<sup>180</sup> Fiziološka orijentacija vlakana miokarda lijevog ventrikula je složena. U subendokardijalnom i subepikardijalnom sloju većina vlakana je orijentirana longitudinalno dok su u srednjem sloju cirkumferentna. Kontrakcija i relaksacija lijevog ventrikula prvenstveno je odraz funkcije subendokardijalnih vlakana u longitudinalnoj osi i radijalnih vlakana u kratkoj osi.<sup>180</sup> Za razliku od lijevog

ventrikula čija su skraćivanja relativno simetrična u poprečnoj i uzdužnoj površini, orijentacija srčanih vlakana desnog ventrikula diktira kontrakcije dominantno duž uzdužne osi, od baze prema apeksu.<sup>179</sup> Stoga se istisna frakcija desnog ventrikula može dobro procijeniti mjerenjem pomaka ili brzine gibanja trikuspidalnog prstena.<sup>179</sup> S obzirom da su subendokardijalna vlakna koja su osjetljiva na mikrovaskularnu ishemiju prvenstveno longitudinalno orijentirana, longitudinalna sistolička, a osobito dijastolička disfunkcija miokarda je najčešće prvi znak lezije miokarda.<sup>180</sup> Da su subendokardijalna vlakna prva zahvaćena u SSc kardiomiopatiji utvrdio je Plazak analizom srčane funkcije u SSc bolesnika. Plazak i sur. su mjerili sistoličku i ranu dijastoličku brzinu cirkumferentnih i longitudinalnih vlakana u 14 segmenata miokarda. Dijastolička disfunkcija se očitovala samo u longitudinalnom sloju miokarda.<sup>186</sup> I Rosato je mjerenjem brzine logitudinalnih i radijalnih vlakana, bazalne i srednje regije utvrdio da oštećenje miokarda prvo zahvaća longitudinalna, subendokardijalna vlakna bazalnih segmenata.<sup>121</sup> Upravo je to razlog zašto smo u naših bolesnika mjerili longitudinalne brzine gibanja bazalnih segmenta ventrikula, odnosno brzine pomaka atrioventrikularnih prstena PW-TDI metodom.

Prema dobivenim rezultatima prevalencija disfunkcije miokarda je u našoj studiji bila veća nego u većini ranijih izvještaja. Možda je tome razlog starija populacija, duže trajanje bolesti ili veći stupanj aktivnosti bolesti u odnosu na njihove skupine bolesnika.

Očekivano i u skladu s ranijim ispitivanjima i smjernicama potvrdili smo da su brzine kontrakcije i relaksacije longitudinalnih vlakana u negativnoj korelaciji s dobi ispitanika.<sup>180</sup> U skladu s rezultatima EUSTAR-ova registra utvrdili smo negativnu povezanost između trajanja bolesti i brzine kontrakcije,<sup>94</sup> ali nismo našli povezanost dijastoličke disfunkcije lijevog ventrikula s trajanjem bolesti opisane u studiji Hinchcliff-a i suradnika.<sup>111</sup> Međutim, naš je podatak o dijastoličkoj disfunkciji bio u skladu s Meune-ovom presječnom studijom kao i studijom Ferri-a i suradnika koji u svojim istraživanjima nisu našli povezanost parametara srčane funkcije s trajanjem bolesti.<sup>95,141</sup>

U našem istraživanju parametri sistoličke i dijastoličke disfunkcije pozitivno su korelirali sa stupnjem aktivnosti bolesti prema EUSTAR zbroju. U dosadašnjoj literaturi je malo podataka o povezanosti ovog pokazatelja aktivnosti bolesti s disfunkcijom srca. Pozitivna korelacija EUSTAR zbroja i sistoličke disfunkcije lijevog ventrikula postojala je u analizi podataka EUSTAR-ova registra,<sup>94</sup> dok Rosato nije našao korelaciju s prisutnosti inverznog e'/a' omjera, kao pokazatelja dijastoličke disfunkcije lijevog ventrikula.<sup>121</sup>

Razlika između naše studije i ranijih je postojala i po definiciji dijastoličke disfunkcije. Kako bi što točnije dijagnosticirali i odredili težinu dijastoličke disfunkcije koristili smo precizniju definiciju transmitalnog utoka prema ASE.<sup>180</sup> U tu svrhu smo uz E/A omjer, brzinu deceleracije ranog utoka i PW-TDI parametre koristili dodatni parametar konvencionalne ehokardiografije, promjene E/A omjera uz test po Valsalvi.<sup>180</sup> U ranijim ehokardiografskim studijama definicija dijastoličke disfunkcije u SSc bolesnika se temeljila ili prema postojanju  $E/A < 1$  ili prema brzini pomaka lateralne stijenke lijevog ventrikula u ranoj dijastoli, odnosno prema vrijednostima  $E/e'$  ili  $e'/a'$  omjera. Također, u većini studija nije postojala podjela prema težini dijastoličke disfunkcije. Samo je u multicentričnoj francuskoj studiji predvođenoj de Groote-om naznačeno postojanje restriktivnog tipa dijastoličke disfunkcije ( $E/A > 2$ ) uz smetnje relaksacije lijevog ventrikula ( $E/A < 1$ ) s učestalošću gotovo podjednakoju u naših SSc bolesnika.<sup>115</sup> Pseudonormalizacijski tip dijastoličke disfunkcije, koji se često zamjeni normalnim transvalvularnim utokom nije opisivan u studiji de Groote-a. Upravo ovaj oblik dijastoličke disfunkcije bio je najčešći (38,7%) u naših SSc bolesnika.

U dosadašnjim je ispitivanjima dijastolička disfunkcija naglašavana kao obilježje SSc kardiomiopatije.<sup>115,120,186</sup> Za razliku od prijašnjih studija učestalost dijastoličke i sistoličke disfunkcije lijevog ventrikula u naših SSc bolesnika je bila podjednaka. Od ukupnog broja SSc bolesnika s dijastoličkom disfunkcijom njih 14 (77,8%) je imalo i kriterije poremećaja longitudinalne kontrakcije. Na moguću koegzistenciju ova dva poremećaja već je upućivao Rosato sa svojim suradnicima. Iako Rosato nije potvrdio sistoličku disfunkciju u SSc bolesnika naznačio je da su u regijama s dijastoličkom disfunkcijom ( $e'/a'$ ) brzine kontrakcije bile značajno manje u odnosu na regije s urednim omjerom brzina u dijastoli.<sup>121</sup> I Dimitroulas je ukazao da je sistolička disfunkcija često prisutna uz dijastoličku disfunkciju lijevog ventrikula u SSc bolesnika unatoč urednoj istisnoj frakciji, naglasivši korisnost PW-TDI u ranom otkrivanju srčane disfunkcije u SSc bolesnika.<sup>118</sup> Da su parametri regionalne sistoličke funkcije narušeni u bolesnika sa zatajivanjem srca dijastoličkog tipa unatoč normalnoj LVEF prikazano je u prvim studijama s primjenom tkivnog Dopplera.<sup>187</sup> Brojne studije koje su nakon toga uslijedile također su potvrdile oštećenu longitudinalnu i radijalnu sistoličku funkciju u bolesnika sa zatajivanjem srca dijastoličkog tipa.<sup>188</sup> Upitno je značenje ovih regionalnih disfunkcija kada je očuvana ukupna sistolička funkcija. Međutim, dokazano je da je sistolička disfunkcija u dijastoličkom tipu zatajivanja srca pokazatelj težine bolesti te predskazatelj mortaliteta.<sup>189</sup> U novijim studijama

je dokazano da čak i mala ograničenja bazalne kontrakcije u dijastoličkoj disfunkciji doprinose intoleranciji tjelesnog opterećenja.<sup>190</sup>

Zatajivanje srca se danas razmatra ne samo kao hemodinamski već i kao neurohormonalni poremećaji. U neurohormonalnom poremećaju, među citokinima, važnu ulogu ima IL-6.<sup>155</sup> Ovaj citokin, pored toga što potiče upalu, ima direktan učinak na strukturu i funkciju kardiomiocita. IL-6 uzrokuje hipertrofiju miocita, kontraktilnu disfunkciju, apoptozu, promjene ekstracelularnog matriksa te utječe na razvoj i progresiju kroničnog zatajivanja srca.<sup>155</sup> Podatci iz Vesnarinone studije (VEST trail) su utvrdili da razina IL-6 pozitivno korelira s pogoršanjem funkcije lijevog ventrikula i da je prediktor incidencije mortaliteta.<sup>169</sup>

Glavno patohistološko obilježje SSc kardiomiopatije je fibroza miokarda.<sup>103</sup> Smatra se da je fibroza miokarda u SSc posljedica ponavljane ishemije uslijed mikrovaskularnih lezija. Ponavljajuća ishemija i posljedična hipoksija tkiva prepoznate su kao glavni modulirajući čimbenik upalnog procesa i aktivacije fibroblasta. U SSc značajna hipoksija tkiva pojačava transkripciju IL-6 djelovanjem hipoksija inducibilnog faktora 1- $\alpha$  (HIF-1- $\alpha$ ).<sup>191</sup> Prisutnost IL-6 utječe na daljnu aktivaciju i apoptozu endotelnih stanica, podržava kronični upalni odgovor te profibrotski učinak.<sup>14,86</sup> Pojačano se stvara ekstracelularni matriks, ali i smanjenjuje njegova razgradnja zbog smanjene aktivnosti matriks metaloproteinaze (MMP), a povećane aktivnosti tkivnog inhibitora MMP.<sup>14,87</sup> U literaturi postoje različiti stavovi o uzroku dijastoličke disfunkcije lijevog ventrikula u SSc.

U našem smo istraživanju zapazili značajnu razliku u prisutnosti i težini dijastoličke disfunkcije lijevog ventrikula između SSc bolesnika i zdravih ispitanika uz neznčajnu razliku hipertrofije lijevog ventrikula, sukladno ranijim opisima obilježja SSc kardiomiopatije.<sup>115,120</sup> Utjecaj dobi, arterijskog tlaka i srčane frekvencije izbjegnut je odabirom podudarne kontrolne skupine. Značajna razlika u dijastoličkoj disfunkciji LV mogla bi se dijelom objasniti postojanjem razlike u vrijednostima PASP-a, odnosno mogućom prisutnošću PAH u SSc bolesnika.<sup>180</sup> U našoj studiji nismo radili detaljniju analizu uzroka povećanih vrijednosti PASP u SSc bolesnika u smislu razlikovanja prekapilarne i postkapilarne PH. No, iako bi se snižene vrijednosti septalnog e' mogle objasniti istovremenim postojanjem PAH, snižene vrijednosti lateralnog e', prosječnog e' i povišene vrijednosti Mit E/e' kod naših ispitanika sa SSc prvenstveno govore u prilog primarne bolesti miokarda.<sup>180</sup> Upravo ovi pokazatelji disfunkcije miokarda bili su u značajnoj negativnoj, odnosno pozitivnoj korelaciji s razinom IL-6, dok povezanost nije utvrđena u zdravih ispitanika.

