

Kristīne Ivanova

ORCID 0000-0003-2127-2948

Sistēmiskā skleroze Latvijā:
pacientu raksturojums,
perifērās nervu sistēmas
iesaiste un jauni biomarkķieri

Promocijas darba kopsavilkums zinātnes doktora grāda
“zinātnes doktors (*Ph. D.*)” iegūšanai

Nozaru grupa – medicīnas un veselības zinātnes

Nozare – klīniskā medicīna

Apakšnozare – internā medicīna

Rīga, 2026

Promocijas darbs izstrādāts Rīgas Stradiņa universitātē, Latvijā

Promocijas darba vadītājas:

Dr. med. profesore **Natalja Kurjāne**,
Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

Dr. med. asociētā profesore **Viktorija Ķēniņa**,
Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

Oficiālie recenzenti:

Dr. med. profesors **Guntis Karelis**,
Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

Dr. med. asociētā profesore **Ewa Więsik-Szewczyk**,
Militārās medicīnas institūts, Valsts pētniecības institūts, Polija

Dr. med. profesors **Kestutis Petrikonis**,
Lietuvas Veselības zinātņu universitāte

Promocijas darbs tiks aizstāvēts Klīniskās medicīnas promocijas padomes atklātā sēdē
2026. gada 6. maijā plkst. 15.00, 204. auditorijā, Konsula ielā 21, Rīgā

Ar promocijas darbu var iepazīties RSU bibliotēkā un RSU tīmekļa vietnē:
<https://www.rsu.lv/promocijas-darbi>



Funded by
the European Union
NextGenerationEU



Šis pētījums tika izstrādāts ar RSU iekšējās un RSU ar LSPA ārējās konsolidācijas projekta atbalstu,
projekta/līguma Nr. 5.2.1.1.i.0/2/24/I/CFLA/005

RSU Rīgas
Stradiņa
Universitāte

Šis pētījums tika izstrādāts RSU ar Doktora studiju granta atbalstu

Promocijas padomes sekretārs:

Dr. biol. vadošais pētnieks **Andrejs Šķesters**

Satura rādītājs

Darbā izmantotie saīsinājumi	4
Ievads	6
Darba mērķis.....	9
Darba uzdevumi.....	9
Darba hipotēzes	10
Darba novitāte.....	10
1. Materiāli un metodes	12
1.1. Pētījuma dalībnieki	12
1.2. Antinukleāro antivielu (ANA) noteikšana	13
1.3. Klīnisko raksturlielumu izvērtēšana.....	13
1.4. PNS iesaistes noteikšana	13
1.5. Asins paraugu iegūšana un analīze	15
1.5.1. SSc specifisko AV un AV pret NS komponentiem noteikšana	15
1.5.2. Seruma biomarkieru noteikšana	16
1.5.3. Metabolītu analīze	16
1.6. Statistiskā analīze	16
2. Rezultāti	18
2.1. SSc izplatība un ar dzimumu saistīta kohortas analīze Latvijā.....	18
2.1.1. SSc izplatība Latvijā.....	18
2.1.2. SSc pacientu klīniskie un imunoloģiskie raksturlielumi ar dzimumu saistītām atšķirībām.....	18
2.2. PNP izplatība SSc pacientiem un ietekme uz dzīves kvalitāti, saistītu ar veselību	20
2.3. PNP SSc gadījumā: cēloņu un biomarkieru izpēte	21
2.3.1. SSc specifiskās AV un AV pret noteiktiem NS komponentiem	21
2.3.2. Potenciālie PNS seruma biomarkieri.....	21
2.4. Seruma metaboloma profils	22
2.4.1. Metabolīti SSc pacientiem	22
2.4.2. SSC pacientu ar PNP diferenciācija	23
Diskusija.....	25
SSc izplatība un ar dzimumu saistīta kohortas analīze Latvijā	25
PNP izplatība SSc pacientiem un ietekme uz dzīves kvalitāti, saistītu ar veselību.....	28
PNP SSc gadījumā: cēloņu un biomarkieru izpēte.....	29
Seruma metaboloma profila analīze atklāj atšķirības starp SSc pacientiem ar PNP	33
Secinājumi	38
Priekšlikumi	39
Publikāciju, ziņojumu un patentu saraksts par promocijas darba tēmu	40
Literatūras un avotu saraksts	41

Darbā izmantotie saīsinājumi

ACA	anti-centromēru antivielas
ACR/EULAR	Amerikas Reimatoloģijas kolēģija / Eiropas līga pret reimatismu
aHSCT	autologa hematopoētisko cilmes šūnu transplantācija
ANA	antinukleārās antivielas
anti-MAG	antivielas pret mielīnam asociēto glikoproteīnu
ARA	antivielas pret ribonukleīnskābes polimerāzi
ATA	antivielas pret topoizomerāzi
AUC	laukums zem līknes
AV	autoantivielas
AZA	azatioprīns
CD	cukura diabēts
CENP-A	centromēru proteīns A
CENP-B	centromēru proteīns B
CNS	centrālā nervu sistēma
CYC	ciklofosfamīds
DN	diabētiska neiropātija
DN4	<i>Douleur Neuropathique en 4</i> aptauja
dsSSC	difūza ādas sistēmiskā skleroze
EUSTAR	Eiropas Sklerodermijas pētījumu un pētniecības grupa
FC	kārtas izmaiņas
FGF21	fibroblastu augšanas faktors 21
Fib	fibrilarīns
GAD-7	Ģeneralizētas trauksmes skalas 7 aptauja
GK	glikokortikoīdi
GDF15	augšanas/diferencēšanas faktors 15
GFAP	glijas fibrilārais skābais proteīns
HAQ-DI	Veselības pašnovērtējuma anketa
HC	veselā kontroles grupa
HRQoL	ar veselību saistītā dzīves kvalitāte
ICAM-1	intracelulāra adhēzijas molekula 1
ILD	intersticiāla plaušu slimība
KL-6	<i>Krebs von den Lungen-6</i> glikoproteīns
lcSSc	limitēta ādas sistēmiskā skleroze
LC-MS	šķidruma hromatogrāfija – masas spektrometrija
LFN	lielo šķiedru neiropātija

MMF	mikofenolāta mofetils
mRSS	modificēta Rodnana ādas skala
MTX	metotreksāts
NG	neurogrāfija
NfL	neurofilamenta vieglās ķēdes
NO	slāpekļa oksīds
NOR90	kodoliņa organizatora reģions 90
NS	nervu sistēma
PDGFR	trombocītu izcelsmes augšanas faktora receptors
PH	pulmonāla hipertensija
PM100	polimiozīts/skleroderma 100
PM75	polimiozīts/skleroderma 75
PNP	polineiopātija
PNS	perifērā nervu sistēma
QST	kvantitatīvā sensorā testēšana
ROC	uztvērēja darbības raksturlīkne
RP	Reino fenomens
RP11	ribonukleīnskābes polimerāze III
RP155	ribonukleīnskābes polimerāze III
Scl-70	topoizomerāze I
SFN	smalko šķiedru neiopātija
SP-D	surfaktanta proteīns D
srTNS	saīsinātā un pārskatītā kopējā neiopātijas novērtēšanas skala
SSc	sistēmiskā skleroze

Ievads

Sistēmiska skleroze (SSc) ir sistēmiska saistaudu slimība, kuras vidējais sastopamības biežums ir 1 no 6500 pieaugušajiem, un tā ir iekļauta Reto slimību reģistrā ar ORPHA kodu 90291 (Orphanet, 2025).

Termins “sklerodermija” (tulkots kā sabiezējusi, cieta āda) tiek lietots kopš 19. gadsimta vidus, bet pirmie ieraksti par to ir datējami ar 1753. gadu, kad *Carlo Curzio* aprakstīja 17 gadu vecu meiteni ar izteiktu ādas sabiezējumu visā ķermenī (Rodnan et al., 1962). Kopš 1980. gada sklerodermija tiek definēta kā slimību spektrs, kas sastāv no lokalizētas sklerodermijas un SSc (Amerikas Reimatisma asociācijas Diagnostikas un terapeitisko kritēriju komitejas apakškomiteja sklerodermijas kritērijiem, 1980). No abiem veidiem lokalizētā sklerodermija ir sastopamāka ar saslimstību 2,7 gadījumi uz 100 000 iedzīvotāju, parasti nav saistīta ar smagiem sistēmiskiem simptomiem vai Reino fenomenu (RP) un bieži ir pašlimitējoša ar labu prognozi (Calonje et al., 2020). No otras puses, SSc daudzi uzskata par vienu no smagākajām autoimūnām reimatiskām slimībām, kuras mirstības rādītājs ir 3,5 reizes augstāks nekā tāda paša vecuma veseliem indivīdiem (Adigun et al., 2024; Yen et al., 2021). Lai pārbaudītu šī apgalvojuma patiesumu, ir nepieciešami precīzi epidemioloģiskie dati. Tomēr saslimstība un izplatība dažādos pētījumos ievērojami atšķiras, ko galvenokārt var skaidrot ar nejaušām izlases kļūdām un atšķirībām starp gadījumu definīcijām un reģistrēšanas metodēm (Kowal-Bielecka et al., 2013).

Zemāka prevalence (mazāk nekā 150 gadījumi uz miljonu) un incidence (mazāk nekā 10 gadījumi uz miljonu gadā) novērota Ziemeļeiropā un Japānā, savukārt augstāki incidences rādītāji novēroti Dienvideiropā, Ziemeļamerikā un Austrālijā (Airò et al., 2020; Furst et al., 2012; Kang et al., 2018). Tāpat kā citām reimatiskām slimībām, SSc incidence atšķiras atkarībā no dzimuma. Novērots, ka tā ir augstāka sievietēm (sieviešu un vīriešu attiecība 3:1), ar augstāku dzimumu attiecību jaunākiem pacientiem, bet zemāku pēc 50 gadu vecuma (2:1) (Chiffrot et al., 2008; Sangha, 2000). Aptuvenais vidējais saslimstības vecums ir 50 gadi (Derk et al., 2006). Tomēr pēc 75 gadu vecuma slimības attīstība tiek novērota reti (Steen et al., 1997). Dzimumu atšķirības, kas pētītas SSc gadījumā, var būt nozīmīgas agrīnā diagnostikā un precīzākā prognozē. Jau konstatēts, ka vīriešiem ar SSc ir augstāks priekšlaicīgas nāves risks un smagāka slimības izpausme salīdzinājumā ar sievietēm ar SSc (Hughes et al., 2020). Iepriekš Latvijā nav veikti pētījumi par SSc izplatību.

SSc klīniskā aina ir ļoti mainīga. Saskaņā ar Eiropas Sklerodermijas pētījumu un pētniecības grupas (EUSTAR) datu bāzi RP novēro 96 % gadījumu, plaušu bojājumu – 48 %, pirkstu čūlas – 38 %, artrītu ar sinovītu – 19 %, nieru krīzi – līdz 4 % SSc pacientu (Meier et al., 2012). Nervu sistēmas (NS) bojājumi datu bāzē nav izdalīti, bet tiek pētīti atsevišķās

nelielās pacientu grupās. Analizējot šo pētījumu rezultātus, visbiežāk sastopamās centrālās nervu sistēmas iesaistes izpausmes ir galvassāpes (23 %) un krampji (13 %), savukārt perifērās nervu sistēmas (PNS) bojājuma izplatība ievērojami svārstās no 17 līdz 40 %. Ir aprakstīti dažādi PNS bojājuma sindromi, visbiežāk sastopamie ir perifērā sensomotorā neiropātija un smalko šķiedru neiropātija (SFN) ar neiropātiskām sāpēm (AlMehmadi et al., 2021; Amaral et al., 2013; Averbuch-Heller et al., 1992; Bignotti et al., 2015; Lee et al., 1983). Trūkst objektīvu datu par PNS iesaisti SSc, iespējams, gan mazā pētījuma grupu skaita, gan pētījumu metodoloģiju atšķirību dēļ. Baltijas valstīs iepriekš nav veikti valsts mēroga pētījumi par PNS traucējumiem SSc pacientiem.

SSc patoģenēzē joprojām pastāv vairākas neskaidrības. 20. gadsimta 90. gados tika identificēti galvenie slimības attīstības faktori: imūnsistēmas aktivizācija, vaskulopātija un ekstracelulārās matricēs pārprodukcija ar kolagēna nogulsnešanos (Denton et al., 1996). Slimības dažādās klīniskās izpausmes liecina par šo faktoru ietekmes variācijām. Jaunākajā literatūrā SSc patofizioloģija aprakstīta kā hronisks progresējošs process, kas izraisa mikrovaskulārus bojājumus ar sekojošu autoimūno reakciju un iekaisumu, kas noved pie difūzas audu fibrozes (Cutolo et al., 2019).

SSc pacientu PNS bojājuma patoģenēze joprojām nav skaidra. Viena no PNS bojājumu teorijām ir išēmiska, kur polineuropātija (PNP) ir saistīta ar RP un tās smagumu. Tomēr, analizējot SSc pacientus ar smagu RP, kas ir visbiežākā SSc vaskulopātijas klīniskā izpausme, kā arī ar čūlu rētas un išēmiskus ādas bojājumus, netika konstatēta cieša saistība ar PNS bojājumiem, kas liecina, ka PNP patoģenēzē ir iesaistīti citi mehānismi (Amanzi et al., 2010; Kılıç et al., 2020).

Slimības specifiskās autoantivielas (AV) ir svarīgas, lai identificētu dažādas SSc klīniskās grupas, sadalot pacientus homogēnākās apakšgrupās (Cavazzana et al., 2023). Seruma AV, kas vērstas pret vairākiem intracelulāriem antigēniem, ir SSc seroloģiskais raksturlielums. Tās ir konstatējamas vairāk nekā 95 % pacientu, un tām ir raksturīgas vismaz deviņas SSc specifiskas AV, kas vērstas pret kodola vai kodola antigēniem (Peoples et al., 2016; Salazar et al., 2015; Tan, 1989). Anti-topoizomerāzes AV (ATA), anti-centromēru AV (ACA) un anti-RNS polimerāzes AV (ARA), kas pirmo reizi aprakstītas 20. gadsimta 70.–90. gados, ir klasiskas slimībai specifiskas AV un ir iekļautas 2013. gada Amerikas Reimatoloģijas kolēģijas / Eiropas līgas pret reimatismu SSc klasifikācijas kritērijos (van den Hoogen et al., 2013). SSc specifisko AV klātbūtne var būt saistīta ar dažādām SSc klīniskām izpausmēm, piemēram, difūzām vai limitētām ādas apakštīpiem, intersticiālu plaušu slimību (ILD) un plaušu hipertensiju (PH) (Cavazzana et al., 2023; Santos, et al., 2023). Diemžēl pašlaik nav pārliecinošu pierādījumu, ka šīs AV ir saistītas arī ar PNS bojājumiem SSc. Daudzu

sistēmisku saistaudu slimību praksē ideja pētīt specifiskas AV pret dažādām nervu struktūrām ir cēlusies no pētījumiem, kas veikti imūno neiropātiju jomā, piemēram, Gijena–Barē sindroma un tā apakštipu gadījumā (De Souza et al., 2023; Jin et al., 2021). Šī pieeja SSc joprojām ir nepietiekami pētīta.

SSc progresijas un smaguma biomarķieri ir vēl viens nepietiekami pētīts jautājums. Ir zināms, ka vairāki biomarķieri tiek izmantoti, lai novērtētu un uzraudzītu plaušu un ādas bojājumu smagumu (Castro et al., 2010; Utsunomiya et al., 2020). Marķieri, ar kuriem novērtēt PNS bojājumus un to progresēšanu, vēl nav identificēti. Seruma biomarķieri, kas ir plaši pētīti PNS bojājumu gadījumos, kuri saistīti ar vielmaiņas vai ģenētiskām slimībām, ir neurofilamentu vieglās ķēdes (NfL) (Hayashi et al., 2021; Maalmi et al., 2023). Bojāti aksoni izdala NfL starpšūnu telpā, lai nodrošinātu šūnu stabilitāti (Kahn et al., 2025). Ir konstatēts, ka seruma NfL koncentrācija ir paaugstināta iedzimtu perifēro neiropātiju gadījumā un korelē ar neiropātijas smaguma pakāpi (Sandelius et al., 2018). Līdz šim seruma NfL koncentrācija SSc pacientiem nav pētīta. Augšanas/diferencēšanas faktors 15 (GDF15) ir citokīns, kas pieder transformējošo augšanas faktoru beta klasei. Tā paaugstināts līmenis novērots iekaisuma, miokarda išēmijas un audzēju gadījumos (Wischhusen et al., 2020). SSc pacientiem ar PH seruma GDF15 koncentrācija bija paaugstināta salīdzinājumā ar SSc pacientiem bez PH (Gamal et al. 2017; Meadows et al., 2021). Paaugstināts citokīna līmenis tika konstatēts arī SSc pacientiem ar ILD un izteiktākiem ādas bojājumiem (Gamal et al., 2017; Wan et al., 2024). Lai gan ir pierādījumi par palielinātu GDF 15 sekrēciju no Švana šūnām arī PNS bojājumu gadījumā, nav zināmi pētījumi par SSc pacientiem ar PNS bojājumiem (Weng et al., 2022).

