

**SVEUČILIŠTE U SPLITU
MEDICINSKI FAKULTET**

KRISTINA FRKETIĆ MAROVIĆ

**ULOGA SERUMSKOG BIOMARKERA CA 15-3
U PROBIRU ZA INTERSTICIJSKU BOLEST PLUĆA KOD SISTEMSKIH BOLESTI
VEZIVNOG TKIVA**

Doktorski rad

Split, 2025.

Rad je izrađen na Odjelu za internu medicinu Opće bolnice Zadar.

Voditelj rada: izv. prof. dr. sc. Miroslav Mayer

Zahvale i posvete

Želim izraziti svoju duboku zahvalnost svom mentoru, izv. prof. dr. sc. Miroslavu Mayeru, za njegovo nesebično prihvaćanje mentorstva, dragocjene savjete, ideje i znanje koje je velikodušno dijelio sa mnom.

Također, posebna zahvala ide prijateljici i kolegici dr. Aneli Tolić, čija me strast i znanje o „intersticiju“ inspirirala i motivirala. Bez njenog entuzijazma i poticaja ovaj rad jednostavno ne bi postojao.

Iskrene zahvale upućujem mojoj Maši, prijateljici i glavnoj sestri Dnevne bolnice za reumatologiju i imunologiju, Mariji Zubčić, mag.med.techn., na nevjerojatnoj energiji, pozitivnom duhu i vremenu koje je nesebično posvetila ovom projektu.

Duboko sam zahvalna dr. sc. Željki Kardum za njezine poticaje, ohrabrenje i podršku koja je bila odlučujuća u završnoj fazi ovog rada.

Velika hvala također i laboratorijskom osoblju Opće bolnice Zadar, njihovoj voditeljici Ireni Užović, spec.med.biokemije, kao i osječkoj potpori, dr. sc. Ines Šahinović, spec. med. biokemije, za svu njihovu pomoć i podršku.

Hvala dr. Marini Nekić, dr. sc. Darjanu Kardumu, ostalim kolegama i medicinskom osoblju koji su na različite načine doprinijeli ovom radu.

Ovaj doktorat posvećujem mojoj Vani, Ivoru i Danijelu. Hvala vam na neizmjernom strpljenju, ljubavi i razumijevanju tijekom cijelog ovog zahtjevnog procesa. Iako se nikada neću moći dovoljno ispričati za propuštene trenutke, znajte da ste mi najveća inspiracija i potpora. Bez vas, sve ovo ne bi imalo smisla.

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. Intersticijska bolest pluća.....	2
1.2. Intersticijska bolest pluća u sklopu sistemske bolesti vezivnog tkiva	3
1.2.1. Incidencija intersticijske bolesti pluća u sklopu sistemske bolesti vezivnog tkiva	6
1.2.2. Faktori rizika za intersticijsku bolest pluća u sklopu sistemske bolesti vezivnog tkiva.....	8
1.2.3. Klinička prezentacija i dijagnostika intersticijske bolesti pluća u sklopu sistemske bolesti vezivnog tkiva	9
1.2.4. Multisistemski učinak sistemskih autoimunih reumatskih bolesti	11
1.3. Testovi plućne funkcije	12
1.4. Visokorezolucijska kompjutorizirana tomografija	13
1.5. Patohistologija pluća	16
1.6. Algoritmi probira	17
1.7. Biomarkeri	18
1.7.1. Protutijelo KL-6.....	20
1.7.2. Karbohidratni antigen 15-3 (CA 15-3)	24
1.7.3. Korelacija protutijela KL-6 i CA 15-3 u intersticijskoj bolesti pluća.....	26
2. CILJEVI I HIPOTEZA.....	28
2.1. Ciljevi istraživanja	29
2.2. Hipoteza	29
3. ISPITANICI I POSTUPCI.....	30
3.1. Ispitanici.....	31
3.2. Etička načela	33
3.3. Postupci	33
3.4. Statističke metode	34
4. REZULTATI.....	36
5. RASPRAVA	50
6. ZAKLJUČAK	62
7. SAŽETAK.....	64
8. LAIČKI SAŽETAK NA HRVATSKOM JEZIKU	67
9. SUMMARY	69
10. LAY SUMMARY	72
11. LITERATURA	74
12. ŽIVOTOPIS	87

POPIS OZNAKA I KRATICA

ACA – protutijela na centromere, od engl. *anti centromere antibodies*

ACPA – protutijela na cikličke citrulinirane proteine, od engl. *anti-citrullinated protein antibodies*

ACR – Američko društvo za reumatologiju, od engl. *American College of Rheumatology*

AEC-II – pneumociti tipa II, od engl. *alveolar epithelial cells type II*

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

Anti-CA6 – protutijelo na ugljičnu anhidrazu 6, od engl. *carbonic anhydrase 6*

Anti-Ku – protutijelo na Ku protein

Anti-La/SS-B – protutijela na La/SS-B antigen, od engl. *anti-Sjögren's-syndrome-related antigen B*

Anti-MDA-5 – protutijelo MDA-5, od engl. *melanoma differentiation-associated gene 5*

anti-Pm/Scl – protutijela Pm/Scl-75i Pm/Scl-100

Anti-PSP – protutijela na salivarni protein-1, od engl. *parotid secretory protein*

Anti-Ro/SS-A – protutijela na Ro/SS-A antigen, od engl. *anti-Sjögren's-syndrome-related antigen A*

Anti-SP1 – protutijela na parotidnisekretorni protein, od engl. *salivary gland protein 1*

Anti-TNF protutijela – protutijela protiv čimbenika nekroze tumora, od engl. *anti - tumor necrosis factor antibody*

Anti-U1RNP – protutijela protiv U1-ribonukleoproteina, od engl. *anti-U1 ribonucleoprotein antibodies*

ARS – antisintetaza protutijela, aminoacil tRNA protutijela, od engl. *aminoacyl transfer RNA antibodies*

BAL – bronhoalveolarni lavat

BCA225 – antigen karcinoma dojke 225, od engl. *breast cancer antigen 225*

CA 125 – karbohidratni antigen 125, od engl. *carbohydrate antigen 125*

CA 15-3 – karbohidratni antigen 15-3, od engl. *carbohydrate antigen 15-3*

CA 19-9 – karbohidratni antigen 19-9, od engl. *carbohydrate antigen 19-9*

CC16 – Clara stanice 16-kDa sekretorni protein

CCL18 – C-C kemokinskiligand 18

CEA – karcinoembrionalni antigen, od engl. *carcinoembryonic antigen*

COVID-19 – koronavirusna bolest 2019

CYFRA 21-1 – citokeratinski fragment 21-1, marker za nemalostanični karcinom pluća

dcSSc – difuzna kožna sistemska skleroza, od engl. *diffuse cutaneous systemic sclerosis*

DLCO – difuzijski kapacitet pluća za ugljikov monoksid, od engl. *diffusing capacity of the lungs for carbon monoxide*

DM – dermatomiozitis

ECLIA – elektrokemiluminescentni imunotest

EJ – glicil-tRNA sintetaza

ELISA – enzimski povezani imunosorbentni test, od engl. *enzyme-linked immunosorbent assay*

EULAR – Europska liga protiv reumatizma, od engl. *European League Against Rheumatism*

FEV1 – forsirani izdisajni volumen u 1 sekundi

FVC – forsirani vitalni kapacitet, od engl. *forced vital capacity*

GGO – opaciteti izgleda mliječnog stakla, od engl. *ground-glass opacities*

HLA – antigeni histokompatibilnosti, od engl. *human leucocyte antigen*

HRCT – kompjutorizirana tomografija visoke rezolucije, od engl. *high-resolution computed tomography*

IIM – idiopatska upalna miopatija, od engl. *idiopathic inflammatory myopathy*

IL-6 – interleukin 6

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

IPAF – intersticijska pneumonija s autoimunim značajkama, od engl. *interstitial pneumonia with autoimmune features*

IPF – idiopatska plućna fibroza, od engl. *idiopathic pulmonary fibrosis*

Jo-1 – histidil-tRNA sintetaza

KL-6 – Krebs von den Lungen – 6

KS – asparaginil-tRNA sintetaza

lcSSc – ograničena kožna sistemska skleroza, od engl. *limited cutaneous systemic sclerosis*

LDH – serumski laktatdehidrogenaza, od engl. *lactate dehydrogenase*

LIP – limfoidna intersticijska pneumonija

LOXL2 – liziloksidaza poput 2

MCTD – miješana bolest vezivnog tkiva, od engl. *mixed connective tissue disease*

MCTD-ILD – intersticijska bolest pluća u sklopu miješane bolesti vezivnog tkiva, od engl. *mixed connective tissue disease – interstitial lung disease*

MSA – miozitis specifična protutijela

MUC1 – gen za protein mucin 1

NSE – neuron specifična enolaza

NSIP – nespecifična intersticijska pneumonija, od engl. *non-specific interstitial pneumonia*

OJ – izoleucil-tRNA sintetaza

OP – organizirajuća pneumonija

PL-12 – alanil-tRNA sintetaza

PL-7 – treonil-tRNA sintetaza

PM – polimiozitis

RA – reumatoidni artritis, od engl. *rheumatoid arthritis*

RA-ILD – intersticijska bolest pluća u sklopu reumatoidnog artritisa, od engl. *rheumatoid arthritis-interstitial lung disease*

RF – reumatoidni faktor

SARD – sistemska autoimuna reumatska bolest, od engl. *systemic autoimmune rheumatic disease*

SARD-ILD – intersticijska bolest pluća u sklopu sistemske bolesti vezivnog tkiva, od engl. *systemic autoimmune rheumatic disease – interstitial lung disease*

Scl-70 – protutijela na topoizomerazu I

SjS – Sjögrenov sindrom

SjS-ILD – intersticijska bolest pluća u sklopu Sjögrenovog sindroma, od engl. *Sjögren syndrome – interstitial lung disease*

SLE – sistemske eritemski lupus

SP-A – surfaktantni protein A

SP-D – surfaktantni protein D

SSc – sistemska skleroza

SSc-ILD – intersticijska bolest pluća u sklopu sistemske skleroze, od engl. *systemic sclerosis – interstitial lung disease*

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

TLC – ukupni kapacitet pluća, od engl. *total lung capacity*

YKL-40 – protein 1 sličan hitinazi -3

YRS/HA – tirozil-tRNA sintetaza

Zo – fenilalanil-tRNA sintetaza

1. UVOD

1.1. Intersticijska bolest pluća

Intersticijske bolesti pluća (ILD, engl. *interstitial lung disease*) zajednički su naziv za širok spektar različitih bolesti čija su glavna obilježja upalne i fibrozne promjene plućnog intersticija. ILD su klinički karakterizirane progresivnom dispnejom i kašljem, te smanjenom plućnom funkcijom i smanjenom kvalitetom života, a dijagnosticiraju se slikovnim pretragama. Posljednjih nekoliko desetljeća sve je veći broj istraživanja usmjerenih na identifikaciju uzroka i razumijevanje epidemiologije, kao i unapređenje kliničke dijagnoze i novih terapijskih opcija (2, 3).

Etiologija jednog dijela ILD-a još uvijek je nejasna, dok se većina slučajeva ILD-a može povezati s određenim okolišnim čimbenicima (poput alergena, toksina i zagađenja zraka) ili s primjenom određenih lijekova, te konačno s određenim autoimunim bolestima. Idiopatske intersticijske pneumonije obuhvaćaju široki spektar bolesti nejasne etiologije s različitim kliničkim manifestacijama i različitom brzinom progresije. Predstavnik ove skupine, ujedno najčešća i najteža idiopatska forma ILD-a, je idiopatska plućna fibroza (IPF, engl. *idiopathic pulmonary fibrosis*). ILD povezane s okolišnim čimbenicima, poznate kao ILD uzrokovane izlaganjem, često su kronične i imaju visok rizik od razvoja progresivne fibroze. Predstavnik ove skupine je hipersenzitivni pneumonitis koji je uglavnom povezan s udisanjem organskih čestica (npr. kućnim ili profesionalnim izlaganjem plijesni, pticama ili drugim tvarima) (2-4). Među intersticijskim bolestima pluća poveznim s primarnim bolestima predstavnik je sarkoidoza. Sarkoidoza je multisistemska kronična upalna bolest nepoznate etiologije karakterizirana formiranjem granuloma. Bolest je koja često počinje asimptomatski, a u konačnici može dovesti do plućnih komplikacija kao što su fibroza i respiratorna insuficijencija (5).

1.2. Intersticijska bolest pluća u sklopu sistemskih bolesti vezivnog tkiva

Intersticijska bolest pluća u sklopu sistemskih bolesti vezivnog tkiva (SARD-ILD, engl. *systemic autoimmune rheumatic disease associated interstitial lung disease*) najčešće podrazumijeva češće kronične bolesti plućnog intersticija, te rijetka akutna stanja kao što je difuzno alveolarno krvarenje (1-4).

SARD-ILD se definira kao prisutnost ILD-a dokazane visokorezolucijskom kompjutoriziranom tomografijom (HRCT, engl. *high resolution CT*) u kontekstu već uspostavljene dijagnoze SARD-a. Uzorci ILD-a koji se vide na HRCT-u temeljem kojih se postavlja dijagnoza su različite kombinacije retikulacija, alveolarnih opaciteta izgleda mliječnog stakla (GGO, engl. *ground-glass opacities*), traheobronhiektazija, saćastih pluća (engl. *honeycombing*) i cista (6).

Prije postavljanja dijagnoze ILD-a u sklopu SARD-a važno je isključiti druge uzroke bolesti plućnog parenhima. Kod pacijenata sa SARD-om to se posebno odnosi na infekcije, malignitete i medikamentozni pneumonitis. Velik broj lijekova koji se koristi za liječenje SARD-a smatraju se potencijalno pneumotoksičnima i mogu dovesti do oštećenja pluća što može nalikovati na SARD-ILD (7). Razumijevanje specifičnih i općih karakteristika ILD-a povezanih sa SARD-ima ključno je za pravodobnu dijagnozu i adekvatno liječenje, čime se može poboljšati kvaliteta života pacijenata.

Sistemske autoimune reumatske bolesti (SARD, engl. *systemic autoimmune rheumatic disease*) podrazumijevaju spektar autoimunih bolesti koji uključuje reumatoidni artritis (RA), sistemska sklerozu (SSc), idiopatske upalne mioopatije (IIM), miješanu bolest vezivnog tkiva (MCTD), Sjögrenov sindrom (SjS) i sistemski eritemski lupus (SLE). Ove bolesti imaju svoje jedinstvene i prepoznatljive značajke, no zajednički im je mehanizam sistemske autoimunosti povezane sa cirkulirajućim protutijelima koja ciljaju različite organske sustave. Dobro poznata ekstraartikularna klinička manifestacija SARD-a je intersticijska pneumonija. ILD se najčešće javlja unutar konteksta već uspostavljene sistemske bolesti, ali nije rijetkost da ILD bude prva, a ponekad i jedina manifestacija inače skrivenog SARD-a.

ILD se kao prva manifestacija SARD-a javlja kod 10-30 % pacijenata te može prethoditi dijagnozi autoimune bolesti nekoliko godina. Patološki mehanizmi povezani s intersticijskim promjenama u plućima u sklopu SARD-a rezultiraju sličnim histološkim, radiološkim i kliničkim karakteristikama kao i idiopatska intersticijska pneumonija (8, 9).

SARD-ILD se može javiti u kontekstu bilo koje SARD dijagnoze, no najčešće se susreće kod RA, SSc i IIM.

Reumatoidni artritis (RA) je sistemska upalna bolest koja se najčešće očituje simetričnom upalom malih zglobova šaka i stopala. RA često pogađa i druge zglobove te može utjecati na sve organske sustave u tijelu. Neki od faktora rizika za razvoj reumatoidnog artritisa uključuju genetsku predispoziciju, srednju životnu dob, ženski spol, niži socioekonomski status i pušenje. RA je najčešća sistemska autoimuna reumatska bolest, prisutna kod 0,5 – 1 % populacije Sjedinjenih Američkih Država, s globalnom prevalencijom od 0,24 % (približno 18 milijuna ljudi). RA predstavlja jedan od ključnih uzroka globalne invalidnosti, uzrokujući procijenjene godišnje troškove zdravstvene zaštite u Sjedinjenim Američkim Državama od 19,3 milijardi dolara. ILD predstavlja samo jednu od ekstraartikularnih manifestacija RA, ali je jedan od vodećih uzroka smrti i invaliditeta kod RA bolesnika. Neki od rizičnih faktora za razvoj ILD-a u kontekstu RA identični su onima za RA (npr. pušenje), dok su drugi specifični za ILD (npr. muški spol).(10)

Sistemska skleroza (SSc) je heterogena autoimuna bolest obilježena imunološkom disregulacijom, vaskulopatijom i progresivnom fibrozom, uz višestruko zahvaćanje organskih sustava. Najčešće pogođeni organi obuhvaćaju kožu, pluća, probavni sustav i mišićno-koštani sustav. Pacijenti sa SSc razdvajaju se u dvije primarne kategorije na osnovu opsega kožne involviranosti: ograničena kožna sistemska skleroza (lcSSc) i difuzna kožna sistemska skleroza (dcSSc). Pacijenti s lcSSc imaju zahvaćenu kožu lica te distalnih dijelova ruku i nogu, dok pacijenti s dcSSc imaju opsežniju zahvaćenost koja obuhvaća trup i cijele ekstremitete. Pacijenti sa SSc-ILD imaju varijabilan tijek bolesti; neki imaju spor i indolentan razvoj, a drugi brzu progresiju simptoma. ILD je vodeći uzrok smrtnosti kod pacijenata sa SSc (11).

Idiopatska upalna miopatija (IIM) obuhvaća skupinu autoimunih sistemskih bolesti koje se odlikuju kombinacijom mišićne slabosti, osipa i protutijela poznatih kao miozitis specifična protutijela (MSA). ILD je uobičajena manifestacija idiopatskih inflamatornih miopatija (IIM) i može se javiti prije ili nakon postavljanja dijagnoze miopatije (12).

Tri su glavne forme IIM povezane s ILD-om:

- Dermatomiozitis (DM), bolest karakterizirana humoralno posredovanom patogenezom sa specifičnim osipom i mišićnom slabošću. Poseban entitet nazvan amiopatski dermatomiozitis se nalazi u podskupini pacijenata s DM i karakteriziran je kožnim manifestacijama klasičnog DM-a, ali bez kliničkih znakova mišićne slabosti ili abnormalnosti mišićnih enzima.
- Polimiozitis (PM) se također odlikuje mišićnom slabošću, ali bez osipa prisutnog kod dermatomiozitisa (DM). Patogeneza PM se smatra stanično posredovanom.
- Anti-sintetaza sindrom karakteriziraju protutijela usmjerena protiv aminoacil-tRNA sintetaze uz kliničke značajke koje uključuju ILD, miopatiju, Raynaudov fenomen, „mehaničarske ruke“ i artritis. (12)

Miješana bolest vezivnog tkiva (MCTD, engl. *mixed connective tissue disease*) je sindrom preklapanja povezan s protutijelima protiv U1-ribonukleoproteina (anti-U1 RNP, engl. *anti-U1 ribonucleoprotein antibodies*), a obuhvaća različite kliničke karakteristike SLE-a, SSc-a i IIM-a. Intersticijska bolest pluća javlja se kod otprilike 50 do 66 % pacijenata s MCTD-om. Rizični faktori za razvoj ILD-a u MCTD-u su kliničke manifestacije SSc-a, Raynaudov fenomen, simptomi disfagije i artritis (13).

Sjögrenov sindrom (SjS) se odlikuje simptomima suhih sluznica, uključujući kserostomiju i kseroftalmiju, zatim limfocitnom infiltracijom i oštećenjem egzokrinih žlijezda, kao i prisutnošću cirkulirajućih antitijela na Ro/SS-A antigen (engl. *anti-Sjögren's-syndrome-related antigen A*) i protutijela na La/SS-B antigen (engl. *anti-Sjögren's-syndrome-related antigen B*). Posljednjih godina razvija se panel novih protutijela, protutijela na parotidni sekretorni protein (SP1, engl. *salivary gland protein 1*), ugljičnu anhidrazu 6 (CA6, engl. *carbonic anhydrase 6*) i salivarni protein-1 (PSP, engl. *parotid secretory protein*) za dijagnosticiranje ranog SjS kada postoji visoka klinička sumnja, a konvencionalni markeri su negativni. Subkliničko zahvaćanje pluća primjećuje se kod do 75 % pacijenata, a osim intersticija, nerijetko su zahvaćeni i dišni putevi (14).

Sistemske eritemske bolesti (SLE) je kronična autoimuna bolest koja može utjecati na gotovo svaki organski sustav tijela. Pacijenti mogu ispoljavati blage kliničke simptome, uključujući artralije i kožne promjene, do ozbiljnijih oštećenja bubrega, srca, hematološkog sustava ili središnjeg živčanog sustava. Pulmonalne manifestacije kod SLE uz zahvaćanje intersticija uključuju i zahvaćanje pleure, pleuritis, zatim plućnu hipertenziju i alveolarna krvarenja. Pojava ILD-a je manje uobičajena u SLE nego u drugim sistemskim autoimunim bolestima (15).

1.2.1. Incidencija intersticijske bolesti pluća u sklopu sistemske bolesti vezivnog tkiva

Posljednjih desetljeća raste osviještenost o visokoj incidenciji i prevalenciji intersticijskih bolesti pluća kod oboljelih od SARD-a. Tako se u razdoblju od 1995. do 2000. godine učestalost ILD-a uzrokovanog bolestima vezivnog tkiva povećala sa 4,46 na 12,32 na 100 000 osoba-godina (16). Točna prevalencija SARD-ILD nije poznata i varira širom svijeta, uglavnom zbog razlika u metodama probira i epidemioloških mjerenja. Studije većih kohorta iz Sjedinjenih Država i Kine pokazale su da su SSc i RA dvije glavne skupine SARD-a koje uzrokuju ILD, nakon kojih slijede IIM, SjS i SLE (17, 18).

Sistemske bolesti vezivnog tkiva, ako izdvojimo RA, su općenito rijetke bolesti. Globalna incidencija SSc kreće se od 8 do 56 novih slučajeva na milijun osoba godišnje, dok je prevalencija 26 na 100 000. Oba podtipa SSc, difuzni i limitirani kutani, mogu razviti ILD, ali općenito se smatra da je ILD češći kod pacijenata sa dcSSc (10, 11). Prevalencija SLE iznosi 15 do 50 slučajeva na 100 000 osoba godišnje. Najmanju incidenciju među SARD ima IIM sa 1-19 slučajeva na milijun osoba godišnje, a prevalencija je otprilike 1-4 na 100 000. Prevalencija MCTD iznosi 3,8 slučajeva na 100 000 odraslih osoba. Prevalencija SjS je veća i kreće se oko 3 % kod osoba starijih od 50 godina, a RA koji je najčešća SARD pogađa 0,5 % do 2 % opće populacije (19).

Ukupna učestalost ILD-a povezanog sa SARD-om procjenjuje se na oko 15%, a prevalencija ILD-a vezana za specifičnu SARD je zbog neujednačenih epidemioloških mjerenja vrlo varijabilna. Prema metaanalizi *Joy i sur.* iz 2023.godine definirane su tri podgrupe SARD-a s različitim prevalencijama ILD-a. Najviša prevalencija ILD-a zabilježena je kod SSc, IIM i MCTD. U toj skupini se prevalencija kreće od 41 do 56%

(20). Umjerena prevalencija od 11 % je zabilježena kod RA i od 17 % kod SjS, a najniža prevalencija od 6% zabilježena je kod SLE (20).

Prevalencija ILD kod oboljelih od RA (RA-ILD) značajno varira, od 19 do 67 %. Kumulativna incidencija u roku od tri godine iznosi 6,8 %, dok je rizik od pojave tijekom života 7,7 %. Zahvaćenost pluća (tj. plućnog parenhima, pleure i dišnih puteva) kod RA prema nekim istraživanjima nađena je kod 60 do 80% pacijenata. U nekim slučajevima zahvaćanje pluća može prethoditi razvoju zglobne bolesti. Važno je napomenuti da značajan broj tih slučajeva ostaje asimptomatski ili nije klinički značajan, odnosno ne doprinosi mortalitetu ili invaliditetu. Oko 10 % RA-ILD pacijenata razvija klinički značajnu ILD, a ova brojka je izrazito značajna uzmemo li u obzir visoku prevalenciju samog RA. Prevalencija i smrtnost od RA-ILD-a je u porastu (21).

Učestalost subkliničkog ILD-a na HRCT-u je očekivano veća i iznosi od 33 % do 57 % kod pacijenata sa SARD-om (22). Prevalencija ILD-a na HRCT-u je 19 % kod RA, 23 % do 38 % kod IIM, 30 % kod SLE, 52 % do 85 % kod MCTD, 75 % kod SjS, i 70 % do 90 % kod SSc (19, 23).

Učestalost specifičnih patohistoloških, odnosno HRCT, obrazaca ILD-a značajno varira ovisno o podtipu SARD-a. Trendovi učestalosti djelomično odražavaju faktore rizika za razvoj ILD-a. Konkretno, RA ima najvišu prevalenciju uobičajene intersticijske pneumonije (UIP, engl. *usual interstitial pneumonia*) od 46 %, što se može objasniti starijom dobi, muškim spolom i pušenjem kao faktorima rizika za RA-ILD koji su ujedno i glavni faktori rizika za razvoj IPF-a. Svi ostali SARD češće su povezani s uzorkom nespecifične intersticijske pneumonije (NSIP, engl. *non-specific interstitial pneumonia*). Organizirajuća pneumonija (OP) koja je tipična, ali relativno rijetka prezentacija, najčešće se vidi kod IIM-a (20).