S obzirom da se promjene miokarda prvo odražavaju dijastoličkom disfunkcijom, rezultati ove studije išli bi u prilog moguće uloge IL-6 u razvoju tih promjena u SSc bolesnika. Patomehanizam djelovanja IL-6 na dijastoličku funkciju nije sasvim jasan. Uz poznat utjecaj IL-6 na ekstracelularni matriks, smatra se da je jedan od načina djelovanja preko  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP-aze sarkoplazmatskog retikuluma (SERCA2).<sup>192</sup> U kardiomiocitima slobodan kalcij raste za vrijeme sistole i inducira mehaničku kontrakciju vezujući se na troponin kompleks. Potom se kalcij, za vrijeme dijastole, odstranjuje iz stanice uz pomoć SERCA. Od tri izoforme ovog proteina SERCA2 je glavni srčani oblik koji je nužan za dijastoličku funkciju srca.<sup>192</sup> U studiji Wu i sur. dokazan je učinak IL-6 na transkripcijskoj razini SERCA2.<sup>182</sup> Smanjenjem ekspresije i funkcije ove ATP-aze objašnjena je IL-6 inducirana dijastolička disfunkcija.<sup>182</sup> Eksperimentalnim studijama je potvrđeno da se preko SERCA2, ali i preko nitrit oksid (NO)-sintaze s pojačanim stvaranjem nitrit oksida i peroksinitrita ostvaruje i kardiodepresivni učinak IL-6.<sup>166,182</sup> Kliničkim studijama je također potvrđena ova povezanost. Uspoređujući s kontrolnim skupinama, u tim je studijama nađeno da je razina IL-6 povećana u bolesnika sa zatajivanjem srca, ali i u asimptomatskih bolesnika uz negativnu korelaciju s LVEF.<sup>171</sup> Također je dokazano da je klinički oporavak bolesnika, nakon uvođenja lijekova, popraćen padom razine cirkulirajućeg IL-6.<sup>171</sup> U velikoj prospektivnoj studiji koja je uključivala 6 814 ispitanika bez dotada poznatog zatajivanja srca dokazana je negativna povezanost razine IL-6 s regionalnim sistoličkim brzinama miokarda.<sup>193</sup> U našoj skupini SSc bolesnika, između PW-TDI parametara sistoličke funkcije i IL-6, postojala je negativna korelacija, ali ona nije bila statistički značajna.

U dosadašnjim studijama sistolička i dijastolička funkcija desnog srca su manje istraživane u SSc bolesnika. Većinom su razmatrane kroz prizmu bolesti plućne cirkulacije i intersticija. Prema podacima dosadašnjih istraživanja dijastolička funkcija desnog srca je izmijenjena u SSc bolesnika. Giunta i sur. su pronašli odstupanja transtrikuspidalnog E/A omjera,<sup>123</sup> a Lindqvist prolongirano vrijeme izovolumne relaksacije desnog ventrikula uz smanjen E/A omjer transtrikuspidalnog protoka.<sup>194</sup> Lindqvist i sur. su uradili prvu, kontroliranu studiju desnog ventrikula u SSc bolesnika korištenjem PW-TDI te nisu našli značajnije razlike u brzinama gibanja slobodne stijenke desnog ventrikula.<sup>194</sup> U našem istraživanju je brzina ranog dijastoličkog pomaka trikuspidalnog prstena u SSc bolesnika bila značajno snižena, a E/e' omjera, kao pokazatelja tlaka punjenja, značajno povećan, dok razlika vrijednosti transtrikuspidalnog E/A omjera između SSc i zdravih ispitanika nije bila značajna. Prema

smjernicama ASE, petoro (16%) je SSc bolesnika ispunjavalo kriterije dijastoličke disfunkcije desnog ventrikula. Učestalost je bila slična onoj u multicentričnoj francuskoj studiji.<sup>115</sup> Troje bolesnika je imalo smetnje relaksacije desnog ventrikula, a dvoje pseudonormalizaciju utoka. Vjerojatno je pseudonormalizacija transvalvularnog protoka uzrokovala nepostojanje razlike E/A omjera između SSc i zdravih ispitanika u našem istraživanju.

Dijastoličku funkciju desnog srca određuju tlačno opterećenje i debljina stijenka, ali je i odraz promjena na razini kardiomiocita i izvanstaničnog matriksa.<sup>179</sup> Konačno, dijastolička disfunkcija može biti posljedica učinka upalnih čimbenika na stanice miokarda.<sup>155,195</sup> Parametri dijastoličke funkcije desnog ventrikula naših ispitanika bili su u korelaciji s debljinom stijenke desnog ventrikula i dimenzijama desnog ventrikula i atrija kao u Lindqvist-ovoj studiji.<sup>194</sup> Iako je potvrđena korelacija s debljinom stijenke desnog ventrikula, nije pronađena povezanost s postojanjem plućne hipertenzije, odnosno intersticijske bolesti pluća. Podatci naše studije bili su slični onima u Meune-ovim studijama u kojima se nepostojanje korelacije između funkcije miokarda desnog ventrikula i plućnog arterijskog tlaka tumačilo hipotezom o intrinzičkim promjenama srca u SSc.<sup>95,123</sup> Na ovakvo razmišljanje upućuje i istraživanje u kojem je utvrđeno da bolesnici sa SSc-PAH imaju drugačiji oblik punjenja desnog ventrikula u odnosu na bolesnike s idiopatskom PAH.<sup>195</sup> Razmišljajući da je dijastolička disfunkcija desnog ventrikula dijelom odraz učinka upalnih čimbenika, u našem istraživanju smo istražili povezanost PW-TDI parametara dijastoličke funkcije i interleukina-6. Potvrđena je negativna korelacija IL-6 s brzinom ranog dijastoličkog pomaka slobodne stijenke, odnosno pozitivna s pokazateljem tlaka punjenja desnog ventrikula, ali te korelacije nisu bile statistički značajne.

Prosječna brzina sistoličkog pomaka slobodne stijenke desnog ventrikula u naših SSc bolesnika nije bila značajno različita u odnosu na kontrolnu skupinu, slično rezultatu Lindqvist-ove studije.<sup>194</sup> Ipak, prema smjernicama ASE, šestoro (19,3%) je bolesnika ispunjavalo kriterij sistoličke disfunkcije desnog ventrikula, nešto više nego u Meune-ovoj studiji.<sup>95</sup> Mogući razlozi su oni kojima smo objasnili i veću učestalost disfunkcije lijevog ventrikula u naših SSc bolesnika u odnosu SSc bolesnike Meune-ove presječne studije. No, sukladno Meune-ovim studijama brzina sistoličkog gibanja stijenke desnog ventrikula nije bila u korelaciji s pokazateljima plućne hipertenzije i postojanjem fibroze pluća čime smo pretpostavili primarnu bolest miokarda. Kao i kod parametara dijastoličke funkcije desnog ventrikula, korelacija brzine kontrakcije slobodne stijenke desnog ventrikula s razinom IL-6 je bila negativna, ali bez statistički značajnosti.



Učestalost i težina valvularne disfunkcije kao i perikardnog izljeva u naših SSc bolesnika bila je slična onima u prethodnim studijama.<sup>95,134</sup> Uz značajnu korelaciju između IL-6 i dijasboličke disfunkcije LV utvrdili smo i pozitivnu korelaciju između IL-6 i prisutnosti aortne insuficijencije te aortne stenoze. Statistički značajna povezanost IL-6 s postojanjem mitralne i trikuspidalne insuficijencije nije potvrđena. Takav bi odnos mogli tumačiti pretpostavkom da su mitralna i trikuspidalna insuficijencija bile prvenstveno funkcionalni poremećaj, dok su bolesti aortne valvule bili primarni poremećaji te posljedica mogućeg učinka IL-6. Povezanost IL-6 s promjenama na zaliscima opisana je u *in vitro* studiji.<sup>196</sup> Utvrđeno je da upalni citokini, među njima i IL-6, potiču transformaciju endotela zalistaka u mezenhimalne stanice.<sup>196</sup> U traženju pozitivne poveznice između razine IL-6 i postojanja perikardnog izljeva nismo utvrdili statistički značajnu korelaciju. Pretraživanjem literature našli smo samo nekoliko pojedinačnih prikaza slučaja u kojima je opisivana visoka razina IL-6 u samom perikardnom izljevu bolesnika s reumatoidnim artritismom i prijetećom tamponadom srca.<sup>197</sup> U našem su istraživanju perikardni izljevi u SSc bolesnika bili minimalni i asimptomatski te je moguće da nisu bili posljedica upalne bolesti perikarda.

U naših SSc ispitanika učestalost supraventrikularnih tahikardija bila je veća u odnosu na kontrolnu skupinu te slična do sada objavljenim podacima o aritmijama u SSc.<sup>137</sup> Pojedinačna ventrikularna ektopijska aktivnost bila je po učestalosti sukladna podacima istraživanja Kostisa i suradnika,<sup>140</sup> premda u naših bolesnika nisu zabilježene ventrikularne tahikardije. Iako je pojedinačna ektopijska aktivnost ventrikula bila učestalija u SSc bolesnika, među ispitanicima nije bilo značajnije razlike u klasifikaciji ventrikularnih ekstrasistola prema Lown-Wolf-u. U našem istraživanju nisu zapažene značajnije smetnje provođenja u SSc bolesnika. Atrioventrikularne smetnje provođenja izdvojene su samo kod jedne bolesnice što je po učestalosti odgovaralo ranije objavljenim podacima.<sup>144</sup> Iako IL-6 ima prediktivnu vrijednost u kroničnim zbivanjima u bolesnika sa zatajivanjem srca njegova povezanost s iznenadnom srčanom smrću do sada nije utvrđena. Također nije dokazana ni njegova prediktivna vrijednost za ventrikularne tahiaritmije u bolesnika sa zatajivanjem srca u cilju procjenjivanja rizika iznenadne smrti.<sup>198</sup> U našem istraživanju potvrđena je pozitivna korelacija između postojanja poremetnji ritma i IL-6 u SSc bolesnika. Ta povezanost bi se moglo objasniti samim promjenama na srcu koje predstavljaju idealni supstrat za ektopijsku aktivnost te postojanjem autonomne disfunkcije u SSc, a koji su moguće posljedica učinka IL-6. U našem istraživanju zapažena je i povezanost

supraventrikularnih tahikardija u SSc bolesnika sa stupnjem aktivnosti bolesti i mRSS u skladu sa Othman-ovom studijom.<sup>149</sup>