Vēl viena SSc biomarķieru pētījumu joma varētu būt metaboloma pētījumi. Metaboloms ir -omikas tehnoloģijas joma, kurā, izmantojot augstas veiktspējas analītiskās tehnoloģijas, vispusīgi pēta metabolītus organismos (Zhang et al., 2015). Metabolīti ir pazīstami kā bioloģisko reakciju pēdējā posma rezultāts, un tie tiek plaši izmantoti klīniskajos pētījumos un zāļu atklāšanā (Qiu et al., 2023). Metaboloma klīniskā lietojuma mērķis ir noteikt slimības diagnostiskos biomarķierus, patoloģiskos mehānismus, jaunus medikamentu mērķus un terapeitiskās reakcijas. Metaboloma nozīme autoimūno slimību ārstēšanā ir palielinājusies, jo var palīdzēt izprast molekulāros mehānismus, kas ir konkrētas slimības fenotipa pamatā. Metaboloma pētījumi jau ir veikti pacientiem ar SSc un ir atklāts, ka salīdzinājumā ar veselo kontroles grupu (HC) vairāki metabolītu koncentrācijas ir izmainītas. Dažos no šiem pētījumiem ir izdalītas dažādas SSc izpausmes, kā ILD vai izteikta modificēta Rodnana ādas skala (mRSS) (Bengtsson et al., 2016; Bögl et al., 2022; Guo et al., 2023; Jud et al., 2023; Morales-González et al., 2023; Ottria et al., 2020; Smolenska et al., 2020). Tomēr ir jāatzīmē, ka PNP kā SSc komplikācija metaboloma pētījumos ir ignorēta. Izpratne par metaboloma

izmaiņām SSc un ar to saistītajā PNP var palīdzēt atklāt jaunus biomarkierus un terapeitiskos mērķus, nodrošinot iespējas uzlabot šīs sarežģītās slimības ārstēšanu.

Darba mērķis

Noteikt SSc izplatību Latvijā un salīdzināt to ar citu valstu un pasaules reģionu datiem, kā arī apkopot SSc pacientu demogrāfiskos un klīniskos raksturlielumus, īpašu uzmanību pievēršot PNS iesaistei, tās patoģenēzei un biomarkieru izpētei pacientiem ar SSc.

Darba uzdevumi

1. Atlasīt pacientus ar SSc diagnozi, kuri atbilst ACR/EULAR 2013. gada klasifikācijas kritērijiem, izmantojot slimnīcu datubāzes, un noteikt SSc izplatību Latvijā.
2. Izvērtēt SSc pacientu klīniskos raksturlielumus, veicot izmeklēšanu, tostarp mRSS novērtējumu, kā arī analizējot iepriekš veiktos izmeklējumus intersticiālas plaušu slimības (ILD), pulmonālās hipertensijas (PH) un barības vada dismotilitātes noteikšanai, vienlaikus izvērtējot ar dzimumu saistītās atšķirības.
3. Noteikt PNS iesaisti SSc pacientiem, izmantojot saīsināto un pārskatīto kopējo neiropātijas novērtēšanas skalu (srTNS), neurogrāfiju (NG) un kvantitatīvo sensoro testēšanu (QST), turklāt apakšgrupās izdalot pacientus ar lielo šķiedru neiropātiju (LFN) un SFN, kā arī izvērtēt neiropātiskas sāpes ar *Douleur Neuropathique en 4* (DN4) anketu, trauksmes simptomus ar Ģeneralizētas trauksmes skalas 7 (GAD-7) anketu un ar veselību saistīto dzīves kvalitāti (HRQoL), izmantojot Veselības pašnovērtējuma (HAQ-DI) anketu.
4. Noteikt autoimūnos mehānismus, kas veicina PNP attīstību, identificējot SSc specifiskās AV, kā arī AV, kas vērstas pret noteiktiem NS komponentiem, piemēram, AV pret mielīnam asociēto glikoproteīnu (anti-MAG) un antigangliozi AV.
5. Noteikt biomarkierus, kas korelē ar PNP noteikšanu un progresēšanu SSc gadījumā, identificējot neurofilamenta vieglās ķēdes (NfL), augšanas/diferenciācijas faktoru 15 (GDF15), glijas fibrilāro skābo proteīnu (GFAP) un fibroblastu augšanas faktoru 21 (FGF21).
6. Padziļināti izpētīt PNP patoģenēzi SSc gadījumā, veicot metabolītu analīzi SSc pacientiem salīdzinājumā ar HC indivīdiem, kā arī veicot apakšgrupu analīzi atkarībā no PNS iesaistes.

Darba hipotēzes

1. Epidemioloģija: SSc Latvijā ir reta slimība, kas sastopama retāk nekā Dienvideiropas valstīs, atbilstoši ziemeļu–dienvidu gradientam. PNP SSc gadījumā, visticamāk, ir nepietiekami novērtēta un sastopama biežāk, nekā līdz šim aprakstīts, skarot gan lielās, gan smalkās nervu šķiedras.
2. Patoģenēze, biomarkķieri un metaboliskais profils: PNP SSc gadījumā, iespējams, ir autoimūnas izcelsmes, iesaistot AV pret PNS struktūrām. Biomarkķieri, piemēram, NfL, GDF15, GFAP un FGF21, var palīdzēt novērtēt PNP attīstību un smaguma pakāpi. Turklāt SSc pacientiem ar PNP ir raksturīgs atšķirīgs metabolītu regulācijas profils salīdzinājumā ar SSc pacientiem bez PNP, kas atšķiras no iepriekš aprakstītajiem SSc un HC grupu salīdzinājumiem.

Darba novitāte

SSc ir reta slimība, kas ierobežo pētījumus ar lielām pacientu grupām. Tomēr, pateicoties apvienotiem valstu un reģionu reģistriem, piemēram, EUSTAR, ir iespējams iegūt datus par dažādu klīnisko izpausmju biežumu, slimības veidiem un to saistību ar imūnprofilu. Šādā veidā ir kļuvis skaidrāks ILD biežums, veidi un saistība ar specifiskām AV SSc pacientiem. Tomēr NS iesaiste SSc pacientiem joprojām ir nepietiekami novērtēta pat šādu reģistru ietvaros.

Šajā pētījumā uzmanība tika pievērsta PNP attīstībai SSc pacientiem, nosakot šīs komplikācijas biežumu, tās saistību ar slimības ilgumu, formu un citām klīniskām izpausmēm, kā arī ļaujot izvērtēt iespējamo PNP saistību ar išēmisku vai iekaisīgu patoģenēzes ceļu.

Plašais šobrīd pieejamo SSc specifisko AV klāsts līdz šim nav pietiekami pētīts pacientiem ar PNP. Skaidrāka AV saistība ar PNP attīstību ļautu nākotnē ātrāk un precīzāk identificēt riska grupas un nodrošināt personalizētāku pieeju.

SSc terapija pamatā tiek iedalīta ārstēšanā pret išēmisku bojājumu un pret iekaisuma procesu. Tā kā PNP patoģenēze SSc gadījumā nav pilnībā skaidra un nav izstrādātas specifiskas vadlīnijas tās ārstēšanai, dažādu NS komponentu AV izpēte, kas līdz šim SSc pacientiem ar PNP nav veikta, var palīdzēt izvērtēt imūnsupresīvās terapijas potenciālo ieguvumu PNP ārstēšanā.

Ņemot vērā līdz šim ierobežoto uzmanību PNP SSc gadījumā, nav identificēti biomarkķieri, kas atspoguļotu PNP attīstību un smaguma pakāpi. Ja tiktu pierādīta to saistība ar PNP SSc pacientiem, NS bojājuma biomarkķieri nākotnē varētu kalpot kā indikatori padziļinātai izmeklēšanai vai terapijas pielāgošanai.

Metaboloma pētījumiem pēdējos gados ir augusi nozīme dažādu slimību, tostarp SSc, izpētē, taču pacienti ar PNP līdz šim nav analizēti kā atsevišķa grupa. Metaboloma analīze šajā gadījumā ļauj izvērtēt, vai PNP var uzskatīt par atsevišķu klasteri SSc ietvaros, kā arī identificēt iespējamus PNP attīstības mehānismus.

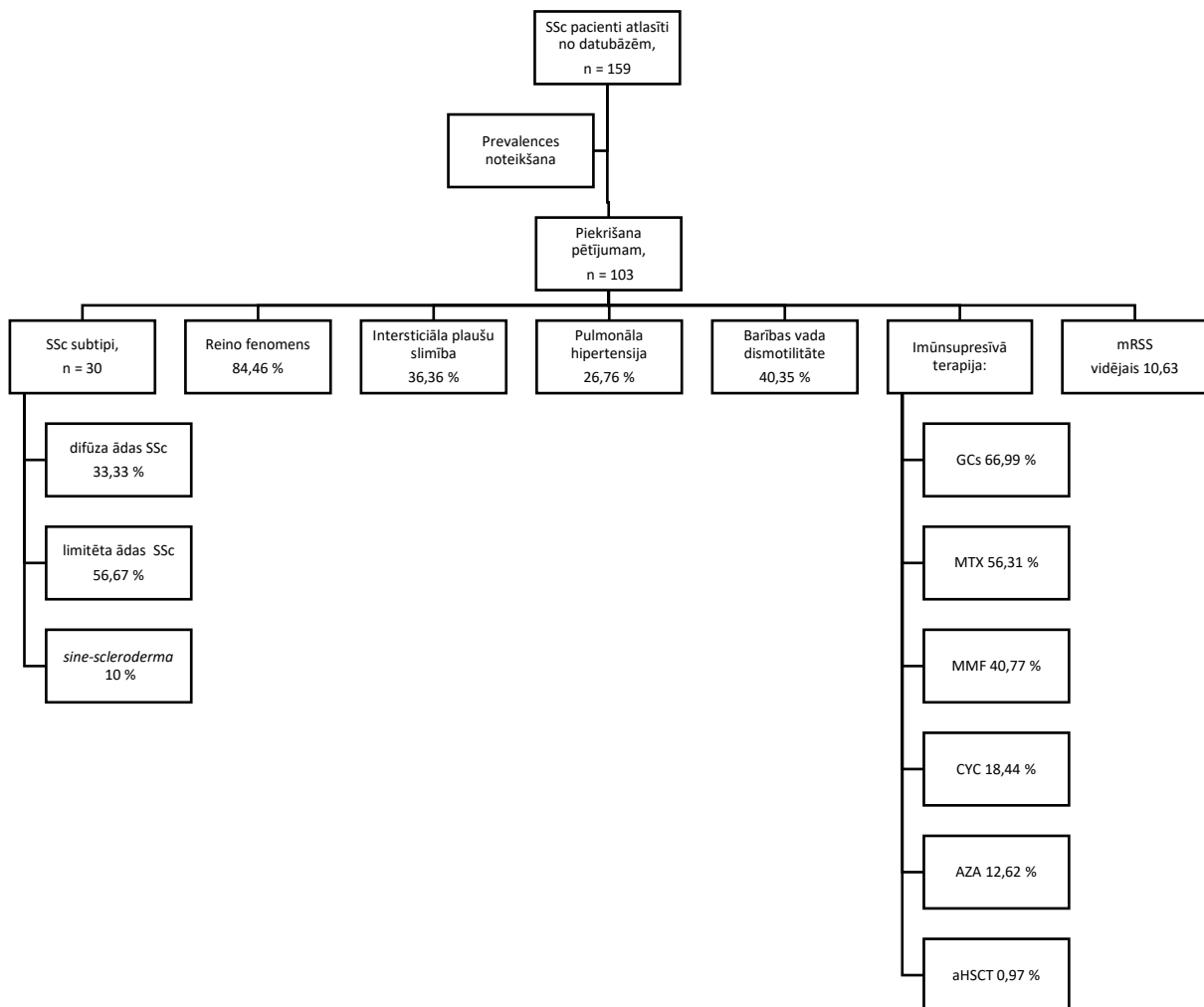
1. Materiāli un metodes

1.1. Pētījuma dalībnieki

Pētījums tika veikts divās vadošajās Latvijas slimnīcās, kas ir vienīgās universitātes slimnīcas pieaugušajiem Latvijā – Paula Stradiņa klīniskajā universitātes slimnīcā un Rīgas Austrumu klīniskajā universitātes slimnīcā, kā arī “ORTO klīnikā”.

Pētījumā tika iekļauti pacienti ar SSc diagnozi, kuri atbilda ACR/EULAR 2013. gada klasifikācijas kritērijiem un kurus konsultēja reimatologs laikposmā no 2016. gada janvāra līdz 2021. gada decembrim.

Pacientu atlasei tika izmantotas slimnīcu datubāzes, atlasot pacientus ar diagnozes kodiem M34.0–M34.9 saskaņā ar Starptautiskās slimību klasifikācijas 10. redakciju, kas tiek izmantota visās Latvijas slimnīcās. No pētījuma tika izslēgti pacienti ar citām saistaudu slimībām, kā arī pacienti ar lokalizētu sklerodermiju. Pētījumu apstiprināja Rīgas Stradiņa universitātes Medicīnas ētikas komiteja (Nr. 22-2/481/2021), un visi dalībnieki sniedza rakstisku informētu piekrišanu dalībai pētījumā. Pētījuma dizains aprakstīts 1.1. un 1.2. attēlā.



1.1. attēls. Pētījuma dizains – demogrāfiskie un klīniskie dati

1.2. Antinukleāro antivielu (ANA) noteikšana

ANA un to paternu novērtēšanai tika analizēti iepriekš veikti imunoloģiskie izmeklējumi. ANA noteikšana visiem pētījumā iekļautajiem pacientiem tika veikta, izmantojot Hep-2 šūnas.

1.3. Klīnisko raksturlielumu izvērtēšana

Pacienti, kuri piekrita piedalīties pētījumā, tika izvērtēti viena reimatologa uzraudzībā un aptaujāti, kā arī klīniski izmeklēti saskaņā ar EUSTAR apstiprinātajām domēnām. 2015. gadā izstrādātās EUSTAR domēnas ietver demogrāfisko datu apkopošanu, pacientu sūdzību izvērtēšanu un ādas stāvokļa novērtēšanu, izmantojot mRSS.ILD un PH tika noteiktas, balstoties uz iepriekš veiktiem izmeklējumiem, tostarp plaušu datortomogrāfiju, transtorakālo ehokardiogrāfiju un labās sirds katetrizāciju. Barības vada dismotilitāte tika izvērtēta, balstoties uz pacientu sūdzībām un iepriekš veiktu augšējā kuņģa-zarnu trakta rentgenoloģisko izmeklēšanu.

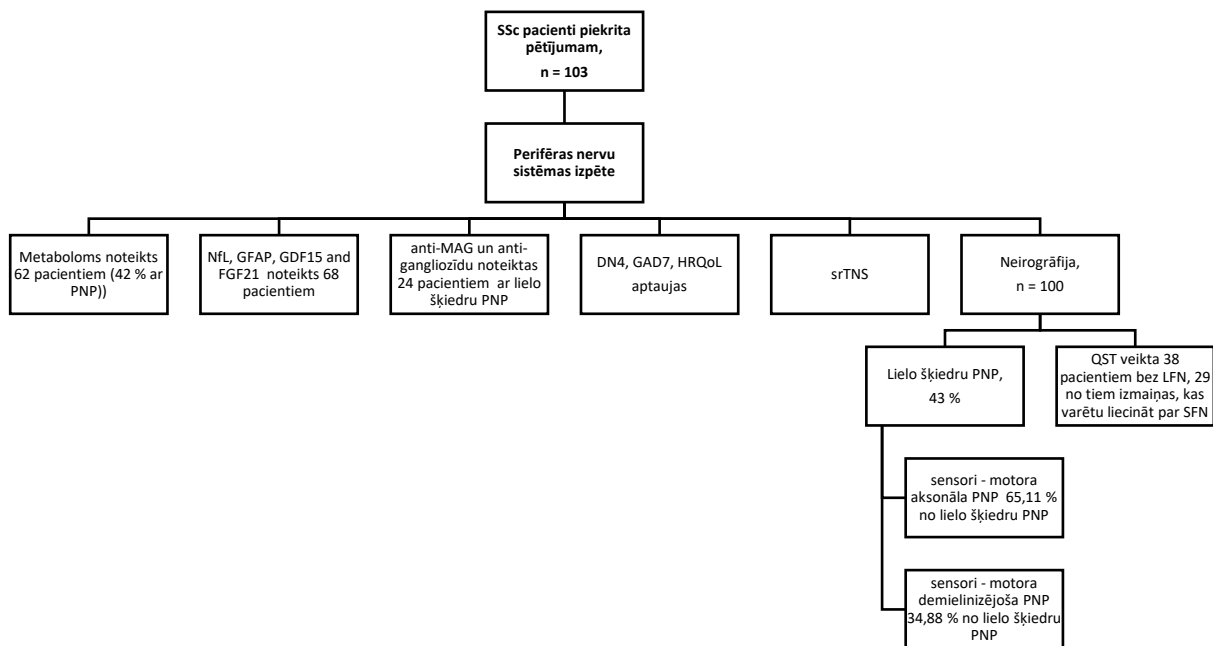
Slimības sākuma vecums tika definēts kā laiks, kad parādījās pirmais SSc simptoms, kas nav RP.