Značajna varijabilnost u HRCT obrascima među SARD-ima i različiti faktori rizika za te obrasce sugeriraju mogućnost klinički važnih bioloških razlika među tim populacijama koje treba dalje istražiti. Prirodni tijek ILD-a kod oboljelih od SARD-a je prilično promjenjiv. ILD je nerijetko životno ugrožavajuća komplikacija među pacijentima sa SARD-om, praćena značajnim morbiditetom i smrtnošću. Stoga je učinkoviti probir ključan za rano otkrivanje i liječenje SARD-ILD-a kako bi se poboljšala loša prognoza.

1.2.2. Faktori rizika za intersticijsku bolest pluća u sklopu sistemske bolesti vezivnog tkiva

Seropozitivnost i povišeni upalni markeri se generalno smatraju faktorima rizika za razvoj ILD-a. Izuzetak od ovog pravila su pacijenti sa SLE-om kod kojih je ILD relativno rijetka manifestacija usprkos brojnim autoantijelima (24). Potencijalni faktori rizika na nastanak ILD-a razlikuju se ovisno o temeljnoj SARD.

RA i SjS imaju slične demografske faktore rizika za razvoj ILD-a koji uključuju stariju životnu dob, duže trajanje SARD-a, kasniji početak SARD-a i muški spol. Ovi faktori rizika (stariji muškarci) slični su onima kod IPF-a, što možda može objasniti i veću učestalost UIP uzorka kod ovih SARD u usporedbi s drugim uzorcima ILD-a (20). Kod RA za neke faktore rizika postoje čvrsti dokazi. To su starija dob, pušenje, muški spol i visoka aktivnost osnovne bolesti (25). Slabije su razine dokaza za razinu protutijela na cikličke citrulinirane proteine (ACPA, engl. *anti-citrullinated protein antibodies*), reumatoidnog faktora (RF), upotrebu metotreksata i protutijela protiv čimbenika nekroze tumora (anti-TNF protutijela, engl. *anti - tumor necrosis factor antibody*) i genetsku sklonost (26, 27). Najjači genetski faktor rizika za IPF, a to je varijanta s dobivenom funkcijom u promotorskom području gena koji kodira mucin 5b pronađena je i kod 32 % pacijenata s RA-ILD-om (28).

Pacijenti s oba oblika SSc, ograničenom i difuznom, mogu razviti ILD. Profil protutijela je važan za predikciju pojave ILD-a kod boljelih od SSc (SSc-ILD) pa su tako protutijela na topoizomerazu I (Scl-70) povezana s povećanim rizikom za ILD u usporedbi s protutijelom na centromere (ACA, engl. *anticentromere antibodies*). Pacijenti s nukleolarnim uzorkom antinuklearnih protutijela (ANA, engl. *antinuclear antibodies*) također su pod povećanim rizikom za ILD. Nukleolarni uzorak ANA često je odraz postojanja protutijela na Th/To i U3-ribonukleoprotein, a ova protutijela se povezuju s teškim oblicima ILD-a. Za razliku od RA i SjS kod kojih se rizik za nastanak ILD-a povećava s trajanjem bolesti, rizik za SSc-ILD je veći u početku bolesti, u prvih 5 do 7 godina od početka SSc simptoma. Drugi faktori rizika uključuju viši modificirani Rodnanov skor za kožu, muški spol, crnu rasu, povišene razine reaktanata akutne faze upale, kreatin kinaze i zahvaćanje miokarda. (27, 29, 30)

Pripadnici crne rase imaju povećan rizik za ILD i u slučaju IIM. Sve je više dokaza o genetskom utjecaju na razvoj IIM-ILD, pa tako postoji snažna povezanost s određenim antigenima histokompatibilnosti (HLA, engl. *human leucocyte antigen*), HLA-DRB103:01 i HLA-B08:01 (31-33). Najveći rizik za IIM-ILD nosi prisustvo antisintetaza, odnosno

aminoacil tRNA (ARS, engl.*aminoacyl transfer RNA*) protutijela, histidil-tRNA sintetaza (Jo-1), treonil-tRNA sintetaza (PL-7), alanil-tRNA sintetaza (PL-12), glicil-tRNA sintetaza (EJ), izoleucil-tRNA sintetaza (OJ), asparaginil-tRNA sintetaza (KS), fenilalanil-tRNA sintetaza (Zo) i tirozil-tRNA sintetaza (YRS/HA). Ostala ne-antisintetaza protutijela koja nose rizik ILD-a su anti-MDA-5 (engl.*melanoma differentiation-associated gene 5*), anti-Ku, anti-Pm/Scl, anti-Ro/SS-A, a od kliničkih znakova „mehaničarske ruke“, ulceracije i artritis. (27)

Faktori rizika za ILD kod oboljelih od MCTD (MCTD-ILD) su prisutnost obilježja SSc, disfagija i Raynaudov fenomen. Kod SjS rizik za nastanak ILD-a veći je kod starije dobi, limfopenije, prisustva anti-Ro/SS-A i ANA, Raynaudovog fenomena i kod postojanja teških oblika dentalnog karijesa. (27)

1.2.3. Klinička prezentacija i dijagnostika intersticijske bolesti pluća u sklopu sistemske bolesti vezivnog tkiva

Sve sistemske autoimune reumatske bolesti imaju definirane dijagnostičke kriterije koje su predložili i ažurirali Europska liga protiv reumatizma (EULAR, *European League Against Rheumatism*) i Američko društvo za reumatologiju (ACR, *American College of Rheumatology*).

Dijagnoza SARD-ILD temelji se na sveobuhvatnoj evaluaciji koja uključuje kombinaciju kliničkih, radioloških i patoloških kriterija. Metode koje se koriste za otkrivanje ILD-a uključuju kliničku procjenu, testove plućne funkcije, HRCT i nove tehnike poput ultrazvuka pluća i seroloških biomarkera.

Kliničke karakteristike reumatoidnog artritisa

Tipična prezentacija RA odvija se s postepenim početkom poliartikularnog sinovitisa, koji se manifestira bolovima, jutarnjom ukočenošću i oticanjem zglobova. Rijetko, pacijenti mogu imati akutan početak s monoartikularnim simptomima, intermitentnim ili migratornim simptomima. Osim zahvaćanja plućnog intersticija i pleuritisa, češće ekstraartikularne manifestacije su reumatoidni čvorići, kseroftalmija, episkleritis, skleritis i perikarditis. Sistemske simptome (febrilitet, mialgije, umor, gubitak apetita i tjelesne težine) prisutni su kod manje od polovice pacijenata. (10)

Kliničke karakteristike sistemske skleroze

SSc se tradicionalno klasificira na temelju opsega zahvaćenosti kože na ograničeni i difuzni oblik bolesti. Zahvaćenost kože u većini slučajeva predstavlja univerzalnu karakteristiku bolesti. Rani simptomi mogu uključivati edem, napuhnete ruke i svrbež kože. Samo mali postotak pacijenata sa SSc nema zahvaćenost kože, što se naziva *SSc sine scleroderma*. Raynaudov fenomen prisutan je kod većine pacijenata sa SSc i obično prethodi početku bolesti više godina. Kapilaroskopija može pomoći u evaluaciji pacijenata sa SSc. Promjene na kapilarama uključuju dilatirane i gole kapilare, krvarenja, dezorganizaciju kapilara, razgranate i grmolike kapilare te gubitak kapilara. Pacijenti često imaju patološki umor, kao i nelagodu uzrokovanu zahvaćanjem kože, Raynaudovim fenomenom i digitalnim ulceracijama. (11)

Kliničke karakteristike idiopatske upalne miopatije

Kod IIM gubitak snage najčešće počinje u proksimalnim mišićnim skupinama ekstremiteta, ramenom pojasu i mišićima prednjeg vrata. Ponekad su zahvaćeni i stražnji faringealni mišići. Simptomi uključuju poteškoće u ustajanju iz sjedećeg položaja, penjanju uz stepenice, žvakanju, gutanju i govoru. Kožne manifestacije mogu uključivati heliotropni osip oko očiju, tipični osip lica, prsnog koša, ramena i bedara. Papule na ekstenzornoj strani metakarpofalangealnih i proksimalnih interfalangealnih zglobova, Gottronove papule, karakteristične su za miozitis. „Mehaničarske ruke“, koje se prikazuju kao suha, ispucala ili raslojena koža duž bočnih strana prstiju, smatraju se patognomoničnim za IIM. Amiopatski dermatomiozitis manifestira se osipom tipičnim za DM bez objektivne mišićne slabosti (12).

Indikacije za procjenu ILD-a

ILD bi trebao biti na listi diferencijalne dijagnoze za bilo kojeg pacijenta sa sumnjom ili potvrđenim SARD-om koji pokazuje bilo koji od sljedećih znakova i simptoma:

- Zaduha
- Intolerancija napora
- Suhi, uporni kašalj
- Auskultatorni nalaz krepitacija
- Batićasti prsti
- Hipoksemija u mirovanju ili u aktivnosti

Kod većine pacijenata najprije se postavi dijagnoza sistemske autoimune bolesti, a zatim se nekoliko godina kasnije manifestira autoimuna bolest pluća kao ILD. Kod jednog dijela

pacijenata, ILD se može javiti kao prva manifestacija, a zatim se nekoliko godina kasnije može razviti autoimuna bolest s promjenama na koži, zglobovima i pozitivnom serologijom.

Laboratorijske pretrage

Autoantitijela uključuju ANA protutijela i protutijela specifična za određene bolesti:

- RA: reumatoidni faktor (RF) i protutijela na cikličke citrulinirane proteine (ACPA, engl. *anti-citrullinated protein antibodies*)
- SSc: protutijela na topoizomerazu I (Scl-70), protutijela na centromere (ACA, engl. *anti centromere antibodies*) i protutijela na RNA polimerazu
- IIM: miozitis specifična protutijela su osam do sada otkrivenih antisintetaza, aminoacil tRNA (ARS, engl. *aminoacyl transfer RNA*) protutijela: histidil-tRNA sintetaza (Jo-1), treonil-tRNA sintetaza (PL-7), alanil-tRNA sintetaza (PL-12), glicil-tRNA sintetaza (EJ), izoleucil -tRNA sintetaza (OJ), asparaginil-tRNA sintetaza (KS), fenilalanil-tRNA sintetaza (Zo) i tirozil-tRNA sintetaza (YRS/HA). Nadalje, miozitis specifična ne-antisintetaza protutijela su anti-SRP (engl. *signal recognition particle*), anti-Mi-2 (*DNA helicase*), anti-TIF1 γ/α (anti-p155/p140), anti-SAE (anti-Sumo), anti-MDA-5 (engl. *melanoma differentiation-associated gene 5*), anti-NXP-2 (engl. *nuclear matrix protein 2*) i HMGCRC (anti 200/100). Određena protutijela kao što su Jo-1, PL-7 i PL-12 čvrsto su povezana s razvojem ILD-a. Protutijela anti-MDA-5 mogu se naći kod pacijenata s amiotičkim dermatomiozitisom i snažno koreliraju s razvojem brzo progresivnog ILD-a.(32)
- SjS: protutijelo na Ro/SS-A antigen (engl. *anti-Sjögren's-syndrome-related antigen A*) i protutijelo na La/SS-B antigen (engl. *anti-Sjögren's-syndrome-related antigen B*). Noviji panel za otkrivanje bolesti u ranoj fazi bolesti suprotutijela na parotidni sekretorni protein (SP1, engl. *salivary gland protein 1*), ugljičnu anhidrazu 6 (CA6, engl. *carbonic anhydrase 6*) i salivarni protein-1 (PSP, engl. *parotid secretory protein*). (14)
- MCTD: protutijelo na U1 ribonukleoprotein (anti-U1 RNP)

1.2.4. Multisistemiški učinak sistemskih autoimunih reumatskih bolesti

SARD su sistemske bolesti pa zahvaćanje i drugih organskih sustava može potencijalno utjecati na respiratorne simptome ili rezultate testova plućne funkcije zbog čega je važan multidisciplinarni pristup u dijagnostici ILD-a.

Plućna hipertenzija, koja se najčešće vidi kod lcSSc, može izazvati zaduhu, hipoksemiju, intoleranciju napora, te redukciju DLCO-a. Stoga je važno kod sumnje na ILD uz pulmološku obradu provesti i ehokardiografski probir na plućnu hipertenziju. Slabost mišića, koja je najčešće povezana s idiopatskim upalnim miopatijama, može dovesti do nedostatka daha i intolerancije napora, te smanjenja volumena pluća, a koji nisu u skladu s težinom ILD-a. Slabost mišića može se procijeniti parametrima plućne funkcije, pomoću maksimalnog inspiracijskog i ekspiracijskog tlaka te analizom maksimalne voljne ventilacije. Nadalje, zahvaćanje srca u obliku ishemijske koronarne bolesti, perikarditisa ili miokarditisa može se vidjeti kod različitih SARD-a i također može izazvati zaduhu koja nije proporcionalna afekciji pluća.(29)

1.3. Testovi plućne funkcije

Testovi plućne funkcije, spirometrija i difuzijska sposobnost pluća za ugljikov monoksid su neizostavni dio dijagnostičkog procesa kod pacijenata s ILD-om. Različiti funkcionalni testovi pomažu u procjeni težine fibroze i smanjenja plućne funkcije.

Forsirani vitalni kapacitet (FVC) je mjera koja se koristi u pulmologiji za procjenu ukupnog kapaciteta pluća i otkrivanje restriktivnih poremećaja plućne funkcije. FVC se određuje pomoću spirometra mjerenjem volumen pluća i protoka zraka tijekom udaha i izdaha. Smanjenje FVC-a za više od 10% tijekom razdoblja od 12 mjeseci često ukazuje na progresiju bolesti i povezano je sa značajno nižim petogodišnjom preživljavanjem (34, 35).

Testovi plućne funkcijemogu biti normalni u ranoj fazi bolesti. Kod SARD-ILD najčešće se vidi restriktivni obrazac sa smanjenim FVC i normalnim ili visokim omjerom forsiranog ekspiracijskog volumena u 1 sekundi (FEV1)/FVC. Opstrukcija protoka zraka obilježena je FEV1/FVC omjerom $< 0,70$ i može se primijetiti kod zahvaćenosti dišnih puteva, najčešće u RA i Sjögrenovom sindromu. Smanjeni maksimalni inspiracijski i ekspiracijski tlakovi mogu se primijetiti kod pacijenata s IIM i zahvaćanja respiratornih mišića.(35)

Difuzijski kapacitet pluća za ugljikov monoksid (DLCO) procjenjuje sposobnost prijenosa plinova iz alveola u krvotok. Smanjen DLCO može ukazivati na oštećenje alveolarnog tkiva i smanjenje plućne površine za izmjenu plinova što je čest nalaz kod intersticijskih bolesti pluća. DLCO može biti smanjen i zbog plućne vaskularne bolesti što naglašava važnost ehokardiografskog probira na plućnu arterijsku hipertenziju.

Iako su ovi funkcionalni testovi ključni za procjenu ozbiljnosti bolesti, važno je napomenuti da oni nisu specifični za ILD, jer se njihovi rezultati mogu preklapati s drugim bolestima pluća, poput kroničnog opstruktivnog bronhitisa, emfizema ili plućne hipertenzije. Ovi komorbiditeti mogu otežati interpretaciju rezultata testova plućne funkcije i dodatno komplicirati kliničku sliku pacijenata.(35)

1.4. Visokorezolucijska kompjutorizirana tomografija

Tradicionalna razlika između HRCT-a i standardnog CT-a toraksa leži u debljini snimanja ili rekonstrukciji (<1,5 mm za HRCT nasuprot 3–5 mm za standardni CT toraksa). U današnje vrijeme ta razlika gotovo da i ne postoji jer se i standardni CT pregledi sada često rekonstruiraju koristeći tanke snimke. HRCT toraksa obično uključuje inspiratorne prikaze u pronaciji kako bi se razlikovala blaga atelektaza pluća od rane fibroze, te supinacijske snimke na kraju izdisaja radi procjene zadržavanja zraka. Većina slučajeva ILD-a može se primijetiti na visokokvalitetnom CT-u toraksa i bez upotrebe kontrasta. Treba imati na umu da su CT angiografske studije često neadekvatne za procjenu ILD-a. Naime, CT angiografija se obično provodi pri nepotpunom inspiriju što može uzrokovati izraženu atelektazu koja može prikriti, naglasiti ili oponašati ILD. (27)

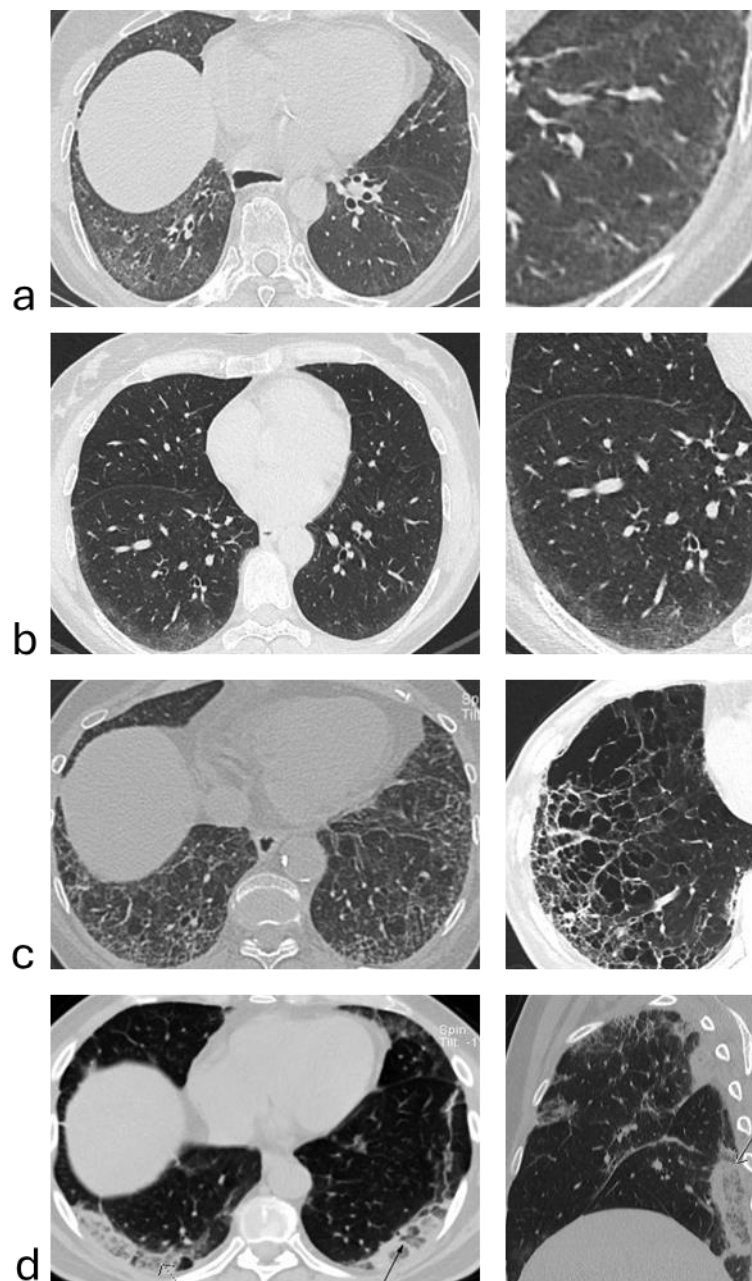
HRCT se smatra *zlatnim standardom* u dijagnostici ILD-a zbog svoje sposobnosti pružanja preciznih i detaljnih prikaza plućnog tkiva.

Značajke ILD-a na HRCT-u su:

- saćasto pluće (engl. *honeycombing*)
- trakcijske bronhiektazije
- retikulacije
- gubitak volumena
- GGO
- konsolidacije
- zarobljavanje zraka (engl. *airtrapping*)

HRCT omogućuje identifikaciju karakterističnih radioloških obrazaca koji su specifični za različite vrste ILD-a. Tipični HRCT obrasci za SARD-ILD uključuju NSIP, UIP i OP. (OP) (Slika 1.). Rjeđi HRCT obrasci su limfoidna intersticijska pneumonija (LIP) i difuzno alveolarno oštećenje ili hemoragija (6).

Svaka SARD pokazuje sklonost prema određenom obrascu zahvaćanja plućnog parenhima s tim da postoje značajna preklapanja. Ukupno gledajući, radiografski NSIP-obrazac najčešće se nalazi kod SARD-ILD-a. NSIP karakteriziraju intralobularne i interlobularne retikulacije, pretežno u subpleuralnoj i bazalnoj distribuciji. GGO smatraju se pokazateljem većeg stupnja staničnosti i upale što sugerira potencijalno bolji terapijski odgovor, iako to nije uvijek slučaj. Poštediti subpleuralnog prostora, koji izgleda kao tanki prozini sloj parenhima neposredno uz pleuru u stražnjim zonama plućnih baza, tipičan je nalaz osnovnog NSIP obrasca i govori protiv UIP obrasca. Obilježja UIP-a, bazalna predominacija retikulacija, trakcijske bronhiektazije i saćasta pluća, odraz su uznapredovalih fibrotskih promjena. Uočene abnormalnosti u drugim torakalnim strukturama, npr. dilatacija jednjaka ili plućne arterije, trebale bi izazvati sumnju na prisutnost SARD-a. OP-obrazac se na HRCT-u najčešće manifestira kao konsolidacija i GGO bilateralne i periferne distribucije. (4)



Slika 1. Tipični HRCT obrasci intersticijske bolesti pluća povezane sa sistemskim autoimunim reumatskim bolestima (SARD-ILD). a) nespecifična intersticijska pneumonija sa fibroznom predominacijom (fibrotični NSIP); b) nespecifična intersticijska pneumonija sa staničnom predominacijom (stanični NSIP); c) uobičajena intersticijska pneumonija (UIP), lijevo: vjerojatni UIP s retikulacijama i trakcijskim bronhiektazijama, desno: definitivni UIP karakteriziran saćama; d) organizirajuća pneumonija (OP).

Slike iz arhive dr. Anele Tolić, uz privolu pacijenata za uporabu slika za znanstvene i stručne svrhe.

Najčešći HRCT obrazac koji se vidi u SSc je NSIP, dok je UIP prisutan u do 40 % slučajeva SSc. ILD povezan s IIM-om često je karakteriziran preklapanjem obrazaca NSIP i OP. Kod RA, najčešći radiografski obrazac je UIP, zatim NSIP, a OP obrazac je izuzetno rijedak. Kod oboljelih od RA u 20-60 % slučajeva javlja se intersticijska plućna abnormalnost (ILA) koja će u 35–45 % imati progresivni fenotip (6).

Bitna prednost HRCT-a je njegova sposobnost da otkrije promjene intersticija u ranoj fazi bolesti, dok su simptomi još uvijek blagi ili nespecifični. Time se smanjuje potreba za invazivnom dijagnostičkom obradom kao što su biopsija pluća i patohistološka dijagnostika. Brojne studije su pokazale da HRCT može pružiti dovoljno informacija za postavljanje dijagnoze ILD-a i bez potrebe za biopsijom pluća (4, 36, 37). Kao rezultat ovih prednosti HRCT je postao nezamjenjiv alat, odnosno „*zlatni standard*“, u dijagnostici intersticijskih bolesti pluća.

S druge strane, postoji više razloga zašto HRCT nije optimalna metoda probira za SARD-ILD. U prvom redu to je izlaganje ionizirajućem zračenju. Ionizirajuće zračenje može predstavljati značajan problem ako znamo da od SARD-a nerijetko obolijevaju mlade žene reproduktivne dobi. Nadalje, tu je potreba za ponavljanjem probira obzirom da se zahvaćanje plućnog intersticija može javiti bilo kada tijekom trajanja SARD-a (38). Visoki troškovi koji prate HRCT kao i nedostupnost pretrage mogu predstavljati ozbiljnu prepreku ako govorimo o probiru na velikoj skupini pacijenata kao što su oboljeli od RA ili oni pacijenti sa SARD-om koji nemaju simptome, a potrebno je provesti probir.

1.5. Patohistologija pluća

Nespecifična intersticijska pneumonija (NSIP)

Patohistološki NSIP je karakteriziran je difuznom i ujednačenom upalom što se naziva „temporalna homogenost“. U reznjevima zahvaćenim NSIP-om obično nema zdravih alveolarnih stijenki. Ovisno o tome koje promjene dominiraju, stanične ili fibrotične, NSIP se klasificira kao „stanični (celularni) NSIP“ ili „fibrotični NSIP“. Ukoliko je zastupljenost staničnih i fibrotičnih promjena otprilike podjednaka NSIP se klasificira kao „miješani NSIP“.

Uobičajena intersticijska pneumonija (UIP)

UIP je na patohistološkom preparatu karakteriziran gustom fibrozom, hijaliniziranim kolagenom i poremećenom arhitekturom pluća. Infiltracija upalnim stanicama je oskudna i nalazi se samo u blizini saćastih promjena. Saće (*honeycombing*) zapravo predstavljaju cistične prostore obložene bronhiolarnim epitelom i fibrotičnim zidom.

Distribucija UIP-a proizlazi iz sklonosti subpleuralnom i paraseptalnom zahvaćanju. Nadalje, obilježje UIP-a je prostorna heterogenost, gusta fibroza koja se izmjenjuje s područjima nepromijenjenog pluća. U usporedbi s UIP promjenama viđenim kod idiopatske plućne fibroze (IPF), UIP u SARD-u ima više limfoidnih agregata i germinalnih centara, uz manje fibroblastnih fokusa. Kliničke smjernice za patološku dijagnozu predlažu četiri razine sigurnosti UIP-a: definitivni UIP obrazac, vjerojatni UIP, nedovoljno određivo za UIP i alternativna dijagnoza (3, 4).