Analizom varijabilnosti srčane frekvencije u vremenskoj domeni pretpostavili smo postojanje kardiovaskularne autonomne disfunkcije u naših SSc bolesnika. Autonomna disfunkcija je rani poremećaj koji sudjeluje u funkcionalnim, a potom i strukturnim promjenama krvožilja u SSc.<sup>146</sup> Učinak autonomnog živčanog sustava na srce može se procijeniti analizom varijabilnosti srčanog ritma. Poznato je da je gubitak HRV snažan i nezavisan prediktor postinfarktnog mortaliteta te ima prognostički značaj u zatajivanju srca.<sup>148</sup> Prema dosadašnjim istraživanjima smatra se da je varijabilnost srčanog ritma snižena u SSc bolesnika. U ranim analizama autonomne disfunkcije u SSc postojala su velika odstupanja, s učestalošću snižene varijabilnosti od 0 do 100%.<sup>116</sup> Podatke prve veće kontrolirane studije u kojoj je analizirana HRV te pretpostavljeno postojanje simpatičke hiperaktivnosti u SSc bolesnika, objavio je Ferri sa sur. 1997. godine.<sup>116</sup> Prema metodologiji te studije, iz našeg istraživanja smo isključili sve bolesnike s kliničkim znacima zatajivanjem srca i drugim sustavnim bolestima koje bi mogle utjecati na autonomni živčani sustav, a varijabilnost srčane frekvencije smo analizirali u vremenskoj domeni. Za razliku od podataka Ferri-jeve studije srčana frekvencija nije bila značajno veća u naših SSc ispitanika. Međutim, slično njegovima podacima, signifikantno su bile snižene vrijednosti SDNN u naših SSc bolesnika, dok razlike u vrijednostima RMSSD i pNN50 nisu bile statistički značajne. SDNN je najjednostavnija i najčešće korištena varijabla koja reflektira sve cikličke komponente odgovorne za varijabilnost frekvencije srca unutar perioda bilježenja.<sup>116,148</sup> Pancera je također potvrdio značajno reduciranu HRV u SSc bolesnika,<sup>199</sup> dok je Morelli našao značajnu razliku u analizi frekvencijske,<sup>200</sup> ali ne i vremenske domene. Prema našim saznanjima u SSc nije ispitivana povezanost HRV i pokazatelja upale, ali je Othman sa sur. utvrdivši sniženu HRV u SSc bolesnik istaknuo povezanost parametara varijabilnosti srčane frekvencije, kao pokazatelja autonomne disfunkcije, sa stupnjem kožnih promjena i prisutnošću protutijela na topoizomerazu I.<sup>149</sup> Negativna korelacija sa stupnjem kožnih promjena (mRSS) zapažena je i u naših SSc bolesnika, ali ne i s razinom protutijela. Iako je poznata uzajamna povezanost IL-6 s neravnotežom autonomnog živčanog sustava<sup>171-174</sup> i negativna korelacija između IL-6 i parametara varijabilnosti srčane frekvencije u bolesnika sa stabilnom koronarnom bolesti,<sup>201</sup> ova povezanost nije potvrđena u naših SSc bolesnika.

NT-proBNP je serološki pokazatelj važan u dijagnosticiranju promjena na srcu u bolesnika s reumatskim bolestima, osobito u SSc.<sup>118,163,164</sup> U našem istraživanju SSc bolesnika s očuvanom istisnom frakcijom lijevog ventrikula, razina NT-proBNP je bila statistički neznajno povećana u odnosu na kontrolnu skupinu. Međutim, vrijednosti ovog biomarkera bile su u negativnoj korelaciji sa parametrima sistoličke i dijastoličke funkcije lijevog ventrikula, odnosno u pozitivnoj korelaciji s pokazateljem tlaka punjenja lijevog ventrikula i vrijednostima PASP. Naši rezultati su bili u skladu s podacima iz studije Dimitroulas-a i sur. koji su pretpostavili da je NT-proBNP, uz to što je pokazatelj PAH i cjelokupnih kardijalnih zbivanja, rani biomarker subkliničkih kardiovaskularnih promjena u SSc.<sup>118</sup> Natriuretski peptid pored hemodinamskih djelovanja ima i antifibrotski učinak u srcu.<sup>158</sup> U SSc je utvrđena pozitivna korelacija između stupnja kožnih promjena (mRSS) i NT-proBNP-a,<sup>202</sup> a studija koja je uključivala bolesnike s različitim srčanim manifestacijama SSc potvrdila je da je NT-proBNP povišen u svih SSc bolesnika, neovisno o kliničkoj slici.<sup>203</sup> Nalaz je bio u skladu s ranijim studijama koje su otkrile da i fibroblasti pored kardiomiocita luče ovaj peptid.<sup>158</sup> Razlikom u stupnju fibroze miokarda vjerojatno se može objasniti i povećana razina NT-proBNP u bolesnika sa SSc-PAH u odnosu na bolesnike s idiopatskom PAH i sličnim hemodinamskim odstupanjima.<sup>204</sup> U nedavnim studijama je utvrđeno da je upalni proces, pored naprežanja srčane stijenke, bitan čimbenik u moduliranju srčane endokrine funkcije pa tako i lučenju natriuretskih peptida.<sup>205</sup> S obzirom na povezanost neurohormonalnog i citokinskog sustava postavili smo hipotezu postojanja pozitivne korelacije NT-proBNP i IL-6 u SSc bolesnika, koja do sada nije bila istraživana. Dobiveni rezultati su potvrdili snažnu međusobnu povezanost IL-6 i NT-proBNP-a u SSc bolesnika, dok u kontrolnoj skupini nije pronađena. NT-proBNP je bio u korelaciji s parametrima sistoličke i dijastoličke disfunkcije lijevog ventrikula obiju ispitivanih skupina, za razliku od IL-6 koji je bio u korelaciji samo s ehokardiografskim varijablama SSc bolesnika. Iako je NT-proBNP snažan serološki pokazatelj srčanih zbivanja on ipak ne pokazuje čitav patološki proces. Pretpostavlja se da bi istovremeno mjerenje IL-6 pa i drugih citokina dalo cjelovitiju sliku disfunkcije miokarda u SSc. Kako je više medijatora uključeno u progresiju zatajivanja srca različitim patomehanizmima na različitim razinama, njihova istovremena mjerenja pomogla bi u procjeni rizika, ranom otkrivanju i individualiziranom liječenju.

Funkcionalna sposobnost koja je dijelom odraz kardiopulmonalnog stanja umanjena je u SSc bolesnika.<sup>150-154</sup> Najjednostavniji način njene procijene je 6-minutni test hodanja.<sup>153</sup> U našoj

studiji prosječna hodna pruga SSc bolesnika u 6MWT bila je znatno kraća u odnosu na kontrolnu skupinu i popraćena značajnom desaturacijom hemoglobina. Dužina hodne pruge u naših SSc bolesnika je bila u pozitivnoj korelaciji sa sistoličkom brzinom miokarda, a određena je i negativna povezanost s pokazateljem tlaka punjenja lijevog ventrikula i plućnim arterijskim tlakom. Dobiveni rezultati su bili u skladu s većinom objavljenih studija u kojim se koristio ovaj test.<sup>151-153</sup> Iako se 6MWT većinom koristio u praćenju bolesnika sa SSc-PAH, Akdogan i suradnici su našli da bolesnici sa SSc i dijastoličkom disfunkcijom lijevog ventrikula imaju kraću hodnu prugu u odnosu na one bez dijastoličke disfunkcije.<sup>206</sup> U studiji Villalba i suradnika uz hodnu prugu se analizirala i desaturacija hemoglobina.<sup>183</sup> Stupanj desaturacija hemoglobina bio je u korelaciji s dobi, NYHA II klasom funkcionalne sposobnosti bolesnika, radiografskim znacima intersticijske fibroze i PASP  $\geq 30$  mmHg te s hodnom prugom.<sup>183</sup> U našoj presječnoj studiji našli smo očekivanu negativnu korelaciju dužine hodne pruge s dobi u SSc i zdravih ispitanika. U skladu s ranijim studijama, u SSc bolesnika je postojala negativna korelacija s EUSTAR zbrojem, mRSS i NT-proBNP.<sup>163,202</sup> U našem istraživanju nije pronađena korelacija s prisutnošću ili razinom protutijela, dok su Someya i sur. utvrdili da je hodna pruga kraća, a naporom inducirana hipoksija češća u bolesnika s prisutnim anti-topoizomeraza I protutijelima u odnosu na one s pozitivnim ACA protutijelima.<sup>207</sup> Prema podacima iz literature povezanost parametara 6MWT s razinom IL-6 do sada nije istraživana u SSc bolesnika iako je poznata negativna povezanost IL-6 s funkcionalnom sposobnošću u bolesnika sa zatajivanjem srca. Tu moguću povezanost IL-6 s varijablama 6MWT našim istraživanjem nismo potvrdili. Većina kliničkih studija u kojima je analiziran značaj interleukina pa tako i naša bile su opservacijske, temeljene na traženju međusobnih povezanosti. Moramo naglasiti i ograničenje naše studije malim uzorkom bolesnika koji pored otkrivanja povezanost nije omogućio utvrđivanje valjane prediktivne vrijednosti IL-6 za srčane manifestacije SSc. Tvrdnju da IL-6 ima značajnu ulogu u srčanim zbivanjima SSc valjalo bi provjeriti longitudinalnom studijom s većim brojem ispitanika.

## 6. Zaključak

U našem istraživanju je potvrđeno da su subklinička disfunkcija miokarda, bolesti aortnog zaliska, asimptomatski perikardni izljev i ektopijska aktivnost u SSc bolesnika česti poremećaj, a varijabilnost srčanog ritma snižena u odnosu na zdrave ispitanike. Zapaženo je da su promjene na srcu povezane sa stupnjem aktivnosti bolesti te se odražavaju povećanim vrijednostima NT-proBNP-a, skraćenom hodnom prugom i hipoksijom u naporu, a moguće su posljedica učinka IL-6 čija je serumska razina u SSc bolesnika bila povećana. To nam ukazuje da SSc bolesnici s povećanim stupnjem aktivnosti bolesti, prema EUSTAR zbroju, zahtijevaju detaljniju evaluaciju kardiološkog statusa ehokardiografskim metodama uz PW-TDI, elektrokardiogramom po Holteru, određivanjem NT-proBNP i procjenom funkcionalne sposobnosti 6-minutnim testom hodanja. Zanimljivo je da u našem istraživanju nismo uočili značaj protutijela u stupnju aktivnosti bolesti kao ni u kardijalnim zbivanjima što govori u prilog ranijih sumnji o upitnom značaju ovih seroloških pokazatelja u SSc. Potvrđena pozitivna povezanost EUSTAR zbroja i IL-6 ukazuju na mogući doprinos IL-6 u cjelokupnoj aktivnosti bolesti, a promovira ovaj interleukin u serološki pokazatelj zbivanja u SSc. Konačno, pozitivna korelacija između IL-6 i EUSTAR zbroja i njihova povezanost s ehokardiografskim abnormalnostima te razinom NT-proBNP-a otvara nov pristup u liječenju SSc kardiomiopatije.