Pacientu klasifikācija pēc SSc apakštipiem (difūza, limitēta, *sine-scleroderma*) netika veikta pētījuma laikā, bet ņemta vērā informācija no datubāzēm.

Informācija par iepriekš lietotajiem imūnsupresīviem medikamentiem un blakusslimībām tika iegūta no pacientu aptaujām un medicīniskās dokumentācijas.

1.4. PNS iesaistes noteikšana

Dalībniekiem tika veikta vienota PNS izvērtēšana. Sākotnēji pacienti tika skrīnēti, izmantojot srTNS, kas ietver trīs simptomu komponentus (nejūtīgums, tirpšana, neiropātiskas sāpes) un divus objektīvus izmeklējumus (cīpslu refleksi un vibrācijas sajūta). Pētījuma dizains aprakstīts 1.1. un 1.2. attēlā.



1.2. attēls. Pētījuma dizains – PNS izpēte

Turpmāk tika veikta standarta neirogrāfija (NG), izmantojot *Dantec Keypoint* aparatūru un ievērojot PNP diagnostikas protokolu, izvērtējot gan motorās, gan sensorās nervu šķiedras. Katram pacientam tika veikti augšējo ekstremitāšu nervu vadīšanas pētījumi abpusēji (elkoņa un vidusnerva motorās un sensorās šķiedras), kā arī apakšējo ekstremitāšu pētījumi (peroneālā un tibiālā nerva motorās šķiedras un surālā nerva sensorās šķiedras), novērtējot impulsu latentumu, amplitūdu un vadīšanas ātrumu. Izmeklējumi tika veikti kontrolētā laboratorijas temperatūrā (22–24 °C), nodrošinot pacienta ādas temperatūru ≥ 32 °C, lai novērstu viltus pozitīvus rezultātus. NG veica sertificēts neirologs ar specializāciju klīniskajā neurofizioloģijā un vismaz piecu gadu pieredzi PNP diagnostikā. Pacienti, kuriem tika konstatētas patoloģiskas NG izmaiņas vairāk nekā vienā parametrā vismaz divos dažādos nervos, tika klasificēti kā pacienti ar LFN.

QST tika veikta pacientiem ar normāliem NG rezultātiem, lai izvērtētu iespējamu smalko šķiedru disfunkciju. Izmantojot *Medoc* ierīci ar termodi, tika noteikti aukstuma un siltuma sliekšņi, lai konstatētu smalko šķiedru bojājumu, kas nav nosakāms ar klasisko NG metodi. Termode tika novietota uz pēdas dorsālās virsmas distāli (II–III pirksta pamatnē) un uz plaukstas dorsālās virsmas (II–III pirkstu pamatnē), kas atbilst distālajām simetriskajām zonām, kurās visbiežāk izpaužas PNP simptomi, kā arī tika veikti papildu mērījumi apakšstilba priekšējā laterālajā daļā, lai izvērtētu proksimālāko smalko šķiedru funkciju. Aukstuma uztveres un siltuma uztveres sliekšņi tika izmantoti C un A δ šķiedru funkcijas izvērtēšanai, savukārt aukstuma sāpju un karstuma sāpju sliekšņi – nociceptīvās sistēmas jutības un hiperalgēzijas vai hipoalgēzijas pazīmju noteikšanai. Rezultāti tika iegūti, izmantojot robežvērtību metodi (*Method of Limits*), mainot temperatūru ar ātrumu 1 °C/s, pacientam

norādot pirmo sajūtu (aukstums, siltums vai sāpes). Izmeklējumi tika veikti telpā ar temperatūru 22–24 °C, pacientam esot relaksētā stāvoklī; katrs tests tika atkārtots vairākas reizes, gala rezultāts tika aprēķināts kā vidējā vērtība. Iegūtie dati tika salīdzināti ar vecuma un dzimuma normalizētām atsauces vērtībām, un pacienti ar patoloģiskiem rādītājiem divās atsevišķās ekstremitātēs tika uzskatīti par iespējamiem SFN gadījumiem.

Papildus pacienti aizpildīja DN4 anketu neiropatisku sāpju izvērtēšanai, GAD-7 anketu trauksmes simptomu noteikšanai un HAQ-DI anketu ar veselību saistītās dzīves kvalitātes novērtēšanai. Pacienti ar četriem vai vairāk punktiem DN4 anketā tika uzskatīti par pacientiem ar neiropatiskām sāpēm. GAD-7 anketā vairāk nekā četri punkti norādīja uz paaugstinātu ģeneralizētas trauksmes risku. HAQ-DI funkcionālās invaliditātes indekss tika aprēķināts, summējot astoņu sadaļu punktus un dalot iegūto summu ar astoņi.

1.5. Asins paraugu iegūšana un analīze

Perifērās asinis tika iegūtas saskaņā ar Helsinku deklarāciju (1975/83), izmantojot *BD Vacutainer* asins ņemšanas mēģenes ar etilēndiamīntetraetiķskābi. Plazmas atdalīšana tika veikta, centrifugējot perifēro asiņu paraugus ar ātrumu 4000 apgr./min. +4 °C temperatūrā 15 minūtes. Iegūtā plazma 30 minūšu laikā tika pārvietota uz vietu, kur temperatūra bija –80 °C, un uzglabāta līdz analīzei.

1.5.1. SSc specifisko AV un AV pret NS komponentiem noteikšana

SSc specifiskās AV tika analizētas, izmantojot komerciālu līnijas imūnblota testu (*EUROLINE Systemic Sclerosis Profile, Euroimmun*). *EUROLINE Systemic Sclerosis (Nucleoli) Profile (IgG)* ietver 13 rekombinantus antigēnus: DNS topoizomerāzi I (Scl-70), centromēru proteīnus A un B (CENP-A un CENP-B), RNS polimerāzi III (apakšvienības RP11 un RP155), fibrilārīnu (Fib), kodoliņa organizatora reģions 90 (NOR90), Th/To, PM-Scl-100, PM-Scl-75, Ku, trombocītu izcelsmes augšanas faktora receptoru (PDGFR) un Ro-52. AV noteikšana un interpretācija tika veikta elektroniski, izmantojot *Euroimmun EUROLineScan* programmu. Signāla intensitāte 0–5 (negatīva) un 6–10 (robežvērtība) tika uzskatīta par negatīvu, savukārt signāla intensitāte ≥ 11 tika uzskatīta par pozitīvu.

Vairākas NS specifiskas AV – anti-MAG un antigangliozīdu AV (GM1, GM2, GD1a, GD1b un GQ1b) – tika noteiktas, izmantojot *GanglioCombi®* MAG enzīmu saistīta imūnsorbcijas testa komplektus (*Bühlmann Laboratories*). Signāla intensitāte 0–29 (negatīva) un 30–49 (robežvērtība) tika uzskatīta par negatīvu, savukārt signāla intensitāte ≥ 50 tika uzskatīta par pozitīvu. Šīs AV vispirms tika noteiktas pacientiem ar PNP. Ja rezultāti liecināja par nozīmīgām izmaiņām, tad analīze tika paplašināta arī uz citām pacientu grupām.

1.5.2. Seruma biomarkieru noteikšana

Divi potenciālie PNS seruma biomarkieri – NfL un GFAP – tika noteikti, izmantojot vienas molekulas masīva (*Single Molecule Array, Simoa*) metodi (*Quanterix, Billerica, MA, ASV*). FGF21 un GDF15 tika noteikti, izmantojot komerciāli pieejamus enzīmu saistīta imūnsorbcijas testus saskaņā ar ražotāja norādījumiem (*R&D Systems, Minneapolis, MN, ASV*). Visi mērījumi tika veikti vienā eksperimentu ciklā, izmantojot vienu reaģentu partiju, sertificētu laboratorijas speciālistu vadībā, neņemot vērā klīniskos datus. Iekšējās sērijas variācijas koeficienti, kas noteikti, izmantojot kontroles paraugus, bija zem 10 %.

1.5.3. Metabolītu analīze

Metabolītu ekstrakcijai 10 µL plazmas paraugu tika sajaukti ar 10 µL izotopiski marķētu iekšējo standartu maisījuma un 80 µL metanola. Paraugi tika virpuļoti 15 sekundes un centrifugēti ar ātrumu $10\,000 \times g$ 10 minūtes. Supernatants tika pārnest uz augstas veiktspējas šķidrums hromatogrāfijas flakoniem un izmantots šķidrums hromatogrāfijas – masas spektrometrijas (LC–MS) analīzei.

Mērķētā kvantitatīvā metabolītu analīze tika veikta, izmantojot hidrofilās mijiedarbības šķidrums hromatogrāfiju apvienojumā ar masas spektrometrisko noteikšanu, izmantojot *Orbitrap Exploris 120* sistēmu. Metabolīti tika atdalīti uz *ACQUITY UPLC BEH Amide 1,7 µm 2,1 × 100 mm* analītiskās kolonnas (*Waters*). Gradientu eluēšana tika veikta, izmantojot 0,15 % skudrskābi un 10 mM amonija formiātu ūdenī kā kustīgo fāzi A un 0,15 % skudrskābi ar 10 mM amonija formiātu 85 % acetonitrilā kā kustīgo fāzi B. Sākotnējie apstākļi tika iestatīti ar 100 % kustīgo fāzi A. Pēc 6 minūtēm kustīgās fāzes A īpatsvars tika samazināts līdz 94,1 %. Laikā no 6,1 līdz 10 minūtēm kustīgā fāze A tika samazināta līdz 82,4 %, bet no 10 līdz 12 minūtēm – līdz 70,6 %. Pēc tam kolonna tika līdzsvarota 6 minūtes sākotnējos apstākļos. Kopējais analīzes laiks bija 18 minūtes. Kustīgās fāzes plūsmas ātrums bija 0,4 mL/min., injekcijas tilpums 2 µL, kolonnas temperatūra 40 °C. Masas spektrometriskā analīze tika veikta ESI pozitīvajā un negatīvajā jonizācijas režīmā, pilna skenējuma režīmā ar masas diapazonu no 50 līdz 400 m/z. Kvantitatīvajai analīzei tika izmantotas septiņu punktu kalibrācijas līknes ar iekšējo standartizāciju. LC-MS datu apstrādei un kvantificēšanai tika izmantota programmatūra *TraceFinder 5.1 General Quan* (*Thermo Fisher Scientific*).

1.6. Statistiskā analīze

Datu sadalījums tika izvērtēts, izmantojot histogrammas, Q–Q grafikus un *Shapiro–Wilk* testu. Tā kā dati neatbilda normālajam sadalījumam, tika izmantotas neparametriskās statistiskās metodes. Salīdzinājumiem starp vairāk nekā divām grupām tika izmantots *Kruskal–Wallis H* tests, savukārt divu grupu salīdzināšanai – *Mann–Whitney U* tests.

Nepārtrauktu mainīgo saistības tika analizētas, izmantojot *Spearman's* rangu korelācijas koeficientu, bet kategorisko mainīgo salīdzināšanai tika izmantots *Fisher's* precīzais tests. Par statistiski nozīmīgu tika uzskatīta p vērtība $< 0,05$. PNP attīstību ietekmējošo faktoru noteikšanai tika veikta binārā loģistikā regresijas analīze. Modeļa izveidē tika izmantotas gan uz priekšu, gan atpakaļ vērstas pakāpeniskās atlasēšanas metodes, ņemot vērā būtiskos galvenos efektus un mijiedarbības. Labākā modeļa izvēlei tika izmantots *Akaike* informācijas kritērijs. Modeļa diskriminējošās spējas novērtēšanai tika veikta uztvērēja darbības raksturlīknes (ROC) analīze un aprēķināta laukuma zem līknes (AUC) vērtība. $AUC \geq 0,7$ tika uzskatīta par labu modeļa spēju atšķirt pacientus ar un bez PNP. Optimālā robežvērtība tika noteikta, izmantojot *Youden* indeksu.

Metaboloma dati tika analizēti, izmantojot programmatūru *MetaboAnalyst* 6.0 un *GraphPad Prism* 9.0. Galveno komponentu analīzei un vulkāna diagrammu izveidei dati tika \log_{10} transformēti un Pareto svērti. Galvenie komponenti tika izvēlēti, balstoties uz paralēlo analīzi. p vērtības un kārtas izmaiņas (FC) tika attēlotas attiecīgi kā $-\log_{10}(p)$ un $\log_2(FC)$. Metabolītu korelācija ar vecumu tika analizēta atsevišķi HC un SSc pacientu grupās, izmantojot *Pearson's* korelācijas koeficientu (r). Vienfaktora analīzē, salīdzinot SSc pacientus ar HC grupu, tika izmantots augsts nozīmīguma sliekšnis $FC > 1,5$ un p vērtība $< 0,05$. Apakšgrupu analīzē sliekšnis tika pazemināts līdz $FC > 1,3$ un p vērtībai $< 0,1$. Stabiņu diagrammās metabolītu sākotnējās koncentrācijas tika normalizētas pret katra metabolīta vidējo koncentrāciju veselo kontroles grupā. Metabolīti tika attēloti kā vidējā vērtība \pm standartnovirze, bet individuālie mērījumi parādīti kā atsevišķi punkti. Statistiskā nozīmība starp grupām tika noteikta, izmantojot divfaktoru dispersijas analīzi (*2-way ANOVA*), ar *Šidkà's* korekciju divu grupu salīdzinājumos un *turkey's* testu trīs grupu salīdzinājumos. Tika ziņotas koriģētās p vērtības. Slimības prognozēšanas modeļiem dati tika \log_{10} transformēti un Pareto svērti. Modeļi tika izstrādāti, izmantojot lineāro atbalsta vektoru mašīnu. Eksploratīvai analīzei tika izveidoti seši dažādi modeļi ar fiksētu pazīmju skaitu, un gala modeļi iegūti, caurmērot vairākas iterācijas. Modeļu izveidē metabolīti tika atlasīti, balstoties vai nu uz vienfaktora statistisko nozīmīgumu (vulkāna diagrammas), vai arī uz vidējiem svarīguma rādītājiem slimības klasifikācijai, izmantojot atbalsta vektoru mašīnu. ROC līknes un 95 % ticamības intervāli tika aprēķināti, izmantojot simtkārtīgu krustenisko validāciju, un tika attēlotas vidējās ROC līknes. Tie paši dati izmantoti gan modeļu apmācībai, gan klašu prognožu vizualizācijai.

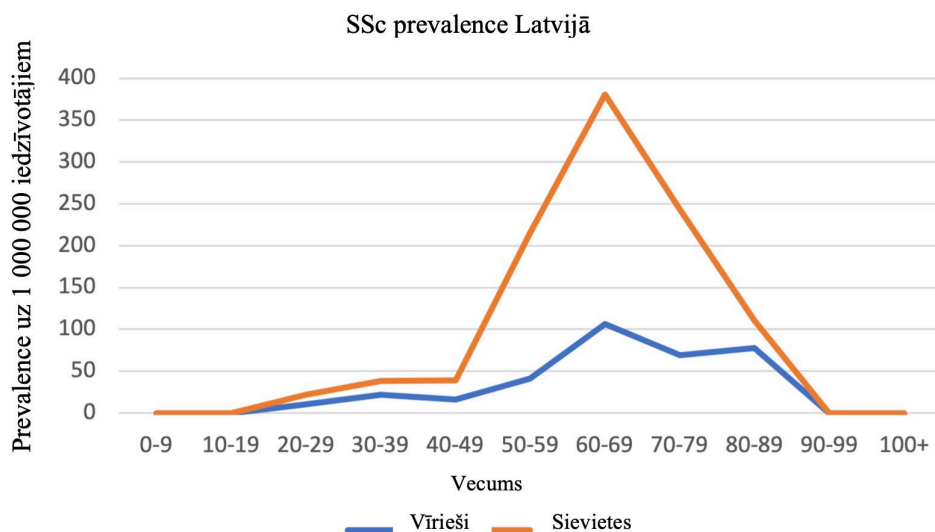
2. Rezultāti

2.1. SSc izplatība un ar dzimumu saistīta kohortas analīze Latvijā

2.1.1. SSc izplatība Latvijā

Laikposmā no 2016. gada janvāra līdz 2021. gada decembrim tika konsultēti 159 pacienti ar SSc. No tiem lielākā daļa bija sievietes (82 %), bet vīrieši veidoja 18 % no visiem pacientiem.