Organizirajuća pneumonija (OP)

OP se definira prisutnošću upalnih stanica, fibroblasta i vezivnog tkiva u alveolama i distalnim zračnim prostorima. U bolesnika s IIM-om OP se često nalazi u kombinaciji s NSIP-om (3).

1.6. Algoritmi probira

Različita nacionalna i internacionalna stručna društva donijela su stručne konsenzuse u svrhu probira naILD kod SARD-a (39-41). ACR-a je 2023. objavio smjernice za dijagnostiku i liječenje SARD-ILD-a (27).

Algoritam za probir SARD-ILD nastao konsenzusom hrvatskih eksperata, kao i smjernice ACR-a, uzimaju u obzir rizik pojedinačne dijagnoze SARD-a. Tako se dijagnoze SSc, IIM i MCTD smatraju dijagnozama visokog rizika za nastanakILD-a, dok SjS, RA i SLE predstavljaju dijagnoze nižeg rizika.

Osim toga, algoritmi probira uzimaju u obzir različite rizične čimbenike kao što su spol, rasa, dob, pušenje i prisutnost serumskih protutijela. Osim respiratornih simptoma, poput dispneje i kašlja, važan je i klinički nalaz bazalnih krepitacija. Patološkim nalazom testova plućne funkcije smatra se FVC manji od 80 % prediktivne vrijednosti i DLCO manji od 80 % (18, 39-44). Ovisno o rizičnosti same dijagnoze i nalazima iz pojedinih modaliteta

unutar algoritma probira pacijenti se upućuju na HRCT i definira im se učestalost ponavljanja postupka probira ili praćenja.

Smjernice ACR-a iz 2023. preporučuju probir na ILD za pacijente sa SSc, IIM i MCTD-om sa obilježjima SSc. Za pacijente s RA i SjS probir se preporučuje u slučaju postojanja faktora rizika za nastanak ILDa. U probiru se preporučuje korištenje testova plućne funkcije i HRCT-a, a ne preporučuje se provoditi probir rendgenskim snimkama prsa, 6-minutnim testom hoda, ambulantnim testiranjem zasićenja kisikom ni bronhoskopijom. Također se ne preporučuje provoditi kiruršku biopsiju pluća kao metodu probira.

Kod već postavljene dijagnoze SARD-ILD preporučuje se praćenje korištenjem testova plućne funkcije i HRCT-a. Učestalost ponavljanja testova plućne funkcije i HRCT-a u praćenju SARD-ILD ovisi o osnovnoj dijagnozi pa se za IIM-ILD i SSc-ILD preporučuje praćenje testovima plućne funkcije svakih 3 do 6 mjeseci u prvoj godini, a u slučaju RA-ILD, SjD-ILD i MCTD-ILD svakih 3 do 12 mjeseci u prvoj godini. (27)

U Japanu je 2023. objavljen konsenzus o SARD-ILD-u utemeljen na dokazima. Posebnost japanskih stavova je da ne rade distinkciju između različitih sistemskih bolesti vezivnog tkiva pa se probir na ILD preporučuje kod svih bolesnika sa SSc, IIM, MCTD, RA, SjS i SLE. Posebnost ovog stručnog konsenzusa je korištenje serumskih biomarkera kao što su Krebs von den Lungen - 6 (KL-6) i surfaktantni protein D (SP-D). Japanski stručnjaci složili su se oko upotrebe KL-6 kao dijagnostičkog i prognostičkog markera te u procjeni aktivnosti bolesti i odluke o započinjanju liječenja kod pacijenata sa SARD-ILD (40).

U konačnici, multidisciplinarni timovi su važni za usklađivanje kliničkih, laboratorijskih i radioloških podataka, te za koordinaciju stavova pulmologa i reumatologa u formuliranju dijagnostičkih i terapijskih postupaka.

1.7. Biomarkeri

Biomarker se definira kao "bilo koja tvar, struktura ili proces koji se može izmjeriti u tijelu ili njegovim proizvodima, koja utječe ili predviđa učestalost ishoda ili bolesti" (45). Svi biomarkeri najmjenjeni dijagnozi, prognozi ili stratifikaciji liječenja trebali bi se dobivati neinvazivnim metodama. Prednosti serumskih biomarkera su njihova neinvazivnost i neškodljivost, dostupnost, brzina testa i niska cijena. Cirkulirajući serumski biomarkeri

posljednjih se godina vrlo aktivno istražuju kao dijagnostičko-prognostička dopuna HRCT-u u evaluaciji zahvaćanja plućnog intersticija (46).

Dosad otkriveni serumski biomarkeri za IPF-u prema mehanizmu djelovanja spadaju u jednu od tri patofiziološke kategorije:

- disfunkcija alveolarnih epitelnih stanica
- abnormalno preoblikovanje pluća
- poremećaj urođene ili stečene imunosti.

Markeri disfunkcije (oštećenja ili regeneracije) alveolarnih epitelnih stanica su KL-6, surfaktantni protein A (SP-A), surfaktantni protein D (SP-D) i protein 1 sličan hitinazi -3 (YKL-40) (47, 48).

Matriks metaloproteinaze su enzimi proteaze ovisni o cinku koji reguliraju preoblikovanje izvanstaničnog matriksa. Lysiloksidaza poput 2 (LOXL2) katalizira umrežavanje kolagena i identificirana je kao ključni posrednik fibroze. Inzulinu sličan faktor rasta pokazao je da potiče proizvodnju izvanstaničnog matriksa od strane fibroblasta i potiče proliferaciju epitelnih stanica. Vaskularni endotelni faktor rasta je faktor rasta s proangiogenom aktivnošću i vjeruje se da pomaže u zaštiti epitela od ozljeda i potiče reparaciju tkiva. Kao odgovor na ozljede pluća povišen je Clara stanice 16-kDa sekretorni protein (CC16). Periostin je protein izvanstaničnog matriksa koji pripada obitelji fasciklin čije razine u serumu se povećavaju kod IPF-a i drugih fibrotizirajućih idiopatskih intersticijskih pneumonija i povezane su s padom DLCO-a i FVC-a.

Markeri aberantne urođene i stečene imunosti uključuju kemokine, citokine i njihove receptore, pri čemu najviše obećava C-C kemokinski ligand 18 (CCL18) i interleukin 6 (IL-6). CCL18 potječe od alveolarnih makrofaga i čini se da ima brojne funkcije osim svoje uloge kemotaktičkog faktora, uključujući regulaciju fibroznih procesa. Razine proinflammatornog i profibroznog citokina IL-6 povećane su u serumu i bronhoalveolarnom lavatu (BAL-u) kod brojnih plućnih bolesti (43, 48-50).

Serumska laktatdehidrogenaza (LDH) je osnovni enzim prisutan u mnogim tkivima, poznat kao marker oštećenja stanica. Povišene vrijednosti LDH mogu se pronaći kod različitih poremećaja, uključujući infekcije, hemolitičke anemije i malignitete. Postoje istraživanja koja ga povezuju s padom nalaza testova plućne funkcije i stupnjem fibroze (51, 52). Unatoč širokoj primjeni, LDH ima ograničenu specifičnost za bilo koju pojedinačnu bolest, što znači da se njegove povišene razine trebaju interpretirati s oprezom i uvijek u kontekstu ostalih kliničkih podataka i dijagnostičkih testova.

Serumski tumorski markeri predstavljaju ključne dijagnostičke alate u probiru i praćenju raznih vrsta karcinoma, uključujući karcinome pluća, želuca, jajnika, dojke, prostate i jetre. Ovi markeri omogućuju ne samo identifikaciju malignih procesa, već i praćenje odgovora na terapiju te procjenu prognoze bolesti. Njihova vrijednost proteže se i na područje upalnih bolesti pluća, pri čemu su rezultati nekoliko recentnih studija potvrdili ulogu tumorskih markera u evaluaciji ILD-a (53, 54).

1.7.1. Protutijelo KL-6

KL-6 je komercijalno dostupno monoklonsko protutijelo razreda IgG1 razvijeno protiv specifičnog epitopa glikoziliranog proteina mucin 1 iz pneumocita tipa II (AEC-II, engl. *alveolar epithelial cells type II*). Otkrili su ga *Kohno i sur.* 1989. i izvorno je dobiveno iz stanične linije ljudskog adenokarcinoma. Isprva se smatrao biomarkerom tumora pluća, ali se pokazao manje točan od karcinoembrionalnog antigena (CEA) i to upravo zbog velikog broja lažno pozitivnih rezultata kod pacijenata s plućnom fibrozom. Visoke razine KL-6 u serumu otkrivene su ne samo kod pacijenata s adenokarcinomom pluća, već i kod pacijenata s karcinomom pankreasa ili dojke (55-58).

KL-6 je protutijelo koje prepoznaje mucin 1 protein, međutim u literaturi se pojam KL-6 obično koristi za označavanje proteina, a ne protutijela. Mucinskiglikoprotein velike molekularne mase izražen je na površinskoj membrani AEC-II i bronhiolarnih epitelnih stanica čijim proteolitičkim cijepanjem nastaje solubilna komponenta KL-6 u tekućoj oblozi epitela pluća. KL-6 serumska koncentracija može rasti uslijed povišene plućne produkcije zbog difuzne hiperplazije AEC-II kao i zbog povećane propusnosti oštećene alveolo-kapilarne membrane (57, 59).

In vitro, KL-6 pokazuje profibrotske i antiapoptotske učinke na plućne fibroblaste. Osim toga ima idodatne učinke na proliferativnu i antiapoptotičku aktivnost transformirajućeg faktora rasta-beta (TGF β , engl. *transforming growth factor beta*) prema fibroblastima što sve zajedno sugerira moguću patogenetsku ulogu KL-6 u ILD-u (60). KL-6 se posebno eksprimira na proliferirajućim i regenerirajućim AEC-II. Ovaj nalaz je podržan studijama koje izvještavaju da KL-6 specifično prepoznaje mucin 1 koji potječe od AEC-II nakon ozljede i naknadne regeneracije (57).

Protutijelo KL-6 i intersticijska bolest pluća

KL-6 je prisutan u serumu pacijenata sa zahvaćenim plućnim intersticijem. Opsežna istraživanja, provedena prvenstveno u Japanu, pokazuju da su razine serumski KL-6 povišene kod 70-100 % pacijenata s raznim ILD-ima. Ta istraživanja uključivala su idiopatske intersticijske pneumonije, intersticijsku pneumoniju povezanu s bolestima vezivnog tkiva, hipersenzitivni pneumonitis, radijacijski pneumonitis, ILD-e inducirane lijekovima, akutni respiratorni distres sindrom, plućnu sarkoidozu, plućnu alveolarni proteinozu i pneumoniju uzrokovanu s COVID-19 (61, 62). KL-6 je za sada ušao u kliničku upotrebu samo u Japanu. Koristi se kao serumski marker za dijagnosticiranje ILD-a, kao i za praćenje aktivnosti bolesti i terapijske učinkovitosti (58). Otkako je KL-6 1999. godine odobren od strane japanskog zdravstvenog osiguranja kao dijagnostički marker za ILD godišnje se ispita u više od 2 000 000 uzoraka (63).

Nekoliko studija istaknulo je vrijednost KL-6 za procjenu ILD-a, no bez značajnih razlika među različitim etiologijama ILD-a. KL-6 je identificiran kao bolji biomarker za dijagnozu plućne fibroze u usporedbi s CCL18, SP-A i SP-D (47, 64, 65). Pacijenti s IPF-om imaju povišene serumske razine KL-6 u usporedbi sa zdravim kontrolama (66). Meta-analiza *Zhang i sur.* iz 2020. potvrdila je visoku osjetljivost i specifičnost KL-6 u dijagnostici ILD-a (67). U skupini pacijenata s IPF-om, razina serumskog KL-6 negativno je korelirala s razinom FVC-a i DLCO-a, dok je pozitivno korelirala s HRCT rezultatom kod pacijenata s ILD-om, što sugerira da bi KL-6 mogao biti vrijedan marker za procjenu opsega ILD-a (68, 69). KL-6 je uključen u fibrotske procese u plućima što dovodi do smanjenja vrijednosti FVC-a i DLCo-a, međutim prediktivna vrijednost razina KL-6 za smanjenje rezultata testova plućne funkcije i preživljavanje još uvijek je kontroverzna (70).

Povezanosti određenih HRCT-uzoraka i koncentracije KL-6 nije dovoljno istražena. *Cho i sur.* su analizirali performanse Nanopia KL-6 testa kod korejskih pacijenata s ILD-om i uočili su umjerenu do slabu korelaciju između KL-6 i rezultata HRCT-a (71). *Tseng i sur.* su analizom logističke regresije identificirali pozitivnu povezanost između KL-6 i HRCT karakteristika ILD-a, kao što su konsolidacije, GGO i trakcijske bronhiektazije. Oba istraživanja se slažu oko slabe korelacije KL-6 i nalaza saćastog pluća (72).

Osim u dijagnostici IPF-a, KL-6 je istražen i kao prognostički biomarker (60, 70, 73-77). Meta-analizom nađene su povišene razine početnih cirkulirajućeg KL-6 kod aktivnih ILD-a u usporedbi s neaktivnim ILD-om. Nadalje, nađena je značajna povezanost između početnih razina cirkulirajućeg KL-6 i smrtnosti od ILD-a (67). Dvije neovisne studije su

pokazale da KL-6 može predvidjeti akutne egzacerbacije, a upravo su akutne egzacerbacije vodeći uzrok smrti kod IPF-a (78, 79). Koncentracija serumskog KL-6 pokazala se korisna za procjenu aktivnosti bolesti i u predviđanju kliničkih ishoda različitih tipova ILD-a. KL-6 u bilo kojem trenutku omogućuje učinkovitu stratifikaciju pacijenata s ILD-om prema riziku od progresije bolesti (63, 80, 81). Povišene razine KL-6 ukazuju na težu, progresivniju bolest te predviđaju veću smrtnost i lošije ishode ILD-a (82). Serumske razine KL-6 bile su više kod pacijenata s radiološkom progresijom, iako ta razlika nije bila statistički značajna u odnosu na one koje su imali ILD bez radiološke progresije (83). Podaci o ulozi KL-6 u procjeni odgovora na liječenje su još uvijek nedostadni. Nekoliko manjih studija sugerira da praćenje KL-6 može pridonijeti ranijoj odluci o promjeni terapije kod progresivnog IPF-a (84, 85). Nasuprot tome, postoje istraživanja u kojima se koncentracija KL-6 nije smanjila nakon antifibrotske terapije (86).

Tijekom pandemije koronavirusne bolesti 2019 (COVID-19) pojavili su se različiti istraživački radovi, jedni koji podržavaju i drugi koji osporavaju korisnost KL-6 u studijama vezanim uz COVID-19 pneumoniju. Više razine KL-6 kod pacijenata s COVID-19 pokazale su se prediktorima težih oblika bolesti, postinfektivnih komplikacija i većeg mortaliteta te je sugerirana njegova upotreba za praćenje stanja pacijenata (87).

Protutijelo KL-6 i intersticijska bolest pluća u sklopu sistemske bolesti vezivnog tkiva

Osim u IPF-u, povišene razine KL-6 u serumu nađene se i kod drugih ILD-ova kao što su intersticijska pneumonija s autoimunim značajkama (IPAF), sarkoidoza i SARD-ILD (88-92).

Wu i sur. su kod pacijenata s bolestima vezivnog tkiva utvrdili značajno više razine KL-6 u skupini SARD-ILD u usporedbi s SARD-non-ILD skupinom. Osjetljivost i specifičnost KL-6 u ovom istraživanju su bile preko 80 % (93).

Longitudinalna analiza razina serumskog KL-6 u maloj kohorti pacijenata oboljelih od SSc pokazala je da su brzo rastuće razine KL-6 bile povezane s progresivnom fibrozom, dok su stabilnije razine KL-6 bile povezane sa stabilnom bolešću (94). *Kennedy i sur.* su također identificirali KL-6 kao biomarker koji bi mogao prospektivno predvidjeti opadanje plućne funkcije kod oboljelih od SSc-ILD (95). Rezultati studije koju su proveli *Salazar i sur.* podržavaju pretpostavku da su više razine KL-6 na početku tijeka bolesti prediktivne za aktivniju bolest, što je u daljnjem tijeku povezano s pogoršanjem plućne funkcije i razvojem respiratorne insuficijencije (96). Niz studija sa SSc-ILD zaključuje da KL-6 ima dobru

sposobnost u procjeni težine bolesti s umjerenim do visokim korelacijama s testovima plućne funkcije i opsegom promjena na HRCT-u (70, 97, 98).

Nadalje, kod nedavno dijagnosticiranog SjS, razine KL-6 u serumu bile su više u skupini oboljelih od ILD-a u usporedbi sa skupinom SjS bez ILD-a. Zaključeno je da KL-6 može poslužiti kao vrijedan biomarker za identifikaciju skrivenih ILD-a kod pacijenata s novodijagnosticiranim SjS (99, 100).

Bolesnici s PM i DM sa zahvaćanjem pluća također su imali više koncentracije KL-6 u usporedbi s pacijentima bez ILD-a (101).

Kod oboljelih od IIM-ILD, SSc-ILD i MCTD-ILD razine KL-6 u serumu negativno su korelirale s postocima forsiranog izdisajnog volumena u 1 sekundi (FEV1), ukupnog kapaciteta pluća (TLC), FVC-a i DLCO-a (102, 103). Koncentracija KL-6 korelirala je s težinom zahvaćanja parenhima kod sarkoidoze i RA (75, 104). KL-6 pokazao se kao koristan biomarker za prisutnost UIP uzorka i prognozu kod pacijenata s RA-ILD (105, 106) i kod SjS pacijenata sa ILD-om (SjS-ILD) (107).

Retrospektivna studija sa 125 pacijenata dijagnosticiranih s RA-ILD tijekom desetogodišnjeg razdoblja pokazala je da stopa godišnje varijacije KL-6 može predvidjeti akutne egzacerbacije plućne bolesti (108).

U studiji s 39 klinički amiotatskih dermatomiozitisa sa zahvaćenim plućima razine KL-6 korelirale su s nalazom HRCT-a, testovima plućne funkcije te razinama serumskog LDH i feritina. Tijekom praćenja, posterapijske razine seruma KL-6 značajno su se smanjile u skupini remisije/stabilnih pacijenata, dok su se povećale u skupini s akutnim egzacerbacijama. Više razine feritina i KL-6, kao i HRCT rezultati, bili su neovisni prediktori loše prognoze (109).

Kod djece sa SARD-ILD serumski KL-6 se također pokazao kao dijagnostički i prognostički marker ILD-a. Dodatna prednosti u dječjoj populaciji je jednostavnost i neinvazivnost mjerenja serumskih biomarkera (110-112).

Fukaya i sur. su kod aktivnih SARD-ILD našli značajno smanjenje razina serumskog KL-6 nakon uspješnog liječenja, što sugerira da sekvencijalno mjerenje razina seruma KL-6 može biti novi i koristan način za praćenje aktivnosti bolesti kod pacijenata sa SARD-ILD (113). Nasuprot tome, *He i sur.* navode visoku vrijednost KL-6 u dijagnostici SARD-ILD, ali samo umjerenu vrijednost u procjeni aktivnosti intersticijskih bolesti pluća (114).

Osim ovih obećavajućih podataka o KL-6, glavni problem ostaje izražena interindividualna varijabilnost u serumskim razinama. To se objašnjava polimorfizmom MUC1 gena, za koji je utvrđeno da utječe na različitost razina serumske koncentracije KL-

6 kod kavkaske i japanske populacije. Kako je većina dosadašnjih istraživanja KL-6 rađena na azijskom kontinentu standardizacija graničnih vrijednosti kod kavkaske populacije tek treba biti utvrđena (60, 115).

1.7.2. Karbohidratni antigen 15-3 (CA 15-3)

Tumorski markeri su dugo istraživani zbog svoje potencijalne primjene u predikciji i dijagnostici karcinoma, no dosadašnji dokazi nisu bili dovoljni za potporu njihovoj upotrebi u probiru na maligne bolesti. Kod pacijenata s bolestima s visokim rizikom za nastanak maligniteta, kao što su upalne miopatije, tumorski markeri nisu se pokazali učinkovitim u probiru i predviđanju nastanka karcinoma (116). Zanimljivo je da je upravo kod tih pacijenata, s DM i PM, po prvi put uočena korelacija između karbohidratnog antigena 15-3 (CA15-3) i postojanja ILD-a (117). U proteklih pet godina, porastao je broj studija koje istražuju primjenu tumorskih markera kod oboljelih od ILD-a, osobito CA15-3, koji je također korišten i u procjeni COVID-19 pneumonije tijekom pandemije. CA 15-3 se pokazao kao potencijalni prediktivni marker za tešku plućnu fibrozu u slučajevima COVID-19 zbog zabilježenih značajnih porasta razina CA 15-3 kod pacijenata na intenzivnoj njezi u usporedbi s pacijentima koji nisu hospitalizirani na intenzivnoj njezi. Ova istraživanja su ukazala na moguću povezanost koncentracije CA 15-3 s težinom oštećenja pluća u COVID-19 pneumoniji (87, 118).

CA 15-3 (karbohidratni antigen 15-3, karcinom antigen 15-3) tumorski je biljeg za karcinom dojke koji prepoznaje fragment glikoproteina mucin 1 koji se oslobađa u krvotok od strane stanica raka dojke (119). Mucin 1, glikoprotein kodiran genom MUC1, ima složenu strukturu koja uključuje varijabilni broj tandemskih ponavljanja koja su snažno glikozilirana, a varijacije u glikozilaciji mucin 1 mogu dovesti do promjena u razinama CA 15-3. Mucin 1 isti je glikoprotein visoke molekulske težine koji se nalazi na površini epitelnih stanica i kojeg prepoznaje KL-6 protutijelo. Dakle, oba epitopa, CA 15-3 i KL-6, postoje na različitim pozicijama glikoproteina mucin 1 koji se izražava na površini različitih epitelnih stanica (120). CA 15-3 i komercijalni setovi za testiranje trenutno se koriste kao markeri za praćenje ranog recidiva raka dojke, dok je KL-6 prepoznat kao specifičan za ekspresiju MUC1 u plućnom tkivu.

Povišene razine CA 15-3 u serumu ne nalaze se samo kod pacijenata s rakom dojke, već i kod pacijenata s adenokarcinomom pluća, pankreasa, bubrega, jajnika, maternice i

debelog crijeva. Postoje izvještaji koji sugeriraju da antigeni povezani s tumorima, osim u karcinomskim stanicama, budu izraženi i na površini upalnih stanica (58, 121).

Karbohidratni antigen 15-3 i intersticijska bolest pluća

Kod pacijenata s kroničnim hipersenzitivnim pneumonitisom zabilježena je statistički značajna izravna korelacija između rezultata dispneje i razina CA 15-3 u serumu, dok je uočena obrnuta korelacija između razina CA 15-3 u serumu i rezultata testova plućne funkcije (122). U kontekstu hipersenzitivnog pneumonitisa, CA 15-3 korelira s testovima plućne funkcije tijekom šest mjeseci imunosupresivne terapije, a smanjenje razina CA 15-3 povezano je s dužim preživljenjem. Povišene razine CA 15-3 povezane su s oštećenjem plućnog intersticija, aktivnošću fibroblasta i progresijom prema fibrozi pluća. Rezultati testova plućne funkcije tijekom praćenja kod IPF-a na antifibrotskoj terapiji koreliraju s razinama CA 15-3, a više vrijednosti povezane su s lošijim preživljenjem (118, 123).

U sarkoidozi CA 15-3 je pokazao značajnu korelaciju s opsegom intersticijske bolesti i razine CA 15-3 u serumu bile su značajno više kod pacijenata s UIP uzorkom i kod onih s klinički uznapredovalom sarkoidozom (124, 125).

Vezano za predikciju HRCT uzorka uz pomoć CA 15-3, *Tseng i sur.* su našli da je CA 15-3 povezan s nalazom GGO i trakcijskih bronhiektazija. CA 15-3, kao ni KL-6, nije pokazao korelaciju sa postojanjem saćastog pluća (72).

Karbohidratni antigen 15-3 i intersticijska bolest pluća u sklopu sistemske bolesti vezivnog tkiva

Nekoliko studija s pacijentima sa SARD povezuju povišene razine CA 15-3 s višim rizikom od ILD-a. Prvi izvještaj je iz 2002. godine gdje su *Wong i sur.* izvijestili o dva pacijenta s intersticijskom pneumonijom povezanom sa IIM koji su imali povišene razine CA 15-3, a nisu imali rak dojke (117). Studija *Bao i sur.* koja je obuhvatila 235 pacijenata sa SARD, sugerira da su povišene razine CA 15-3 i CYFRA 21-1 povezane s višim rizikom od ILD. Iako razine tumorskih markera mogu biti pod utjecajem nekoliko faktora, kao što su prisutnost raka i etnička varijabilnost, zaključak ove studije je da oba markera imaju potencijalnu dijagnostičku vrijednost za SARD-ILD, te da povišene razine CA 15-3 ukazuju na prisutnost ILD-a (46).

Analiza serumskih uzoraka 92 pacijenta sa SSc pokazala je abnormalno visoke razine tumorskih markera CA 19-9, CA 125 i CA 15-3 u usporedbi s kontrolama, a koje su korelirale s određenim kliničkim karakteristikama (53). *Celeste i sur.* su u retrospektivnoj studiji na

221 oboljelom od SSc našli da je CA 15-3 bio je koristan u identifikaciji onih sa značajnom ILD i korelirao je sa smanjenim FVC-om te višim stupnjem fibroze pluća na HRCT-u (126).

U studiji *Shi i sur.* na preko 700 pacijenata sa SjS nađene su povišene razine tumorskih biljega CA 15-3, CA 125, CEA i NSE kod oboljelih od ILD u usporedbi s onima bez ILD-a (127).

Sargin i sur. zaključuju da bi pacijenti s RA koji pokazuju povećanje tumorskih markera, posebno CA 15-3 i CA 125, trebali biti podložni sumnji na prisutnost ILD (128).