## 7. Sažetak

**Cilj.** Svrha ovog rada je procijeniti povezanost između interleukina (IL)-6 i ehokardiografskih promjena, aritmije, varijabilnosti srčanog frekvencije (HRV), parametara 6-minutnog testa hodanja (6MWT) i razine NT-proBNP u SSc bolesnika.

**Metode.** U ovu presječnu studiju bio je uključen 31 SSc bolesnik bez pridružene bolesti i s očuvanom istisnom frakcijom lijevog ventrikula (LVEF) i 32 podudarna zdrava ispitanika. Svi ispitanici su bili podvrgnuti kliničkom pregledu, serološkoj analizi i ehokardiografskoj procijeni srčane funkcije, uključujući metodu pulsnog tkivnog Dopplera. Nakon toga im je učinjena analiza prisutnosti aritmije i varijabilnosti srčane frekvencije u vremenskoj domeni, a kardiopulmonalna sposobnost je procijenjena 6MWT.

**Rezultati.** Razina IL-6 je bila značajno povećana u bolesnika sa SSc (3,2 vs 2,2 pg/ml,  $p < 0,001$ ). SSc bolesnici su imali značajno niže vrijednosti sistoličke brzina (7,7 vs 9,25 cm/s,  $p < 0,001$ ) i rane dijastoličke brzine miokarda lijevog ventrikula (8,7 vs 10,3 cm/s,  $p = 0,014$ ) i povećan E/e' omjer (9,04 vs 7,37,  $p = 0,001$ ), iako nije postojala značajna razlika prema vrijednostima LVEF (68 vs 65%,  $p = 0,248$ ) i E/A (1 vs 1,11,  $p = 0,312$ ) u odnosu na kontrolnu skupinu. Evaluacijom funkcije desnog srca nije zabilježena značajna razlika u sistoličkim brzina slobodne stijenke desnog ventrikula (13 vs 13,9 cm/s,  $p = 0,105$ ), ali je vršna rana dijastolička brzina bila značajno snižena (11,7 vs 13,6 cm/s,  $p = 0,044$ ), a E/e' omjer značajno povećan (4,3 vs 3,38,  $p = 0,008$ ) u SSc bolesnika. Ektopijska aktivnost ventrikula bila je učestalija ( $p = 0,046$ ) u SSc bolesnika kao i prevalencija epizoda supraventrikularnih tahikardija (SVT) ( $p = 0,027$ ) u odnosu na zdrave ispitanike. Analizom HRV potvrđene su značajno niže vrijednosti SDNN (standardne devijacije svih NN interval) ( $p = 0,047$ ). Hodna pruga 6MWT bila je značajno kraća u SSc bolesnika u usporedbi sa zdravim ispitanicima (364 vs 407,5 m,  $p = 0,004$ ). Razina IL-6 je bila značajno povezana sa srednjom vrijednosti rane dijastoličke brzine lijevog ventrikula ( $r = -0,57$ ;  $p = 0,001$ ) i E/e' omjerom ( $r = 0,55$ ;  $p = 0,001$ ), prisutnosti aortne stenoze ( $r = 0,49$ ;  $p = 0,003$ ), SVT ( $r = 0,50$ ;  $p = 0,004$ ), razine NT-proBNP ( $r = 0,52$ ;  $p = 0,003$ ), i stupnjem aktivnosti bolesti prema EUSTAR zbroju ( $r = 0,79$ ;  $p < 0,001$ ).

**Zaključak.** Sistolička disfunkcija miokarda je česta u SSc, čak i u bolesnika s očuvanom LVEF. Dijastolička disfunkcija je u korelaciji sa stupnjem aktivnosti, a ne trajanjem bolesti. Razina IL-6 je povećana u SSc i povezana s dijastoličkom disfunkcijom lijevog ventrikula, prevalencijom

aortne stenoze, supraventrikularnih tahikardija, razinom NT-proBNP-a i stupnjem aktivnosti bolesti prema EUSTAR zbroju. Ovi rezultatima pretpostavljamo moguću ulogu IL-6 u nastanku bolesti srca u SSc bolesnika.

Ključne riječi: sustavna skleroza, promjene na srcu, interleukin-6, ehokardiografija, tkivni Doppler, aritmije, varijabilnost srčanog ritma, 6-minutni test hodanja.

## 8. Summary

Relationship between interleukin-6 and cardiac involvement in systemic sclerosis

**Objectives.** To explore the relationship between IL-6 levels and echocardiographic abnormalities, arrhythmia and heart rate variability, parameters of 6-minute walk test (6MWT), and NT-proBNP levels in SSc patients.

**Methods.** This case-control study included 31 SSc patients with preserved left ventricular ejection fraction (LVEF) and no concomitant disease, and 32 matched healthy controls.

All subjects underwent clinical examination, serological analysis, and echocardiographic assessment including pulsed-wave tissue Doppler imaging to evaluate cardiac function. They also underwent 24-hour Holter monitoring analyzed for arrhythmia and heart rate variability (HRV) in the time domains, and 6MWT to evaluate exercise capacity.

**Results.** The level of IL-6 was significantly increased in patients with SSc (3.2 vs 2.2 pg/ml,  $P<0.001$ ). SSc patients had significantly lower values of LV systolic (7.7 vs 9.25 cm/s,  $P<0.001$ ) and early diastolic (8.7 vs 10.3 cm/s,  $P=0.014$ ) myocardial velocities and higher E/e' (9.04 vs 7.37,  $P=0.001$ ) ratio, although there was no between-group difference according to LVEF (68 vs 65%,  $P=0.248$ ). On evaluating right ventricle, there was no significant between-group difference in systolic tricuspid annular velocity (13 vs 13.9 cm/s,  $P=0.105$ ), but the peak early diastolic velocity was significantly lower (11.7 vs 13.6 cm/s,  $P=0.044$ ) and E/e' significantly higher (4.3 vs 3.38,  $P=0.008$ ) in SSc patients. Number of ventricular ectopic beats, prevalence of supraventricular tachycardia (SVT) episodes were increased in the patients with SSc compared to controls ( $P=0.046$ ;  $P=0.027$ ). In SSc patients, HRV analysis showed significantly lower values of SDNN (standard deviation of all NN intervals) ( $P=0.047$ ). 6MWT distance was shorter in SSc as compared with healthy controls ( $P=0.004$ ). IL-6 level showed correlation with LV mean e' ( $r=-0.57$ ;  $P=0.001$ ) and E/e' ( $r=0.55$ ;  $P=0.001$ ), aortic stenosis ( $r=0.49$ ;  $p=0.003$ ), prevalence of SVT ( $r=0.50$ ;  $P=0.004$ ), NT-proBNP ( $r=0.52$ ;  $P=0.003$ ), and disease activity according EUSTAR score ( $r=0.79$ ;  $P<0.001$ ).

**Conclusion.** Depressed cardiac function is common, even in asymptomatic patients with SSc. IL-6 level is increased in patients with SSc and significantly correlates with LV diastolic dysfunction, prevalence of aortic stenosis, and supraventricular tachycardia episodes, NT-



proBNP and EUSTAR score. These results suggest the role of IL-6 in the development of cardiac disease in SSc patients.

**Key words:** systemic sclerosis, cardiac involvement, interleukin-6, tissue Doppler echocardiography, arrhythmia, heart rate variability, 6-minute walk test.

## 9. Popis literature

1. Varga J, Abraham D. Systemic sclerosis: a prototypic multisystem fibrotic disorder. *J Clin Invest* 2007;117:557-67.
2. Gabrielli A, Avvedimento EV, Krieg T. Scleroderma. *N Engl J Med* 2009;360:1989-2003.
3. Wigley R, Borman B. Medical geography and the aetiology of the rare connective tissue diseases in New Zealand. *Soc Sci Med Med Geogr* 1980;14:175-83.
4. Thompson AE, Pope JE. Increased prevalence of scleroderma in southwestern Ontario: a cluster analysis. *J Rheumatol* 2002;29:1867-73.
5. Chiffrot H, Fautrel B, Sordet C, Chatelus E, Sibilia J. Incidence and prevalence of systemic sclerosis: a systematic literature review. *Semin Arthritis Rheum* 2008;37:223-35.
6. Ranque B, Mouthon L. Geoepidemiology of systemic sclerosis. *Autoimmun Rev* 2010;9:311-8.
7. Silman AJ. Scleroderma - demographics and survival. *J Rheumatol Suppl* 1997;24:58-61.
8. Wucherpfennig KW. Mechanisms for the induction of autoimmunity by infectious agents. *J Clin Invest* 2001;108:1097-104.
9. Nietert PJ, Silver RM. Systemic sclerosis: environmental and occupational risk factors. *Curr Opin Rheumatol* 2000;12:520-6.
10. Black CM, Welsh KI. Genetics of scleroderma. *Clin Dermatol* 1994;12:337-47.
11. Arnett FC. HLA and autoimmunity in scleroderma (systemic sclerosis). *Int Rev Immunol* 1995;12:107-28.
12. Allanore Y, Avouac J, Kahan A. Systemic sclerosis: an update in 2008. *Joint Bone Spine* 2008;75:650-5.
13. Abraham D, Distler O. How does endothelial cell injury start? The role of endothelin in systemic sclerosis. *Arthritis Res Ther* 2007;9(supl 2):2.
14. Abraham DJ, Krieg T, Distler J, Distler O. Overview of pathogenesis of systemic sclerosis. *Rheumatology* 2009;48(supl 3):3-7.
15. Subcommittee for scleroderma criteria of the American Rheumatism Association Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee. Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis (scleroderma). *Arthritis Rheum* 1980;23:581-90.