Uz 2021. gada 1. janvāri Latvijas iedzīvotāju skaits bija 1 893 223 un punkta prevalence sasniedza 84,0 gadījumus uz vienu miljonu iedzīvotāju (95 % CI 71,9–98,1). Sievietēm izplatība bija būtiski augstāka nekā vīriešiem, attiecīgi 128,7 (95 % CI 108,5–152,7) un 32,0 (95 % CI 22,1–46,2) gadījumi uz miljonu. Augstākā izplatība tika novērota 60–69 gadu vecumgrupā (2.1. attēls). Visās vecumgrupās sievietēm rādītāji bija augstāki nekā vīriešiem, un šīs atšķirības bija statistiski nozīmīgas.



2.1. attēls. SSc prevalence Latvijā

2.1.2. SSc pacientu klīniskie un imunoloģiskie raksturlielumi ar dzimumu saistītām atšķirībām

ANA un to paterni

ANA klātbūtne tika izvērtēta un konstatēta 82,58 % no 155 pacientiem. ANA paterns tika analizēts 123 pacientiem un ir attēlots 2.1. tabulā.

2.1. tabula

Dzimumam specifiski AV raksturlielumi pacientiem ar SSc

	Vīrieši	Sievietes	Kopā
ANA pozitīvs (n)	22	106	128
ANA paterns pozitīvs (n)	21	102	123
Centromēru paterns (n (%))	4 (19,04 %)	41 (40,19 %)	45 (36,88 %)
Plankumveida paterns (n (%))	12 (57,14 %)	52 (50,98 %)	64 (52,03 %)
Anti-topoisomerase I (n (%))	7 (33,33 %)	32 (31,37 %)	25 (20,32 %)
Homogēns paterns (n (%))	2 (9,52 %)	6 (5,88 %)	8 (6,50 %)
Kodoliņu paterns (n (%))	3 (14,28 %)	4 (3,92 %)	7 (5,69 %)

Klīniskie raksturlielumi

No 159 atlasītajiem pacientiem 103 piekrita piedalīties šajā pētījumā, no kuriem 85 bija sievietes un 18 vīrieši. Visi pētījumā iekļautie pacienti bija baltās rases. Pacientu klīniskie raksturlielumi ir apkopoti 2.2. tabulā.

2.2. tabula

Dzimumam specifiski klīniskie raksturlielumi pacientiem ar SSc

		Vīrieši	Sievietes	Kopā
Raksturlielums	Pacientu skaits, n	18	85	103
	Minimālais slimības ilgums, gadi	1	2	1
	Maksimālais slimības ilgums, gadi	21	41	41
	Vidējais slimības ilgums ± SD, gadi	8,95 ± 6,33	15,14 ± 9,87	14,06 ± 9,62
	Minimālais slimības sākuma vecums, gadi	14	5	5
	Maksimālais slimības sākuma vecums, gadi	80	74	80
	Vidējais slimības sākuma vecums ± SD, gadi	50,5 ± 16,64	46,51 ± 13,51	47,21 ± 14,10
Simptomi	Reino fenomens, n (%)	16 (88,88 %)	71 (83,52 %)	87 (84,46 %)
	mRSS, vidējais ± SD	10,36 ± 12,95	10,67 ± 8,78	10,63 ± 9,41
SSc tipi (n = 30)	<i>Sine-scleroderma</i>	0	3 (11,54 %)	3 (10 %)
	Limitēta	2 (50 %)	15 (57,69 %)	17 (56,67 %)
	Difūza	2 (50 %)	8 (30,77 %)	10 (33,33 %)
Intersticiāla plaušu slimība (n = 99), n (%)		7 (38,89 %)	29 (35,80 %)	36 (36,36 %)
Pulmonālā hipertensija (n = 71), n (%)		4 (30,77 %)	15 (25,42 %)	19 (26,76 %)
Barības vada dismotilitāte (n = 57), n (%)		5 (45,45 %)	18 (39,13 %)	23 (40,35 %)
Ārstēšana (n = 101), n (%)	Glikokortikosteroīdi,	12 (66,66 %)	57 (67,05 %)	69 (66,99 %)
	Metotreksāts	7 (38,88 %)	51 (60,00 %)	58 (56,31 %)
	Mikofenolāta mofetils	9 (50,00 %)	33 (38,82 %)	42 (40,77 %)
	Ciklofosfamīds	4 (22,22 %)	15 (17,64 %)	19 (18,44 %)
	Azatioprīns	2 (11,11 %)	11 (12,94 %)	13 (12,62 %)
Autologa hematopoētisko cilmes šūnu transplantācija		0	1 (1,17 %)	1 (0,97 %)

2.2. PNP izplatība SSc pacientiem un ietekme uz dzīves kvalitāti, saistītu ar veselību

Kopumā 100 pacienti piekrita veikt NG. LFN tika konstatēta 43 % no 100 pacientiem. No tiem 15 pacientiem tika diagnosticēta sensomotorā demielinizējoša PNP, savukārt 28 pacientiem – sensomotorā aksonālā demielinizējoša PNP. 2.3. tabulā ir attēlotas demogrāfisko, klīnisko un neirofizioloģisko raksturlielumu atšķirības starp SSc pacientiem ar LFN un bez LFN.

2.3. tabula

Demogrāfiskie, klīniskie un neirofizioloģiskie raksturlielumi un to salīdzinājums SSc pacientiem ar LFN un bez LFN

Mainīgais	SSc bez PNP (LFN) 57 (57 %)	SSc ar PNP (LFN) 43 (43 %)	p
Dzimums, n (%)			0,0
Vīrieši	5 (29,41 %)	12 (70,59 %)	–
Sievietes	52 (62,65 %)	31 (37,35 %)	–
Vecums, gadi (vidējais ± SD)	57,30 (12,24)	67,07 (10,47)	< 0,001
Slimības ilgums, gadi (vidējais ± SD)	12,48 (8,68)	16,26 (10,51)	0,049
mRSS, vidējais ± SD	8,05 (9,14)	7,36 (9,67)	0,715
Reino fenomens, n (%)	51 (89,47 %)	36 (83,7 %)	0,860
Neirogrāfijas rezultāti (vidējais ± SD)			
<i>nervus peroneus</i>			
Amplitūda (mV)	3,32 (1,79)	2,10 (1,28)	< 0,001
Ātrums (m/s)	45,2 (11,1)	41,7 (3,43)	< 0,001
<i>nervus tibialis</i>			
Amplitūda (mV)	8,38 (2,84)	4,90 (2,84)	< 0,001
Ātrums (m/s)	46,5(2,58)	40,8 (3,20)	< 0,001
<i>nervus suralis</i>			
Amplitūda (mV)	11,7 (6,54)	7,54 (4,73)	0,002
Ātrums (m/s)	47,2 (12,2)	41,1 (1,75)	< 0,001

Regresijas analīze atklāja ciešu saistību starp HAQ-DI rādītāju un PNP attīstības risku. HAQ-DI rādītāja palielināšanās par vienu punktu bija statistiski nozīmīgi saistīta ar PNP attīstības iespējamību, augstāku par 95 % (95 % CI 13–236 %; $p < 0,001$). Pamatojoties uz Youden indeksu, personām ar HAQ-DI rādītāju virs 0,63 PNP attīstības varbūtība pārsniedza 50 %.

Vecums arī bija nozīmīgs PNP attīstības prognozētājs. Katrs papildu dzīves gads bija saistīts ar 9 % PNP riska pieaugumu (95 % CI 4–14 %; $p < 0,001$).

No 57 pacientiem bez LFN 38 piekrita veikt QST. No tiem 29 pacientiem tika konstatētas izmaiņas, kas varētu liecināt par SFN.

2.3. PNP SSc gadījumā: cēloņu un biomarkieru izpēte

Turpmākajiem izmeklējumiem SSc pacienti tika sadalīti divās grupās – pacienti ar PNP un pacienti bez PNP – atbilstoši NG rezultātiem.

2.3.1. SSc specifiskās AV un AV pret noteiktiem NS komponentiem

SSc specifiskās AV tika izvērtētas 97 pacientiem (2.4. tabula), un netika konstatētas statistiski nozīmīgas atšķirības starp pacientiem ar PNP un bez PNP ($p > 0,05$).

Anti-MAG un antigangliozīdu AV tika noteiktas 24 pacientiem. Visiem 24 pacientiem, balstoties uz NG rezultātiem, tika diagnosticēta PNP, tomēr šiem pacientiem netika konstatēts būtisks AV līmeņa paaugstinājums virs atsauces vērtībām.

2.4. tabula

SSc specifiskās AV pacientiem ar un bez PNP

SSc specifiskās AV	SSc bez PNP, %	SSc ar PNP, %	Kopā, %	p vērtība
Klasiskās AV (%)			61,86	–
CENP-A / CENP-B	36,84	37,50	36,08	0,852
Scl-70	24,56	20,00	22,68	0,597
RP-11 / RP-155	1,75	5,00	3,09	0,363
Jaunās AV (%)			45,36	–
Ro-52	26,32	17,50	22,68	0,307
PM75 / PM 100	3,51	7,5	6,18	0,381
Ku	5,26	5,00	5,15	0,954
Th / To	1,75	7,5	4,12	0,161
NOR90	7,02	0	4,12	0,087
Fib	0	2,5	1,03	0,230
PDGFR	0	0	0	–

2.3.2. Potenciālie PNS seruma biomarkieri

Potenciālie PNS seruma biomarkieri – NfL, GFAP, GDF15 un FGF21 – tika izvērtēti 68 pacientiem, no kuriem 30 pacientiem bija PNP, bet 38 pacientiem PNP netika konstatēta (2.5. tabula).

NfL, GFAP un GDF15 līmenis serumā bija statistiski nozīmīgi paaugstināts pacientiem ar PNP ($p < 0,05$), ar vidēju līdz augstu efekta lielumu ($r = 0,36-0,65$).

2.5. tabula

Biomarkieru līmeņu salīdzinājums SSc pacientiem ar PNP un bez PNP

Parametrs	SSc bez PNP 38 (55,88 %)	SSc ar PNP 30 (44,11 %)	p	r
	Mediāna (interkvartīļu diapazons)	Mediāna (interkvartīļu diapazons)		
NfL, pg/mL	9,8 (6,0–13,1)	15,3 (11,8–25,0)	< 0,001	0,62
GFAP, pg/mL	77,1 (43,9 – 99,0)	100,5 (67,8–159,8)	0,011	0,36
GDF15, pg/mL	964,5 (705–1389)	1681,5 (1303–2049)	< 0,001	0,65
FGF21, pg/mL	130,7 (65,3–372,5)	148,3 (99,5–287,5)	0,501	NA

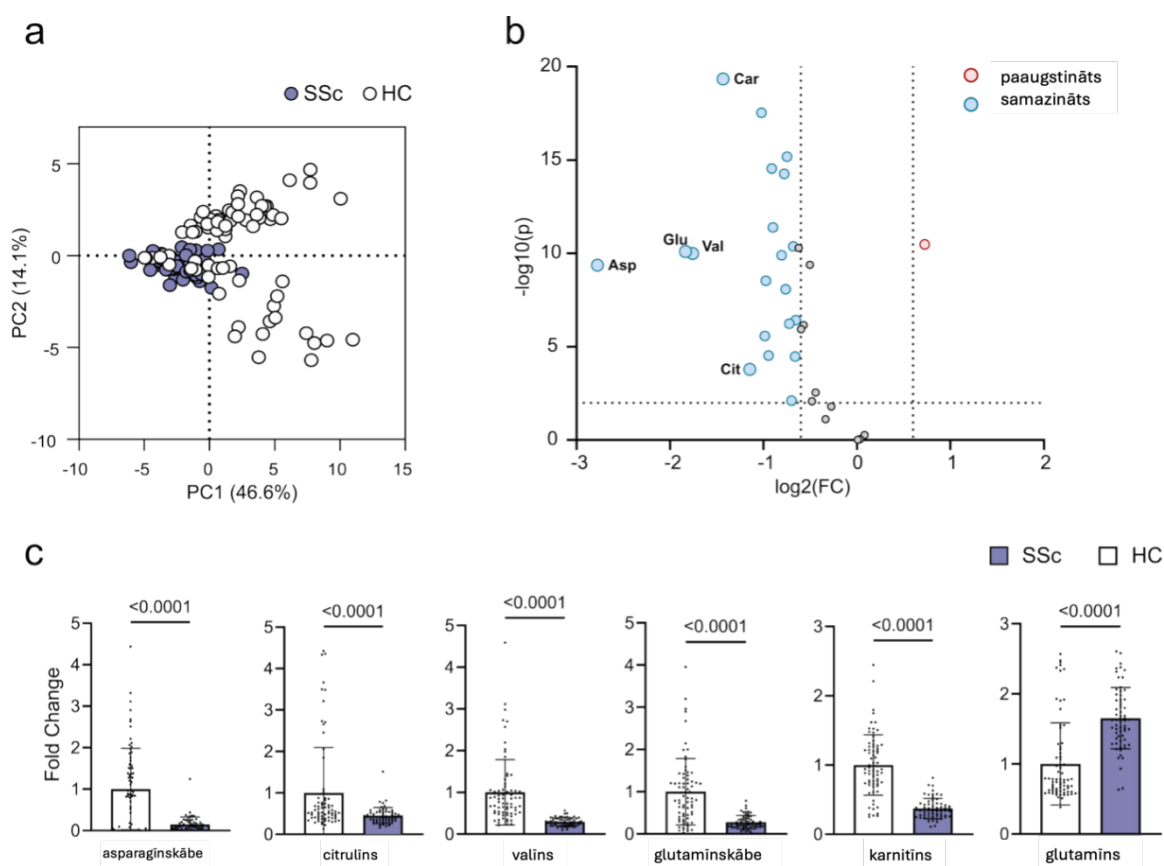
2.4. Seruma metaboloma profils

Pētījumā iekļautā plazmas paraugu kopa sastāvēja no 62 pacientiem ar SSc, no kuriem 26 pacientiem tika diagnosticēta PNP (42 %).

2.4.1. Metabolīti SSc pacientiem

Sākotnēji tika salīdzināti visu SSc pacientu plazmas metabolīti ar HC grupu. Balstoties uz galveno komponentu analīzi (2.2.a attēls), netika novērota skaidra šo grupu atdalīšanās. Tomēr vairāku metabolītu koncentrācijas SSc pacientu plazmā bija statistiski nozīmīgi izmainītas (2.2.b attēls).

Izteiktākās izmaiņas ar $FC > 2$ tika konstatētas asparagīnskābei, glutamīnskābei, valīnam un citrulīnam, kuru koncentrācijas bija samazinātas (2.2.b, c attēls). Īpaši vulkāna diagrammā bija novērojams vispārējs metabolītu koncentrāciju samazinājums, izņemot glutamīnu, kura FC pārsniedza 1,5.