1.7.3. Korelacija protutijela KL-6 i CA 15-3 u intersticijskoj bolesti pluća

Jedna od slabosti studija sa SARD-ILD i CA 15-3 je nedostatak izravne usporedbe između CA 15-3 i drugih prethodno predloženih biomarkera za SARD-ILD, uključujući glavni MUC1 antigen KL-6, kako bi se utvrdilo koji je od njih klinički pogodniji.

U 2009. godini objavljeno je istraživanje na 460 japanskih volontera koje je otkrilo pozitivnu korelaciju biomarkera CA 15-3, KL-6 i BCA225 (engl. *breast cancer antigen 225*) u općoj populaciji. To je bio prvi rad koji pokazuje pozitivnu korelaciju između ovih markera u općoj populaciji. Svi ovi markeri prepoznati su kao pripadnici obitelji mucina čime se objašnjava njihova međusobna pozitivna korelacija (129). Prethodno su, 2006. godine, *Okada i sur.* otkrili značajnu pozitivnu korelaciju između razina KL-6 i CA 15-3 kod 20 pacijentica sa SARD-ILD-om (58). U 2010. godini, *Kruit i sur.* usporedili su KL-6 i CA 15-3 kod 242 pacijenta s ILD-om te pokazali da su razine KL-6 i CA 15-3 značajno više kod pacijenata s ILD u usporedbi s kontrolama. Razine KL-6 i CA 15-3 pokazale su snažnu međusobnu korelaciju te su bile jednako osjetljive i specifične u smislu razlikovanja ILD-a s fibrozom i bez nje (120). U nedavno objavljenoj studiji *Tseng i sur.* analizirana su 583 uzorka krvi iz populacije koja se sastojala od 398 pacijenata s ILD-om u Tajvanu. Ustanovili su da su razine biomarkera KL-6 i CA 15-3 značajno više kod pacijenata s ILD-om. Tijekom analize, istraživači su otkrili korelaciju između razina KL-6 i CA 15-3. Nakon izvođenja logaritamske transformacije podataka, pronašli su snažnu linearnu povezanost između ovih dva biomarkera, posebno kod slučajeva gdje su razine CA15-3 bile jednake ili manje od 100 U/mL. Logaritamska transformacija često se koristi u analizi podataka da bi se bolje prikazale i razumjele veze između varijabli, osobito kada se radi o podacima koji mogu imati širok raspon vrijednosti. Iako su i prethodna istraživanja također ukazivala na povezanost između CA 15-3 i ILD-a, kao i na visoku korelaciju s KL-6, autori ove studije naglašavaju

da su logaritamski transformirani podaci omogućili bolju ilustraciju ovog odnosa. Na temelju ovih rezultata, autori zaključuju da CA 15-3 može biti učinkovita alternativna opcija za upotrebu KL-6 u dijagnostici ILD-a. (72)

Japan je jedina zemlja gdje se KL-6 rutinski koristi za potrebe probira u kliničkoj praksi, dok je drugdje KL-6 dostupan samo za istraživačke svrhe (40). Upotreba CA 15-3 bi zbog niže cijene i šire dostupnosti imala jasnu prednost u odnosu na KL-6. Međutim, dijagnostička i prognostička vrijedost CA 15-3 u SARD-ILD nije dovoljno istražena, što otvara potencijalno područje za buduća istraživanja (46, 53, 126).

2. CILJEVI I HIPOTEZA

2.1. Ciljevi istraživanja

Glavni cilj istraživanja:

- Utvrditi korisnost CA 15-3 u probiru za SARD-ILD.
- Utvrditi razine CA 15-3 kod pacijenata s novodijagnosticiranim SARD-om, te povezati razine CA 15-3 s prisutnošću ili odsutnošću ILD.
- Procijeniti specifičnost i osjetljivost biomarkera CA 15-3 u otkrivanju SARD-ILD.

Sekundarni ciljevi su:

- Usporediti CA 15-3 s drugim poznatim biomarkerima, poput KL-6 i LDH.
- Analizirati korelaciju između razina CA 15-3 i kliničkih pokazatelja ILD-a te rezultata plućne funkcije.
- Utvrditi broj potrebnih HRCT pregleda kod pacijenata s povišenim razinama CA 15-3 u usporedbi s onima s normalnim razinama.
- Procijeniti specifičnost i osjetljivost testova plućne funkcije u otkrivanju SARD-ILD.

2.2. Hipoteza

Upotreba biomarkera CA 15-3 može značajno poboljšati točnost ranog otkrivanja intersticijske bolesti pluća (ILD) kod pacijenata s novodijagnosticiranom sistemskom bolesti vezivnog tkiva (SARD) u usporedbi s trenutno korištenim metodama probira, kao što su standardni klinički nalazi i testovi plućne funkcije.

3. ISPITANICI I POSTUPCI

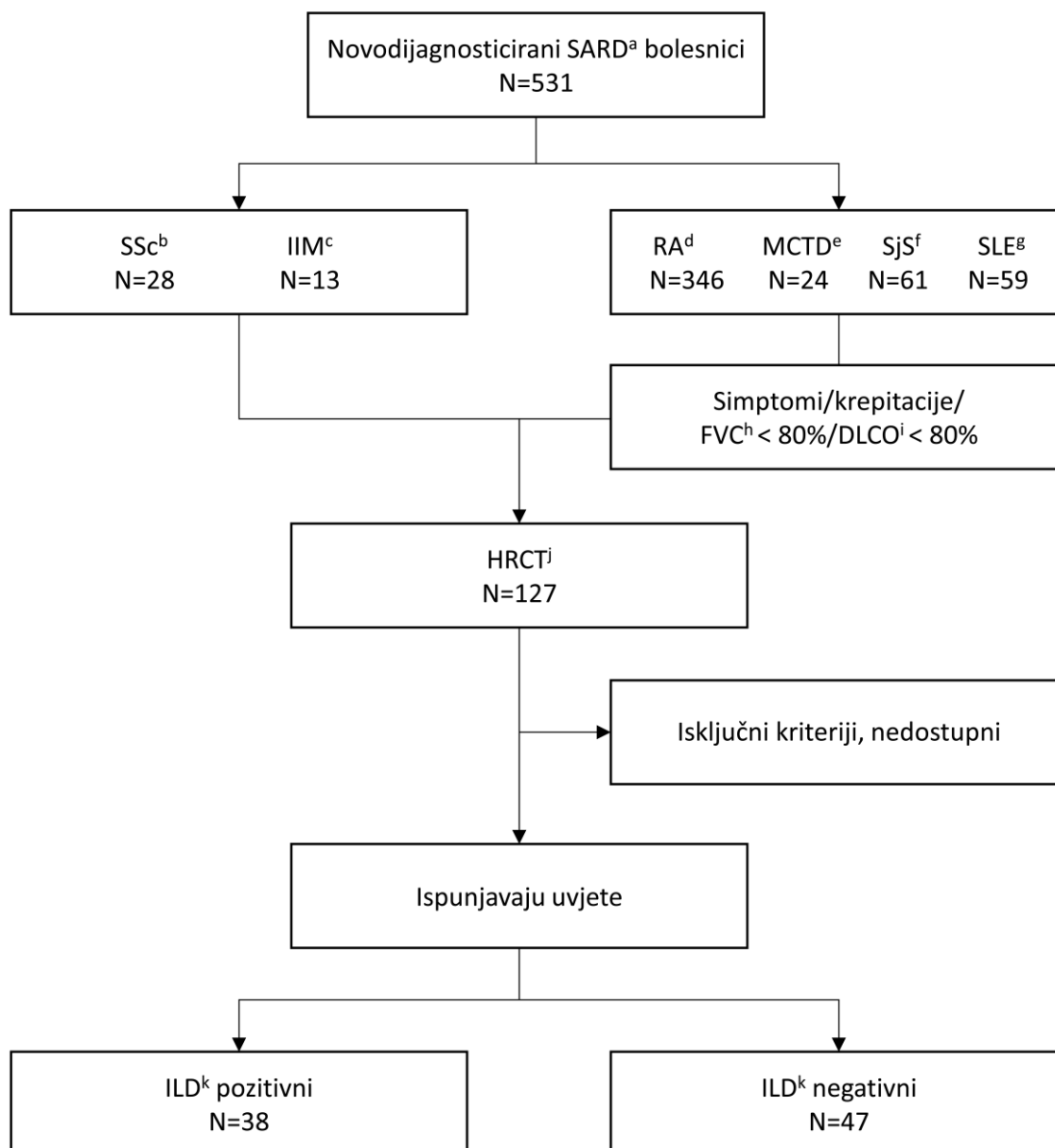
3.1. Ispitanici

Ispitanici su uzastopni bolesnici s novodijagnosticiranim SARD-om liječeni u Općoj bolnici Zadar, kojima je u periodu od 1.2021. do 12.2023. u sklopu standardne obrade temeljem probira za ILD učinjen HRCT toraksa. Svi pacijenti su dijagnosticirani s novoutvrđenim SARD-om na temelju sveobuhvatne reumatološke procjene. Novodijagnosticirani pacijenti s „visokorizičnim SARD-om“, SSc i IIM, podvrgnuti su HRCT-u i evaluaciji biomarkera, bez obzira na rezultate fizikalnog pregleda, testova plućne funkcije ili rendgena prsnog koša. Pacijenti s drugim SARD-ima (RA, SjS, SLE, MCTD) podvrgnuti su HRCT-u i uključeni u studiju samo ako su pokazivali simptome ili kliničke znakove ILD-a, imali snižene testove plućne funkcije $FVC < 80\%$ ili $DLCO < 80\%$, ili ako je rendgen prsnog koša sugerirao ILD (Slika 2.).

Kada su uočene povišene razine CA 15-3, posebno kod žena, napravljen je probir na rak dojke (mamografija i ultrazvuk) kako bi se isključila mogućnost maligniteta i osigurala sveobuhvatna skrb o pacijentima.

Isključni kriteriji su plućni komorbiditeti, neizravni znakovi plućne arterijske hipertenzije, anamneza karcinoma dojke ili patološki nalaz mamografije ili ultrazvuka dojki, ciroza jetre ili bolest gušterače.

Ukupno je u istraživanje uključeno 85 pacijenata (75 žena i 10 muškaraca, srednja dob 64 godine. Pacijenti su podijeljeni u dvije skupine na temelju prisutnosti ILD-a: 38 pacijenata s ILD-om i 47 pacijenata bez ILD-a. Dijagnoza SARD-ILD potvrđena je konsenzusom panela koji se sastoji od reumatologa, pulmologa i radiologa, koristeći kliničke, laboratorijske i slikovne nalaze.



Slika 2. Algoritam probira na SARD-ILD i selekcija ispitanika za istraživanje.

^a sistemska autoimuna reumatska bolest, od engl. *systemic autoimmune rheumatic disease*;

^b sistemska skleroza; ^c idiopatske inflamatorne miopatije; ^d reumatoidni artritis; ^e miješana bolest vezivnog tkiva; ^f Sjögrenov sindrom; ^g sistemske eritemski lupus; ^h forsirani vitalni kapacitet; ⁱ difuzijski kapacitet pluća za ugljični monoksid; ^j visokorezolucijski CT; ^k intersticijska bolest pluća

3.2. Etička načela

Svi pacijenti dali su pismeni pristanak za korištenje svojih kliničkih i laboratorijskih podataka za studiju, a protokol studije odobren je od strane Etičkog odbora Opće bolnice Zadar (broj: 01-5698/23-3/20).

3.3. Postupci

U sklopu standardne dijagnostičke obrade SARD bolesnika učinjen je probir na ILD koji uključuje uzimanje anamneze, posebno fokusirajući se na simptome povezane s ILD-om, poput kašlja, dispneje i nelagode u prsima, te naviku pušenja.

Fizikalni pregled uključivao je auskultaciju pluća kako bi se otkrile inspiratorne krepitacije.

Svi pacijenti su podvrgnuti testovima plućne funkcije, koji su uključivali mjerenja forsiranog vitalnog kapaciteta (FVC), prijenosnog faktora pluća za ugljikov monoksid i difuzijske sposobnosti za ugljikov monoksid (DLCO). Obrada plućne funkcije učinjena je u funkcionalnom laboratoriju pri Odjelu za pulmologiju OB Zadar na uređaju Jaeger MasterScreen, u skladu s aktualnim standardiziranim postupcima Europskog Respiratornog društva i Američkog torakalnog društva (1, 4).

Rendgenski snimci prsnog koša provedeni su kao dio standardnog dijagnostičkog procesa.

Nadalje, svi uključeni pacijenti bili su podvrgnuti visokorezolucijskim CT (HRCT) skenovima prsnog koša, a HRCT snimke zatim su pregledala dva radiologa specijalizirana za pluća u skladu s preporukama Američkog torakalnog društva (1, 4).

Serumski biomarkeri

Koncentracije CA 15-3, KL-6 i LDH mjerene su zajedno sa standardnim laboratorijskim testovima. Kako bi se osigurala točnost i ponovljivost u mjerenju ovih biomarkera, svi testovi su provedeni u skladu s protokolima proizvođača i postupcima kontrole kvalitete. Uzorci seruma prikupljeni su od pacijenata ujutro nakon noćnog posta kako bi se umanjile dnevne varijacije i odmah su obrađeni centrifugiranjem na 3000 okretaja u minuti tijekom 10 minuta.

Za CA 15-3 imunotest Roche Cobas e801 analizator koristi princip elektrokemiluminescentnog imunotesta (ECLIA). Test ima mjerni raspon od 3 do 300 U/mL, a unutarnje kontrole kvalitete su rađene kako bi se osigurala preciznost i točnost. LDH koncentracija određena je koristeći Roche Cobas c503 biokemijski analizator, s LDHI2 reagensom i UV metodom. Mjerni raspon je od 10 do 1000 U/L. U rutinskom radu, unutarnja kontrola kvalitete provođena je na dnevnoj razini.

Za KL-6 ELISA test (enzimski povezani imunosorbentni test, engl. *enzyme-linked immunosorbent assay*) uzorci su prethodno razrijeđeni 1:3 u fosfatnom puferu, a serum svakog pacijenta dodan je u mikroploče prethodno obložene monoklonalnim antitijelom protiv KL-6. Nakon inkubacijskih i postupaka pranja, korišteni su biotin-konjugirano sekundarno antitijelo, streptavidin-HRP i otopina podloge za razvoj kolorimetrijskog signala. Optička gustoća očitana je na 450 nm koristeći čitač mikroploča EtiMax 3000, DiaSorin, a koncentracija je određena ekstrapolacijom iz standardne krivulje.

3.4. Statističke metode

Kategorički podaci su prikazani putem apsolutnih i relativnih frekvencija. Analiza razlike u kategoričkim varijablama utvrđena je Fisherovim egzaktnim testom, a zavisnih varijabli McNemar – Bowkerovim testom.

Normalnost raspodjele numeričkih varijabli procijenjena je Shapiro-Wilkovim testom, a budući da raspodjela nije bila normalna, podaci su opisani pomoću medijana i interkvartilnog raspona. Razlike u kontinuiranim varijablama između dviju nezavisnih skupina ispitane su Mann-Whitney U testom, pri čemu su predstavljene Hodges-Lehmannove razlike medijana i 95% interval pouzdanosti (95% CI).

Spearmanov koeficijent korelacije (Rho) korišten je za ocjenu povezanosti između zadanih varijabli. Logistička regresija (bivarijatna i multivarijatna – Stepwise metoda) korištena je za ocjenu utjecaja više čimbenika na vjerojatnost pozitivnog ILD. ROC (engl. *receiver operating characteristic*) analiza je primijenjena za određivanje optimalne granične vrijednosti i površine ispod ROC krivulje (AUC, engl. *area under the curve*), specifičnosti, osjetljivosti FVC-a, DLCO-a, CA 15-3, KL-6 i LDH u slučaju pozitivnog ILD-a.

Izvješće o provedenom istraživanju izrađeno je u skladu s preporukama i smjernicama za izvještavanje rezultata istraživanja u području biomedicine i zdravstva. Sve P-vrijednosti u analizi su dvostrane, što znači da se testira moguće odstupanje u oba smjera. Razina značajnosti postavljena je na $\alpha = 0,05$. Za statističku analizu korišteni su statistički programi MedCalc® Statistical Software version 22.023 (MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgium; <https://www.medcalc.org>; 2024) i SPSS Ver. 23.0 (Released 2015. IBM. Armonk, NY: IBM Corp.).

4. REZULTATI

Istraživanje je provedeno na 85 bolesnika, od kojih je 10 (12 %) muškaraca i 75 (88 %) žena. Medijan dobi ispitanika je 64 godine u rasponu od 25 do 84 godine. Pušača je 22 (26 %). S obzirom na dijagnozu, najviše bolesnika, 27 (32 %) je s RA i 23 (27 %) sa SSc. (Tablica 1).

Tablica 1. Bolesnici prema općim obilježjima

Parametri	Broj (%) bolesnika
Spol	
Muškarci	10 (12)
Žene	75 (88)
Dob (godine)	64 (54 – 70)
Pušač	22 (26)
Dijagnoza	
SSc ^a	23 (27)
IIM ^b	12 (14)
MCTD ^c	5 (6)
SjS ^d	12 (14)
RA ^e	27 (32)
SLE ^f	6 (7)

Podaci o dobi su prikazani kao medijan i interkvartilni raspon godina, a ostali podaci kao brojevi (postotci)

^a sistemska skleroza; ^b idiopatske inflamatorne miopatije; ^c miješana bolest vezivnog tkiva; ^d Sjögrenov sindrom; ^e reumatoidni artritis; ^f sistemski eritemski lupus

Protutijelo ACPA nađeno je kod 24 (41 %) bolesnika. Respiratorne simptome imalo je 42 (49 %) bolesnika, a auskultatorni nalaza krepitacija njih 27 (32 %). Suspektan ILD na rendgenskoj snimci pluća imalo je 16 (19 %) bolesnika. HRCT-om je potvrđen ILD kod 38 (45 %) bolesnika, od čega je 20 (52 %) bolesnika imalo znakove upale (GGO, konsolidacije). Devet (23,6%) bolesnika je imalo definitivni UIP uzorak sa saćastim plućima, a preostalih 9 (23,6%) druge znakove fibroze, trakcijske bronhiektazije i retikulacije (Tablica 2).

Tablica 2. Bolesnici prema kliničkim, laboratorijskim i radiološkim obilježjima

Parametri	Broj (%) bolesnika
Protutijela (N = 59)	
Scl-70 ^a	10 (17)
ACA ^b	13 (22)
ACPA ^c	24 (41)
Jo-1 ^d	4 (7)
Druga MSA ^e	8 (14)
Respiratorni simptomi	42 (49)
Auskultatorni nalaz (krepitacije)	27 (32)
RTG sumnja na ILD ^f	16 (19)
HRCT ^g ILD - pozitivni	38 (45)
Uzorak na HRCT-u ^g	
UIP ^h	9 (11)
Trakcijske bronhiektazije i retikulacije	9 (11)
GGO ⁱ i konsolidacije	20 (24)

Podaci su prikazani kao ukupni brojevi (postoci)

^a protutijela na topoizomerazu I; ^b protutijela na centromere; ^c protutijela na cikličke citrulinirane proteine; ^d histidil-tRNA sintetaza; ^e miozitis specifična antitijela;

^f intersticijska bolest pluća; ^g visokorezolucijski CT; ^h uobičajena intersticijska pneumonija; ⁱ opaciteti izgleda mliječnog stakla

Mjere sredine i raspršenja vrijednosti nalaza testova plućne funkcije, FVC i DLCO prikazani su kao % očekivanog za spol i dob, te mjere sredine i raspršenja vrijednosti koncentracije serumskih biomarkera CA 15-3, KL-6 i LDH prikazani su u Tablici 3.

Tablica 3. Mjere sredine i raspršenja FVC, DLCO, CA 15-3, KL-6 i LDH

	Medijan (interkvartilni raspon)	Minimum - maksimum
FVC ^a (%)	87 (79 - 99,5)	44 - 148
DLCO ^b (%)	72 (58 - 81,5)	30 - 118
CA 15-3 ^c (U/mL)	19,2 (14,7 - 27,9)	5,3 - 71,2
KL-6 ^d (IU/mL)	7855,5 (5937 - 9683,25)	582 - 11292
LDH ^e (U/L)	200 (172 - 229)	98 - 362

Podaci su prikazani kao vrijednost medijana s interkvartilnim rasponom, te minimalna i maksimalna vrijednost

^a forsirani vitalni kapacitet; ^b difuzijski kapacitet pluća za ugljikov monoksid; ^c karbohidratni antigen 15-3; ^d Krebs von den Lungen – 6; ^e serumska laktatdehidrogenaza

U Tablici 4. prikazana je raspodjela ispitanika prema općim i kliničkim obilježjima u odnosu na postojanje ILD-a. Značajno je više ILD-a u skupini muškaraca u odnosu na žene (Fisherov egzaktni test, $P = 0,04$), i u skupini bolesnika kod kojih su prisutne krepitacije (Fisherov egzaktni test, $P = 0,001$), dok nema razlika u raspodjeli u odnosu na pušenje, SARD dijagnozu, vrstu protutijela i prisutnost respiratornih simptoma (Tablica 4).

Tablica 4. Raspodjela ispitanika prema općim i kliničkim obilježjima u odnosu na ILD

	Broj (%) bolesnika s obzirom na ILD [§]			<i>P</i> *
	ILD negativan	ILD pozitivan	Ukupno	
Spol				
Muški	2 (4)	8 (21)	10 (12)	0,04
Ženski	45 (96)	30 (79)	75 (88)	
Pušač				
Ne	32 (68)	31 (82)	63 (74)	0,16
Da	15 (32)	7 (18)	22 (26)	
Dijagnoza				
SSc ^a	11 (23)	12 (32)	23 (27)	0,17
IIM ^b	4 (9)	8 (21)	12 (14)	
MCTD ^c	5 (11)	0	5 (6)	
SjS ^d	8 (17)	4 (10,5)	12 (14,1)	
RA ^e	16 (34)	11 (28,9)	27 (31,8)	
SLE ^f	3 (6,4)	3 (7,9)	6 (7,1)	
Protutijela (N = 59)				
Scl-70 ^g	4 (14)	6 (20)	10 (17)	0,85
ACA ^h	7 (24)	6 (20)	13 (22)	
ACPA ⁱ	13 (45)	11 (37)	24 (41)	
Jo-1 ^j	1 (3,4)	3 (10)	4 (6,8)	
Druga MSA ^k	4 (13,8)	4 (13,3)	8 (13,6)	
Respiratorni simptomi				
Ne	27 (57)	16 (42)	43 (51)	0,19
Da	20 (43)	22 (58)	42 (49)	
Auskultatorni nalaz (krepitacije)				
Ne	39 (83)	19 (50)	58 (68)	0,001
Da	8 (17)	19 (50)	27 (32)	

Podaci su prikazani kao ukupni brojevi (postotci)

* Fisherov egzaktni test; § intersticijska bolest pluća; ^a sistemska skleroza; ^b idiopatske inflamatorne miopatije; ^c miješana bolest vezivnog tkiva; ^d Sjögrenov sindrom; ^e reumatoidni artritis; ^f sistemski eritemski lupus; ^g protutijela na topoizomerazu I; ^h protutijela na centromere; ⁱ protutijela na cikličke citrulinirane proteine; ^j histidil-tRNA sintetaza; ^k miozitis specifična antitijela

Bolesnici s vrijednostima FVC nižim od 80 % značajno češće su imali ILD (Fisherov egzaktni test, $P = 0,04$). U skupini bolesnika s vrijednostima DLCO nižim od 80 %, značajno češće su ILD pozitivni oni s vrijednostima manjim od 60 % (Fisherov egzaktni test, $P = 0,01$). Vrijednosti DLCO manje od 60 % imaju 23 (27 %) bolesnika, značajnije više bolesnici koji su ILD pozitivni (45 % vs. 13 %) (Fisherov egzaktni test, $P = 0,001$) (Tablica 5).

Tablica 5. Vrijednosti FVC i DLCO u odnosu na ILD

	Broj (%) bolesnika s obzirom na ILD [§]			<i>P</i> *
	ILD negativan	ILD pozitivan	Ukupno	
FVC ^a < 80%				
Ne	39 (83)	24 (63)	63 (74)	0,04
Da	8 (17)	14 (37)	22 (26)	
FVC ^a (< 80%) (N= 22)				
< 60%	1 (13)	4 (29)	5 (23)	0,62
60 – 69%	2 (25)	5 (36)	7 (32)	
70 – 79%	5 (63)	5 (36)	10 (45)	
DLCO ^b < 80%				
Ne	17 (36)	5 (13)	22 (26)	0,17
Da	30 (64)	33 (87)	63 (74)	
DLCO ^b (< 80%) (N = 63)				
< 40%	0	5 (15)	5 (8)	0,01
40 – 59%	6 (20)	12 (36)	18 (29)	
60 – 79%	24 (80)	16 (48)	40 (63)	
DLCO ^b (< 60%)				
Ne	41 (87)	21 (55)	62 (73)	0,001
Da	6 (13)	17 (45)	23 (27)	

Podaci su prikazani kao ukupni brojevi (postotci)

*Fisherov egzaktni test

§ intersticijska bolest pluća; ^a forsirani vitalni kapacitet; ^b difuzijski kapacitet pluća za ugljikov monoksid

Kod postavljanja granične vrijednosti DLCO na 80 % senzitivnost testa je 86,8 % (uz 95 % CI od 71,9 % to 95,6 %), specifičnost 36,2 % (uz 95 % CI od 22,7 do 51,5 %), a točnost 58,8 % (95 % CI 51,1 do 72,6 %). Uz podjelu s granicom DLCO od 60 % senzitivnost je 44,7 % (uz 95 % CI od 28,6 do 61,7 %), specifičnost 87,2 % (uz 95 % CI od 74,3 do 95,2 %), a točnost 68,2 % (95 % CI 57,2 do 77,9 %). (Tablica 6.)