16. LeRoy EC, Black C, Fleischmajer R, Jablonska S, Kreig T, Medsger TA Jr i sur. Scleroderma (systemic sclerosis): classification, subset and pathogenesis. *J Rheumatol* 1988;15:202-5.
17. Cepeda EJ, Reveille JD. Autoantibodies in systemic sclerosis and fibrosing syndromes: clinical indications and relevance. *Curr Opin Rheumatol* 2004;16:723-32.
18. LeRoy EC, Medsger TA Jr. Criteria for the classification of early systemic sclerosis. *J Rheumatol* 2001;28:1573-6.
19. Ioannidis JP, Vlachoyiannopoulos PG, Haidich AB, Medsger TA Jr, Lucas M, Michet CJ i sur. Mortality in systemic sclerosis: an international meta-analysis of individual patient data. *Am J Med* 2005;118:2-10.
20. Altman RD, Medsger TA Jr, Bloch DA, Michel BA. Predictors of survival in systemic sclerosis (scleroderma). *Arthritis Rheum* 1991;34:403-13.
21. 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;69:1809-15.
22. Steen VD, Medsger TA. Changes in causes of death in systemic sclerosis, 1972-2002. *Ann Rheum Dis* 2007;66:940-4.
23. Krieg T, Takehara K. Skin disease: a cardinal feature of systemic sclerosis. *Rheumatology* 2009;48(supl 3):4-8.
24. Ingraham KM, Steen VD. Morbidity of digital tip ulcerations in scleroderma. *Arthritis Rheum* 2006;54:578.
25. Velagos EE, Masi AT, Stevens MB, Shulman LE. The CREST syndrome. Comparison with the systemic sclerosis (scleroderma). *Arch Intern Med* 1979;139:1240-4.
26. Cutolo M, Grassi W, Matucci Cerinic M. Raynaud's phenomenon and the role of capillaroscopy. *Arthritis Rheum* 2003;48:3023-30.
27. Cutolo M, Sulli A, Smith V. Assessing microvascular changes in systemic sclerosis diagnosis and management. *Nat Rev Rheumatol* 2010;6:578-87.
28. Cannon PJ, Hassar M, Case DB, Casarella WJ, Sommers SC, LeRoy EC. The relationship of hypertension and renal failure in scleroderma (progressive systemic sclerosis) to structural and functional abnormalities of the renal cortical circulation. *Medicine (Baltimore)* 1974;53:1-46.

29. Furst DE, Clements PJ. Hypothesis for the pathogenesis of systemic sclerosis. *J Rheumatol Suppl* 1997;48:53-7.
30. Alexander EL, Firestein GS, Weiss JL, Heuser RR, Leidl G, Wagner HN Jr i sur. Reversible cold-induced abnormalities in myocardial perfusion and function in systemic sclerosis. *Ann Intern Med* 1986;105:661-8.
31. Davidson A, Russell C, Littlejohn GO. Assessment of esophageal abnormalities in progressive systemic sclerosis using radionuclide transit. *J Rheumatol* 1985;12:472-7.
32. Forbes A, Marie I. Gastrointestinal complications: the most frequent internal complications of systemic sclerosis. *Rheumatology* 2009;48(supl 3):36-9.
33. Steen VD, Conte C, Owens GR, Medsger TA. Severe restrictive lung disease in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1994;37:1283-9.
34. D'Angelo WA, Fries JF, Masi AT, Shulman LE. Pathologic observations in systemic sclerosis (scleroderma). A study of fifty-eight autopsy cases and fifty-eight matched controls. *Am J Med* 1969;46:428-40.
35. Silver RM. Clinical problems: the lungs. *Rheum Dis Clin North Am* 1996;22:825-40.
36. Steen V. Predictors of end stage lung disease in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis* 2003;62:97-9.
37. Hinchcliff M, Varga J. Systemic sclerosis/scleroderma: a treatable multisystem disease. *Am Fam Physician* 2008;78:961-8.
38. Chang B, Schachna L, White B, Wigley FM, Wise RA. Natural history of mild-moderate pulmonary hypertension and the risk factors for severe pulmonary hypertension in scleroderma. *J Rheumatol* 2006;33:269-74.
39. Steen V, Medsger TA Jr. Predictors of isolated pulmonary hypertension in patients with systemic sclerosis and limited cutaneous involvement. *Arthritis Rheum* 2003;48:516-22.
40. Murata I, Kihara H, Shinohara S, Ito K. Echocardiographic evaluation of pulmonary arterial hypertension in patients with progressive systemic sclerosis and related syndromes. *Jpn Circ J* 1992;56:983-91.
41. Gaine SP, Rubin LJ. Primary pulmonary hypertension. *Lancet* 1998;352:719-25.
42. Penn H, Denton CP. Diagnosis, management and prevention of scleroderma renal disease. *Curr Opin Rheumatol* 2008;20:692-6.

43. Lee S, Lee S, Sharma K. The pathogenesis of fibrosis and renal disease in scleroderma: recent insights from glomerulosclerosis. *Curr Rheumatol Rep* 2004;6:141-8.
44. Steen VD. Renal involvement in systemic sclerosis. *Clin Dermatol* 1994;12:253-8.
45. Steen VD, Costantino JP, Shapiro AP, Medsger TA Jr. Outcome of renal crisis in systemic sclerosis: relation to availability of angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitors. *Ann Intern Med* 1990;113:352-7.
46. Steen VD, Medsger TA Jr, Osial TA Jr, Ziegler GL, Shapiro AP, Rodnan GP. Factors predicting development of renal involvement in progressive systemic sclerosis. *Am J Med* 1984;76:779-86.
47. Allanore Y, Meune C. Primary myocardial involvement in systemic sclerosis: evidence for a microvascular origin. *Clin Exp Rheumatol* 2010;28(supl 68):48-53.
48. Steen VD, Medsger TA Jr. Severe organ involvement in systemic sclerosis with diffuse scleroderma. *Arthritis Rheum* 2000;43:2437-44.
49. Ferri C, Valentini G, Cozzi F, Sebastiani M, Michelassi C, La Montagna G i sur. Systemic sclerosis: demographic, clinical, and serologic features and survival in 1,012 Italian patients. *Medicine* 2002;81:139-53.
50. Clements PJ, Lachenbruch PA, Furst DE, Paulus HE, Sterz MG. Cardiac score. A semiquantitative measure of cardiac involvement that improves prediction of prognosis in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1991;34:1371-80.
51. Olsen NJ, King LE, Park JH. Muscle abnormalities in scleroderma. *Rheum Dis Clin North Am* 1996;22:783-96.
52. Cerinic Matucci M, Generini S, Pignone A, Casale R. The nervous in systemic sclerosis (scleroderma): clinical features and pathogenetic mechanisms. *Rheum Dis Clin North Am* 1996;22:879-92.
53. Postlethwaite AE, Harris LJ, Raza SH, Kodura S, Akhigbe T. Pharmacotherapy of systemic sclerosis. *Expert Opin Pharmacother* 2010;11:789-806.
54. Steen VD, Medsger TA. Changes in causes of death in systemic sclerosis, 1972-2002. *Ann Rheum Dis* 2007;66:940-4.
55. Manno R, Boin F. Immunotherapy of systemic sclerosis. *Immunotherapy* 2010;2:863-78.
56. van Laar JM, Farge D, Tyndall A. Stem cell transplantation: a treatment option for severe systemic sclerosis? *Ann Rheum Dis* 2008;67:35-8.

57. Steen VD. Autoantibodies in systemic sclerosis. *Semin Arthritis Rheum* 2005;35:35-42.
58. Reveille JD, Solomon DH, American College of Rheumatology ad hoc committee of immunologic testing guidelines. Evidence-based guidelines for the use of immunologic tests: anticentromere, Scl-70, and nucleolar antibodies. *Arthritis Rheum* 2003;49:399-412.
59. Douvas AS, Achten M, Tan EM. Identification of a nuclear protein (Scl-70) as a unique target of human antinuclear antibodies in scleroderma. *J Biol Chem* 1979;254:10514-22.
60. Dick T, Mierau R, Bartz-Bazzanella P, Alavi M, Stoyanova-Scholz M, Kindler J i sur. Coexistence of antitopoisomerase I and anticentromere antibodies in patients with systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis* 2002;61:121-7.
61. Rothfield N, Kurtzman S, Vazques-Abad D, Charron C, Daniels L, Greenberg B. Association of anti-topoisomerase I with cancer. *Arthritis Rheum* 1992;35:724.
62. Sato S, Hamaguchi Y, Hasegawa M, Takehara K. Clinical significance of anti-topoisomerase I antibody levels determined by ELISA in systemic sclerosis. *Rheumatology* 2001;40:1135-40.
63. Harvey GR, McHugh NJ. Serologic abnormalities in systemic sclerosis. *Curr Opin Rheumatol* 1999;11:495-502.
64. Moroi Y, Peebles C, Fritzler MJ, Steigerwald J, Tan EM. Autoantibody to centromere (kinetochore) in scleroderma sera. *Proc Natl Acad Sci* 1980;77:1627-31.
65. Hesselstrand R, Scheja A, Shen GQ, Wiik A, Akesson A. The association of antinuclear antibodies with organ involvement and survival in systemic sclerosis. *Rheumatology* 2003;42:534-40.
66. Tramposch HD, Smith CD, Senecal JL, Rothfield N. A long-term longitudinal study of anticentromere antibodies. *Arthritis Rheum* 1984;27:121-4.
67. Steen VD, Powell DL, Medsger TA Jr. Clinical correlations and prognosis based on serum autoantibodies in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1988;31:196-203.
68. Oddis CV, Okano Y, Rudert WA, Trucco M, Duquesnoy RJ, Medsger TA Jr. Serum autoantibody to the nucleolar antigen PM-Scl. Clinical and immunogenetic associations. *Arthritis Rheum* 1992;35:1211-7.
69. Steen VD, Powell DL, Medsger TA Jr. Clinical correlations and prognosis based on serum autoantibodies in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1988;31:196-203.
70. Baraut J, Michel L, Verrecchia F, Farge D. Relationship between cytokine profiles and clinical outcomes in patients with systemic sclerosis. *Autoimmun Rev* 2010;10:65-73.