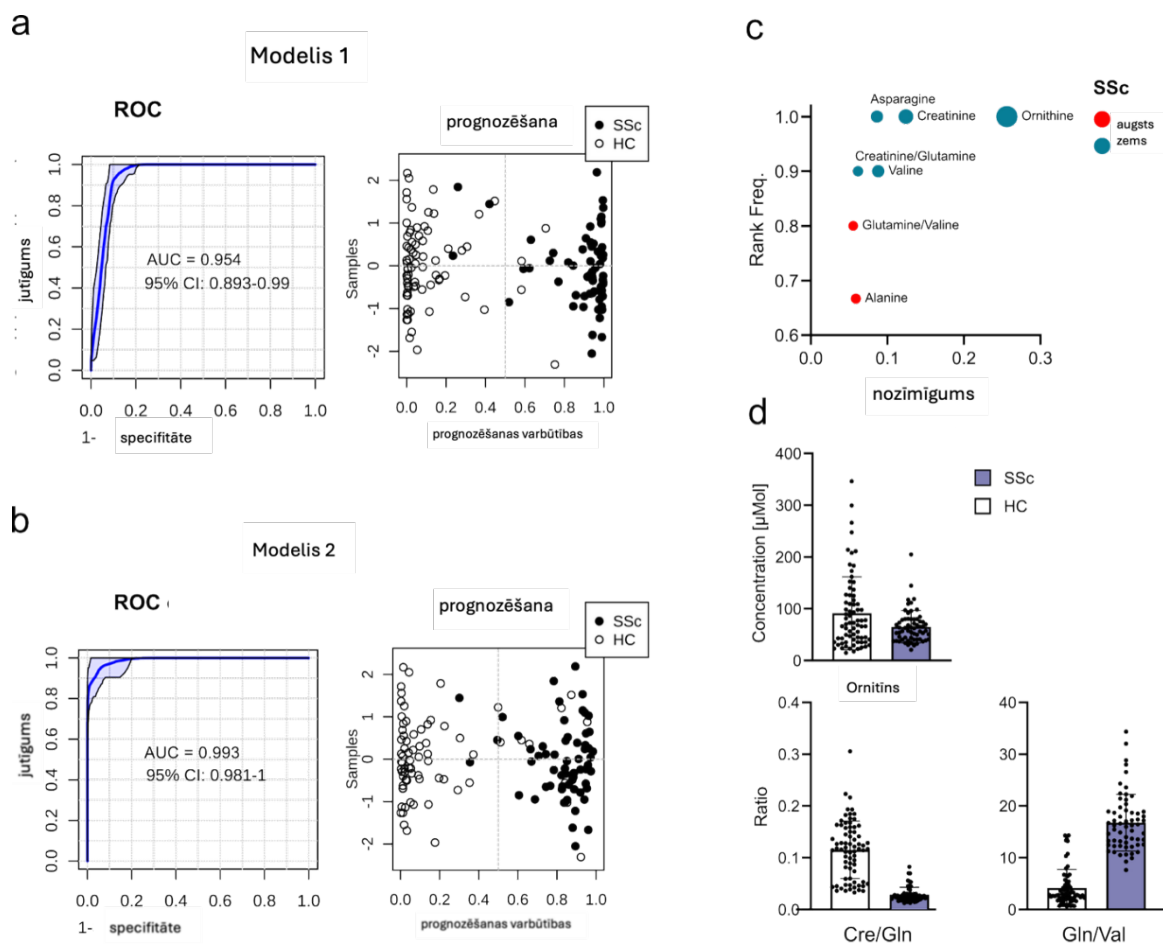


2.2. attēls. Plazmas metabolītu izmaiņas SSc pacientiem salīdzinājumā ar HC

Slimības prognozēšanas modeļi

Balstoties uz hipotēzi, ka asins plazmas metabolītus iespējams izmantot kā potenciālus slimības biomarķierus, tika pārbaudīta datu kopas spēja atšķirt SSc pacientus no HC. Slimības prognozēšanas modeļu izveidei tika izmantoti gan atsevišķi metabolīti, gan divu metabolītu attiecības.

Modeļu izstrādē tika izmantoti gan metabolīti ar statistiski nozīmīgām izmaiņām (2.3.a, c attēls), gan metabolīti ar augstu prognozējošo nozīmīgumu (2.3.b attēls). 1. modelis balstījās uz metabolītiem, kas tika identificēti, izmantojot FC, kā rezultātā tika izveidota četru metabolītu kombinācija: asparagīnskābe, glutamīnskābe, glutamīns un karnitīns. 2. modelī tika izmantoti metabolīti ar augstu prognozējošo nozīmīgumu, apvienojot ornitīnu un metabolītu attiecības glutamīns/valīns un kreatinīns/glutamīns (2.3.d attēls). Abi modeļi ļāva skaidri atšķirt pacientus no HC, sasniedzot AUC vērtības attiecīgi 0,954 un 0,993.



2.3. attēls. Prognozēšanas modeļi, kas atšķir SSc pacientus no HC

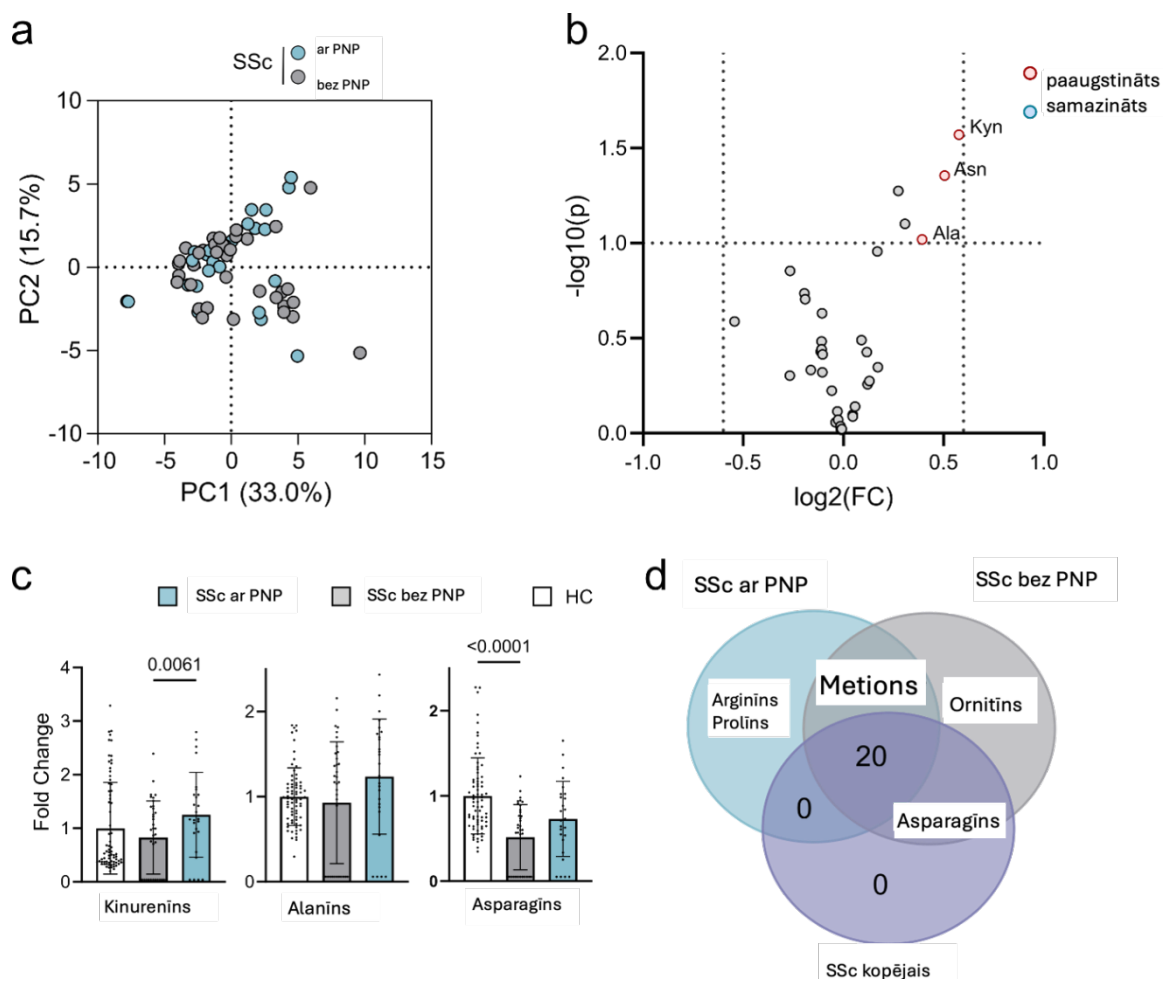
2.4.2. SSc pacientu ar PNP diferenciacija

SSc pacienti tika papildus iedalīti apakšgrupās, balstoties uz PNP diagnozi. Arī šajā gadījumā galveno komponentu analīze neuzrādīja skaidru atdalīšanos starp apakšgrupām (2.4.a attēls). Atšķirībā no SSc pacientu salīdzinājuma ar HC netika konstatēti metabolīti ar augstu izmaiņu koeficientu ($FC > 1,5$) vai p vērtību $< 0,05$, kas ļautu atšķirt SSc pacientus ar PNPun bez PNP.

Nelielas izmaiņas tika novērotas, izmantojot zemāku sliekšni ($FC > 1,3$ un p vērtība $< 0,1$). Pielietojot šos kritērijus, tika konstatēts paaugstināts triptofāna metabolīta kinurenīna līmenis, kā arī asparagīna un alanīna koncentrācijas pieaugums (2.4.b attēls). Kinurenīns un

alanīns bija raksturīgi tieši SSc pacientu apakšgrupai ar PNP, savukārt asparagīna koncentrācija bija samazināta arī salīdzinājumā ar SSc pacientiem bez PNP un HC (2.4.c attēls). Šie rezultāti rosināja salīdzināt nozīmīgākās metabolītu izmaiņas kopējā SSc pacientu grupā un SSc apakšgrupās ar HC. Lielākā daļa metabolītu izmaiņu bija kopīgas visām grupām. Arginīna un prolīna izmaiņas tika konstatētas tikai SSc pacientiem ar PNP, savukārt ornitīna izmaiņas – tikai SSc pacientiem bez PNP (2.4.d attēls).

Ņemot vērā nelielās atšķirības starp SSc pacientiem ar PNP un bez PNP, nebija iespējams izveidot prognozēšanas modeļus, kas droši atšķirtu šīs divas pacientu grupas.



2.4. attēls. Plazmas metabolītu izmaiņas SSc pacientiem ar PNP un bez PNP

Diskusija

Cik mums zināms, šis ir viens no nedaudzajiem pētījumiem par SSc, kas koncentrējas uz PNS iesaisti, analizējot gan šīs komplikācijas izplatību, gan tās patogēnēzi un smaguma biomarķierus.

SSc izplatība un ar dzimumu saistīta kohortas analīze Latvijā

Latvijā kopējais SSc pacientu skaits iepriekš nebija zināms, tāpēc slimības izplatības noteikšana bija viens no pirmajiem uzdevumiem, salīdzinot iegūtos rezultātus ar citām Ziemeļeiropas un Austrumeiropas valstīm. Šī pētījuma nozīme ir saistīta ar valsts specifiku – nelielu iedzīvotāju skaitu. Mūsu pētījumā pacientu atlasei tika izmantotas datubāzes no abām Latvijas pieaugušo klīniskajām universitāšu slimnīcām, kurās strādā pieredzējušas reimatologu komandas. Gandrīz visi pacienti ar aizdomām par SSc Latvijā tiek sūtīti uz kādu no šīm slimnīcām, tādējādi, atlasot un izvērtējot pacientus no šīm ārstniecības iestādēm, mēs faktiski raksturojām vispārējo Latvijas populāciju. Pētījumā tika iekļauti pacienti, kurus reimatologs izvērtēja laikposmā no 2016. līdz 2021. gadam un kuriem bija apstiprināta SSc diagnoze. Laikā no 2016. līdz 2021. gadam tika identificēti 159 SSc pacienti un punkta prevalence bija 84,0 (95 % CI 71,9–98,1) uz vienu miljonu iedzīvotāju. Ziemeļeiropā un Austrumeiropā ir veikts tikai neliels skaits pētījumu. Vienā pētījumā, kas tika veikts Norvēģijas dienvidaustrumos, SSc prevalence bija 99 uz vienu miljonu iedzīvotāju, kas atbilst citu Ziemeļeiropas valstu datiem un apstiprina priekšstatu par SSc izplatības ziemeļu–dienvidu gradientu Eiropā, ar viszemāko izplatību Ziemeļeiropā (Hoffmann-Vold et al., 2012). Pretēji tam Zviedrijā tika ziņots par augstāku izplatību – 235 uz vienu miljonu iedzīvotāju (Andréasson et al., 2014). Mūsu pētījumā noteiktā prevalence bija zemāka nekā pārskatā par aptuveni 50 publikācijām no Eiropas un Ziemeļamerikas, kur ziņotā izplatība bija attiecīgi 70,2–333,9 un 135–443 uz vienu miljonu iedzīvotāju (Bergamasco et al., 2019). Lai gan mēs nevaram identificēt konkrētu iemeslu šai atšķirībai, relatīvi zemā izplatība, visticamāk, nav saistīta ar pētījuma trūkumiem, bet gan ar iespējamu reimatologu trūkumu valstī un ierobežotu piekļuvi konsultācijām. Tas jo īpaši varētu attiekties uz pacientiem ar lcSSc bez smagas PH, kuri nejūt nepieciešamību vērsties pie ģimenes ārsta. Mēs novērojām visaugstāko izplatību 60–69 gadu vecumgrupā, kas atšķīrās no citu Eiropas valstu datiem. Piemēram, Zviedrijā un Itālijā visaugstākā izplatība tika konstatēta

70–79 gadu vecumgrupā (Ciaffi et al., 2021; Westerlind et al., 2022). Šajā pētījumā sievietēm tika konstatēts augstāks vidējais vecums nekā vīriešiem – attiecīgi 63,12 pret 59,75 gadiem. Norvēģijas pētījumā šāda atšķirība netika novērota un vecuma starpība bija minimāla (56,7 pret 56,1 gadu) (Hoffmann-Vold et al., 2012). Abu dzimumu vidējais vecums mūsu pētījumā bija

augstāks nekā citos līdzīgos pētījumos: $62,53 \pm 12,11$ gadi salīdzinājumā ar $50,8 \pm 12,5$ gadiem Itālijā un $56,8 \pm 12,2$ gadiem Ungārijā (Czirják et al., 2008; Foti et al., 2016). Šajā pētījumā tika novērota lielāks sieviešu pārsvars, nekā parasti aprakstīts pasaules mērogā, – sieviešu un vīriešu attiecība bija 4,67:1 salīdzinājumā ar 3:1. Tomēr tā bija līdzīga citiem Eiropas ziņojumiem, kuros šī attiecība tika lēsta robežās no 3,8 līdz 11,5:1, tādēļ dzimumu atšķirību analīze, visticamāk, būtu jābalsta uz reģionāliem, nevis globāliem, datiem (Bergamasco et al., 2019). Augstākā dzimumu attiecība tika novērota 70–79 gadu vecumgrupā (6,75:1), kas ir pretrunā iepriekšējiem novērojumiem par zemāku attiecību pēc 50 gadu vecuma (2:1) (Sangha, 2000). Jaunākiem pacientiem mēs konstatējām zemāku dzimumu attiecību (2:1), kas atkal atšķirās no pasaules datiem (Sangha, 2000). Ņemot vērā nelielo pacientu skaitu, šie rādītāji jāinterpretē piesardzīgi. Tomēr mūsu pētījumā, iespējams, tika atspoguļota vecāku vīriešu tendence Latvijā izvairīties no medicīniskās palīdzības meklēšanas.

Turpmāk tika analizēti iepriekš noteikto AV rezultāti. No 159 pacientiem ANA dati bija pieejami 155, bet ANA paterns – 122 pacientiem. Lielākā daļa pacientu bija ANA pozitīvi (82,58 %), un visbiežāk tika konstatēti smalki plankumains un centromēru paterns. ANA klātbūtne SSc pacientiem ir plaši aprakstīta, un ziņots pat par 98 % izplatību (Peoples et al., 2016). Trīs seruma antivielas, kas iekļautas 2013. gada klasifikācijas kritērijos (ACA, ATA un ARA), veido vairāk nekā 70 % no visām specifiskām AV iepriekšējos pētījumos (van den Hoogen et al., 2013; Peoples et al., 2016). Diemžēl pētījuma laikā nebija iespējams noteikt ARA, taču 84 pacientiem (68,85 %) no 122 izvērtētajiem tika konstatētas vai nu ACA, vai ATA. Arī jaunākajos datos, ņemot vērā jaunas ar SSc saistītas AV, visaugstākā izplatība saglabājas tieši šīm divām AV (Stochmal et al., 2020). Pretēji mūsu rezultātiem Norvēģijas pētījumā tika konstatēta izteikta ACA predominance salīdzinājumā ar ATA (54,2 % pret 13,5 %) (Hoffmann-Vold et al., 2012). Iepriekš vairākos pētījumos ziņots par augstāku ACA izplatību baltās rases populācijā (McNeilage et al., 1989; Reveille et al., 2001). Savukārt ASV pētījumā, kurā tika analizētas AV dažādās rasēs, tikai 17 % baltās rases pacientu bija ACA pozitīvi, bet lielākam skaitam (19 %) tika konstatētas ARA (Krzyszczak et al., 2011). Mūsu pētījumā ACA pozitīvie pacienti biežāk bija sievietes, savukārt ATA pozitīvo pacientu vidū dzimumu atšķirības nebija tik izteiktas. Citos pētījumos sievietēm būtiski biežāk tika konstatētas ACA, bet vīriešiem – ATA (Peoples et al., 2016). Mūsu pētījums uzrāda atšķirīgus datus: 100 % baltās rases populācijā netika novērota būtiska ACA predominance un tika konstatēta augsta ATA izplatība. Lai gan ANA pozitīvo pacientu skaits bija mazāks nekā lielākajā daļā citu pētījumu, tas varētu pieaugt, veicot atkārtotus izmeklējumus dinamikā (Bobeica et al., 2021).