Tablica 6. Osjetljivost i specifičnost različite granice DLCO u predikciji nalaza intersticijske bolesti pluća

	DLCO ^a < 80 %		DLCO ^a < 60 %	
	Vrijednost	95 % CI [†]	Vrijednost	95 % CI [†]
Osjetljivost	86,8 %	71,9-95,6 %	44,7 %	28,6-61,7 %
Specifičnost	36,2 %	22,7-51,5 %	87,2 %	74,3-95,2 %
AUC*	0,615	0,5-0,7	0,712	0,551-0,760
Pozitivan omjer vjerojatnosti	1,361	1,06-1,7	3,504	1,533-8,010
Negativan omjer vjerojatnosti	0,364	0,15-0,9	0,634	0,466-0,861
Prevalencija bolesti	44,7 %	33,91-55,89 %	44,7 %	33,91-55,89 %
Pozitivna prediktivna vrijednost	52,4 %	46,18-58,51 %	73,9 %	55,35-86,62 %
Negativna prediktivna vrijednost	77,3 %	58,0-89,33 %	66,1 %	58,97-72,62 %
Točnost	58,8 %	47,62-69,39 %	68,2 %	57,24-77,92 %

*površina ispod krivulje; [†]95% raspon pouzdanosti (engl. *Confidence Interval*);

^a difuzijski kapacitet pluća za ugljikov monoksid

Razlike u vrijednostima FVC, DLCO i biomarkera s obzirom na ILD prikazane se u Tablici 7. Kod ILD pozitivnih bolesnika značajno su niže vrijednosti FVC-a (Mann Whitney U test, $P = 0,02$), DLCO-a (Mann Whitney U test, $P < 0,001$), dok su kod ILD pozitivnih više vrijednosti CA 15-3 (Mann Whitney U test, $P < 0,001$) i LDH (Mann Whitney U test, $P < 0,001$) (Tablica 7).

Tablica 7. Razlike u vrijednostima s obzirom na postojanje intersticijske bolesti pluća

	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI [†]	P*
	ILD [§] negativan	ILD [§] pozitivan			
Dob (godine)	62 (53 – 67)	67 (55 – 71)	4	-1 do 9+	0,07
FVC ^a (%)	96 (82 – 101)	82 (70 – 97)	-9	-17 do -2	0,02
DLCO ^b (%)	75 (66 – 94)	64 (47 – 77)	-15	-23 do -6	<0,001
CA15-3 ^c (U/mL)	16,5 (11,8 – 19,9)	28,3 (16,6 – 36)	11,8	8,1 do 16,1	<0,001
KL-6 ^d (IU/mL)	7416 (5937 – 9216)	8401,5 (5937 – 9702)	675	-498 do 1842	0,24
LDH ^e (U/L)	188 (161,3 – 215)	217,5 (180 – 246)	29	10 do 49	0,004

Podaci su prikazani kao vrijednost medijana s interkvartilnim rasponom

*Mann Whitney U test; [†]95% raspon pouzdanosti (engl. *Confidence Interval*);

[§] intersticijska bolest pluća; ^a forsirani vitalni kapacitet; ^b difuzijski kapacitet pluća za ugljikov monoksid; ^c karbohidratni antigen 15-3; ^d Krebs von den Lungen – 6; ^e serumska laktatdehidrogenaza

Uočene su razlike u vrijednostima CA 15-3 kod različitih HRCT uzoraka. Kod saćastih promjena, te kod trakcijskih bronhiektazija i retikulacija značajno su više vrijednosti CA 15-3 (U/mL) (Mann Whitney U test, $P < 0,001$ i $P = 0,004$) u odnosu na CA 15-3 (U/mL) kod upalnih uzoraka, GGO i konsolidacija (Tablica 8.).

Tablica 8. Razlike u vrijednostima CA 15-3 s obzirom na HRCT uzorak intersticijske bolesti pluća

		Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI [†]	<i>P</i> *
		Negativno	Pozitivno			
Saćaste promjene						
CA 15-3 ^a	18,9	31,3	15,0	7,5 do 22,7	<0,001	
(U/mL)	(13,7 – 26,1)	(27,5 – 44,2)				
Trakcijske bronhiektazije i retikulacije						
CA 15-3 ^a	18,9	31,0	11,7	4,9 do 18,8	0,004	
(U/mL)	(13,7 – 26,4)	(25,8 – 37,6)				
GGO ^b i konsolidacije						
CA 15-3 ^a	19,0	25,5	3,2	-2,7 do 9,0	0,33	
(U/mL)	(14,4 – 26,4)	(14,7 – 29,2)				

Podaci su prikazani kao vrijednost medijana s interkvartilnim rasponom

*Mann Whitney U test; [†]95% raspon pouzdanosti (engl. *Confidence Interval*);

^a karbohidratni antigen 15-3; ^b opaciteti izgleda mliječnog stakla

Nema statistički značajne povezanosti navike pušenja s vrijednostima plućne funkcije, FVC i DLCO, kao ni s koncentracijom serumskih biomarkera, CA 15-3, KL-6 i LDH (Tablica 9.).

Tablica 9. Povezanost vrijednosti FVC, DLCO, CA 15-3, KL-6 i LDH s navikom pušenja

	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika	95% CI [†]	P*
	Ne puši	Puši			
FVC ^a (%)	88 (80 – 99)	85 (69 – 101)	-2	-12 do 7	0,57
DLCO ^b (%)	72 (60,3 – 81,8)	70 (56 – 79)	-2	-13 do 8	0,65
CA 15-3 ^c (U/mL)	19,1 (13,9 – 28,4)	19,6 (16,3 – 25,5)	-0,2	-5,5 do 4,2	0,94
KL-6 ^d (IU/mL)	7848 (5990,3 – 9681)	8787 (5204,3 – 10461,8)	462	-1008 do 1689	0,59
LDH ^e (U/L)	202 (174,3 – 227,3)	193,5 (155 – 233)	-8	-32 do 17	0,51

Podaci su prikazani kao vrijednost medijana s interkvartilnim rasponom

*Mann Whitney U test; [†]95% raspon pouzdanosti (engl. *Confidence Interval*)

^a forsirani vitalni kapacitet; ^b difuzijski kapacitet pluća za ugljikov monoksid;

^c karbohidratni antigen 15-3; ^dKrebs von den Lungen – 6; ^eserumska laktatdehidrogenaza

Spearmanovim koeficijentom korelacije ocijenila se povezanost pojedinih vrijednosti. Uočava se da ukoliko su više vrijednosti FVC više su vrijednosti i DLCO (Rho = 0,410), a niže CA 15-3 (Rho = -0,291). S višim vrijednostima DLCO niže su vrijednosti CA 15-3 (Rho = -0,317). Ukoliko su više vrijednosti CA 15-3, više su i vrijednosti KL-6 (Rho = 0,268) i LDH (Rho = 0,227). Iako su povezanosti značajne ocjena povezanosti je slabija (Rho < 0,500) (Tablica 10).

Tablica 10. Međusobna povezanost FVC, DLCO, CA 15-3, KL-6 i LDH

	Spearmanov koeficijent korelacije Rho (P* vrijednost)			
	FVC ^a	DLCO ^b	CA 15-3 ^c	KL-6 ^d
FVC ^a	-			
DLCO ^b	0,410 (<0,001)	-		
CA 15-3 ^c	-0,291 (0,007)	-0,317 (0,003)	-	
KL-6 ^d	0,072 (0,52)	-0,198 (0,07)	0,268 (0,01)	-
LDH ^e	-0,048 (0,66)	-0,024 (0,83)	0,227 (0,04)	0,132 (0,23)

*Spearmanov koeficijent korelacije; ^a forsirani vitalni kapacitet; ^b difuzijski kapacitet pluća za ugljikov monoksid; ^c karbohidratni antigen 15-3; ^d Krebs von den Lungen – 6; ^e serumska laktatdehidrogenaza

Na rendgenskoj snimci pluća postavljena je sumnja na ILD kod 16 (19 %) bolesnika. Nakon HRCT-a broj pozitivnih ILD bio je značajno veći, njih 38 (45 %) (McNemar Bowkerov test, $P = 0,001$) (Tablica 11).

Tablica 11. Raspodjela bolesnika prema rendgenskoj sumnji i definitivnoj dijagnozi intersticijske bolesti pluća nakon HRCT-a.

		Broj (%) bolesnika prema HRCT			P^*
		ILD [§] negativan	ILD [§] pozitivan	Ukupno	
RTG - ILD [§] suspektan	Ne	37	32	69 (81)	0,001
	Da	10	6	16 (19)	
	Ukupno	47 (55)	38 (45)	85 (100)	

Podaci su prikazani kao ukupni broj (postotci)

*McNemar Bowkerov test; [§]intersticijska bolest pluća

Logističkom regresijom ocijenjen je utjecaj više čimbenika na vjerojatnost pozitivnog nalaza ILD. Nezavisni prediktori su sve one varijable kod kojih se uočila promjena s obzirom na pozitivan ILD. U bivarijatnoj regresiji uočava se da prisutne krepatacije ($OR = 4,88$), više vrijednosti CA 15-3 ($OR = 1,18$) i LDH (1,01) povećavaju vjerojatnost nastanka ILD, dok ženski spol ($OR = 0,17$), više vrijednosti FVC ($OR = 0,97$) i DLCO ($OR = 0,95$) smanjuju vjerojatnost nastanka ILD-a.

Kao model promatrali su se prediktori koji su značajni u bivarijatnoj analizi. U konačnici, model koji čini jedan prediktor je u cijelosti statistički značajan ($\chi^2=25,7$, $P<0,001$) i u cjelini objašnjava između 36% (po Cox & Snell) do 48% (po Nagelkerke) varijance prisutnosti ILD, i točno klasificira 83% slučajeva. Značajan je CA 15-3, odnosno bolesnici s višim vrijednostima Ca 15-3 imaju 1,2 puta veću šansu za ILD (Tablica 12.)

Tablica 12. Predviđanje vjerojatnosti postojanja ILD na HRCT-u (bivarijatna i multivarijatna logistička regresija)

	β^*	Wald	P vrijednost	OR [†]	95% CI [‡]
Bivarijatna regresija					
Spol (Ž)	-1,79	4,18	0,03	0,17	0,033 – 0,839
Dob	0,03	2,34	0,13	1,03	0,991 – 1,074
Pušač	-0,73	1,95	0,16	0,48	0,173 – 1,342
Protutijela					
Scl-70 ^a	0,44	0,39	0,53	1,56	0,392 – 6,233
ACA ^b	-0,24	0,15	0,70	0,79	0,229 – 2,700
ACPA ^c	-0,34	0,41	0,52	0,71	0,251 – 2,021
Jo-1 ^d	1,13	0,92	0,34	3,11	0,305 – 31,79
Druga MSA ^e	-0,30	0,17	0,68	0,74	0,177 do 3,077
Krepitacije	1,58	9,81	0,002	4,88	1,809 – 13,139
FVC ^f	-0,03	3,90	0,04	0,97	0,948 – 0,999
DLCO ^g	-0,05	11,57	<0,001	0,95	0,925 – 0,979
CA 15-3 ^h	0,16	18,18	<0,001	1,18	1,092 – 1,269
KL-6 ⁱ	0	1,14	0,29	1,0001	0,999 – 1,0002
LDH ^j	0,01	6,14	0,01	1,01	1,003 – 1,022
Multivarijatna regresija (Stepwise metoda)					
CA 15-3 ^h	0,18	13,22	<0,001	1,20	1,087 – 1,323
Konstanta	93	12,86	<0,001		

*regresijski koeficijent; [†] omjer izgleda (eng. *OddsRatio*); [‡] 95% raspon pouzdanosti (engl. *Confidence Interval*)

^a protutijela na topoizomerazu I; ^b protutijela na centromere; ^c protutijela na cikličke citrulinirane proteine; ^d histidil-tRNAsintetaza; ^e miozitis specifična antitijela; ^f forsirani vitalni kapacitet; ^g difuzijski kapacitet pluća za ugljikov monoksid; ^h karbohidratni antigen 15-3; ⁱ Krebs von den Lungen – 6; ^j serumska laktatdehidrogenaza

Dijagnostička vrijednost pojedinih varijabli prikazana je u Tablici 13.

Tablica 13. Dijagnostička vrijednost pojedinih varijabli (ROC analiza) s obzirom na intersticijsku bolest pluća

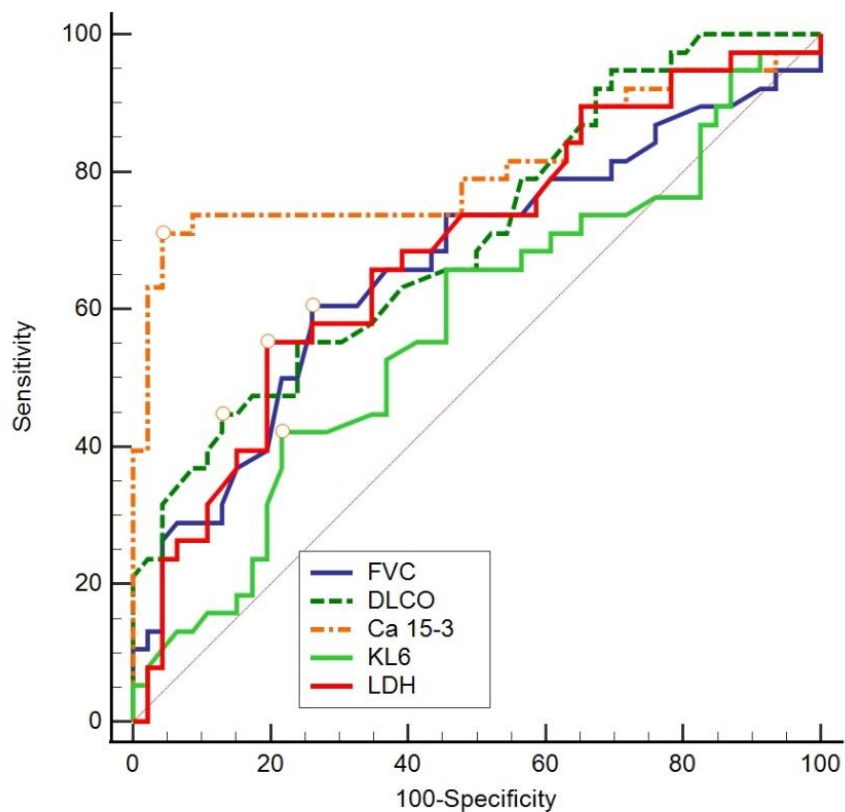
	AUC*	95% CI [†]	Senzitivnost	Specifičnost	Točka razlučivanja (<i>cut-off</i>)	Youden indeks	<i>P</i>
FVC ^a	0,654	0,543 – 0,754	60,5	72,3	≤ 84	0,329	0,01
DLCO ^b	0,712	0,604 – 0,805	44,7	87,2	≤ 59	0,320	<0,001
CA15-3 ^c	0,807	0,707 – 0,884	71,1	95,7	>24	0,668	<0,001
KL-6 ^d	0,575	0,462 – 0,682	42,1	78,3	>9330	0,204	0,24
LDH ^e	0,681	0,571 – 0,778	55,3	78,7	>216	0,340	0,002

*AUC – površina ispod krivulje; [†] 95% raspon pouzdanosti (engl. *Confidence Interval*);

^a forsirani vitalni kapacitet; ^b difuzijski kapacitet pluća za ugljikov monoksid; ^c karbohidratni antigen 15-3; ^d Krebs von den Lungen – 6; ^e serumska laktatdehidrogenaza

Metoda ROC-krivulje odabrana je kao jednostavna metoda za procjenu razlike pojedinog pokazatelja između skupine ispitanika s obzirom na pozitivan ILD, a utvrđuje se na temelju specifičnosti i senzitivnosti. Za procjenu vrijednosti pojedinih parametara, koji su prethodnim analizama identificirani kao značajni, primijenjena je metoda izračuna ROC krivulje, kojom se postupno mijenjaju vrijednosti koje razdvajaju ispitanike prema ishodu. Promijenjena je točka razlučivanja za određenu skupinu ispitanika (*cut-off point*) kako bi se putem ROC-krivulje objektivno odredila vrijednost koja najbolje razdvaja usporedene skupine. (Slika 3.)

U ovim podacima, s obzirom na pozitivan ILD, značajni su dijagnostički pokazatelji FVC, DLCO, CA 15-3 i LDH. Kao najbolji dijagnostički pokazatelj možemo prikazati DLCO (AUC = 0,712, specifičnost 87,2, senzitivnost 44,7, s *cut-off* vrijednosti ≤ 59 %), te CA 15-3 (AUC = 0,807, specifičnost = 95,7, senzitivnost = 71,1). Jedino se KL-6 nije pokazao kao značajan dijagnostički pokazatelj s obzirom na ILD (Tablica 13.).



Slika 3. ROC analiza osjetljivosti i specifičnosti promatranih vrijednosti kod pozitivnog ILD

Legenda: FVC - forsirani vitalni kapacitet; DLCO - difuzijski kapacitet pluća za ugljikov monoksid; CA 15-3 - karbohidratni antigen 15-3; KL-6 - Krebs von den Lungen – 6; LDH - serumski laktatdehidrogenaza

5. RASPRAVA

Intersticijske bolesti pluća predstavljaju važnu komplikaciju sistemskih autoimunih reumatskih bolesti zbog visoke incidencije, morbiditeta i mortaliteta. Iz toga proizlazi hitna potreba za učinkovitim metodama probira. Ova rasprava nastoji sintetizirati naše rezultate u kontekstu do sada objavljenih istraživanja te istaknuti ključna područja nesigurnosti i predložiti smjerove za daljnja istraživanja koja će unaprijediti dijagnostičke i prognostičke pristupe za pacijente sa SARD-ILD-om.

U ovom istraživanju sa 85 bolesnika većina je bila ženskog spola (88 %). Ovakva disproporcija je očekivana i odraz je razlika u prevalenciji sistemskih autoimunih bolesti među spolovima. Medijan dobi ispitanika iznosio je 64 godine s velikim rasponom od 25 do 84 godine, što ukazuje na to da su se u istraživanju uz starije osobe našli i mlađi bolesnici. Ovakva dobna distribucija je također očekivana s obzirom da autoimune bolesti pogađaju širok spektar dobnih skupina. Primjetno je da je većina ispitanika ipak u kasnoj srednjoj i starijoj dobi, što može imati utjecaj na pristup liječenju i skrbi. Od 85 bolesnika, njih 22 (26 %) je bilo pušača, što dodatno naglašava potrebu za razmatranjem načina života i njegovog utjecaja na zdravlje, posebno s obzirom na to da je pušenje poznato kao čimbenik rizika za razvoj i pogoršanje autoimunih bolesti.

Što se tiče dijagnoza, najviše bolesnika imalo je RA, 27 (32 %) i SSc s 23 (27 %) oboljela. Ove dvije dijagnoze zajedno obuhvaćaju gotovo 60 % sudionika. Ovakvi rezultati o zastupljenosti pojedine SARD dijagnoze u skladu su sa istraživanjima kohorta iz Sjedinjenih Država i Kine koje su pokazale su da su SSc i RA dvije glavne skupine SARD-a koje uzrokuju ILD, nakon kojih slijede IIM, SjS i SLE.(17, 18)

Ovi rezultati pružaju važne uvide u demografske podatke i dijagnostičke karakteristike bolesnika, što može pomoći u oblikovanju budućih istraživanja i kliničke prakse usmjerene na poboljšanje ishoda liječenja kod osoba s autoimunim bolestima (25).

Analiza kliničkih, laboratorijskih i radioloških obilježja bolesnika otkrila je visoku prevalenciju ACPA protutijela, koje je nađeno kod 24 (41 %) ispitanika. Ovakav rezultat nije neočekivan ako znamo da je RA, čiji je ACPA biljeg, SARD s najvećom prevalencijom sa zahvaćanjem i do 2 % opće populacije. Dosadašnja istraživanja sugeriraju da prisutnost ACPA protutijela može imati i prognostičku vrijednost, te da mogu ukazivati na ozbiljniji oblik bolesti i predispoziciju za razvoj plućnih komplikacija (26).

Među bolesnicima s potvrđenim ILD-om na HRCT-u njih 47 % je imalo sačaste promjene, traksijske bronhiektazije i retikulacije u sklopu UIP-a i fibrozirajućeg NSIP-a. Gotovo podjednako, kod 52 % bolesnika na HRCT-u su bili prisutni znakovi upale, GGO i konsolidacije kao odraz staničnog NSIP-a i OP. Naši rezultati su u skladu s dosad

objavljenim istraživanjima sa SARD-ILD-om koji detektiraju UIP i NSIP kao dva dominantna uzorka na HRCT-u (20). U našem istraživanju podjednaka je proporcija upalnih i fibrozirajućih uzoraka što je moguće odraz razlučivanja staničnog od fibrotičnog NSIP-a te ranijeg otkrivanja SARD-ILD obzirom da je studija rađena na bolesnicima s novootkrivenim SARD-om kod kojih se aktivno proveo probir na ILD.

U analizi testova plućne funkcije procijenjeni su FVC i DLCO u odnosu na očekivane vrijednosti prema spolu i dobi. Rezultati su pokazali medijan FVC od 87 % s interkvartilnim rasponom od 79 % do 99,5 %, što sugerira da većina ispitanika ima umjereno smanjenje plućne funkcije. Raspon FVC vrijednosti bio je širok, od 44 % do 148 %, što ukazuje na prisutnost pacijenata s različitim stupnjevima funkcionalnih oštećenja pluća. Medijan DLCO iznosio je 72 % s interkvartilnim rasponom od 58 % do 81,5 %. Ovaj nalaz može ukazivati na prisutnost značajnog intersticijskog oštećenja plućnog parenhima kod ispitanika. Raspon DLCO vrijednosti također je značajan, od 30 % do 118 %, naglašavajući različitost u mehanizmima oštećenja i progresiji bolesti među pacijentima.

CA 15-3 pokazuje širok raspon vrijednosti, ali je medijan relativno nizak u usporedbi s gornjom granicom, dok KL-6 pokazuje visoke vrijednosti i širok raspon, što može otežati tumačenje rezultata.

Analizirana je raspodjela ispitanika prema općim i kliničkim obilježjima u odnosu na postojanje ILD-a i rezultati jasno ukazuju na nekoliko važnih faktora koji utječu na prisutnost ILD-a.

Medijan dobi oboljelih od ILD-a je 67 godina, što je nešto više od 62 godine u skupini s negativnim ILD-om, ali razlika od 4 godine nije statistički značajna. Ovi podaci koji sugeriraju da dob ne predstavlja ključni faktor u razlici između ovih dviju skupina u suprotnosti su s drugim studijama koje definiraju dob kao rizični faktor na nastanak ILD-a. Te iste studije definiraju i duže trajanje SARD-a kao rizični faktor pa je moguće je da je upravo u tome razlog različitih zaključaka (20, 25). Naime, u ovo istraživanje uključeni su samo novodijagnosticirani bolesnici sa SARD-om.

Uočena je značajna razlika u prevalenciji ILD-a između muških i ženskih ispitanika, s 21 % muškaraca pozitivnih na ILD u odnosu na samo 8 % žena. U bivarijantnoj analizi ženski spol smanjuje vjerojatnost ILD-a, odnosno žene imaju 83 % manje šanse za ILD u odnosu na muškarce. Ovi nalazi u skladu su s brojnim drugim istraživanjima koja detektiraju muški spol kao faktor rizika za nastanak ILD (20, 25). Sklonost muškaraca za nastanak ILD-a može biti povezana s različitim patofiziološkim mehanizmima i hormonalnim razlikama

između spolova, ali i s izloženostima koje možda nisu ravnomjerno raspoređene među spolovima.

Nadalje, uočena je značajna povezanost između prisutnosti krepitacija kod auskultacije pluća i postojanja ILD-a. Bolest se četiri puta češće javlja kod pacijenata s auskultacijskim nalazom bazalnih krepitacija što je očekivano obzirom da je to tipični znak zahvaćanja plućnog parenhima.

Raspodjela među pušačima i nepušačima ne pokazuje značajnu razliku u prevalenciji ILD-a. Ovakav nalaz u suprotnosti je s brojnim drugim istraživanjima koja definiraju pušenje kao rizični faktor na nastanak ILD-a(20, 25). Moguće objašnjenje za ovu razliku je u kriterijima isključenja ispitanika. Naime, iz ovog istraživanja isključeni su bolesnici s poznatim plućnim komorbiditetima, kao što je kronična opstruktivna bolest pluća i emfizem pluća, a koji su najčešće vezani upravo za naviku pušenja. Isto tako, unatoč opće poznatim negativnim učincima pušenja na plućnu funkciju, u ovom istraživanju nije pronađena značajna povezanost između navike pušenja i testova plućne funkcije (FVC i DLCO).

Nadalje, analiza nije pokazala statistički značajne razlike u raspodjeli ILD-a u odnosu na specifičnu dijagnozu SARD-a. Iako nije zabilježena statistički značajna razlika u prevalenciji ILD-a među različitim SARD dijagnozama, rezultati da su SSc i IIM najčešće povezane s ILD-om u skladu su s rezultatima meta analize *Joy i sur.* Suprotno rezultatima te metaanalize prevalencija ILD-a kod RA u našem istraživanju je bila češća, 28.9% nasuprot 11%. Isto tako, kod nijednog od pet pacijenta s MCTD-om nije dijagnosticiran ILD. Ovakva odstupanja u prevalenciji ILD-a kod pojedine dijagnoze SARD mogu se objasniti relativno malim uzrokom pacijenata.