71. Barnes TC, Anderson ME, Moots RJ. The many faces of interleukin-6: The role of IL-6 in inflammation, vasculopathy, and fibrosis in systemic sclerosis. *Int J Rheumatol* 2011;2011:721608.
72. Kishimoto T. The biology of interleukin-6. *Blood* 1989;74:1-10.
73. Gourh P, Arnett FC, Assassi S, Tan FK, Huang M, Diekman L i sur. Plasma cytokine profiles in systemic sclerosis: associations with autoantibody subset and clinical manifestations. *Arthritis Res Ther* 2009;11:R147.
74. Simpson RJ, Hammacher A, Smith DK, Matthews JM, Ward LD. Interleukin-6: structure-function relationships. *Protein Sci* 1997;6:929-55.
75. Hirano T. Interleukin 6 and its receptor: ten years later. *Int Rev Immunol* 1998;16:249-84.
76. Müllberg J, Schooltink H, Stoyan T, Günther M, Graeve L, Buse G i sur. The soluble interleukin-6 receptor is generated by shedding. *Eur J Immunol* 1993;23:473-80.
77. Schuett H, Luchtefeld M, Grothusen C, Grote K, Schieffer B How much is too much? Interleukin-6 and its signalling in atherosclerosis. *Thromb Haemost* 2009;102:215-22.
78. Hasegawa M, Sato S, Fujimoto M, Ihn H, Kikuchi K, Takehara K. Serum levels of Interleukin 6 (IL-6), oncostatin M, soluble IL-6 receptor, and soluble gp130 in patients with systemic sclerosis. *J Rheumatol* 1998;25:308-16.
79. Sato S, Hasegawa M, Takehara K. Serum levels of interleukin-6 and interleukin-10 correlate with total skin thickness score in patients with systemic sclerosis. *J Dermatol Sci* 2001;27:140-6.
80. Khan K, Xu S, Nihtyanova S, Derrett-Smith E, Abraham D, Denton CP i sur. Clinical and pathological significance of interleukin 6 overexpression in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis* 2012;71:1235-42.
81. Scala E, Pallotta S, Frezzolini A, Abeni D, Barbieri C, Sampogna F i sur. Cytokine and chemokine levels in systemic sclerosis: relationship with cutaneous and internal organ involvement. *Clin Exp Immunol* 2004;138:540-6.
82. Feghali CA, Bost KL, Boulware DW, Levy LS. Mechanisms of pathogenesis in scleroderma. I. Overproduction of interleukin 6 by fibroblasts cultured from affected skin sites of patients with scleroderma. *J Rheumatol* 1992;19:1207-11.
83. Giacomelli R, Cipriani P, Danese C, Pizzuto F, Lattanzio R, Parzanese I i sur. Peripheral blood mononuclear cells of patients with systemic sclerosis produce increased amounts of interleukin 6, but not transforming growth factor beta 1. *J Rheumatol* 1996;23:291-6.

84. Nguyen VA, Sgonc R, Dietrich H, Wick G. Endothelial injury in internal organs of University of California at Davis line 200 (UCD 200) chickens, an animal model for systemic sclerosis (Scleroderma). *J Autoimmun* 2000;14:143-9.
85. Del Papa N, Colombo G, Fracchiolla N, Moronetti LM, Ingegnoli F, Maglione W i sur. Circulating endothelial cells as a marker of ongoing vascular disease in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 2004;50:1296-304.
86. Barnes TC, Spiller DG, Anderson ME, Edwards SW, Moots RJ. Endothelial activation and apoptosis mediated by neutrophil-dependent interleukin 6 trans-signalling: a novel target for systemic sclerosis? *Ann Rheum Dis* 2011;70:366-72.
87. Jones SA, Richards PJ, Scheller J, Rose-John S. IL-6 transsignaling: the in vivo consequences. *J Interferon Cytokine Res* 2005;25:241-53.
88. Kraaij MD, van Laar JM: The role of B cells in systemic sclerosis. *Biologics* 2008;2:389-95.
89. Hasegawa M, Hamaguchi Y, Yanaba K, Bouaziz JD, Uchida J, Fujimoto M, i sur. B-lymphocyte depletion reduces skin fibrosis and autoimmunity in the tight-skin mouse model for systemic sclerosis. *Am J Pathol* 2006;169:954-66.
90. Bosello S, De Santis M, Lama G, Spano C, Angelucci C, Tolusso B. B cell depletion in diffuse progressive systemic sclerosis: safety, skin score modification and IL-6 modulation in an up to thirty-six month follow-up open-label trial. *Arthritis Res Ther* 2010;12:R54.
91. Shima Y, Kuwahara Y, Murota H, Kitaba S, Kawai M, Hirano T i sur. The skin of patients with systemic sclerosis softened during the treatment with anti-IL-6 receptor antibody tocilizumab. *Rheumatology* 2010;49:2408-12.
92. El-Shafie MM, Salem SS, Moghazi AA. Left ventricular myocardial ischemia in collagen disease associated with pulmonary hypertension: an evaluation by rest-stress gated SPECT and coronary angiography. *Nucl Med Commun* 2011;32:641-8.
93. Allanore Y, Meune C, Kahan A. Outcome measures for heart involvement in systemic sclerosis. *Rheumatology* 2008;47:51-3.
94. Allanore Y, Meune C, Vonk MC, Airo P, Hachulla E, Caramaschi P i sur. Prevalence and factors associated with left ventricular dysfunction in the EULAR Scleroderma Trial and Research group (EUSTAR) database of patients with systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis* 2010;69:218-21.



95. Meune C, Avouac J, Wahbi K, Cabanes L, Wipff J, Mouthon L i sur. Cardiac involvement in systemic sclerosis assessed by tissue-doppler echocardiography during routine care: a controlled study of 100 consecutive patients. *Arthritis Rheum* 2008;58:1803-9.
96. Kobayashi H, Yokoe I, Hirano M, Nakamura T, Nakajima Y, Fontaine KR. Cardiac magnetic resonance imaging with pharmacological stress perfusion and delayed enhancement in asymptomatic patients with systemic sclerosis. *J Rheumatol* 2009;36:106-12.
97. Hachulla AL, Launay D, Gaxotte V, de Groote P, Lamblin N, Devos P i sur. Cardiac magnetic resonance imaging in systemic sclerosis: a cross-sectional observational study of 52 patients. *Ann Rheum Dis* 2009;68:1878-84.
98. Follansbee WP, Miller TR, Curtiss EI, Orié JE, Bernstein RL, Kiernan JM i sur. A controlled clinicopathologic study of myocardial fibrosis in systemic sclerosis (scleroderma). *J Rheumatol* 1990;17:656-62.
99. Kahan A, Coghlan G, McLaughlin V. Cardiac complications of systemic sclerosis. *Rheumatology* 2009;48:45-8.
100. Czirják L, Kumánovics G, Varjú C, Nagy Z, Pákozdi A, Szekanecz Z i sur. Survival and causes of death in 366 Hungarian patients with systemic sclerosis *Ann Rheum Dis* 2008;67:59-63.
101. Champion HC. The heart in scleroderma. *Rheum Dis Clin North Am* 2008;34:181-90.
102. Owens GR, Follansbee WP. Cardiopulmonary manifestations of systemic sclerosis. *Chest* 1987;91:118-27.
103. Bulkley BH, Ridolfi RL, Salyer WR, Hutchins GM. Myocardial lesions of progressive systemic sclerosis. A cause of cardiac dysfunction. *Circulation* 1976;53:483-90.
104. Follansbee WP, Curtiss EI, Medsger TA Jr, Steen VD, Uretsky BF, Owens GR i sur. Physiologic abnormalities of cardiac function in progressive systemic sclerosis with diffuse scleroderma. *N Engl J Med* 1984;310:142-8.
105. Kahan A, Devaux JY, Amor B, Menkès CJ, Weber S, Nitenberg A i sur. Nifedipine and thallium-201 myocardial perfusion in progressive systemic sclerosis. *N Engl J Med* 1986;314:1397-402.
106. Long A, Duffy G, Bresnihan B. Reversible myocardial perfusion defects during cold challenge in scleroderma. *Br J Rheumatol* 1986;25:158-61.

107. Gustafsson R, Mannting F, Kazzam E, Waldenström A, Hällgren R. Cold-induced reversible myocardial ischaemia in systemic sclerosis. *Lancet* 1989;2:475-9.
108. Lekakis J, Mavrikakis M, Emmanuel M, Prassopoulos V, Papazoglou S, Papamichael C i sur. Cold-induced coronary Raynaud's phenomenon in patients with systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol* 1998;16:135-40.
109. Mizuno R, Fujimoto S, Saito Y, Nakamura S. Cardiac Raynaud's phenomenon induced by cold provocation as a predictor of long-term left ventricular dysfunction and remodelling in systemic sclerosis: 7-year follow-up study. *Eur J Heart Fail* 2010;12:268-75.
110. Deswal A, Follansbee WP. Cardiac involvement in scleroderma. *Rheum Dis Clin North Am* 1996;22:841-60.
111. Hinchcliff M, Desai CS, Varga J, Shah SJ. Prevalence, prognosis, and factors associated with left ventricular diastolic dysfunction in systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol* 2012;30:30-7.
112. Plastiras SC, Kelekis N, Tzelepis GE. Magnetic resonance imaging for the detection of myocardial fibrosis in scleroderma. *N Engl J Med* 2006;354:2194-6.
113. Liangos O, Neure L, Kühl U, Pauschinger M, Sieper J, Distler A i sur. The possible role of myocardial biopsy in systemic sclerosis. *Rheumatology* 2000;39:674-9.
114. Fernandes F, Ramires FJ, Arteaga E, Ianni BM, Bonfá ES, Mady C. Cardiac remodeling in patients with systemic sclerosis with no signs or symptoms of heart failure: an endomyocardial biopsy study. *J Card Fail* 2003;9:311-7.
115. De Groote P, Gressin V, Hachulla E, Carpentier P, Guillevin L, Kahan A i sur. Evaluation of cardiac abnormalities by Doppler echocardiography in a large nationwide multicentric cohort of patients with systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis* 2008;67:31-6.
116. Ferri C, Emdin M, Giuggioli D, Carpeggiani C, Maielli M, Varga A i sur. Autonomic dysfunction in systemic sclerosis: time and frequency domain 24 hour heart rate variability analysis. *Br J Rheumatol* 1997;36:669-76.
117. Meune C, Allanore Y, Pascal O, Devaux JY, Dessault O, Duboc D i sur. Myocardial contractility is early affected in systemic sclerosis: a tissue Doppler echocardiography study. *Eur J Echocardiogr* 2005;6:351-7.
118. Dimitroulas T, Giannakoulas G, Papadopoulou K, Karvounis H, Dimitroula H, Koliakos G i sur. Early detection of cardiac involvement in systemic sclerosis assessed by tissue-Doppler

echocardiography: relationship with neurohormonal activation and endothelial dysfunction. *J Rheumatol* 2010;37:993-9.

119. Aguglia G, Sgreccia A, Bernardo ML, Carmenini E, Giusti De Marle M, Reali A i sur. Left ventricular diastolic function in systemic sclerosis. *J Rheumatol* 2001;28:1563-7.

120. Armstrong GP, Whalley GA, Doughty RN, Gamble GD, Flett SM, Tan PL i sur. Left ventricular function in scleroderma. *Br J Rheumatol* 1996;35:983-8.