Turpinājumā pacienti tika uzaicināti piedalīties pētījumā; 103 pacienti sniedza piekrišanu, un tika iegūti detalizēti medicīniskie un klīniskie dati, tostarp vecums slimības sākumā, SSc apakštips, RP klātbūtne, iekšējo orgānu iesaiste, saņemtā imūnsupresīvā terapija, blakusslimības un mRSS novērtējums. Lielākajai daļai pacientu pirmie SSc simptomi, kas nebija saistīti ar RP, parādījās piektajā dzīves desmitgadē. Līdzīgi rezultāti tika novēroti Zviedrijas pētījumā ($48 \pm 4,1$ gads) (Westerlind et al., 2022). Tomēr slimības sākumu ir grūti precīzi noteikt, un citos pētījumos tas nav vienoti definēts. Biežāk tiek analizēts vecums diagnozes noteikšanas brīdī, un Eiropas datos tas svārstās robežās no 33,5 līdz 59,8 gadiem (Bergamasco et al., 2019). Mūsu ieskatā, ir būtiski ņemt vērā arī pacientu novērojumus par pirmajiem simptomiem, kas ļauj izdarīt ticamākus secinājumus par atšķirībām starp populācijām. Pretējā gadījumā, koncentrējoties tikai uz diagnozes laiku, var tikt vērtēts nevis slimības raksturojums, bet gan speciālistu pieejamība dažādās valstīs. Mēs konstatējam nelielu vecuma atšķirību starp dzimumiem slimības sākumā – sievietēm tas bija jaunāks ($46,51 \pm 13,52$ gadi) nekā vīriešiem ($50,5 \pm 16,64$ gadi). Jaunāks slimības sākuma vecums sievietēm nav retums, un līdzīgi rezultāti aprakstīti arī citos pētījumos. Grieķijas pētījumā vecuma atšķirība bija izteiktāka un sievietes bija jaunākas (Alamanos et al., 2005). Pitsburgā (ASV) iegūtie rezultāti bija ļoti līdzīgi mūsējiem: $43,8 \pm 4,0$ gadi sievietēm un $46,4 \pm 13,7$ gadi vīriešiem (Peoples et al., 2016). Lai gan vīriešu skaits pētījumā bija neliels (18 pacienti), mēs novērojam līdzīgu tendenci ar smagāku slimības gaitu, ar biežākuILD (35,80 % sieviešu un 38,89 % vīriešu) un PH (25,42 % sieviešu un 30,77 % vīriešu), kā tas aprakstīts arī citos pētījumos (Hughes et al., 2020; Pasarikovski et al., 2016; Volkmann et al., 2022). Tā kā šie ir galvenie ar SSc saistītās mirstības cēloņi, šie dati arī izskaidro sliktākus slimības iznākumus vīriešiem. Tomēr nav skaidru datu par barības vada dismotilitātes sastopamības atšķirībām starp dzimumiem. Vēsturiski dismotilitāte tika uzskatīta par simptomu, kas cieši saistīts ar lcSSc apakštipu, taču mūsu pētījumā tā tika novērota biežāk vīriešiem (39,13 % sieviešu un 45,45 % vīriešu), lai gan lcSSc vīriešiem nebija dominējošais slimības apakštips (Arana-Guajardo et al., 2019; Kimmel et al., 2016).

Tika apkopota arī informācija par imūnsupresīvo medikamentu lietošanu gan no medicīniskās dokumentācijas, gan no pacientu sniegtajiem datiem. Mēs konstatējam, ka vairāk nekā puse pacientu (68,31 %) kādā slimības posmā bija saņēmuši ārstēšanu ar GK. Lai gan šis rādītājs ir īpaši augsts, šāda tendence nav raksturīga tikai mūsu pētījumam. Vācijas SSc tīkla dati liecina, ka 41,3 % reģistrēto SSc pacientu tika ārstēti ar GK (Hunzelmann et al., 2009). EUSTAR datubāze sniedza detalizētus datus par GK nozīmēšanas praksi SSc gadījumā – 34 % pacientu pētījuma sākumā lietoja GK, taču ārstēšana no slimības sākuma netika analizēta. Latvijā šādu datu iepriekš nebija, tomēr interesanti, ka Austrumeiropas valstīs GK tika nozīmēti

biežāk (Iudici et al., 2023). EULAR rekomendāciju atjauninājumā SSc ārstēšanai eksperti atzina, ka GK, kas tiek lietoti SSc gadījumā, ir daļa no terapijas stratēģijas ILD, dcSSc vai muskuloskeletāras iesaistes gadījumos (Kowal-Bielecka et al., 2017). Pierādījumi par to efektivitāti SSc ārstēšanā ir ierobežoti (McNeilage et al., 1989). Latvijā GK lietošana bija izteiktāka pacientiem ar dcSSc (90 %), tomēr tie tika lietoti arī vairāk nekā pusei pacientu ar lcSSc (70,59 %) un *sine-scleroderma* (66,67 %). Visgrūtāk izskaidrojama GK lietošana bija 57 % pacientu, kuri tos lietoja bez difūzas ādas iesaistes un bez ILD. Pētījumā iekļautie pacienti tika ārstēti vairāku desmitgažu garumā, kas, mūsdiā, arī izskaidro augsto GK lietošanas biežumu. Iepriekš uz GK SSc ārstēšanā tika liktas lielākas cerības. Mēs neanalizējām GK lietošanu laika gaitā, taču, balstoties uz jaunākiem pētījumiem, pastāv liela iespējamība, ka GK lietošana Latvijā nākotnē samazināsies. Attīstoties izpratnei par imūnsupresīvās terapijas lomu SSc ārstēšanā, ir ticams, ka arī dati Latvijā uzrādīs pozitīvu tendenci GK lietošanas samazināšanā.

PNP izplatība SSc pacientiem un ietekme uz dzīves kvalitāti, saistītu ar veselību

Turpmāk tika veikts detalizēts PNS iesaistes izvērtējums SSc pacientiem, sistemātiski analizējot gan LFN, izmantojot NG, gan SFN, balstoties uz QST rezultātiem pacientiem, kuru NG rezultāti nebija saderīgi ar LFN. Kopumā 100 pacienti piekrita veikt NG izmeklējumu. LFN tika konstatēta 43 % no 100 pacientiem: 15 pacientiem bija sensorimotorā demielinizējoša PNP, bet 28 pacientiem – sensorimotorā aksonālā demielinizējoša PNP.

No 57 pacientiem bez LFN 38 piekrita veikt QST izmeklējumu. No tiem 29 pacientiem tika konstatētas izmaiņas, kas bija saderīgas ar SFN. Izslēdzot 19 pacientus, var pieņemt, ka PNP izplatība SSc pacientu vidū ir ļoti augsta, skarot gandrīz 90 % pacientu. Lai gan daļai pacientu bija iespējami sekundāri PNP riska faktori, mēs nekonstatējām būtiskas atšķirības starp pacientiem ar PNP un bez tās; tomēr pacientu grupa bez PNP bija pārāk neliela, lai izdarītu pārliecinošus secinājumus par PNP attīstību neatkarīgi no zināmajiem riska faktoriem. Papildus tika konstatēts, ka neiropatiskas sāpes ir bieži sastopamas SSc pacientiem (40,59 %), īpaši pacientiem ar LFN (47,62 % pacientu ar LFN un 35,59 % bez LFN), un ka neiropatiskām sāpēm ir būtiska korelācija ar srTNS un trauksmes simptomu smagumu. Ar neiropatiju saistītie simptomi – gan neiropatiskās sāpes, gan neiropatijas smagums – ietekmēja SSc pacientu dzīves kvalitāti. Šajā pētījumā tika konstatēta augstāka PNP izplatība SSc gadījumā nekā citos pētījumos, tomēr tajos izmantotās metodes un materiāli nodrošina plašu rezultātu diapazonu. Nesenā sistemātiskā pārskatā, kurā tika analizēti 113 pētījumi, tika noteikta apvienotā neiropatijas izplatība 27,37 % gadījumu, tostarp 26 % (n = 556/2143) ar SFN un 10,8 % (n = 231/2143) ar LFN (AlMehmadi et al., 2021). Tomēr pētījumi netika atlasīti pēc stingriem

kritērijiem attiecībā uz izvērtētajām neiropātijām, iekļaujot visus darbus, kuros PNP tika konstatēta, balstoties uz simptomiem un klīnisko izmeklēšanu, NG vai citām noteikšanas metodēm. Attiecībā uz LFN daļā pētījumu tika veikti elektrofizioloģiskie izmeklējumi, savukārt citos tika izmantotas attēldiagnostikas metodes, biopsija vai citas pieejas (Campello Morer et al., 2003; Devigili et al., 2019; Dyck et al., 1997; Leichenko et al., 1994; Lori et al., 1996; Nitta et al., 1996; Tagliafico et al., 2011). Tikai daži pētījumi uzrādīja mūsu pētījumam līdzīgus rezultātus. Vienā pētījumā par ultrasonogrāfijas nozīmi perifēro nervu izvērtēšanā SSc gadījumā klīniskā izmeklēšanā sensorie traucējumi tika konstatēti 40 % (n = 10/25) pacientu, taču izmantotās attēldiagnostikas metodes atklāja izmaiņas 7 no 10 pacientiem (Devigili et al., 2019). Tomēr PNS izmeklēšana tika veikta tikai vidējā un elkoņa nerva līmenī, novērojot kompresijas neiropātijas. Mēs uzskatām, ka augstā LFN izplatība skaidrojama ar relatīvi lielu pētījuma grupu un to, ka visi pacienti tika izvērtēti, izmantojot gan klīnisko simptomu analīzi, gan elektrofizioloģiskās metodes, kurās tika pētītas gan motorās, gan sensorās komponentes vairākos katras ekstremitātes nervos. Mūsu pētījums liecina, ka smalko nervu šķiedru bojājumi SSc gadījumā ir bieži sastopami. Kā minēts iepriekš, nesēnā sistemātiskā pārskatā par PNP SSc gadījumā SFN izplatība bija vairāk nekā divas reizes augstāka nekā LFN (AlMehmadi et al., 2021). Šajā pētījumā no 38 pacientiem, kuriem NG neuzrādīja izmaiņas, tikai deviņiem bija normāli QST rezultāti. Augstā SFN izplatība var būt saistīta ar ādas bojājumu SSc gadījumā, tomēr netika konstatēta būtiska atšķirība starp ādas iesaistes smagumu un SFN klātbūtni. SFN diagnostika var būt sarežģīta, jo diagnostiskie kritēriji vēl nav pilnībā izstrādāti, un standartizētu kritēriju trūkums var ietekmēt arī mūsu pētījuma rezultātus, jo SFN diagnoze tika noteikta, balstoties tikai uz QST rezultātiem. Balstoties uz šajā pētījumā pieejamajiem datiem, nav iespējams izdarīt stingrus secinājumus par smalko nervu šķiedru iesaisti SSc gadījumā.

Tika izvērtēta arī blakusslimību un imūnsupresīvās terapijas iespējamā ietekme uz PNP attīstību SSc pacientiem. Šajā kohortā blakusslimības, kā cukura diabēts (CD), vai imūnsupresīvie līdzekļi, tostarp ciklofosfamīds, nebija saistīti ar PNP attīstību.

PNP SSc gadījumā: cēloņu un biomarkieru izpēte

Turpmākiem izmeklējumiem SSc pacienti tika iedalīti divās grupās – pacienti ar PNP un pacienti bez PNP – saskaņā ar NG rezultātiem.

Kā minēts iepriekš, vēsturiski vislielākā uzmanība ir pievērsta klasiskajām SSc specifiskajām AV – ATA, ACA un ARA. Tomēr mūsdienās līdztekus klasiskajām AV tiek izvērtētas arī jaunas AV un to klātbūtne dažādos klīniskajos fenotipos joprojām ir aktuāls pētniecības mērķis (Cavazzana et al., 2023; Yang et al., 2020). Tikai nelielā skaitā pētījumu ir analizēta šī klasiskā AV saistība ar neiropātijām SSc gadījumā, un iegūtie rezultāti ir bijuši ļoti

atšķirīgi. 1994. gada pētījumā 35 % SSc pacientu tika konstatēti neiroloģiski simptomi un 73 % no tiem bija ARA vai ATA, bet ne ACA (Hietarinta et al., 1994). Pretēji tam 2021. gada sistemātiskajā pārskatā tika norādīts, ka ACA ir riska faktors nekompresijas neiropatijām SSc pacientiem (AlMehmadi et al., 2021). Līdzīgi Brazīlijā veiktā pētījumā, kurā tika analizēti 63 SSc pacienti, septiņiem tika diagnosticēta PNP; no tiem sešiem bija ACA un vienam ARA (Skare et al., 2011). Spānijas pētījumā ARA, ATA un ACA tika konstatētas SSc pacientiem ar PNP, tomēr autori nesniedza statistisko analīzi (Iniesta Arandia et al., 2017).

Paplašināts SSc specifisko AV panelis pēdējos gados ieņem arvien nozīmīgāku lomu gan pētniecībā, gan klīniskajā praksē. Lai gan SSc raksturo plašs klīnisko fenotipu spektrs, informācijas par NS iesaisti bieži vien trūkst (Clark et al., 2022). Mēs neatradām publicētus datus par paplašināto SSc specifisko AV klātbūtni pacientiem ar SSc un NS bojājumu. Visbiežāk sastopamās SSc specifiskās AV bija anti-Ro52, ACA un ATA. Tikai 3 % pacientu bija ARA pozitīvi, retāk nekā AV, kas nav iekļautas SSc klasifikācijas kritērijos, piemēram, anti-Ku, anti-PM100, anti-Th/To un anti-NOR90. Interesanti, ka nevienam no mūsu pacientiem netika konstatētas anti-PDGFR AV un tikai vienam pacientam tika konstatētas anti-Fib antivielas. Mēs nekonstatējām būtisku saistību starp kādu no SSc specifiskajām AV un PNP klātbūtni, lai gan jāatzīmē, ka anti-Ro52 klātbūtne uzrādīja iespējamās aizsargfaktora pazīmes attiecībā uz PNP attīstību.

Autoimūnās neiropatijās gangliozīdi ir viens no biežākajiem AV mērķiem (He et al., 2015). Gangliozīdi ir nervu šķiedru glikoproteīni, kuriem ir būtiska nozīme gan impulsu pārvadē, gan nervu šķiedru reģenerācijā. Antigangliozīdu AV bieži tiek konstatētas *Guillain–Barré* sindroma pacientu serumā (37–78 % gadījumu) (Naik et al., 2017). Tās ir pētītas arī pacientiem ar sistēmisko sarkano vilkēdi un neiropsihiskām izpausmēm – AV biežāk tika konstatētas pacientiem ar neiropsihiskiem simptomiem nekā asimptomātiskajā grupā (Labrador-Horrillo et al., 2012). Pētījumu par antigangliozīdu AV SSc pacientiem ir ļoti maz. 1994. gadā tika analizēti 34 pacienti ar sklerodermiju, no kuriem 28 bija PNP, un tika noteikta anti-GM1 antivielu klātbūtne. Šo antivielu līmenis sklerodermijas pacientiem bija zemāks nekā veseliem kontroles grupas indivīdiem, un netika konstatēta saistība ar PNP attīstību (Zeballos et al., 1994). Mūsu pētījumā, kas veikts gandrīz 30 gadu vēlāk, mēs arī nekonstatējām būtisku saistību starp anti-MAG vai antigangliozīdu antivielām un PNP attīstību SSc pacientiem. Ņemot vērā datu trūkumu par PNP saistību ar NS specifiskām antivielām SSc gadījumā, sākotnēji AV tika noteiktas tikai daļai pacientu ar diagnosticētu PNP, kas tika atlasīti nejauši. Maz ticams, ka AV noteikšana visiem PNP pacientiem būtiski mainītu rezultātus, un pat zemu titru gadījumā šādi dati, visticamāk, atspoguļotu viltus pozitīvus rezultātus un nevajadzīgi sarežģītu pētījuma kopējo interpretāciju.

Šajā pētījumā neviena AV nebija saistīta ar paaugstinātu PNP risku SSc pacientiem. Pašlaik imūnmediēts perifēro nervu bojājums SSc gadījumā joprojām ir diskutabls. Arī imūnsupresīvo medikamentu loma PNP ārstēšanā SSc pacientiem ir neskaidra, un, balstoties uz mūsu datiem, nav pamata sagaidīt to efektivitāti. Nepieciešami turpmāki pētījumi, lai prognozētu PNS bojājuma risku SSc pacientiem un nodrošinātu atbilstošu pacientu aprūpi.