Analizirane su različite vrste protutijela kako bi se utvrdilo postoji li povezanost s ILD-om. Protutijela na topoizomerazu I (Scl-70) i anti-histidil-tRNA sintetaza (Jo-1) protutijela češća su kod oboljelih od ILD-a, ali ni jedno od protutijela nije statistički značajnije povezano s ILD-om u odnosu na ostala. Objašnjenje za ovakve rezultate je što se seropozitivnost generalno smatra faktorom rizika za razvoj ILD-a i sva analizirana protutijela se smatraju rizičnim faktorom (24, 26, 29, 30).

Nije nađena značajna razlika između pacijenata s i bez respiratornih simptoma u odnosu na postojanje ILD-a što može značiti da prisutnost respiratornih simptoma nije pouzdan indikator ILD-a kod ove skupine bolesnika.

Rasprava o dijagnostičkoj vrijednosti rendgenskih snimaka u procjeni intersticijske bolesti pluća

Analizirana je raspodjela bolesnika prema rendgenskoj sumnji na ILD i konačnoj dijagnozi postavljenoj nakon HRCT-a. Od 85 bolesnika, samo kod 19 % postavljena je sumnja na ILD na rendgenskim snimkama. Ovaj niski postotak može ukazivati na to da su rendgenske snimke pluća, iako korisne, ograničene u preciznom prepoznavanju ILD-a. To je povezano s prirodom bolesti i ranim stadijima bolesti u kojima se ILD ne manifestira jasno na jednostavnim rendgenskim snimkama.

Nakon HRCT-a, broj bolesnika s pozitivnom dijagnozom ILD-a narastao je na 45 %. Ova značajna promjena u dijagnozi odraz je superiornosti HRCT tehnologije u otkrivanju intersticijske bolesti pluća u usporedbi s konvencionalnim rendgenskim snimkama.

Ovi rezultati podržavaju upotrebu HRCT-a kao *zlatnog standarda* u dijagnosticiranju ILD-a, dok rendgenske snimke služe više kao prvi korak u prepoznavanju potencijalnih problema.

Rasprava o plućnim funkcionalnim testovima u odnosu na intersticijsku bolest pluća

Analiza rezultata testova plućne funkcije, konkretno FVC-a i DLCO-a, jasno ukazuje na značajnu povezanost između ovih parametara i prisutnosti ILD-a.

Rezultati pokazuju da bolesnici čiji je FVC niži od 80 % imaju značajno veću sklonost ILD-u. Kada se promatraju pacijenti s FVC ispod 80 %, među njima se nalaze dodatni razredi, ali nije zabilježena značajna razlika među njima. FVC manji od 60 % imalo je samo 29 % ILD pozitivnih pacijenata, što može sugerirati da su ovi ispitanici već u ozbiljnom stadiju bolesti.

U analizi DLCO, nije zabilježena značajna razlika između pacijenata s DLCO iznad i ispod 80 %, što može ukazivati na to da DLCO, iako važan, nije samostalan indikator prisutnosti ILD-a.

Međutim, kada se razmatraju specifične skupine unutar DLCO, ključni rezultati pokazuju da su 45 % pozitivnih na ILD imali DLCO ispod 60 %. Ovi bolesnici predstavljaju 27 % ukupne analizirane populacije, ali među ILD pozitivnim pacijentima, značajan broj ima izraženo smanjenje DLCO-a.

Rasprava o osjetljivosti i specifičnosti DLCO-a u predikciji intersticijske bolesti pluća

Analizirana je osjetljivost, specifičnost i točnost različitih granica DLCO-a u predikciji ILD-a. Granica DLCO od 80 % ima visoku razinu senzitivnosti (86,8%) što ovu granicu čini korisnom za raniju identifikaciju bolesnika s potencijalnom ILD. Međutim, niska specifičnost (36,2 %) ukazuje na to da od testiranih pacijenata koji nemaju ILD, samo 36,2 % će biti ispravno označeno kao negativni. To znači da postoji visoki postotak lažno pozitivnih rezultata, što može dovesti do nepotrebnih daljnjih dijagnostičkih postupaka, tj. upućivanja na HRCT.

Kod postavljanja granice DLCO na 60 % došlo je značajnog smanjenja senzitivnosti u usporedbi s granicom od 80 % što znači da bi pozitivni slučajevi mogli ostati neotkriveni. S druge strane, visoka specifičnost ukazuje na to da će 87,2 % onih koji nemaju ILD biti ispravno identificirano kao negativni, što znači da je ova granica vrlo korisna u isključivanju ILD-a kod pacijenata. Razina točnosti od 68,2 % ukazuje na to da bi veći postotak pacijenata mogao biti ispravno klasificiran s granicom DLCO-a od 60 % nego s granicom od 80 %.

Pozitivan omjer izgleda za $DLCO < 60\%$ je značajno veći što sugerira da je veća vjerojatnost da pacijent s pozitivnim testom za $DLCO < 60\%$ zapravo ima ILD. Negativan omjer izgleda sugerira da postoji umjerena vjerojatnost da pacijent bez ILD-a ima negativan rezultat u testu.

Iz analize ovih podataka možemo zaključiti da granica $DLCO < 80\%$ ima visoku senzitivnost, ali nizak nivo specifičnosti, što znači da je vrlo učinkovita u prepoznavanju pacijenata s ILD, ali istodobno pruža visoki postotak lažno pozitivnih rezultata. To može dovesti do potrebe za dodatnim dijagnostičkim ispitivanjima kod pacijenata koji su označeni kao pozitivni.

Granica $DLCO < 60\%$ pokazuje suprotne karakteristike, ima visoku specifičnost, što omogućuje učinkovito isključivanje pacijenata bez ILD, ali nisku senzitivnost, što može značiti da će mnogi pacijenti s ILD-om ostati neotkriveni, ako se oslanjamo samo na ovu granicu.

Na temelju ovih uvida, može se reći da je granica $DLCO < 80\%$ korisna s obzirom na ranu detekciju ILD, dok granica $DLCO < 60\%$ može biti pouzdana za isključivanje bolesti u bolesnika koji nemaju ILD.

Iako je granica DLCO od 80 % tradicionalno postavljena i naširoko korištena, postoje studije koje prikazuju slične rezultate ovdje iznesenima. *Showalter i sur.* su kod pacijenata sa SSc-ILD također utvrdili da je niža granica DLCO od 62 % optimalnija. Njihovi rezultati

ROC analize pokazali su FVC od 80 % i DLCO od 62 % kao pragove s najoptimalnijom kombinacijom senzitivnosti i specifičnosti u dijagnostici SSc-ILD-a (130).

Rasprava o razlikama u funkcionalnim testovima i biomarkerima u odnosu na intersticijsku bolest pluća

Analizirane su razlike u vrijednostima testovima plućne funkcije (FVC i DLCO) i serumskih biomarkera (CA 15-3, KL-6 i LDH) između pacijenata s ILD-om i onih bez ILD-a. Uočena je značajna razlika u FVC-u, s medijanom od 96 % u ILD negativnoj skupini u usporedbi s 82 % kod ILD pozitivnih bolesnika. Razlika između DLCO vrijednosti također je značajna, s medijanom od 75 % u ILD negativnoj skupini naspram 64 % kod ILD pozitivnih pacijenata.

Razina CA 15-3 značajno je viša kod ILD pozitivnih pacijenata (28,3 U/mL) u usporedbi s onima bez ILD-a (16,5 U/mL) ($P < 0,001$). CA 15-3 je često korišten kao tumorski marker, no ovdje ukazuje na upalu i potencijalnu aktivnost bolesti u plućnom tkivu.

Kod KL-6 (IU/mL) zabilježena je razlika, no nije statistički značajna. Vrijednosti su blago povišene u ILD pozitivnoj skupini (8401,5 IU/mL) u odnosu na negativne (7416 IU/mL), ali zbog visoke varijabilnosti nije moguće donijeti čvrste zaključke.

Razina LDH je značajno viša kod pacijenata s ILD-om (217,5 U/L) naspram onih bez ILD-a (188 U/L). Povišene razine LDH mogu ukazivati na oštećenje stanica i prekomjernu aktivnost upalnog procesa, što je tipično za bolesnike sa zahvaćanjem plućnog intersticija.

Rasprava o vrijednostima CA 15-3 i HRCT-uzorcima

U dosadašnjim malobrojnim rezultatima o povezanosti razina biomarkera s određenim HRCT uzorkom može se primijetiti da postoje ograničenja u predviđanju radioloških nalaza. *Cho i sur.* su ukazali na umjerenu do slabu korelaciju između KL-6 i nalaza HRCT-a, dok su *Tseng i sur.* našli pozitivnu povezanost između KL-6 s trakcijskim bronhiektazijama, konsolidacijama i GGO (71, 72). U našem istraživanju analizirane su vrijednosti CA 15-3 kod fibrozirajućih nasuprot upalnim uzorcima HRCT-a. Nađene su značajno više vrijednosti CA 15-3 kod fibrozirajućih uzoraka, sačastih promjena, trakcijskih bronhiektazija i retikulacija u odnosu na upalne promjene, GGO i konsolidacije.

Ovi rezultati mogli bi teoretski ukazivati da su aktivniji ili uznapredovaliji fibrozirajući procesi plućnog tkiva praćeni povišenim razinama ovog biomarkera.

Objašnjenje bi moglo biti u *in vitro* dokazanim učincima KL-6 na fibrozu preko kemotaksije fibroblasta i sprječavanja apoptoze plućnih fibroblasta. (60)

Mali uzorak ispitanika predstavlja značajnu prepreku za donošenje čvrstih i opsežnih zaključaka o povezanosti između biomarkera i radioloških nalaza. Trebalo bi provesti istraživanje na većem broju ispitanika kako bi se osigurala relevantnost i valjanost rezultata, te omogućilo bolje razumijevanje složenosti ILD-a i uloge različitih biomarkera u njihovoj dijagnozi i praćenju.

Rasprava o povezanosti navike pušenja i funkcionalnih testova pluća te serumskih biomarkera

Analizirana je povezanost između navike pušenja i vrijednosti različitih plućnih funkcionalnih testova pluća i nađeno da navika pušenja nije povezana s mjerama plućne funkcije.

Iz ovog istraživanja isključeni supacijenti s poznatim plućnim komorbiditetima, poput kronične opstruktivne bolesti pluća i emfizema, koji su često povezani s pušenjem. Tako da, unatoč uvriježenom shvaćanju o štetnom učinku pušenja na plućnu funkciju, ovo istraživanje nije pokazalo značajnu povezanost između pušenja i rezultata testova plućne funkcije (FVC i DLCO). Nadalje, pušenje nije imalo utjecaj na serumsku koncentraciju analiziranih biomarkera.

Nije nađena razlika u koncentraciji CA 15-3 između nepušača i pušača što ukazuje na to da navika pušenja ne utječe na koncentraciju ovog biomarkera u serumu, koji se često povezuje s upalnim procesima i malignim stanjima. Isto tako razlika koncentracije KL-6 i LDH kod nepušača i pušača nije bila statistički značajna.

Iako pušenje ostaje značajan čimbenik rizika za mnoge plućne bolesti, u ovoj specifičnoj skupini, učinak pušenja na FVC, DLCO i biomarkera možda nije toliko izražen kao što bi se moglo očekivati.

Rasprava o međusobnoj povezanosti FVC, DLCO, CA 15-3, KL-6 i LDH

Zanimljivi su rezultati korelacije između plućnih funkcionalnih testova i serumskih biomarkera putem Spearmanovog koeficijenta korelacije. Ovi rezultati pružaju uvid u međusobne odnose između različitih parametara i mogu pomoći u predikciji ILD-a.

Korelacija između FVC-a i DLCO-a je pozitivna i značajna što sugerira da bolesnici s boljom plućnom funkcijom, mjerom FVC, obično imaju i bolji DLCO. Zaključujemo da su kod SARD bolesnika ovi parametri povezani u smislu funkcionalnog opterećenja pluća.

Nadalje, postoji negativna korelacija između FVC-a i razine CA 15-3. Ova veza implicira da viši FVC može biti povezan s nižim razinama CA 15-3, a to može ukazivati na manje upalne procese ili manje oštećenje plućnog tkiva kod bolesnika. Isto tako, negativna korelacija između DLCO-a i CA 15-3 ukazuje na to da pacijenti s boljim difuzijskim kapacitetom pluća imaju niže razine CA 15-3. Ovi rezultati mogu dodatno ukazivati na povezanost između funkcionalnog oštećenja pluća i upalnih markera. Iako se uočene korelacije u ovoj studiji smatraju značajnima, sve su unutar slabe do umjerene korelacije ($Rho < 0,500$). Ovo ukazuje na to da iako postoji povezanost između funkcionalnih testova pluća i serumskih biomarkera, oni primarno ne ovise jedni o drugima.

Negativna korelacija nalaza testova plućne funkcije i razine CA 15-3 u ovom istraživanju u skladu je s do sada objavljenim rezultatima kod SSc, IPF-a i hipersenzitivnog pneumonitisa. Kod oboljelih od SARD-a, konkretno kod SSc, *Celeste i sur.* su 2013. u retrospektivnoj studiji na 221 bolesnika našli da je CA 15-3 korelirao sa smanjenim FVC-om te višim stupnjem fibroze pluća na HRCT-u (126). *Moll i sur.* su 2020. kod oboljelih od hipersenzitivnog pneumonitisa našli korelaciju CA 15-3 s testovima plućne funkcije (123), što su potvrdili *Gomes i sur.* 2021. koji su kod pacijenata s kroničnim hipersenzitivnim pneumonitisom našli statistički značajnu negativnu korelaciju između razina CA 15-3 u serumu i rezultata testova plućne funkcije (122). Nadalje, *Moll i sur.* su i kod praćenja IPF-a na antifibrotskoj terapiji našli da rezultati testova plućne funkcije značajno koreliraju s razinama CA 15-3 (118).

Analizom korelacije CA 15-3 i KL-6 dobivena je pozitivna korelacija ($Rho = 0,268$, $P = 0,01$) što sugerira da veće vrijednosti CA 15-3 prate veće razine KL-6. Ovakva korelacija u skladu je s dosad objavljenim rezultatima. U 2006. godini, *Okada i sur.* su identificirali značajnu pozitivnu korelaciju između razina biomarkera KL-6 i CA 15-3 kod 20 pacijentica sa SARD-ILD-om (58). Tri godine kasnije, 2009., provedeno je istraživanje s 460 japanskih sudionika koje je utvrdilo pozitivnu povezanost između biomarkera iz obitelji mucina, CA 15-3, KL-6 i BCA225 u općoj populaciji (129). U 2010. godini, *Kruit i sur.* su analizirali razine KL-6 i CA 15-3 kod 242 pacijenta s ILD-om te su našli da KL-6 i CA 15-3 pokazuju snažnu međusobnu korelaciju te su jednako osjetljivi i specifični u smislu razlikovanja ILD-a s fibrozom i bez nje (120). Te konačno, nedavna studija *Tseng i sur.* iz 2025., koja je obuhvatila analizu 583 seruma oboljelih od ILD-a na Tajvanu, gdje je zaključeno da zbog snažne međusobne korelacije CA 15-3 može poslužiti kao učinkovita alternativa markeru KL-6 (72).

Korištenjem logističke regresije za procjenu više faktora koji utječu na vjerojatnost pozitivnog nalaza na HRCT-u, otkrili smo da su auskultacijski nalazi krepitacija bili najjači prediktor ILD-a (OR = 4,88). Prisutnost krepitacija četiri puta povećava rizik pozitivnog HRCT nalaza za ILD. Očekivano, više vrijednosti FVC i DLCO smanjuju, a te niže vrijednosti FVC i DLCO povećavaju vjerojatnost pozitivnog nalaza na HRCT-u.

U bivarijantnoj analizi ženski spol smanjuje vjerojatnost ILD, odnosno žene imaju 83 % manje šanse za ILD u odnosu na muškarce. Ovi nalazi u skladu su s brojnim drugim istraživanjima koja detektiraju muški spol kao faktor rizika za nastanak ILD (20).

Logistička regresija ukazuje na nekoliko ključnih prediktora koji utječu na vjerojatnost prisutnosti ILD-a, a najznačajnijim prediktorom se pokazao CA 15-3.

U bivarijantnoj analizi CA 15-3 pokazuje značajnu povezanost s vjerojatnošću postojanja ILD-a. Porast razine CA 15-3 povećava rizik od ILD-a, i to za svaki U/mL povećanja koncentracije CA 15-3 rizik se povećava za 18%. Ova pozitivna korelacija sugerira da viša razina CA 15-3 može biti indikator prisutnosti ILD-a.

CA 15-3 je u stanju točno klasificirati 83 % slučajeva, što ukazuje na njegov visok nivo prediktivne točnosti. To znači da je model vrlo učinkovit u razlikovanju između bolesnika s ILD-om i onih bez ILD-a, što ukazuje na njegov potencijal za kliničku primjenu. CA 15-3 se istakao kao značajan biomarker za predviđanje postojanja ILD, s pozitivnom korelacijom koja se održava u bivarijantnoj i multivarijantnoj analizi.

Ovi rezultati su u skladu s prijašnjim studijama s oboljelima od SSc, SjS i RA, koji su pokazali korisnost CA 15-3 u prepoznavanju ILD-a. Istraživanje *Szekanecza i sur.* na 92 pacijenta sa SSc nađene su značajno povišene razine CA 15-3 u usporedbi s kontrolama (53). Slično su *Celeste i sur.* potvrdili na 221 pacijenata sa SSc korisnost CA 15-3 u identifikaciji ILD-a (126). Povišene razine serumskog CA 15-3 također su zabilježene kod pacijenata sa SjS-ILD u usporedbi s onima bez ILD-a, te kod RA-ILD u usporedbi s RA bez ILD (100, 127, 128).

U ROC analizi FVC pokazuje umjerenu dijagnostičku vrijednost, s AUC-om koji ukazuje na ograničenu sposobnost da razluči između pozitivnih i negativnih slučajeva ILD-a. DLCO se pokazuje kao dobar dijagnostički pokazatelj s višom specifičnošću, što znači da je učinkovitiji u isključivanju ILD-a nego u njegovom otkrivanju.

Analiza ROC-krivulje dodatno je potvrdila dijagnostičku korisnost CA 15-3, pokazujući visoku specifičnost i dobru osjetljivost, što ga čini potencijalno vrijednim alatom za kliničku procjenu ILD-a kod pacijenata s SARD-om.

LDH pokazuje dobre performanse u dijagnostici, ali ne doseže visoku učinkovitost kao CA 15-3. KL-6 se nije pokazao kao značajan dijagnostički pokazatelj za ILD, s niskim AUC-om koji ukazuje na slabiju razlučivost u usporedbi s drugim varijablama.

Zanimljivo je da je u našim rezultatima ROC analiza identificirala CA 15-3 i LDH, ali ne i KL-6, kao značajne dijagnostičke indikatore za pozitivni nalaz ILD-a na HRCT-u. Ovakvi rezultati se razlikuju od ranijih studija u kojima je KL-6 često bio pronađen kao specifičniji i korisniji za dijagnosticiranje SARD-ILD-a (72, 131).

Prethodna istraživanja, poput studije *Kruit i sur.*, našla su jednaku osjetljivost i specifičnost za KL-6 i CA 15-3 u razlikovanju ILD-a s i bez fibroze. Međutim, ovi su rezultati bili temeljeni na raznolikoj grupi ILD pacijenata čija je manja proporcija imala SARD (120). Moguće objašnjenje su ponudili *Horimasu i sur.* koji su 2012. detektirali genetski polimorfizam u MUC1 genu koji utječe na različite razine serumskog KL-6 kod bijelaca i Japanaca. U njemačkoj kohorti, optimalna granična vrijednost za serumske razine KL-6 koja pokazuje najbolju senzitivnost i specifičnost iznosi 659 U/ml, a u japanskoj kohorti, ova vrijednost je niža, 461 U/ml. Razlike u distribuciji rs4072037 genotipova između njemačke i japanske kohorte dovele su do značajno viših graničnih vrijednosti KL-6 za njemačke pacijente. Ove varijante ukazuju da bi se kod standardizacija graničnih vrijednosti KL-6 trebalo uzeti u obzir etničke i genetske razlike te se naglašava potreba za daljnjim ispitivanjima kako bi se utvrdilo može li KL-6 biti korišten kao dijagnostički biomarker u etničkim grupama izvan japanske populacije (115).

CA 15-3 pokazuje najvišu dijagnostičku moć među analiziranim varijablama, s vrlo visokom specifičnošću i dobrim indeksom osjetljivosti. Ovo sugerira da viša razina CA 15-3 značajno korelira s prisutnošću ILD-a.

Vrijednost AUC od 0,807 ukazuje na dobru dijagnostičku moć CA 15-3 za razlučivanje između pozitivnih i negativnih slučajeva ILD. U kontekstu ROC analize, AUC između 0,7 i 0,8 smatra se dobrom, što znači da je ovaj biomarker značajno informativan. Senzitivnost od 71,1 % pokazuje da CA 15-3 uspješno identificira 71,1 % pacijenata s ILD kao pozitivan. Ovo ukazuje na to da većina pacijenata sa ILD-om ima povišene razine ovog biomarkera. Visoka specifičnost od 95,7 % znači da CA 15-3 uspješno isključuje 95,7 % pacijenata koji nemaju ILD. Visoka specifičnost je posebno vrijedna u dijagnostičkom procesu jer smanjuje vjerojatnost lažno pozitivnih rezultata.

Cut-off vrijednost od 24 U/mL predstavlja prag iznad kojeg se smatra da je test pozitivan za ILD. Ova vrijednost je određena kao optimalna točka razlučivanja na temelju

analize ROC krivulje, gdje je odabrana vrijednost koja najbolje balansira između senzitivnosti i specifičnosti.

Usporedba s istraživanjem *Tseng i sur.*, gdje je utvrđena preferirana *cut-off* vrijednost CA 15-3 od 20,12 U/mL, koja pokazuje senzitivnost od 69,57 % i specifičnost od 89,77 %, potvrđuje slične trendove(72). Iako je ova granična vrijednost nešto niža od 24 U/mL, visoka specifičnost sugerira da se CA 15-3 može koristiti u različitim kontekstima ILD-a, pružajući barem sličnu razinu dijagnostičke učinkovitosti.

Sveukupno, rezultati ROC analize za CA 15-3 ukazuju na njegovu dobru dijagnostičku moć kao biomarkera za ILD, s visokom senzitivnošću i specifičnošću, te se CA 15-3 se može koristiti kao pouzdan biomarker u kliničkoj praksi za identifikaciju pacijenata s ILD-om. Više razine CA 15-3 mogu ukazivati na prisutnost i potencijalnu težinu ILD-a, što bi moglo utjecati na strategije liječenja i praćenja pacijenata. S obzirom na ove rezultate, potrebno je dodatno istraživanje kako bi se utvrdila uloga CA 15-3 kao prognostičkog markera, kao i istražiti njegovo korištenje u monitoringu odgovora na terapiju kod pacijenata s ILD.

Unatoč obećavajućim rezultatima, ovo istraživanje imalo je nekoliko ograničenja. Heterogena skupina bolesnika sa različitim SARD dijagnozama te različitom inicijalnom terapijom, uključujući upotrebu steroida i imunosupresiva, mogli su utjecati na razine biomarkera. Pretpostavljajući da imunosupresivi jednako moduliraju KL-6 i CA 15-3, korelacije između tih markera vjerojatno bi ostale nepromijenjene, no potrebne su daljnje studije za istraživanje učinaka liječenja na ove biomarkere. Nadalje, kod bolesnika s dijagnozama „niskog rizika“ (RA, SjS, SLE) izvršili smo HRCT i analizu biomarkera samo kada su bili prisutni simptomi, klinički nalazi, određeni obrasci DLCO i FVC ili ako su rendgenski snimci prsnog koša bili patološki. Ovakva selekcija bolesnika mogla bi preuveličati dijagnostičku vrijednost biomarkera jer nisu uključeni svi pacijenti s novootkrivenom SARD „niskog rizika“. Također, mogućnost zbunjujućih čimbenika kao što su tumori ili bolesti jetre moraju se uzeti u obzir prilikom interpretacije povišenih razina CA 15-3.

6. ZAKLJUČAK

S obzirom na visoke stope incidencije, morbiditeta i mortaliteta povezane s ILD-om kod pacijenata sa SARD, postoji potreba za učinkovitijim metodama probira. Serumski biomarkeri nude atraktivno rješenje zahvaljujući svojoj jednostavnoj primjeni, neinvazivnosti, mogućnosti ponovnog korištenja i isplativosti. U ovom radu istražena je korisnost serumskih biomarkera CA 15-3, KL-6 i LDH u ranom prepoznavanju i dijagnosticiranju SARD-ILD. CA 15-3 s pragom od 24 U/mL pokazao je najvišu osjetljivost i specifičnost (AUC=0,807, specifičnost=95,7%, osjetljivost=71,1%). Biomarker CA 15-3 istakao se kao najvažniji prediktor pozitivnog nalaza ILD-a na HRCT-u, točno klasificirajući 83% slučajeva. Ovi rezultati ukazuju na to da CA 15-3 može biti vrijedan serumski biomarker za probir pacijenata sa SARD-om za ILD u svakodnevnoj kliničkoj praksi. Međutim, potrebna su daljnja istraživanja kako bi se potvrdili ovi nalazi odnosno utvrdila dijagnostička i potencijalna prognostička vrijednost CA 15-3.

7. SAŽETAK

Ciljevi: Cilj ovog istraživanja je utvrditi korisnost biomarkera CA 15-3 u probiru za ILD kod pacijenata sa SARD-om, uključujući definiranje razina CA 15-3 te njihovu povezanost s prisutnošću ili odsutnošću ILD, kao i procjenu njegove specifičnosti i osjetljivosti u otkrivanju SARD-ILD. Sekundarni ciljevi uključuju usporedbu CA 15-3 s drugim biomarkerima, poput KL-6 i LDH, analizu korelacije između razina CA 15-3 i kliničkih pokazatelja ILD-a te rezultata plućne funkcije, te procjenu specifičnosti i osjetljivosti testova plućne funkcije u otkrivanju SARD-ILD.