121. Rosato E, Maione S, Vitarelli A, Giunta A, Fontanella L, de Horatio LT i sur. Regional diastolic function by tissue Doppler echocardiography in systemic sclerosis: correlation with clinical variables. *Rheumatol Int* 2009;29:913-9.

122. Giunta A, Tirri E, Maione S, Cangianiello S, Mele A, De Luca A i sur. Right ventricular diastolic abnormalities in systemic sclerosis. Relation to left ventricular involvement and pulmonary hypertension. *Ann Rheum Dis*. 2000;59:94-8.

123. Meune C, Allanore Y, Devaux JY, Dessault O, Duboc D, Weber S i sur. High prevalence of right ventricular systolic dysfunction in early systemic sclerosis. *J Rheumatol* 2004;3:1941-5.

124. Huez S, Roufosse F, Vachiéry JL, Pavelescu A, Derumeaux G, Wautrecht JC i sur. Isolated right ventricular dysfunction in systemic sclerosis: latent pulmonary hypertension? *Eur Respir J* 2007;30:928-36.

125. Weber KT. Extracellular matrix remodeling in heart failure: a role for de novo angiotensin II generation. *Circulation* 1997;96:4065-82.

126. Lee SW, Choi EY, Jung SY, Choi ST, Lee SK, Park YB. E/E' ratio is more sensitive than E/A ratio for detection of left ventricular diastolic dysfunction in patients with systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol* 2010;28:12-7.

127. Tyrrell PN, Beyene J, Feldman BM, McCrindle BW, Silverman ED, Bradley TJ. Rheumatic disease and carotid intima-media thickness: a systematic review and meta-analysis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010;30:1014-26.

128. Le Brocq M, Leslie SJ, Milliken P, Megson IL. Endothelial dysfunction: from molecular mechanisms to measurement, clinical implications, and therapeutic opportunities. *Antioxid Redox Signal* 2008;10:1631-74.

129. Freedman RR, Girgis R, Mayes MD. Endothelial and adrenergic dysfunction in Raynaud's phenomenon and scleroderma. *J Rheumatol* 1999;26:2386-8.

130. Hettema ME, Zhang D, de Leeuw K, Stienstra Y, Smit AJ, Kallenberg CG i sur. Early atherosclerosis in systemic sclerosis and its relation to disease or traditional risk factors. *Arthritis Res Ther* 2008;10:R49.
131. Akram MR, Handler CE, Williams M, Carulli MT, Andron M, Black CM i sur. Angiographically proven coronary artery disease in scleroderma. *Rheumatology* 2006;45:1395-8.
132. Derk CT, Jimenez SA. Acute myocardial infarction in systemic sclerosis patients: a case series. *Clin Rheumatol* 2007;26:965-8.
133. Mok MY, Lau CS, Chiu SS, Tso AW, Lo Y, Law LS i sur. Systemic sclerosis is an independent risk factor for increased coronary artery calcium deposition. *Arthritis Rheum* 2011;63:1387-95.
134. Byers RJ, Marshall DA, Freemont AJ. Pericardial involvement in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis* 1997;56:393-4.
135. Furst DE, Clements PJ, Hillis S, Lachenbruch PA, Miller BL, Sterz MG i sur. Immunosuppression with chlorambucil, versus placebo, for scleroderma. Results of a three-year, parallel, randomized, double-blind study. *Arthritis Rheum* 1989;32:584-93.
136. Assassi S, Del Junco D, Sutter K, McNearney TA, Reveille JD, Karnavas A i sur. Clinical and genetic factors predictive of mortality in early systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 2009;61:1403-11.
137. Seferović PM, Ristić AD, Maksimović R, Simeunović DS, Ristić GG, Radovanović G i sur. Cardiac arrhythmias and conduction disturbances in autoimmune rheumatic diseases. *Rheumatology* 2006;45:39-42.
138. Rokas S, Mavrikakis M, Agrios N, Mylonas D, Antoniadou L, Mouloupoulos S. Electrophysiologic abnormalities of cardiac function in progressive systemic sclerosis. *J Electrocardiol* 1996;29:17-25.
139. Lubitz SA, Goldbarg SH, Mehta D. Sudden cardiac death in infiltrative cardiomyopathies: sarcoidosis, scleroderma, amyloidosis, hemochromatosis. *Prog Cardiovasc Dis* 2008;51:58-73.
140. Kostis JB, Seibold JR, Turkevich D, Masi AT, Grau RG, Medsger TA Jr i sur. Prognostic importance of cardiac arrhythmias in systemic sclerosis. *Am J Med* 1988;84:1007-15.
141. Ferri C, Bernini L, Bongiorno MG, Levorato D, Viegi G, Bravi P i sur. Noninvasive evaluation of cardiac dysrhythmias, and their relationship with multisystemic symptoms, in progressive systemic sclerosis patients. *Arthritis Rheum* 1985;28:1259-66.

142. Tzelepis GE, Kelekis NL, Plastiras SC, Mitseas P, Economopoulos N, Kampolis C i sur. Pattern and distribution of myocardial fibrosis in systemic sclerosis: a delayed enhanced magnetic resonance imaging study. *Arthritis Rheum* 2007;56:3827-36.
143. Volta U, Vilecco AS, Bianchi FB, Varotti C, Cassani F, Lenzi M i sur. Antibodies to cardiac conducting tissue in progressive systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol* 1985;3:131-5.
144. Janosik DL, Osborn TG, Moore TL, Shah DG, Kenney RG, Zuckner J. Heart disease in systemic sclerosis. *Semin Arthritis Rheum* 1989;19:191–200.
145. Follansbee WP, Zerbe TR, Medsger TA. Cardiac and skeletal muscle disease in systemic sclerosis(scleroderma):a high risk association. *Am Heart J* 1993;125:194–203.
146. Cozzolino D, Naclerio C, Iengo R, D'Angelo S, Cuomo G, Valentini G. Cardiac autonomic dysfunction precedes the development of fibrosis in patients with systemic sclerosis. *Rheumatology* 2002;41:586-8.
147. Di Franco M, Paradiso M, Riccieri V, Basili S, Mammarella A, Valesini G. Autonomic dysfunction and microvascular damage in systemic sclerosis. *Clin Rheumatol* 2007;26:1278-83.
148. Kleiger RE, Bigger JT, Bosner MS, Chung MK, Cook JR, Rolnitzky LM i sur. Stability over time of variables measuring heart rate variability in normal subjects *Am J Cardiol* 1991;68:626-30.
149. Othman KM, Assaf NY, Farouk HM, Aly Hassan IM. Autonomic dysfunction predicts early cardiac affection in patients with systemic sclerosis. *Clin Med Insights Arthritis Musculoskeletal Disord* 2010;3:43-54.
150. Alkotob ML, Soltani P, Sheatt MA, Katsetos MC, Rothfield N, Hager WD i sur. Reduced exercise capacity and stress-induced pulmonary hypertension in patients with scleroderma. *Chest* 2006;130:176-81.
151. Walkey AJ, Jeong M, Alikhan M, Farber HW. Cardiopulmonary exercise testing with right-heart catheterization in patients with systemic sclerosis. *J Rheumatol* 2010;37:1871-7.
152. Yiu KH, Schouffoer AA, Marsan NA, Ninaber MK, Stolk J, Vlieland TV i sur. Left ventricular dysfunction assessed by speckle-tracking strain analysis in patients with systemic sclerosis: relationship to functional capacity and ventricular arrhythmias. *Arthritis Rheum* 2011;63:3969-78.

153. ATS Committee on Proficiency Standards for Clinical Pulmonary Function Laboratories. ATS statement: guidelines for the six-minute walk test. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;166:111-7.
154. Deuschle K, Weinert K, Becker MO, Backhaus M, Huscher D, Riemekasten G. Six-minute walk distance as a marker for disability and complaints in patients with systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol* 2011;29:53-9.
155. Torre-Amione G, Kapadia S, Benedict C, Oral H, Young JB, Mann DL. Proinflammatory cytokine levels in patients with depressed left ventricular ejection fraction: a report from the Studies of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD). *J Am Coll Cardiol* 1996;27:1201-6.
156. Maisel A, Mueller C, Adams K Jr, Anker SD, Aspromonte N, Cleland JG i sur. State of the art: using natriuretic peptide levels in clinical practice. *Eur J Heart Fail* 2008;10:824-39.
157. Hall C. Essential biochemistry and physiology of (NT-pro)BNP. *Eur J Heart Fail* 2004;6:257-60.
158. Tsuruda T, Boerrigter G, Huntley BK, Noser JA, Cataliotti A, Costello-Boerrigter LC i sur. Brain natriuretic peptide is produced in cardiac fibroblasts and induces matrix metalloproteinases. *Circ Res* 2002;91:1127-34.
159. Magga J, Marttila M, Mäntymaa P, Vuolteenaho O, Ruskoaho H. Brain natriuretic peptide in plasma, atria, and ventricles of vasopressin-and phenylephrine-infused conscious rats. *Endocrinology* 1994;134:2505-15.
160. Mantymaa P, Vuolteenaho O, Marttila M, Ruskoaho H. Atrial stretch induces rapid increase in brain natriuretic peptide but not in atrial natriuretic peptide gene expression in vitro. *Endocrinology* 1993;133:1470-3.
161. Martinez-Rumayor A, Richards AM, Burnett JC, Januzzi JL Jr. Biology of the natriuretic peptides. *Am J Cardiol* 2008;101:3-8.
162. Allanore Y, Borderie D, Meune C, Cabanes L, Weber S, Ekindjian OG i sur. N-terminal pro-brain natriuretic peptide as a diagnostic marker of early pulmonary artery hypertension in patients with systemic sclerosis and effects of calcium-channel blockers. *Arthritis Rheum* 2003;48:3503-8.
163. Williams MH, Handler CE, Akram R, Smith CJ, Das C, Smee J i sur. Role of N-terminal brain natriuretic peptide (N-TproBNP) in scleroderma-associated pulmonary arterial hypertension. *Eur Heart J* 2006;27:1485-94.