Tālāk mēs analizējam dažādus seruma marķierus kā potenciālus biomarķierus PNP diagnostikai un smaguma pakāpes noteikšanai SSc gadījumā. Pēdējos gados ir identificēti vairāki veiksmīgi jauni seruma biomarķieri ILD SSc gadījumā, tostarp surfaktanta proteīns D, *Krebs von den Lungen-6* glikoproteīns, CCL18 un starpšūnu adhēzijas molekula 1 (Elhai et al., 2019; Jee et al., 2023). Tomēr līdz šim nav veikti pētījumi par seruma biomarķieriem PNS bojājuma noteikšanai SSc pacientiem. Tāpēc mēs izvēlējamies analizēt perspektīvākos biomarķierus, balstoties uz to iespējamo saistību ar PNS. No četriem izvērtētajiem seruma biomarķieriem – NfL, GFAP, GDF15 un FGF21 – trīs uzrādīja potenciālu kā PNP biomarķieri SSc pacientiem. NfL izceļas kā jauns biomarķieris agrīnai diabētiskai neiropātijai (DN); iespējams, pastāv līdzīgi asinsvadu bojājuma mehānismi gan DN, gan PNP SSc gadījumā (Maalmi et al., 2023). Mūsu rezultāti uzrādīja būtiski augstāku NfL līmeni SSc pacientiem ar PNP salīdzinājumā ar pacientiem bez PNP, apstiprinot NfL nozīmi kā seruma biomarķieri dažādas etioloģijas neiropātijām (Fundaun et al., 2022). Mazāk pētīts biomarķieris PNP gadījumā ir GFAP, kas tradicionāli tiek saistīts ar centrālās nervu sistēmas bojājumu, jo to galvenokārt producē astrocīti. Tomēr pētījumi ir pierādījuši GFAP klātbūtni arī PNS (Fang et al., 2016; Yang et al., 2015). Ir ziņots par paaugstinātu GFAP līmeni serumā hronisku neiropātijā gadījumā, piemēram, hroniskā sensorimotorā aksonālā neiropātijā un hroniskā iekaisīgā demielinizējošā PNP (Notturmo et al., 2009). Atšķirībā no NfL, GFAP nav plaši pētīts DN gadījumā, kas samazina iespēju to tieši saistīt ar asinsvadu bojājuma izraisītu neiropātijā. Mēs neatradām pētījumus par GFAP SSc gadījumā, taču mūsu pētījumā seruma GFAP līmenis bija būtiski paaugstināts SSc pacientiem ar PNP, salīdzinot ar pacientiem bez PNP. GDF15 un FGF21 ir mazāk saistīti ar NS. GDF15 ir citokīns, kas pieder transformējošā augšanas faktora beta superģimenei, un tā paaugstināts līmenis tiek novērots iekaisuma, miokarda išēmijas un audzēju gadījumā (Wischhusen et al., 2020). Citās publikācijās ir konstatēts paaugstināts GDF15 līmenis SSc pacientiem ar PH, kā arī pacientiem ar ILD un izteiktākiem ādas bojājumiem (Gamal et al., 2017; Meadows et al., 2011; Wan et al., 2024). Ir pierādījumi, ka nervu bojājuma gadījumā Švāna šūnas pastiprināti izdala GDF15, un paaugstināts GDF15 līmenis ir konstatēts arī DN pacientiem, īpaši ar izteiktāku metabolā sindroma klīnisko ainu (Jennings et al., 2022; Mensching et al., 2012; Weng et al., 2022). Mēs konstatējam būtiski paaugstinātu GDF15 līmeni SSc pacientiem ar PNP salīdzinājumā ar pacientiem bez PNP.

Jāuzsver, ka līdz šim nav publicēti citi pētījumi, kuros šis biomarķieris būtu analizēts SSc pacientiem ar neiropātijām. Vienīgais biomarķieris, kas neuzrādīja būtiskas atšķirības starp SSc pacientiem ar PNP un bez PNP, bija FGF21. Šis pleiotropais hormons, kas tiek uzskatīts par nozīmīgu enerģijas homeostāzes regulatoru, galvenokārt tiek sintezēts aknās, aizkuņģa dziedzerī un taukaudos (Catalán et al., 2018; Cho et al., 2022). Neseni pētījumi parādījuši, ka FGF21 piemīt reģeneratīvas īpašības PNS, samazinot oksidatīvo stresu, un ka FGF21 līmenis paaugstinās DN pacientiem pēc aerobiem treniņiem (Molnár et al., 2022; Lu et al., 2019). Lai gan pētījumi par FGF21 līmeni SSc pacientiem nav veikti, mūsu dati liecina, ka FGF21 līmenis SSc pacientiem ar PNP būtiski nemainās, norādot uz vājāku saistību ar NS salīdzinājumā ar citiem biomarķieriem.

Izmantojot NG, mēs konstatējām, ka aksonālā demielinizējošā PNP forma bija visbiežāk sastopamā SSc pacientiem. Nozīmīgu korelāciju trūkums starp AV un PNP mudināja mūs apsvērt alternatīvus patoģenētiskos mehānismus. Salīdzinot pacientus ar PNP un bez tās, tika konstatētas vairākas būtiskas atšķirības: pacienti ar PNP bija vecāki (vidējais vecums 67 gadi salīdzinājumā ar 57 gadiem) un PNP biežāk tika novērota vīriešiem (66 % pret 36 %). Šie novērojumi liecina, ka novecošanās, metabolie faktori un išēmiski mehānismi var būt nozīmīgi aksonālo neiropātiju attīstībā, līdzīgi kā idiopātiskas PNP gadījumos. Literatūrā aprakstīta augstāka idiopātiskas PNP izplatība personām, kas vecākas par 60 gadiem. Līdzīgi rezultāti ir iegūti pētījumos par hronisku idiopātisku aksonālu PNP personām virs 60 gadu vecuma, kur vīriešu un sieviešu attiecība bija 3:2 (Samuelsson et al., 2020; Zis et al., 2016). Kā norāda pats nosaukums, šī slimība ir idiopātiska, un metabolie faktori tiek uzskatīti par galvenajiem etioloģiskajiem mehānismiem, tomēr biopsijās konstatētā mikrovaskulopātija atšķiras no DN gadījumiem (Samuelsson et al., 2018; Zis et al., 2016). Šīs sakritības liek domāt par PNP pakāpenisku attīstību SSc pacientiem laika gaitā saistībā ar novecošanos un loģisku slimības progresiju ar izteiktāku vaskulopātiju un metabolo faktoru ietekmi. Mūsu regresijas analīze apstiprināja šo pieņēmumu, uzrādot vecumu kā būtisku PNP attīstības prognozētāju. Aplūkojot seruma biomarķierus, kas mūsu pētījumā bija saistīti ar PNP SSc gadījumā, NfL un GFAP jau iepriekš ir saistīti ar aksonālu bojājumu, kas vēl vairāk pastiprina mūsu hipotēzi par PNP attīstību SSc gadījumā (Gafson et al., 2020; Notturmo et al., 2009). Savukārt GDF15 un FGF21 galvenokārt tiek saistīti ar mitohondriālo stresu un sekojošām metabolām izmaiņām (Li et al., 2022; Patel et al., 2022), un mūsu pētījumā tie uzvedās atšķirīgi. Lai gan FGF21 līmenis bija nedaudz augstāks SSc pacientiem ar PNP, šī atšķirība nebija statistiski nozīmīga. Savukārt GDF15 līmenis bija būtiski paaugstināts SSc pacientiem ar PNP, līdzīgi kā DN gadījumā, kur nozīmīga loma ir metabolam bojājumam (Weng et al., 2022). Mēs uzskatām, ka nepieciešami papildu pētījumi, kuros tiktu izvērtēts muskuļu bojājums un zudums, lai

padziļināti analizētu mitohondriālā bojājuma un metabolo marķieru nozīmi SSc pacientiem. Mūsu rezultāti liecina, ka seruma biomarķieru izmantošana klīniskajā praksē varētu veicināt agrīnu PNS bojājuma identificēšanu SSc pacientiem. Dinamiski monitorējot tādu biomarķierus kā NfL, GFAP un GDF15, varētu būt iespējams konstatēt nervu funkcijas pasliktināšanos bez atkārtotiem elektrofizioloģiskiem izmeklējumiem. Tomēr pētījumi, kas veikti iedzimtu neiropatiju jomā, ir apšaubījuši neirofilamentu līmeņa svārstību efektivitāti slimības progresēšanas uzraudzībā, norādot, ka šie marķieri var nebūt piemēroti lēni progresējošu slimību monitorēšanai to nepietiekamās specifitātes un tendences atspoguļot vispārēju, nevis specifisku, nervu bojājumu dēļ (Setlere et al., 2023).

Seruma metaboloma profila analīze atklāj atšķirības starp SSc pacientiem ar PNP

Iepriekš minētie iemesli mudināja mūs padziļināti pētīt PNP patoģenēzi SSc pacientiem, kas noveda pie metaboloma analīzes veikšanas. Metaboloms – nelielu metabolītu kopums organismā – sniedz ieskatu bioķīmiskajās izmaiņās un potenciālajos biomarķieros, kas saistīti ar tādām slimībām kā SSc (Zhang et al., 2015). Metabolīti var kalpot kā biomarķieri slimības diagnostikai, prognozei, gaitas uzraudzībai un ārstēšanas efektivitātes novērtēšanai (Qiu et al., 2023). Cik mums zināms, šī ir pirmā metaboloma analīze SSc pacientiem, īpašu uzmanību pievēršot PNP klātbūtnei. Sākotnēji tika meklētas atšķirības metabolītu regulācijā starp SSc pacientiem un HC (Bengtsson et al., 2016; Bögl et al., 2022; Guo et al., 2023; Jud et al., 2023; Murgia et al., 2018; Morales-González et al., 2023; Otrria et al., 2020; Smolenska et al., 2020). SSc ir heterogēna slimība ar dažādām klīniskām izpausmēm un atšķirīgu komplikāciju risku (Nagaraja et al., 2020). Neraugoties uz šo heterogenitāti, iepriekšējos pētījumos SSc pacientiem ir konstatētas vairākas vienvēidīgas izmaiņas metaboloma regulācijā. Arī mūsu pētījumā tika konstatētas vairākas būtiskas atšķirības starp SSc pacientiem un HC. Mēs konstatējām, ka asparagīnskābes (aspartāta) koncentrācija SSc pacientiem bija būtiski zemāka nekā HC. Aspartāta nozīmīga funkcija ir makrofāgu polarizācijas veicināšana (Wang et al., 2021). SSc gadījumā vēlinās imūnās atbildes maksimumā endotelīns-1 inducē M2 makrofāgu polarizāciju, pastiprinot profibrotisko aktivitāti (Funes et al., 2018; Soldano et al., 2016). Šie rezultāti liecina, ka SSc gadījumā audu bojājums netiek efektīvi atjaunots, jo pastiprināti un ilgstoši izdalās citokīni un augšanas faktori no M2 makrofāgiem (Christmann et al., 2010). Būtiskās asparagīnskābes izmaiņas, kas konstatētas mūsu un iepriekšējos pētījumos, var liecināt par makrofāgu aktivācijas izmaiņām ar izteiktāku profibrotisku ievirzi, ko apstiprina korelācija ar ādas bojājuma smagumu, signalizējot par makrofāgu disfunkciju (Murgia et al., 2018). Vēl viens mūsu pētījuma atklājums bija samazināta citrulīna koncentrācija SSc pacientu paraugos. Citrulīns ir efektīvs slāpekļa oksīda (NO) sintēzes atjaunotājs apstākļos, kad arginīna

pieejamība ir ierobežota (Kaore et al., 2013). Endotēlija šūnu producētais NO atslābina asinsvadu gludos muskuļus, izraisot vazodilatāciju un nodrošinot mikrocirkulācijas caurlaidību (Al Jasmi et al., 2020). SSc gadījumā mikrovaskulārā gultne ir iekaisuma bojājuma mērķis, kas izraisa asinsvadu tonusa regulācijas traucējumus un progresējošu asinsvadu arhitektūras dezorganizāciju (Matucci Cerinic et al., 2002). Lai gan mūsu dati atšķiras no iepriekš publicētajiem, paaugstināta citrulīna koncentrācija joprojām var būt saistīta ar ādas fibrozes attīstību (Bögl et al., 2022; Smolenska et al., 2020). Vienlaikus mūsu pētījumā novērotā samazinātā citrulīna koncentrācija atspoguļo NO sintēzes traucējumus, kas var veicināt smagāku vaskulopātiju un nākotnē kalpot par vaskulopātijas biomarķieri. Karnitīns bija vēl viens metabolīts ar samazinātu koncentrāciju SSc pacientiem. To var izskaidrot ar muskuļu masas izmaiņām SSc gadījumā – tiek ietekmēta ne tikai āda un zemādas audi, bet arī gludā un skeleta muskulatūra, izraisot vispārēju muskuļu masas zudumu (Bratoiu et al., 2022; Sari et al., 2021). Turpmākie pētījumi varētu apstiprināt korelāciju starp muskuļu masu un karnitīna līmeni SSc pacientiem. Samazināta bija arī valīna koncentrācija. Kā būtisks mitohondriju funkcijas nodrošinātājs un aizsardzības faktors pret oksidatīvo stresu tas var liecināt par mitohondriālu disfunkciju SSc gadījumā (Sharma et al., 2024). Vēl viens metabolīts ar samazinātu koncentrāciju bija glutamīnskābe – galvenais neurotransmiters centrālajā nervu sistēmā. Jaunākie dati liecina, ka iekaisuma mediatoru var regulēt ekstracelulāro glutamīnskābes koncentrāciju gan fizioloģiskos, gan patoloģiskos apstākļos (Haroon et al., 2017). Citi pētījumi arī ir konstatējuši samazinātu glutamīnskābes koncentrāciju SSc pacientiem, bet paaugstinātu tās līmeni dcSSc gadījumā (Guo et al., 2023; Murgia et al., 2018). Vairāku pētījumu kopējie rezultāti liecina, ka glutamīnskābes samazināta koncentrācija SSc pacientiem nav saistīta ar konkrētu komplikāciju, piemēram, vaskulopātiju vai fibrozi, bet ir raksturīga visiem SSc pacientiem. Iespējams, tas norāda uz glutamīnskābes lomu SSc imūnregulācijā un to, ka tās samazināta koncentrācija var būt noturīga autoimūna bojājuma marķieris. Glutamīns bija vienīgais metabolīts ar paaugstinātu koncentrāciju SSc pacientiem salīdzinājumā ar HC. Interesanti, ka T-šūnu aktivācijas laikā pastiprināta ir glutamīna, bet ne glutamīnskābes, uzņemšana (Ardawi et al., 1988). Pētot SSc fibroblastus, visos gadījumos tika konstatēta palielināta glutamīnskābes ekspresija, kas liecina par izmainītu glutamīna metabolismu kā universālu SSc pazīmi (Henderson et al., 2020). Tāpat kā mūsu pētījumā, iepriekš ir aprakstīta samazināta glutamīnskābes un paaugstināta glutamīna koncentrācija (Jud et al., 2023; Murgia et al., 2018; Smolenska et al., 2020). Pastāv pieņēmums, ka paaugstināts glutamīna līmenis var pastiprināt kolagēna sintēzi un veicināt ādas un iekšējo orgānu fibrozi (Kay et al., 2021; Ung et al., 2022). Nākotnē glutamīns varētu kļūt par fibrozes biomarķieri SSc pacientiem, taču šobrīd nozīmīgāka šķiet glutamīna un glutamāta kopīga izvērtēšana kā T-šūnu funkcijas un

profibrotisku izmaiņu rādītājs. Mūsu pētījumā potenciālie biomarkķieri, kas tika identificēti, balstoties uz FC analīzi, bija asparagīnskābe, glutamīnskābe, glutamīns un karnitīns. Arī citos pētījumos ir konstatētas būtiskas asparagīnskābes izmaiņas SSc pacientiem salīdzinājumā ar HC (Murgia et al., 2018). Tomēr *Bengtsson et al.* pētījumā tika konstatēta būtiski paaugstināta asparagīnskābes koncentrācija SSc pacientiem salīdzinājumā ar HC (Bengtsson et al., 2016). Šo satraucošo atšķirību varētu izskaidrot ar nelielo pētījumā iekļauto SSc pacientu skaitu (19 pacienti) un būtiskajām atšķirībām iepriekšējā imūnsupresīvā terapijā starp pētījumiem, jo *Bengtsson et al.* pētījumā pacienti iepriekš nebija ārstēti ar AZA, CYC, MTX vai MMF (Bengtsson et al., 2016). Mēs neatradām līdzīgus datus par glutamīnskābes, glutamīna un karnitīna izmantošanu kā diagnostiskos biomarkķierus SSc gadījumā. Mūsu pētījumā tika konstatēti augsti prognozējošie rādītāji glutamīna/valīna un kreatinīna/glutamīna attiecībām. Mēs neatradām pētījumus ar līdzīgiem datiem, kuros slimības prognozēšanas modeļu izveidē būtu izmantotas divu metabolītu attiecības. Glutamīns bija vienīgais metabolīts, kura koncentrācija SSc pacientiem bija būtiski paaugstināta salīdzinājumā ar HC, un, apstiprinot līdzīgus datus citos pētījumos, varam būt pārliecinātāki par šo metabolītu attiecību potenciālu darboties kā biomarkķieriem SSc gadījumā (Murgia et al., 2018; Smolenska et al., 2020). Glutamīna/valīna attiecība SSc gadījumā uzrādīja augstu prognozējošo vērtību, taču šo atradi sarežģī citu pētījumu dati, kuros SSc pacientiem, īpaši pacientiem ar dcSSc un ar SSc saistītu ILD, tika konstatēta paaugstināta valīna koncentrācija (Murgia et al., 2018; Smolenska et al., 2020). Mūsu kohortā SSc pacientiem nebija izteiktu ādas bojājumu, ko apliecina mRSS rādītāji abās apakšgrupās, kā arī tika konstatēta zema ILD izplatība. Interesanti, ka kreatinīna/glutamīna attiecība mūsu pētījumā uzrādīja augstu prognozējošo vērtību SSc gadījumā. Lai gan mēs jau iepriekš apspriedām pārliecinātos datus par glutamīnu, kreatinīns mūsu pētījumā, kā arī rūpīgi analizētajos citos pētījumos neuzrādīja būtiskas izmaiņas SSc pacientiem, izņemot samazinātu kreatinīna līmeni SSc pacientiem ar PH salīdzinājumā ar SSc pacientiem bez PH (Deidda et al., 2017).