Ispitanici i postupci: Istraživanje je provedeno kao presječno istraživanje u jednom centru i obuhvatilo je novodijagnosticirane pacijente sa sistemskim bolestima vezivnog tkiva u trogodišnjem periodu. Svi su dijagnosticirani na temelju sveobuhvatne reumatološke procjene, a oni s visokorizičnim SARD-om (SSc, IIM) su bili podvrgnuti HRCT-u i evaluaciji biomarkera, bez obzira na druge nalaze. Pacijenti s drugim SARD-ima (RA, SjS, SLE, MCTD) uključeni su ako su imali simptome ili znakove ILD-a, ili su testovi plućne funkcije ili rendgen sugerirali ILD. Ukupno je uključeno 85 pacijenata, od čega 38 s ILD-om i 47 bez ILD-a. Razine serumskih koncentracija CA 15-3, KL-6 i LDH su izmjerene i korelirane s drugim varijablama povezanim s mogućom prisutnošću ILD-a.

Rezultati: Kod pacijenata s ILD-om nađene su značajno povišene koncentracije serumskih biomarkera CA 15-3, KL-6 i LDH. Uočena je obrnuta korelacija između koncentracije CA 15-3 i testova plućne funkcije, FVC i DLCO. Granica DLCO od 80 % u predikciji ILD-a ima visoku razinu senzitivnosti (86,8%) što je čini korisnom za raniju identifikaciju bolesnika s potencijalnom ILD. Međutim, niska specifičnost (36,2 %) ukazuje na to da od testiranih pacijenata koji nemaju ILD, samo 36,2 % će biti ispravno označeno kao negativni. Kod postavljanja granice DLCO na 60 % došlo je značajnog porasta specifičnosti (87,2 %) što znači da je ova granica korisnija u isključivanju ILD-a kod pacijenata. U bivarijatnoj analizi CA 15-3 pokazuje značajnu povezanost s vjerojatnošću postojanja ILD-a. Porast razine CA 15-3 povećava rizik od ILD-a, i to za svaki U/mL povećanja koncentracije CA 15-3 rizik se povećava za 18%. Uočene su razlike u vrijednostima CA 15-3 kod različitih HRCT uzoraka. Kod saćastih promjena, te kod trakcijskih bronhiektazija i retikulacija značajno su više vrijednosti CA 15-3. CA 15-3 je sa *cut -off* pragom od 24 U/mL pokazao je najvišu osjetljivost i specifičnost (AUC=0.807, specifičnost=95.7 %, osjetljivost=71.1 %). Među testiranim biomarkerima CA 15-3 se pokazao kao najznačajniji prediktor zahvaćanja plućnog intersticija na HRCT-u, točno klasificirajući 83 % slučajeva.

Zaključci: Učinkoviti probir i rano otkrivanje intersticijske bolesti pluća kod oboljelih od sistemskih bolesti vezivnog tkiva temelj su za poboljšanje ishoda, odnosno smanjenje morbiditeta i mortaliteta. Ovi rezultati sugeriraju da CA 15-3 pokazuje potencijal kao vrijedan serumski biomarker za probir pacijenata na SARD-ILD u rutinskoj kliničkoj praksi. Upotreba biomarkera CA 15-3 može značajno poboljšati točnost ranog otkrivanja SARD-ILD u usporedbi s trenutno korištenim metodama probira, kao što su standardni klinički nalazi i testovi plućne funkcije.

8. LAIČKI SAŽETAK NA HRVATSKOM JEZIKU

Učinkovito otkrivanje intersticijske bolesti pluća kod pacijenata sa sistemskim bolestima vezivnog tkiva kao što su reumatoidni artritis, Sjögrenov sindrom, skleroderma, sistemski eritemski lupus ili miozitis, može značajno poboljšati zdravstvene ishode i smanjiti ozbiljnost bolesti. U bolesnika s različitim plućnim bolestima pronađene su povišene koncentracije određenih serumskih biomarkera. Većina tih biomarkera, kao primjerice KL-6, još uvijek nisu dostupni u svakodnevnoj kliničkoj praksi. Zanimljivo je da tumorski marker CA 15-3, koji je široko dostupan u svrhu otkrivanja praćenja raka dojke, prepoznaje isti glikoprotein kao i KL-6.

Cilj ovog istraživanja bio je procijeniti koliko je CA 15-3 koristan u otkrivanju intersticijske bolesti pluća kod pacijenata kojima je dijagnosticirana sistemska bolest vezivnog tkiva.

Svim pacijentima učinjen je probir na bolest pluća koji je uključivao klinički pregled, spirometriju i CO difuziju, RTG snimke pluća i visokorezolucijski CT prsnog koša. Analizirane su razine serumskih biomarkera CA 15-3, KL-6 i LDH i nađeno je da su kod pacijenata sa intersticijskom bolešću razine biomarkera bile znatno više. Među testiranim biomarkerima CA 15-3 imao je najbolju osjetljivost i specifičnost, što znači da može precizno otkrivati tu bolest.

Ovi rezultati sugeriraju da CA 15-3 može biti koristan alat za rutinsko otkrivanje intersticijske bolesti pluća kod pacijenata sa sistemskim bolestima, poboljšavajući način na koji se bolest rano dijagnosticira u odnosu na trenutno korištene metode probira.

9. SUMMARY

Title: THE ROLE OF SERUM BIOMARKER CA 15-3 IN SCREENING FOR INTERSTITIAL LUNG DISEASE IN SYSTEMIC CONNECTIVE TISSUE DISEASES

Objectives: The aim of this study is to evaluate the usefulness of the biomarker CA 15-3 as a screening tool for ILD in patients with SARD, including defining CA 15-3 levels and their association with the presence or absence of ILD, as well as assessing its sensitivity and specificity in detecting SARD-ILD. Secondary objectives include comparing CA 15-3 with other biomarkers such as KL-6 and LDH, analyzing the correlation between CA 15-3 levels and clinical indicators of ILD and lung function results, and evaluating the accuracy of lung function tests in identifying SARD-ILD.

Subjects and Methods: This cross-sectional study was conducted at a single center and included newly diagnosed patients with connective tissue diseases over a three-year period. All patients were diagnosed SARD based on comprehensive rheumatological assessment, with ILD high-risk patients (SSc, IIM) undergoing HRCT and biomarker evaluation regardless of other findings. Patients with other SARDs (RA, SjS, SLE, MCTD) were included if they exhibited ILD symptoms or signs, or if lung function tests or X-ray suggested ILD. A total of 85 patients were enrolled, with 38 having ILD and 47 without. Serum levels of CA 15-3, KL-6, and LDH were measured and correlated with other variables related to potential ILD presence.

Results: Patients with ILD showed significantly elevated serum levels of CA 15-3, KL-6, and LDH. An inverse correlation was observed between CA 15-3 levels and pulmonary function tests, FVC, and DLCO. A DLCO cutoff of 80 % demonstrated high sensitivity (86.8%) for predicting ILD, making it useful for early detection of potential cases. However, its low specificity indicates that only 36.2% of patients without ILD are correctly identified as negative. Increasing the DLCO threshold to 60 % raised specificity to 87.2 %, making it more effective for excluding ILD. Multivariate analysis showed that elevated CA 15-3 significantly increased the likelihood of ILD, with each U/mL increase associated with an 18% higher risk. Differences in CA 15-3 levels were noted among various HRCT patterns; higher values were observed in honeycombing, traction bronchiectasis, and reticulation. CA 15-3 with a cutoff of 24 U/mL exhibited the highest sensitivity and specificity (AUC = 0.807, specificity = 95.7%, sensitivity = 71.1%). Among the biomarkers tested, CA 15-3 was the most significant predictor of lung interstitial involvement on HRCT, correctly classifying 83 % of cases.

Conclusions: Effective screening and early detection of interstitial lung disease in patients with connective tissue diseases are essential for improving outcomes and reducing morbidity and mortality. These findings suggest that CA 15-3 has potential as a valuable serum biomarker for screening SARD-ILD in routine clinical practice. The use of CA 15-3 could significantly improve the accuracy of early detection compared to currently used screening methods, such as clinical assessments and lung function tests.

10.LAY SUMMARY

Effective detection of interstitial lung disease in patients with systemic autoimmune rheumatic disease such as rheumatoid arthritis, Sjögren's syndrome, scleroderma, systemic lupus erythematosus, or myositis can significantly improve health outcomes and reduce disease severity. Elevated serum levels of certain biomarkers have been found in patients with various lung diseases. Most of these biomarkers, such as KL-6, are still not routinely available in everyday clinical practice. Interestingly, the tumor marker CA 15-3, which is widely used for breast cancer monitoring, recognizes the same glycoprotein as KL-6.

The aim of this study was to evaluate how useful CA 15-3 is in detecting interstitial lung disease in patients diagnosed with systemic connective tissue diseases. All patients underwent a lung screening that included clinical examination, spirometry, diffusing capacity for carbon monoxide, chest X-ray, and high-resolution CT of the lungs. Serum levels of CA 15-3, KL-6, and LDH were measured, and it was found that levels of these biomarkers were significantly higher in patients with interstitial lung disease. Among the tested biomarkers, CA 15-3 demonstrated the best sensitivity and specificity, indicating it can accurately detect this disease.

These results suggest that CA 15-3 could be a useful tool for routine screening of interstitial lung disease in patients with systemic connective tissue diseases, improving early diagnosis compared to currently used screening methods.

11.LITERATURA

1. Raghu G, Remy-Jardin M, Richeldi L, Thomson CC, Inoue Y, Johkoh T, i sur. Idiopathic pulmonary fibrosis (an update) and progressive pulmonary fibrosis in adults: An official ATS/ERS/JRS/ALAT clinical practice guideline. *Am J Respir Crit Care Med*. 2022;205(9):e18-e47.
2. Althobiani MA, Russell AM, Jacob J, Ranjan Y, Folarin AA, Hurst JR, i sur. Interstitial lung disease: a review of classification, etiology, epidemiology, clinical diagnosis, pharmacological and non-pharmacological treatment. *Front Med (Lausanne)*. 2024;11:1296890.
3. Travis WD, Costabel U, Hansell DM, King TE, Jr., Lynch DA, Nicholson AG, i sur. An official American Thoracic Society/European Respiratory Society statement: Update of the international multidisciplinary classification of the idiopathic interstitial pneumonias. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013;188(6):733-48.
4. Raghu G, Remy-Jardin M, Myers JL, Richeldi L, Ryerson CJ, Lederer DJ, i sur. Diagnosis of idiopathic pulmonary fibrosis. An official ATS/ERS/JRS/ALAT clinical practice guideline. *Am J Respir Crit Care Med*. 2018;198(5):e44-e68.
5. Judson MA. The diagnosis of sarcoidosis. *Curr Opin Pulm Med*. 2019;25(5):484-96.
6. Yoo H, Hino T, Hwang J, Franks TJ, Han J, Im Y, i sur. Connective tissue disease-related interstitial lung disease (CTD-ILD) and interstitial lung abnormality (ILA): Evolving concept of CT findings, pathology and management. *Eur J Radiol Open*. 2022;9:100419.
7. Roubille C, Haraoui B. Interstitial lung diseases induced or exacerbated by DMARDS and biologic agents in rheumatoid arthritis: a systematic literature review. *Semin Arthritis Rheum*. 2014;43(5):613-26.
8. Cottin V. Idiopathic interstitial pneumonias with connective tissue diseases features: A review. *Respirology*. 2016;21(2):245-58.
9. Solomon JJ, Fischer A. Connective tissue disease-associated interstitial lung disease: a focused review. *J Intensive Care Med*. 2015;30(7):392-400.
10. Venetsanopoulou AI, Alamanos Y, Voulgari PV, Drosos AA. Epidemiology and risk factors for rheumatoid arthritis development. *Mediterr J Rheumatol*. 2023;34(4):404-13.
11. Bergamasco A, Hartmann N, Wallace L, Verpillat P. Epidemiology of systemic sclerosis and systemic sclerosis-associated interstitial lung disease. *Clin Epidemiol*. 2019;11:257-73.
12. Khoo T, Lilleker JB, Thong BY, Leclair V, Lamb JA, Chinoy H. Epidemiology of the idiopathic inflammatory myopathies. *Nat Rev Rheumatol*. 2023;19(11):695-712.

13. Gunnarsson R, Molberg O, Gilboe IM, Gran JT, Group PS. The prevalence and incidence of mixed connective tissue disease: a national multicentre survey of Norwegian patients. *Ann Rheum Dis.* 2011;70(6):1047-51.
14. La Rocca G, Ferro F, Sambataro G, Elefante E, Fonzetti S, Fulvio G, i sur. Primary-Sjogren's-syndrome-related interstitial lung disease: a clinical review discussing current controversies. *J Clin Med.* 2023;12(10).
15. Richter P, Cardoneanu A, Dima N, Bratoiu I, Rezus C, Burlui AM, i sur. Interstitial lung disease in systemic lupus erythematosus and systemic sclerosis: How can we manage the challenge? *Int J Mol Sci.* 2023;24(11).
16. Kornum JB, Christensen S, Grijota M, Pedersen L, Wogelius P, Beiderbeck A, i sur. The incidence of interstitial lung disease 1995-2005: a Danish nationwide population-based study. *BMC Pulm Med.* 2008;8:24.
17. Hu Y, Wang LS, Wei YR, Du SS, Du YK, He X, i sur. Clinical characteristics of connective tissue disease-associated interstitial lung disease in 1,044 Chinese patients. *Chest.* 2016;149(1):201-8.
18. Su R, Bennett M, Jacobs S, Hunter T, Bailey C, Krishnan E, i sur. An analysis of connective tissue disease-associated interstitial lung disease at a US tertiary care center: better survival in patients with systemic sclerosis. *J Rheumatol.* 2011;38(4):693-701.
19. Gaubitz M. Epidemiology of connective tissue disorders. *Rheumatology (Oxford).* 2006;45 Suppl 3:iii3-4.
20. Joy GM, Arbiv OA, Wong CK, Lok SD, Adderley NA, Dobosz KM, i sur. Prevalence, imaging patterns and risk factors of interstitial lung disease in connective tissue disease: a systematic review and meta-analysis. *Eur Respir Rev.* 2023;32(167).
21. Olson AL, Swigris JJ, Sprunger DB, Fischer A, Fernandez-Perez ER, Solomon J, i sur. Rheumatoid arthritis-interstitial lung disease-associated mortality. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011;183(3):372-8.
22. Doyle TJ, Hunninghake GM, Rosas IO. Subclinical interstitial lung disease: why you should care. *Am J Respir Crit Care Med.* 2012;185(11):1147-53.
23. Koo SM, Uh ST. Treatment of connective tissue disease-associated interstitial lung disease: the pulmonologist's point of view. *Korean J Intern Med.* 2017;32(4):600-10.
24. Jee AS, Adelstein S, Bleasel J, Keir GJ, Nguyen M, Sahhar J, i sur. Role of autoantibodies in the diagnosis of connective-tissue disease ILD (CTD-ILD) and interstitial pneumonia with autoimmune features (IPAF). *J Clin Med.* 2017;6(5).

25. Demoruelle MK, Wilson TM, Deane KD. Lung inflammation in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Immunol Rev.* 2020;294(1):124-32.
26. Khan T, Jose RJ, Renzoni EA, Mouyis M. A closer look at the role of anti-CCP antibodies in the pathogenesis of rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease and bronchiectasis. *Rheumatol Ther.* 2021;8(4):1463-75.
27. Johnson SR, Bernstein EJ, Bolster MB, Chung JH, Danoff SK, George MD, i sur. 2023 American College of Rheumatology (ACR)/American College of Chest Physicians (CHEST) guideline for the treatment of interstitial lung disease in people with systemic autoimmune rheumatic diseases. *Arthritis Rheumatol.* 2024;76(8):1182-200.
28. Juge PA, Lee JS, Ebstein E, Furukawa H, Dobrinskikh E, Gazal S, i sur. MUC5B Promoter variant and rheumatoid arthritis with interstitial lung disease. *N Engl J Med.* 2018;379(23):2209-19.
29. Walker UA, Tyndall A, Czirjak L, Denton C, Farge-Bancel D, Kowal-Bielecka O, i sur. Clinical risk assessment of organ manifestations in systemic sclerosis: a report from the EULAR scleroderma trials and research group database. *Ann Rheum Dis.* 2007;66(6):754-63.
30. Steen VD, Lucas M, Fertig N, Medsger TA, Jr. Pulmonary arterial hypertension and severe pulmonary fibrosis in systemic sclerosis patients with a nucleolar antibody. *J Rheumatol.* 2007;34(11):2230-5.
31. Satoh M, Tanaka S, Ceribelli A, Calise SJ, Chan EK. A comprehensive overview on myositis-specific antibodies: new and old biomarkers in idiopathic inflammatory myopathy. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2017;52(1):1-19.
32. Solomon J, Swigris JJ, Brown KK. Myositis-related interstitial lung disease and antisynthetase syndrome. *J Bras Pneumol.* 2011;37(1):100-9.
33. Rothwell S, Cooper RG, Lundberg IE, Miller FW, Gregersen PK, Bowes J, i sur. Dense genotyping of immune-related loci in idiopathic inflammatory myopathies confirms HLA alleles as the strongest genetic risk factor and suggests different genetic background for major clinical subgroups. *Ann Rheum Dis.* 2016;75(8):1558-66.
34. Lee JK, Ahn Y, Noh HN, Lee SM, Yoo B, Lee CK, i sur. Clinical effect of progressive pulmonary fibrosis on patients with connective tissue disease-associated interstitial lung disease: a single center retrospective cohort study. *Clin Exp Med.* 2023;23(8):4797-807.
35. Wells AU. Pulmonary function tests in connective tissue disease. *Semin Respir Crit Care Med.* 2007;28(4):379-88.

36. Lynch DA, Sverzellati N, Travis WD, Colby TV, Inoue Y, Nicholson AG, i sur. Diagnostic criteria for idiopathic pulmonary fibrosis - Authors' reply. *Lancet Respir Med.* 2018;6(2):e7.
37. Torres P, Rabahi MF, Moreira M, Escuissato DL, Meirelles GSP, Marchiori E. Importance of chest HRCT in the diagnostic evaluation of fibrosing interstitial lung diseases. *J Bras Pneumol.* 2021;47(3):e20200096.
38. Brenner DJ, Hall EJ. Computed tomography-an increasing source of radiation exposure. *N Engl J Med.* 2007;357(22):2277-84.
39. Hoffmann-Vold AM, Maher TM, Distler O. European consensus statements for interstitial lung disease in systemic sclerosis - Authors' reply. *Lancet Rheumatol.* 2020;2(6):e319-e20.
40. Kuwana M, Bando M, Kawahito Y, Sato S, Suda T, Kondoh Y, i sur. Identification and management of connective tissue disease-associated interstitial lung disease: evidence-based Japanese consensus statements. *Expert Rev Respir Med.* 2023;17(1):71-80.
41. Radic M, Novak S, Baresic M, Hecimovic A, Perkovic D, Tekavec-Trkanjec J, i sur. Delphi-based consensus on interstitial lung disease screening in patients with connective tissue diseases (Croatian national-based study). *Biomedicines.* 2022;10(12).
42. Distler O, Assassi S, Cottin V, Cutolo M, Danoff SK, Denton CP, i sur. Predictors of progression in systemic sclerosis patients with interstitial lung disease. *Eur Respir J.* 2020;55(5).
43. Hoffmann-Vold AM, Fretheim H, Meier C, Maurer B. Circulating biomarkers of systemic sclerosis - interstitial lung disease. *J Scleroderma Relat Disord.* 2020;5(2 Suppl):41-7.
44. Panagopoulos P, Goules A, Hoffmann-Vold AM, Matteson EL, Tzioufas A. Natural history and screening of interstitial lung disease in systemic autoimmune rheumatic disorders. *Ther Adv Musculoskelet Dis.* 2021;13:1759720x211037519.
45. Strimbu K, Tavel JA. What are biomarkers? *Curr Opin HIV AIDS.* 2010;5(6):463-6.
46. Bao Y, Zhang W, Shi D, Bai W, He D, Wang D. Correlation between serum tumor marker levels and connective tissue disease-related interstitial lung disease. *Int J Gen Med.* 2021;14:2553-60.
47. Ichiyasu H, Ichikado K, Yamashita A, Iyonaga K, Sakamoto O, Suga M, i sur. Pneumocyte biomarkers KL-6 and surfactant protein D reflect the distinct findings of high-resolution computed tomography in nonspecific interstitial pneumonia. *Respiration.* 2012;83(3):190-7.

48. Maher TM, Nambiar AM, Wells AU. The role of precision medicine in interstitial lung disease. *Eur Respir J*. 2022;60(3).
49. Bonella F, Costabel U. Biomarkers in connective tissue disease-associated interstitial lung disease. *Semin Respir Crit Care Med*. 2014;35(2):181-200.
50. Xue M, Guo Z, Cai C, Sun B, Wang H. Evaluation of the diagnostic efficacies of serological markers KL-6, SP-A, SP-D, CCL2, and CXCL13 in idiopathic interstitial pneumonia. *Respiration*. 2019;98(6):534-45.
51. Hu S, Ye J, Guo Q, Zou S, Zhang W, Zhang D, i sur. Serum lactate dehydrogenase is associated with impaired lung function: NHANES 2011-2012. *PLoS One*. 2023;18(2):e0281203.
52. Wu Y, Lu C, Pan N, Zhang M, An Y, Xu M, i sur. Serum lactate dehydrogenase activities as systems biomarkers for 48 types of human diseases. *Sci Rep*. 2021;11(1):12997.
53. Szekanecz E, Szucs G, Szekanecz Z, Tarr T, Antal-Szalmas P, Szamosi S, i sur. Tumor-associated antigens in systemic sclerosis and systemic lupus erythematosus: associations with organ manifestations, immunolaboratory markers and disease activity indices. *J Autoimmun*. 2008;31(4):372-6.
54. Zheng M, Lou A, Zhang H, Zhu S, Yang M, Lai W. Serum KL-6, CA19-9, CA125 and CEA are diagnostic biomarkers for rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease in the chinese population. *Rheumatol Ther*. 2021;8(1):517-27.
55. Kohno N. Clinical usefulness of KL-6 as a serum marker of idiopathic interstitial pneumonia. *Nihon Kyobu Shikkan Gakkai Zasshi*. 1996;34 Suppl:186-9.
56. Kohno N. Serum marker KL-6/MUC1 for the diagnosis and management of interstitial pneumonitis. *J Med Invest*. 1999;46(3-4):151-8.
57. Kohno N, Kyoizumi S, Awaya Y, Fukuhara H, Yamakido M, Akiyama M. New serum indicator of interstitial pneumonitis activity. Sialylated carbohydrate antigen KL-6. *Chest*. 1989;96(1):68-73.
58. Okada M, Suzuki K, Nakanishi T, Nakashima M. Serum levels of KL-6 are positively correlated with those of CA15-3 in patients with interstitial pneumonia associated with collagen diseases. *Respirology*. 2006;11(4):509-10.
59. Guo WL, Zhou ZQ, Chen L, Su ZQ, Zhong CH, Chen Y, i sur. Serum KL-6 in pulmonary alveolar proteinosis: China compared historically with Germany and Japan. *J Thorac Dis*. 2017;9(2):287-95.

60. Elhai M, Avouac J, Allanore Y. Circulating lung biomarkers in idiopathic lung fibrosis and interstitial lung diseases associated with connective tissue diseases: Where do we stand? *Semin Arthritis Rheum.* 2020;50(3):480-91.
61. Ros-Lucas JA, Pascual-Figal DA, Noguera-Velasco JA, Hernandez-Vicente A, Cebreiros-Lopez I, Arnaldos-Carrillo M, i sur. CA 15-3 prognostic biomarker in SARS-CoV-2 pneumonia. *Sci Rep.* 2022;12(1):6738.
62. Zheng P, Liu X, Huang H, Guo Z, Wu G, Hu H, i sur. Diagnostic value of KL-6 in idiopathic interstitial pneumonia. *J Thorac Dis.* 2018;10(8):4724-32.
63. Ishikawa N, Hattori N, Yokoyama A, Kohno N. Utility of KL-6/MUC1 in the clinical management of interstitial lung diseases. *Respir Investig.* 2012;50(1):3-13.
64. Cho EJ, Hong J, Hyun J, Lee W, Kim HS, Chun S, i sur. Usefulness and performance evaluation of serum KL-6 and SP-A assays in healthy individuals and patients with interstitial lung disease. *Clin Biochem.* 2023;118:110609.
65. Hamai K, Iwamoto H, Ishikawa N, Horimasu Y, Masuda T, Miyamoto S, i sur. Comparative study of circulating MMP-7, CCL18, KL-6, SP-A, and SP-D as disease markers of idiopathic pulmonary fibrosis. *Dis Markers.* 2016;2016:4759040.
66. Hu Y, Wang LS, Jin YP, Du SS, Du YK, He X, i sur. Serum Krebs von den Lungen-6 level as a diagnostic biomarker for interstitial lung disease in Chinese patients. *Clin Respir J.* 2017;11(3):337-45.
67. Zhang H, Chen L, Wu L, Huang J, Li H, Wang X, i sur. Diagnostic and prognostic predictive values of circulating KL-6 for interstitial lung disease: A PRISMA-compliant systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* 2020;99(16):e19493.
68. Qin H, Xu XP, Zou J, Zhao XJ, Wu HW, Zha QF, i sur. Krebs von den Lungen-6 associated with chest high-resolution CT score in evaluation severity of patients with interstitial lung disease. *Pulmonology.* 2019;25(3):143-8.
69. Zhu C, Zhao YB, Kong LF, Li ZH, Kang J. The expression and clinical role of KL-6 in serum and BALF of patients with different diffuse interstitial lung diseases. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi.* 2016;39(2):93-7.
70. Elhai M, Hoffmann-Vold AM, Avouac J, Pezet S, Cauvet A, Leblond A, i sur. Performance of candidate serum biomarkers for systemic sclerosis-associated interstitial lung disease. *Arthritis Rheumatol.* 2019;71(6):972-82.
71. Cho EJ, Park KJ, Ko DH, Koo HJ, Lee SM, Song JW, i sur. Analytical and clinical performance of the nanopia krebs von den lungen 6 assay in korean patients with interstitial lung diseases. *Ann Lab Med.* 2019;39(3):245-51.