164. Allanore Y, Meune C. N-terminal pro brain natriuretic peptide: the new cornerstone of cardiovascular assessment in systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol* 2009;27:59-63.
165. Kanda T, Takahashi T. Interleukin-6 and cardiovascular diseases. *Jpn Heart J* 2004;45:183-93.
166. Finkel MS, Office CV, Jacob TD, Watkins SC, Hattler BG, Simmons RL. Negative inotropic effects of cytokines on the heart mediated by nitric oxide. *Science* 1992;257:387-9.
167. Raymond RJ, Dehmer GJ, Theoharides TC, Deliarogiris EN. Elevated interleukin-6 levels in patients with asymptomatic left ventricular systolic dysfunction. *Am Heart J* 2001;141:435-8.
168. Dinh W, F  th R, Nickl W, Krahn T, Ellinghaus P, Scheffold T i sur. Elevated plasma levels of TNF-alpha and interleukin-6 in patients with diastolic dysfunction and glucose metabolism disorders. *Cardiovasc Diabetol* 2009;8:58.
169. Deswal A, Petersen NJ, Feldman AM, Young JB, White BG, Mann DL. Cytokines and cytokine receptors in advanced heart failure: an analysis of the cytokine database from the Vesnarinone trial (VEST). *Circulation* 2001;103:2055-9.
170. Pudil R, Tich  y M, Andr  ys C, Reh  cek V, Bl  ha V, Voj  cek J i sur. Plasma interleukin-6 level is associated with NT-proBNP level and predicts short-and long-term mortality in patients with acute heart failure. *Acta Medica* 2010;53:255-8.
171. Tracey KJ. The inflammatory reflex. *Nature* 2002;42:853-9.
172. Mohamed-Ali V, Flower L, Sethi J, Hotamisligil G, Gray R, Humphries SE i sur. Beta-adrenergic regulation of IL-6 release from adipose tissue: in vivo and in vitro studies. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:5864-9.
173. Borovikova LV, Ivanova S, Zhang M, Yang H, Botchkina GI, Watkins LR i sur. Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. *Nature* 2000;405:458-62.
174. Vinik AI, Maser RE, Mitchell BD, Freeman R. Diabetic autonomic neuropathy. *Diabetes Care* 2003;26:1553-79.
175. Clements PJ, Lachenbruch PA, Seibold JR, Zee B, Steen VD, Brennan P i sur. Skin thickness score in systemic sclerosis: an assessment of interobserver variability in 3 independent studies. *J Rheumatol* 1993;20:1892-6.
176. 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;60:592-8.

177. Habash-Bseiso DE, Yale SH, Glurich I, Goldberg JW. Serologic testing in connective tissue diseases. *Clin Med Res* 2005;3:190-3.

178. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA i sur. Recommendations for chamber quantification. *Eur J Echocardiogr* 2006;7:79-108.

179. Rudski LG, Lai WW, Afilalo J, Hua L, Handschumacher MD, Chandrasekaran K i sur. Guidelines for the echocardiographic assessment of the right heart in adults: a report from the American Society of Echocardiography endorsed by the European Association of Echocardiography, a registered branch of the European Society of Cardiology, and the Canadian Society of Echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 2010;23:685-713.

180. Nagueh SF, Appleton CP, Gillebert TC, Marino PN, Oh JK, Smiseth OA i sur. Recommendations for the evaluation of left ventricular diastolic function by echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 2009;22:107-33.

181. Badesch DB, Champion HC, Sanchez MA, Hoepfer MM, Loyd JE, Manes A i sur. Diagnosis and assessment of pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2009;54:55-66.

182. Alam M, Wardell J, Andersson E, Samad BA, Nordlander R. Effects of first myocardial infarction on left ventricular systolic and diastolic function with the use of mitral annular velocity determined by pulsed wave Doppler tissue imaging. *J Am Soc Echocardiogr* 2000;13:343-52.

183. Villalba WO, Sampaio-Barros PD, Pereira MC, Cerqueira EM, Leme CA Jr, Marques-Neto JF i sur. Six-minute walk test for the evaluation of pulmonary disease severity in scleroderma patients. *Chest* 2007;131:217-22.

184. Bethge KP. Classification of arrhythmias. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991;17 :13-9.

185. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. *Circulation* 1996;93:1043-65.

186. Plazak W, Zabinska-Plazak E, Wojas-Pelc A, Podolec P, Olszowska M, Tracz W i sur. Heart structure and function in systemic sclerosis. *Eur J Dermatol* 2002;12:257-62.



187. Yu CM, Lin H, Yang H, Kong SL, Zhang Q, Lee SW. Progression of systolic abnormalities in patients with "isolated" diastolic heart failure and diastolic dysfunction. *Circulation* 2002;105:1195-201.
188. Wang J, Khoury DS, Yue Y, Torre-Amione G, Nagueh SF. Preserved left ventricular twist and circumferential deformation, but depressed longitudinal and radial deformation in patients with diastolic heart failure. *Eur Heart J* 2008;29:1283-9.
189. Aurigemma GP, Zile MR, Gaasch WH. Contractile behavior of the left ventricle in diastolic heart failure: with emphasis on regional systolic function. *Circulation* 2006;113:296-304.
190. Ennezat PV, Lefetz Y, Maréchaux S, Six-Carpentier M, Deklunder G, Montaigne D i sur. Left ventricular abnormal response during dynamic exercise in patients with heart failure and preserved left ventricular ejection fraction at rest. *J Card Fail* 2008;14:475-80.
191. Bayer C, Schett G, Gay S, Distler O, Distler JH. Hypoxia in the pathogenesis of systemic sclerosis. *Arthritis Res Ther* 2009;11:220.
192. Wu CK, Lee JK, Chiang FT, Yang CH, Huang SW, Hwang JJ i sur. Plasma levels of tumor necrosis factor- $\alpha$  and interleukin-6 are associated with diastolic heart failure through downregulation of sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup> ATPase. *Crit Care Med* 2011;39:984-92.
193. Yan AT, Yan RT, Cushman M, Redheuil A, Tracy RP, Arnett DK i sur. Relationship of interleukin-6 with regional and global left-ventricular function in asymptomatic individuals without clinical cardiovascular disease: insights from the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Eur Heart J* 2010;31:875-82.
194. Lindqvist P, Caidahl K, Neuman-Andersen G, Ozolins C, Rantapää-Dahlqvist S, Waldenström A i sur. Disturbed right ventricular diastolic function in patients with systemic sclerosis. *Chest* 2005;128:755-63.
195. Overbeek MJ, Lankhaar JW, Westerhof N, Voskuyl AE, Boonstra A, Bronzwaer JG i sur. Right ventricular contractility in systemic sclerosis-associated and idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J* 2008;31:1160-6.
196. Mahler GJ, Farrar EJ, Butcher JT. Inflammatory cytokines promote mesenchymal transformation in embryonic and adult valve endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2013;33:121-30.
197. Shikama N, Terano T, Hirai A. A case of rheumatoid pericarditis with high concentrations of interleukin-6 in pericardial fluid. *Heart* 2000;83:711-2.

198. Konstantino Y, Kusniec J, Reshef T, David-Zadeh O, Mazur A, Strasberg B i sur. Inflammatory biomarkers are not predictive of intermediate-term risk of ventricular tachyarrhythmias in stable CHF patients. *Clin Cardiol* 2007;30:408-13.
199. Pancera P, Sansone S, Presciuttini B, Montagna L, Cerù S, Lunardi C, Lechi A. Autonomic nervous system dysfunction in sclerodermic and primary Raynaud's phenomenon. *Clin Sci* 1999;96:49-57.
200. Morelli S, Piccirillo G, Fimognari F, Sgreccia A, Ferrante L, Morabito G i sur. Twenty-four hour heart period variability in systemic sclerosis. *J Rheumatol* 1996;23:643-5.
201. von Känel R, Carney RM, Zhao S, Whooley MA. Heart rate variability and biomarkers of systemic inflammation in patients with stable coronary heart disease: findings from the Heart and Soul Study. *Clin Res Cardiol* 2011;100:241-7.
202. Oravec RM, Bredemeier M, Laurino CC, Pinotti AF, Rohde LE, Brenol JC i sur. NT-proBNP levels in systemic sclerosis: association with clinical and laboratory abnormalities. *Clin Biochem* 2010;43:745-9.
203. Chighizola C, Meroni PL, Schreiber BE, Coghlan JG, Denton CP, Ong VH. Role of N-terminal pro-brain natriuretic peptide in detecting clinically significant cardiac involvement in systemic sclerosis patients. *Clin Exp Rheumatol* 2012;30:81-5.
204. Mathai SC, Bueso M, Hummers LK, Boyce D, Lechtzin N, Le Pavec J i sur. Disproportionate elevation of N-terminal pro-brain natriuretic peptide in scleroderma-related pulmonary hypertension. *Eur Respir J* 2010;35:95-104.
205. Dimitroulas T, Giannakoulas G, Karvounis H, Garyfallos A, Settas L, Kitis G. B-type natriuretic peptide in rheumatic diseases: a cardiac biomarker or a sophisticated acute phase reactant? *Autoimmun Rev* 2012;11:837-43.
206. Akdogan A, Kaya EB, Sahin A, Okutucu S, Yakut E, Kalyoncu U i sur. Relationship between left ventricular diastolic dysfunction and six minute walk test in patients with systemic sclerosis. *Int J Rheum Dis* 2011;14:379-83.
207. Someya F, Mugii N, Yahata T, Nakagawa T. Exercise capacity in relation to autoantibodies in systemic sclerosis patients. *Rheumatol Int* (u tisku). Dostupno na <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00296-012-2541-y>.

## 10. Životopis

Zrinka Jurišić je rođena 10. svibnja 1973. godine u Sinju. Završila je osnovnu i srednju kemijsku školu u Splitu. Diplomirala je na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu 9. prosinca 1997. s prosječnom ocjenom 4,97. Obvezni jednogodišnji liječnički staž obavila je u KB Sestre milosrdnice, nakon čega polože Državni ispit za doktore medicine 1999. godine. Specijalizaciju iz Interne medicine započinje 2000. godine u KBC Split, a specijalistički ispit polaže 26. veljače 2006. u KB Sestre Milosrdnice u Zagrebu. U prosincu 2009. započinje užu specijalizaciju iz kardiologije u KBC Split gdje je 9. lipnja 2011. godine položila subspecijalistički ispit.

Poslijediplomski doktorski studij iz područja Biomedicine, smjer Klinička fiziologija, upisuje 2000. godine na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Splitu. Godine 2010. Povjerenstvu za magisterije i doktorate istog fakulteta prijavljuje temu doktorske disertacije pod naslovom "Serumski interleukin (IL)-6 i promjene srca u bolesnika sa sustavnom sklerozom". U listopadu 2006. godine izabrana je u suradničko zvanje asistenta na Katedri za internu medicinu Medicinskog fakulteta u Splitu.

Od položenog specijalističkog ispita stalno je zaposlena na Odjelu za bolesti srca i krvnih žila Klinike za unutarnje bolesti KBC Split. Aktivni je sudionik domaćih i međunarodnih stručnih skupova i kongresa iz područja kardiologije. Autor je publikacija citiranih u Current Contents te Index Medicus.