72. Tseng CW, Wang KL, Li CY. Comparative accuracy of CA-153 and KL-6 as diagnostic and prognostic biomarkers for interstitial lung disease. *Clin Chim Acta*. 2025;565:119980.
73. Chen F, Lu X, Shu X, Peng Q, Tian X, Wang G. Predictive value of serum markers for the development of interstitial lung disease in patients with polymyositis and dermatomyositis: a comparative and prospective study. *Intern Med J*. 2015;45(6):641-7.
74. Hant FN, Ludwicka-Bradley A, Wang HJ, Li N, Elashoff R, Tashkin DP, i sur. Surfactant protein D and KL-6 as serum biomarkers of interstitial lung disease in patients with scleroderma. *J Rheumatol*. 2009;36(4):773-80.
75. Kinoshita F, Hamano H, Harada H, Kinoshita T, Igishi T, Hagino H, i sur. Role of KL-6 in evaluating the disease severity of rheumatoid lung disease: comparison with HRCT. *Respir Med*. 2004;98(11):1131-7.
76. Kobayashi I, Ono S, Kawamura N, Okano M, Miyazawa K, Shibuya H, i sur. KL-6 is a potential marker for interstitial lung disease associated with juvenile dermatomyositis. *J Pediatr*. 2001;138(2):274-6.
77. Kobayashi J, Kitamura S. KL-6: a serum marker for interstitial pneumonia. *Chest*. 1995;108(2):311-5.
78. Ohshimo S, Ishikawa N, Horimasu Y, Hattori N, Hirohashi N, Tanigawa K, i sur. Baseline KL-6 predicts increased risk for acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis. *Respir Med*. 2014;108(7):1031-9.
79. Sato T, Teramukai S, Kondo H, Watanabe A, Ebina M, Kishi K, i sur. Impact and predictors of acute exacerbation of interstitial lung diseases after pulmonary resection for lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2014;147(5):1604-11 e3.
80. Doishita S, Inokuma S, Asashima H, Nakachi S, Matsuo Y, Rokutanda R, i sur. Serum KL-6 level as an indicator of active or inactive interstitial pneumonitis associated with connective tissue diseases. *Intern Med*. 2011;50(23):2889-92.
81. Jehn LB, Costabel U, Boerner E, Walscher J, Theegarten D, Taube C, i sur. Serum KL-6 as a biomarker of progression at any time in fibrotic interstitial lung disease. *J Clin Med*. 2023;12(3).
82. Zhang T, Shen P, Duan C, Gao L. KL-6 as an immunological biomarker predicts the severity, progression, acute exacerbation, and poor outcomes of interstitial lung disease: a systematic review and meta-analysis. *Front Immunol*. 2021;12:745233.

83. Lee JS, Lee EY, Ha YJ, Kang EH, Lee YJ, Song YW. Serum KL-6 levels reflect the severity of interstitial lung disease associated with connective tissue disease. *Arthritis Res Ther*. 2019;21(1):58.
84. Sokai A, Tanizawa K, Handa T, Kanatani K, Kubo T, Ikezoe K, i sur. Importance of serial changes in biomarkers in idiopathic pulmonary fibrosis. *ERJ Open Res*. 2017;3(3).
85. Wakamatsu K, Nagata N, Kumazoe H, Oda K, Ishimoto H, Yoshimi M, i sur. Prognostic value of serial serum KL-6 measurements in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Respir Investig*. 2017;55(1):16-23.
86. Guiot J, Bondue B, Henket M, Corhay JL, Louis R. Raised serum levels of IGFBP-1 and IGFBP-2 in idiopathic pulmonary fibrosis. *BMC Pulm Med*. 2016;16(1):86.
87. Greco M, Suppressa S, Lazzari RA, Sicuro F, Catanese C, Lobreglio G. sFlt-1 and CA 15.3 are indicators of endothelial damage and pulmonary fibrosis in SARS-CoV-2 infection. *Sci Rep*. 2021;11(1):19979.
88. Harigai M. [Significance of serum KL-6 in diagnosis of interstitial pneumonia complicated with collagen disease]. *Nihon Naika Gakkai Zasshi*. 2003;92(10):1985-9.
89. Hu C, Wu C, Yang E, Huang H, Xu D, Hou Y, i sur. Serum KL-6 is associated with the severity of interstitial lung disease in Chinese patients with polymyositis and dermatomyositis. *Clin Rheumatol*. 2019;38(8):2181-7.
90. Nakajima H, Harigai M, Hara M, Hakoda M, Tokuda H, Sakai F, i sur. KL-6 as a novel serum marker for interstitial pneumonia associated with collagen diseases. *J Rheumatol*. 2000;27(5):1164-70.
91. Oguz EO, Kucuksahin O, Turgay M, Yildizgoren MT, Ates A, Demir N, i sur. Association of serum KL-6 levels with interstitial lung disease in patients with connective tissue disease: a cross-sectional study. *Clin Rheumatol*. 2016;35(3):663-6.
92. Wang Y, Chen S, Lin J, Xie X, Hu S, Lin Q, i sur. Lung ultrasound B-lines and serum KL-6 correlate with the severity of idiopathic inflammatory myositis-associated interstitial lung disease. *Rheumatology (Oxford)*. 2020;59(8):2024-9.
93. Wu X, Wu LJ, Luo CN, Shi YM, Zou JM, Meng XY. The diagnostic value of serum KL-6 in connective tissue disease associated interstitial lung disease. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 2019;99(40):3172-5.
94. Watanabe S, Kase K, Saeki K, Ohkura N, Murata A, Waseda Y, i sur. Kinetic changes in serum KL-6 levels predict disease progression in patients with systemic sclerosis-associated interstitial lung disease. *Respir Med*. 2022;191:106689.

95. Kennedy B, Branagan P, Moloney F, Haroon M, O'Connell OJ, O'Connor TM, i sur. Biomarkers to identify ILD and predict lung function decline in scleroderma lung disease or idiopathic pulmonary fibrosis. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis.* 2015;32(3):228-36.
96. Salazar GA, Kuwana M, Wu M, Estrada YMRM, Ying J, Charles J, et al. i sur. KL-6 But Not CCL-18 Is a predictor of early progression in systemic sclerosis-related interstitial lung disease. *J Rheumatol.* 2018;45(8):1153-8.
97. Benyamine A, Heim X, Resseguier N, Bertin D, Gomez C, Ebbo M, i sur. Elevated serum Krebs von den Lungen-6 in systemic sclerosis: a marker of lung fibrosis and severity of the disease. *Rheumatol Int.* 2018;38(5):813-9.
98. Yanaba K, Hasegawa M, Takehara K, Sato S. Comparative study of serum surfactant protein-D and KL-6 concentrations in patients with systemic sclerosis as markers for monitoring the activity of pulmonary fibrosis. *J Rheumatol.* 2004;31(6):1112-20.
99. Chiu YH, Chu CC, Lu CC, Liu FC, Tang SE, Chu SJ, i sur. KL-6 as a Biomarker of interstitial lung disease development in patients with Sjogren syndrome: a retrospective case-control study. *J Inflamm Res.* 2022;15:2255-62.
100. Weng L, Chen Y, Liang T, Lin Y, Liu D, Yu C, i sur. Biomarkers of interstitial lung disease associated with primary Sjögren's syndrome. *Eur J Med Res.* 2022;27(1):199.
101. Oda K, Kotani T, Takeuchi T, Ishida T, Shoda T, Isoda K, i sur. Chemokine profiles of interstitial pneumonia in patients with dermatomyositis: a case control study. *Sci Rep.* 2017;7(1):1635.
102. Fathi M, Barbasso Helmers S, Lundberg IE. KL-6: a serological biomarker for interstitial lung disease in patients with polymyositis and dermatomyositis. *J Intern Med.* 2012;271(6):589-97.
103. Yamakawa H, Hagiwara E, Kitamura H, Yamanaka Y, Ikeda S, Sekine A, i sur. Serum KL-6 and surfactant protein-D as monitoring and predictive markers of interstitial lung disease in patients with systemic sclerosis and mixed connective tissue disease. *J Thorac Dis.* 2017;9(2):362-71.
104. Honda K, Okada F, Ando Y, Mori H, Umeki K, Ishii H, i sur. Comparison of pulmonary thin section CT findings and serum KL-6 levels in patients with sarcoidosis. *Br J Radiol.* 2011;84(999):229-35.
105. Florescu A, Gherghina FL, Muşetescu AE, Pădureanu V, Roşu A, Florescu MM, i sur. Novel Biomarkers, Diagnostic and Therapeutic Approach in Rheumatoid Arthritis Interstitial Lung Disease-A Narrative Review. *Biomedicines.* 2022;10(6).

106. Kim HC, Choi KH, Jacob J, Song JW. Prognostic role of blood KL-6 in rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease. *PLoS One*. 2020;15(3):e0229997.
107. Kim YJ, Choe J, Moon SJ, Song JW. Blood KL-6 predicts prognosis in primary Sjogren's syndrome-associated interstitial lung disease. *Sci Rep*. 2022;12(1):5343.
108. Tanaka N, Nishimura K, Waki D, Kadoba K, Murabe H, Yokota T. Annual variation rate of KL-6 for predicting acute exacerbation in patients with rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease. *Mod Rheumatol*. 2021;31(6):1100-6.
109. Ye Y, Fu Q, Wang R, Guo Q, Bao C. Serum KL-6 level is a prognostic marker in patients with anti-MDA5 antibody-positive dermatomyositis associated with interstitial lung disease. *J Clin Lab Anal*. 2019;33(8):e22978.
110. El-Beheidy R, Domouky AM, Zidan H, Amer YA. Serum KL-6 as predictive and prognostic marker of interstitial lung disease in childhood connective tissue diseases: a pilot study. *Reumatismo*. 2021;73(3).
111. Kilinc AA, Arslan A, Yildiz M, Kucur M, Adrovic A, Barut K, i sur. Serum KL-6 level as a biomarker of interstitial lung disease in childhood connective tissue diseases: a pilot study. *Rheumatol Int*. 2020;40(10):1701-6.
112. Wang C, Hou J, Lai J, Tao R, Yang Y, Hao W, i sur. Correlation between CT Score and KL-6: A Severity Assessing in Juvenile Dermatomyositis Associated Interstitial Lung Disease. *Can Respir J*. 2023;2023:5607473.
113. Fukaya S, Oshima H, Kato K, Komatsu Y, Matsumura H, Ishii K, i sur. KL-6 as a novel marker for activities of interstitial pneumonia in connective tissue diseases. *Rheumatol Int*. 2000;19(6):223-5.
114. He Q, Tang Y, Huang J, Rao Y, Lu Y. The value of KL-6 in the diagnosis and assessment of interstitial lung disease. *Am J Transl Res*. 2021;13(8):9216-23.
115. Horimasu Y, Hattori N, Ishikawa N, Kawase S, Tanaka S, Yoshioka K, i sur. Different MUC1 gene polymorphisms in German and Japanese ethnicities affect serum KL-6 levels. *Respir Med*. 2012;106(12):1756-64.
116. Lim CH, Tseng CW, Lin CT, Huang WN, Chen YH, Chen YM, i sur. The clinical application of tumor markers in the screening of malignancies and interstitial lung disease of dermatomyositis/polymyositis patients: A retrospective study. *SAGE Open Med*. 2018;6:2050312118781895.
117. Wong RC, Klingberg S, Wilson R. CA15-3 and cancer associated serum antigen assays are alternatives to the KL-6 assay for measuring serum MUC-1 levels in patients with

- interstitial lung disease associated with polymyositis/dermatomyositis. *J Rheumatol.* 2002;29(9):2021-2; author reply 2.
- 118.Moll SA, Wiertz IA, Vorselaars AD, Zanen P, Ruven HJ, van Moorsel CH, i sur. Serum biomarker CA 15-3 as predictor of response to antifibrotic treatment and survival in idiopathic pulmonary fibrosis. *Biomark Med.* 2020;14(11):997-1007.
 - 119.Duffy MJ. Biochemical markers in breast cancer: which ones are clinically useful? *Clin Biochem.* 2001;34(5):347-52.
 - 120.Kruit A, Gerritsen WB, Pot N, Grutters JC, van den Bosch JM, Ruven HJ. CA 15-3 as an alternative marker for KL-6 in fibrotic lung diseases. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis.* 2010;27(2):138-46.
 - 121.De Luca G, Bosello SL, Berardi G, Rucco M, Canestrari G, Correra M, i sur. Tumour-associated antigens in systemic sclerosis patients with interstitial lung disease: association with lung involvement and cancer risk. *Rheumatology (Oxford).* 2015;54(11):1991-9.
 - 122.Gomes PS, Soares MR, Marchenta M, Meirelles GSP, Ferreira RG, Botelho AB, i sur. Carbohydrate antigen 15-3 as a marker of disease severity in patients with chronic hypersensitivity pneumonitis. *J Bras Pneumol.* 2021;47(1):e20200589.
 - 123.Moll SA, Wiertz IA, Vorselaars ADM, Ruven HJT, van Moorsel CHM, Grutters JC. Change in serum biomarker ca 15-3 as an early predictor of response to treatment and survival in hypersensitivity pneumonitis. *Lung.* 2020;198(2):385-93.
 - 124.Lestan Ramovs Z, Sodin-Semrl S, Lakota K, Cucnik S, Manevski D, Zbacnik R, i sur. Correlation of the high-resolution computed tomography patterns of intrathoracic sarcoidosis with serum levels of SAA, CA 15.3, SP-D, and other biomarkers of interstitial lung disease. *Int J Mol Sci.* 2023;24(13).
 - 125.Ricci A, Mariotta S, Bronzetti E, Bruno P, Vismara L, De Dominicis C, i sur. Serum CA 15-3 is increased in pulmonary fibrosis. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis.* 2009;26(1):54-63.
 - 126.Celeste S, Santaniello A, Caronni M, Franchi J, Severino A, Scorza R, i sur. Carbohydrate antigen 15.3 as a serum biomarker of interstitial lung disease in systemic sclerosis patients. *Eur J Intern Med.* 2013;24(7):671-6.
 - 127.Shi L, Han XL, Guo HX, Wang J, Tang YP, Gao C, i sur. Increases in tumor markers are associated with primary Sjögren's syndrome-associated interstitial lung disease. *Ther Adv Chronic Dis.* 2020;11:2040622320944802.

- 128.Sargin G, Kose R, Senturk T. Tumor-associated antigens in rheumatoid arthritis interstitial lung disease or malignancy? Arch Rheumatol. 2018;33(4):431-7.
- 129.Gyokuto R SO, Toshiyuki Y. Serum Levels of CA15-3, KL-6 and BCA225 Are positively correlated with each other in the general population. Anticancer Research. 2009(29):4239-42.
- 130.Showalter K, Hoffmann A, Rouleau G, Aaby D, Lee J, Richardson C, i sur. Performance of forced vital capacity and lung diffusion cutpoints for associated radiographic interstitial lung disease in systemic sclerosis. J Rheumatol. 2018;45(11):1572-6.
- 131.Ogawa N, Shimoyama K, Kawabata H, Masaki Y, Wano Y, Sugai S. Clinical significance of serum KL-6 and SP-D for the diagnosis and treatment of interstitial lung disease in patients with diffuse connective tissue disorders. Ryumachi. 2003;43(1):19-28.

12. ŽIVOTOPIS

mr.sc. Kristina Frketić Marović, dr.med.

specijalist interne medicine, uži specijalist reumatologije

Adresa: Klinika za unutarnje bolesti, Opća bolnica Zadar, Bože Peričića 5, Zadar 23000

Tel: +385 23 505 302; +385 91 555 0150

e-mail: kmarovic7@gmail.com, kristina.frketic.marovic@bolnica-zadar.hr

Datum rođenja: 7.07.1980.

OBRAZOVANJE:

- 2016.-2018. subspecijalizacija iz reumatologije, KBC Zagreb
- 2009.-2013. specijalizacija iz interne medicine, OB Zadar - KBC Zagreb
- 2020.-... doktorski studij, Biologija novotvorina, MF Split
- 2004.-2006. poslijediplomski studij Klinička medicina, MF Split
- 1998.-2004. Medicinski fakultet, Split
- 1994.-1998. Prirodoslovno-matematička gimnazija, Split

RADNO ISKUSTVO I POZICIJE:

- od 2009. - ... liječnik specijalist-subspeccijalist, Opća bolnica Zadar, Klinika za internu medicinu
- od 2022. - ... asistent na Katedri za kliničku medicinu Fakulteta za dentalnu medicinu i zdravstvo Osijek
- 2006-2009. liječnik u Domu zdravlja Splitsko-dalmatinske županije, ispostava Lastovo i Split
- 2005-2006. liječnik UHMP Splitsko-dalmatinske županije

ČLANSTVA:

Član Hrvatske Liječničke Komore; Član Hrvatskog Liječničkog Zbora; Član Hrvatskog Reumatološkog Društva; European Lupus Society - SLEuro Membership; Član radne skupine Ministarstva zdravstva za koordinaciju i izvođenje programa specijalističkog usavršavanja doktora medicine iz reumatologije

OBJAVLJENI RADOVI:

- Cartlidge, M.K., Brown, K.K., Chaudhuri, N. *et al.* A modified Delphi exercise in physician-perceived risk factors for drug-induced pneumotoxicity in patients with rheumatological disease. *BMC Pulm Med* **24**, 547 (2024). <https://doi.org/10.1186/s12890-024-03287-0>
- Frketic Marovic K, Kardum Z, Sahinovic I, Tolic A, Kasap Basioli E, Patrk J, Mayer M. CA 15 - 3 in screening for systemic autoimmune rheumatic disease associated interstitial lung disease: a single center cross-sectional study. *Rheumatol Int.* 2024 Aug 24. doi: 10.1007/s00296-024-05694-2
- Frketić Marović K. Imunomodulatorna reumatološka terapija i nesteroidni antireumatici prije začeća, u trudnoći i dojenju – Pregled Smjernica. *Reumatizam* [Internet]. 2023 [pristupljeno 30.12.2024.];70(1):34-48. <https://doi.org/10.33004/reumatizam-70-1-5>
- Kardum, Ž., Šimac, A., & Marović, K. F. (2024). Autoimmune Inflammatory Rheumatic Diseases In The Elderly. *Anti-Aging Eastern Europe*, 3(4), 184-193. <https://doi.org/10.56543/aaeeu.2024.3.4.0>
- Kardum, Željka, Šimac, A., Frketić Marović, K., Masle, A. M., & Milas Ahić, J. (2023). Severe hypofibrinogenemia in a patient with giant cell arteritis treated with tocilizumab: case-based review. *Anti-Aging Eastern Europe*, 2(4), 210-215. <https://doi.org/10.56543/aaeeu.2023.2.4.05>
- Frketić Marović K, Nakić D. Razlika izraženosti anemije žena i muškaraca sa zatajanjem bubrega, liječenih peritonejskom dijalizom. *Medica Jadertina*, 2018; 48 (3), 137-142.
- Nakić D, Bilić B, Klarić D, Santini-Dušević D, Gilić Šipicki L, Marović K. Ksantogranulomatozni pijelonefritis – prikaz slučaja. *Medica Jadertina*, 2012; 42 (3-4), 153-155
- Klarin I, Marovic K, Lisica N, Skific I. Malignant lymphoma of the duodenum presenting with melaena and obstructive jaundice at the same time – a case report. *The Internet Journal of Gastroenterology*. 2009. Vol 10 Nr 1

KONGRESNA PRIOPĆENJA:

- Frketic Marovic K, Kardum Z, Stipcevic M, Patrk J, Rudez I, Tolic A, Skocaj V, Zekanovic D. Aortitis due to aseptic abscess syndrome: a case report, presented at

26th Asia-Pacific League of Associations for Rheumatology Congress (APLAR 2024), Suntec Singapore, Singapore 21-25 Aug 2024

- Frketić Marović K, Kardum Ž, Tolić A, Kasap Basioli E, Patrk J. Procjena algoritma probira za intersticijske bolesti pluća povezane sa sistemskim bolestima vezivnog tkiva: presječno istraživanje jednog centra. 26. Godišnji kongres Hrvatskog Reumatološkog Društva, 2024 Rovinj, Croatia
- Frketic Marovic Kristina, pozvano predavanje: Primjena lijekova u trudnoći i dojenju. 25. Godišnji kongres Hrvatskog Reumatološkog Društva. Glavna tema: Reproductivno zdravlje u bolesnika s upalnim reumatskim bolestima, 2023 Opatija, Croatia
- Frketic Marovic K. Terkes V, Moric Peric M, Tolic A. Systemic Vasculitis Following Vaccination During Incubation Period of Covid Infection, presented at International Conference of Clinical Case Reports, 2023 Dubai, UAE
- Terkes V, Frketic Marovic K, Ribarovic A, Bielen L, Rados J, Lisica K, Tomic L. Hemophagocytic lymphohistiocytosis secondary in Rickettsiosis: case report. Poster session presented at: 4th South-East European Conference on Travel, Tropical, Migration Medicine & HIV, 2023 Zadar, Croatia
- Basioli Kasap E, Dokoza M, Frketić Marović K, Vukić Jurjević T. Dermatomyositis – the first sign of small cell lung cancer: case report. Poster session presented at: 2nd Symposium of the International Contact Dermatitis Research Group, 2023 Split, Croatia
- Klaric M, Jankovic A, Susak B, Bulic A, Frketic Marovic K. From malignant hypercalcemia to the systemic sarcoidosis diagnosis: a case report. Poster session presented at: Student Congress of Emergency Medicine – HitRi, 2024 Rijeka, Croatia
- Kristina Frketić Marovic, pozvano predavanje: Koga ne slati imunologu? 12. Internistički kongres : Ima li internista u kući?, Hrvatsko društvo za internu medicinu Hrvatskoga liječničkog zbora, Poreč, 2022.

SAŽECI KONGRESNIH PRIOPĆENJA OBJAVLJENIH U ZBORNICIMA SKUPOVA:

- Frketic Marovic K, Kardum Z, Stipcevic M, Patrk J, Rudez I, Tolic A, Skocaj V, Zekanovic D. Aortitis due to aseptic abscess syndrome: a case report (2024), Poster

- Abstracts Part B. Int J Rheum Dis, 27: e15346. <https://doi.org/10.1111/1756-185X.15346>
- Kardum Ž, Frketić Marović K. Pregnancy And Reproductive Health In Inflammatory Rheumatic Diseases (Hr): Antiphospholipid Syndrome And Pregnancy. Rheumatology Forum 2024, vol. 10, e-Suppl. A
 - Frketić Marović K, Kardum Ž, Tolić A, Kasap Basioli E, Patrk J. Procjena algoritma probira za intersticijske bolesti pluća povezane sa sistemskim bolestima vezivnog tkiva: presječno istraživanje jednog centra. Reumatizam [Internet]. 2024 [pristupljeno 30.12.2024.];71(Supp 1):19-20. <https://doi.org/10.33004/reumatizam-sup-71-1-16>
 - Kardum Ž, Frketić Mrović K, Tolić A, Zekanović D. Rituximab As The First Line Of Treatment In Early Dermatomyositis – Report Of A Patient. Reumatizam [Internet]. 2024 [pristupljeno 30.12.2024.];71(Supp 1). <https://doi.org/10.33004/reumatizam-sup-71-1-49>
 - Zubčić M, Kardum Ž, Subotić A, Frketić Marović K. Preko 60% Bolesnika Neadekvatno Čuva Biološke Lijekove: Izazovi I Rješenja U Praćenju Temperature. Reumatizam [Internet]. 2024 [pristupljeno 30.12.2024.];71(Supp 1):68-68. <https://doi.org/10.33004/reumatizam-sup-71-1-79>
 - Frketić Marović K. Primjena reumatoloških lijekova u trudnoći i dojenju. Reumatizam [Internet]. 2023 [pristupljeno 09.12.2023.];70(Supp 1):4-4. <https://doi.org/10.33004/reumatizam-sup-70-1-4>
 - Frketić Marović K, Terkeš V, Morić Perić M, Tolić A. Sistemski vaskulitis nakon cijepljenja u inkubacijskom periodu infekcije COVID -19: prikaz bolesnika. Reumatizam [Internet]. 2023 [pristupljeno 09.12.2023.];70(Supp 1):46-46. <https://doi.org/10.33004/reumatizam-sup-70-1-46>
 - Frketic Marovic K, Stipcevic M, Tolic A. Speckle tracking echocardiography in diagnosis and follow-up of EGPA -myocarditis: a case report. Reumatizam [Internet]. 2023 [pristupljeno 09.12.2023.];70(Supp 1):62-62. <https://doi.org/10.33004/reumatizam-sup-70-1-62>
 - Perica, A., Frketić Marović, K., Zubčić, M. i Subotić, A. (2023). Incidencija zloćudnih bolesti kod bolesnika sa sustavnim eritemskim lupusom u Zadarskoj županiji. Reumatizam, 70 (Supp 1), 83-83. <https://doi.org/10.33004/reumatizam-sup-70-1-83>