Iepriekš aprakstītie rezultāti kopumā bija līdzvērtīgi iepriekšējiem metaboloma pētījumiem pacientiem ar SSc. Mūsu pētījumā tika izdalīta līdz šim nepētīta SSc pacientu grupa ar PNP. Starp SSc pacientiem ar PNP un bez PNP tika novērotas atšķirības dažu metabolītu līmeņos. Atšķirībā no SSc un HC salīdzinājuma nevienam metabolītam netika konstatēts augsts FC ($> 1,5$) vai zema p vērtība ($< 0,1$); tika novērotas tikai nelielas izmaiņas ar $FC > 1,2$. Iespējama līdzība PNP attīstībā SSc pacientiem ir saistāma ar DN attīstību. Tāpēc mēs izvēlējamies analizēt iepriekšējos metaboloma pētījumus pacientiem ar DN, īpaši salīdzinot tos metabolītus, kuru izmaiņas mūsu pētījumā tika konstatētas SSc pacientiem ar PNP. Kinurenīna līmenis bija paaugstināts SSc pacientiem ar PNP salīdzinājumā gan ar SSc pacientiem bez PNP,

gan ar HC. Kinurenīna ceļš, kas nodrošina aptuveni 99 % no triptofāna katabolisma, uzņemta ar uzturu, kas netiek izmantots olbaltumvielu sintēzei, ir saistīts ar neurodeģeneratīvām slimībām, audzēju proliferāciju, iekaisumu un depresiju (Pathak et al., 2024). Iespējams, šo iemeslu dēļ kinurenīna ceļš ir viens no visvairāk pētītajiem SSc kontekstā. Ir konstatēts, ka pacientiem ar ARA pozitivitāti kinurenīna līmenis ir augstāks nekā pacientiem ar ATA vai ACA pozitivitāti, kā arī pacientiem ar dcSSc (Campochiaro et al., 2019). Kinurenīna līmenis bija paaugstināts SSc pacientiem ar PH, salīdzinot ar idiopātisku PH vai ar citām saistaudu slimībām saistītu PH, un tas var ietekmēt PH attīstības risku (Simpson et al., 2023; Wallace et al., 2023). Pētījumi liecina, ka kinurenīna ceļa traucējumi var palielināt oksidatīvo savienojumu daudzumu, kas bojā perifēro un centrālo nervu sistēmu (PNS un CNS), attiecīgi caur bojātu asins–nerva vai asins–smadzeņu barjeru (Dantzer et al., 2008). Salīdzinot kinurenīna ceļa ietekmi dažādu centrālās nervu sistēmas slimību gadījumā, dati par kinurenīna lomu PNS bojājuma attīstībā pašlaik ir ļoti ierobežoti. Ir konstatēts, ka kinurenīna koncentrācija ir paaugstināta pacientiem ar CD, kuriem ir smaga PNP un neiropātiskas sāpes (Shao et al., 2022; Staats Pires et al., 2020). Iespējamā paaugstinātā kinurenīna koncentrācija arī SSc pacientiem ar PNP liecina par vienotu disregulācijas mehānismu ar PH, ko ir vieglāk izskaidrot ar abu šo izpausmju kopējo vaskulopātisko pamatu, ko vēl vairāk pastiprina paaugstinātais kinurenīna līmenis pacientiem ar DN (Shao et al., 2022; Staats Pires et al., 2020). Asparagīna koncentrācija bija paaugstināta arī pacientiem ar PNP salīdzinājumā ar SSc pacientiem bez PNP, taču ne salīdzinājumā ar HC. Asparagīns ir būtisks proliferējošām šūnām apstākļos, kad šūnām trūkst barības vielu, īpaši glutamīna. Glutamīns regulē angiogēnēzi ar vairāku mehānismu starpniecību, un endotēlija šūnu proliferācija ir traucēta, ja eksogēnais glutamīns nav pieejams. Šādā gadījumā endotēlija šūnas proliferācijai izmanto asparagīnu, un asparagīns var daļēji kompensēt šos šūnu defektus zema glutamīna apstākļos (Huang et al., 2017; Pavlova et al., 2018). Atšķirībā no citiem metabolītiem asparagīnam līdz šim nav aprakstītas izteiktas koncentrācijas izmaiņas SSc gadījumā un dažādās slimības izpausmēs. Tomēr SSc pacientiem ir konstatēta negatīva korelācija starp asparagīna koncentrāciju un mRSS (Jud et al., 2023). Pētījumā ar 2. tipa CD pacientiem asparagīna regulācija ļāva atšķirt pacientus ar DN un bez DN (Shao et al., 2022). No tā var secināt, ka SSc pacientiem ar PNP paaugstināta asparagīna koncentrācija var liecināt par glutamīna deficītu, ko pavada izmaiņas endotēlija funkcijā un angiogēnēzes regulācijā, tādējādi veicinot vaskulopātiju un išēmisku bojājumu kā būtisku PNP attīstības mehānismu. Tomēr mūsu pētījumā SSc pacientiem konstatētā paaugstinātā glutamīna koncentrācija skaidri atšķīra pacientus ar PNP no pacientiem bez PNP, vēl vairāk pastiprinot iepriekš izvirzīto hipotēzi. Vēl viens metabolīts, kura koncentrācija SSc pacientiem ar PNP bija paaugstināta salīdzinājumā gan ar SSc pacientiem bez PNP, gan ar HC, bija alanīns. Ir pierādīts,

ka izmaiņas alanīna metabolisma ceļā spēlē nozīmīgu lomu DN attīstībā. Pētījumā ar 2. tipa CD pacientiem tika konstatēts, ka seruma β -alanīna koncentrācija un β -alanīna/L-asparagīnskābes attiecība pacientiem ar DN bija būtiski paaugstināta (Shao et al., 2022). Augstā koncentrācijā β -alanīns ir neirotoksisks un bojā smadzeņu un nervu audus (Jong et al., 2010; Schaffer et al., 2018; Shetewy et al., 2016). Iespējami paaugstināta alanīna koncentrācija, līdzīgi kā tas novērots 2. tipa CD pacientiem, norāda uz alanīna neirotoksisko iedarbību, kas var daļēji veicināt PNP attīstību SSc gadījumā vai slimības progresiju. Asparagīnskābe bija vienīgais metabolīts, kura koncentrācija SSc pacientiem ar PNP bija samazināta salīdzinājumā ar pacientiem bez PNP. Aspartāta loma makrofāgu polarizācijā, kas tika apspriesta iepriekš, var arī norādīt uz polarizācijas disregulāciju SSc pacientiem ar PNP. Makrofāgu polarizācijas nozīme PNP attīstībā SSc gadījumā līdz šim nav pētīta, tomēr ir pieejami vairāki dati par makrofāgu lomu citu autoimūnu neiropatiju attīstībā (Yang et al., 2023). PNS rezidentie makrofāgi ir viena no vismazāk pētītajām makrofāgu apakšpopulācijām, tomēr to atšķirības no citiem makrofāgiem jau ir identificētas (Msheik et al., 2022). Mūsu pētījumā tika konstatētas līdzīgas izmaiņas alanīna/asparagīnskābes attiecībā kā DN gadījumā, kas vēl vairāk akcentē PNP patoģenētisko mehānismu līdzības SSc pacientiem (Shao et al., 2022).

Secinājumi

1. SSc Latvijā ir retāk sastopama nekā citās valstīs un reģionos. Ņemot vērā tās atrašanās vietu, dati no Latvijas atbilst ziemeļu-dienvidu gradientam Eiropā. Ar savu homogēno rasu struktūru Latvija, iespējams, ir vēl izteiktāks modelis SSc attīstībai ziemeļu valstīs.
2. Lielākajai daļai pacientu pirmie SSc simptomi, kas nav RP, parādījās piektajā dzīves desmitgadē, un visbiežāk sastopamais SSc ādas tips bija limitēts, tam sekoja difūzs, bet vismazāk sastopamais bija *sine-scleroderma*. Vīriešiem novēroja tendenci uz smagāku slimības gaitu, biežāk attīstoties ILD un PH.
3. PNP tiek novērtēta par zemu SSc gadījumā, jo mēs pierādījām negaidīti augstu PNP izplatību Latvijas SSc pacientiem, parādot, ka PNS ir skarta gandrīz visiem pacientiem, gan ar SFN, gan LFN. Neiropātijas simptomu smagums un neiropātiskās sāpes bija saistītas ar augstāku veselības novērtējuma anketu – invaliditātes indeksu, norādot uz sliktāku ar veselību saistītu dzīves kvalitāti. SSc pacienti ar PNP (LFN) bija vecāki, ar lielāku SSc ilgumu un vīrieši.
4. Netika konstatēta saistības starp SSc-specifiskām vai citām ar iekaisīgām neiropātijām saistītām AV un PNP attīstību pacientiem ar SSc. Iespējams, ka PNP attīstība pacientiem ar SSc nav saistīta tikai ar autoimūno procesu.
5. Vairāki seruma biomarķieri – NfL, GFAP un GDF15 – varētu tikt izmantoti kā diagnostiskie biomarķieri PNP pacientiem ar SSc. Ir nepieciešami turpmāki pētījumi, lai apstiprinātu šo biomarķieru diagnostisko efektivitāti un atklātu sarežģīto faktoru mijiedarbību, kas izraisa PNP pacientiem ar SSc.
6. Metaboloma pētījumi uzsvēra izmaiņas, kas atbilst makrofāgu polarizācijas izmaiņām un mitohondriālajai disfunkcijai, kas saistīta ar fibrozes procesiem un oksidatīvo stresu. Paaugstināts kinurenīna un alanīna līmenis bija raksturīgs SSc pacientiem ar PNP, kas liecina par šīs apakšgrupas unikālu metabolisko pazīmi. Šie atklājumi atbalsta hipotēzi, ka tieša neirotoksicitāte un mitohondiju oksidatīvais stress veicina PNP attīstību SSc, ko potenciāli ietekmē novecošanās un SSc slimības ilgums.

Priekšlikumi

Praktiskās rekomendācijas pacientu aprūpei:

- Iekļaut PNS skrīningu SSc pacientu ikdienas aprūpē. Katram pacientam ar SSc jāveic neiropātijas izvērtējums (klīniskā anketa, NG/QST pieejamības gadījumā), kas ļautu savlaicīgi identificēt PNP un novērst būtisku dzīves kvalitātes pasliktināšanos.
- Integrēt multidisciplināru aprūpi pacientiem ar SSc un neiropātiju. Papildus reimatologa uzraudzībai nepieciešama neirologa līdzdalība, kā arī rehabilitācijas un psiholoģiskā atbalsta pieejamība. Šāda pieeja ļauj samazināt neiropātisko sāpju un trauksmes ietekmi, uzlabot funkcionālās spējas un dzīves kvalitāti.
- Apsvērt metabolītu profila un NfL, GFAP, GDF15 izmantošanu personalizētai pieejai un pētniecībai. Šo parametru iekļaušana pacientu grupu stratifikācijā un riska noteikšanā varētu palīdzēt personalizēt terapiju un uzlabot pētniecības dizainu.

Ir nepieciešami turpmāki pētījumi par PNS pacientiem ar SSc, īpaši uzsverot mehānismus SFN un autonomās NS disfunkcijas attīstībai.

Publikāciju, ziņojumu un patentu saraksts par promocijas darba tēmu

Publikācijas:

1. **Ivanova, K.**, Ribakova, O., Mihailova., A, Možeitoviča, E., Kadiša, A., Zepa, J., Ķēniņa, V., Kurjāne, N., Buliņa, I. 2024. Prevalence and gender - specific analysis of a systemic sclerosis cohort in Latvia // *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 19(1):361, 1–9. DOI: 10.1186/s13023-024-03355-y
2. **Ivanova, K.**, Zolovs, M., Blennow, K., Zetterberg, H., Kurjāne, N., Ķēniņa, V. 2024. Polyneuropathy in systemic sclerosis: exploring the causes and biomarkers // *Frontiers in Medicine*, 11:1412706, 1–9. DOI: 10.3389/fmed.2024.1412706
3. **Ivanova, K.**, Žukovs, D., Možeitoviča, E., Rots, D., Kurjāne, N., Ķēniņa, V. 2023. Prevalence of polyneuropathies among systemic sclerosis patients and impact on health-related quality of life // *Polish Journal of Neurology and Neurosurgery (Neurologia i Neurochirurgia Polska)*, 57(2), 206–211. DOI: 10.5603/PJNNS.a2023.0018
4. **Ivanova, K.**, Schiemer, T., Vaska, A., Kurjāne, N., Kenina, V., Klavins, K. 2025. Serum Metabolomic Profiling Reveals Differences Between Systemic Sclerosis Patients with Polyneuropathy // *International Journal of Molecular Sciences*, 26(15):7133, 1–15. DOI: 10.3390/ijms26157133

Ziņojumi un tēzes:

1. **Ivanova, K.**, Schiemer, T., Kļaviņš, K., Kurjāne, N., Ķēniņa, V. 2025. Serum metabolomic profiling in systemic sclerosis uncovers potential biomarkers. *RSU Research week 2025: Knowledge for Use in Practice*, Riga, Latvia. (Theses and poster presentation).
2. **Ivanova, K.**, Budreviča, O., Žukovs, D., Možeitoviča, E., Ķēniņa, V., Kurjāne, N. 2022. Polyneuropathy impact on disability in systemic sclerosis patients. *European Alliance of Associations for Rheumatology (EULAR) Annual Meeting*, Copenhagen, Denmark. (Theses and poster presentation).
3. **Ivanova, K.**, Rubins, P., Bulina, I., Zepa, J., Miķēna, S., Andersone, D., Kurjāne, N. 2021. Analysis of the hospitalized patients with systemic sclerosis in Pauls Stradiņš Clinical University Hospital Rheumatology department during 2017–2020. *International Scientific Conference on Medicine, LU*, Riga, Latvia. (Theses and oral presentation).
4. Budreviča, O., Možeitoviča, E., Žukovs, D., Ķēniņa, V., Kurjāne, N., **Ivanova, K.** 2022. Predictor Factors of Functional Status in Patients with Systemic Sclerosis. *International Scientific Conference on Medicine, LU*, Riga, Latvia. (Theses and oral presentation).
5. Rubins, P., Miķēna, S., Bulina, I., Zepa, J., Andersone, D., **Ivanova, K.** 2022. Role of Rheumatoid Factor in Patients with Systemic Sclerosis and Extra-Articular Manifestations. *International Scientific Conference on Medicine, LU*, Riga, Latvia. (Theses and oral presentation).
6. **Ivanova, K.**, Rubins, P., Buliņa, I., Zepa, J., Mikēna, S., Andersone, D., Kurjāne, N. 2021. Hypocomplementemia and clinical manifestations in patients with systemic sclerosis. *RSU Research week 2021: Knowledge for Use in Practice*, Riga, Latvia. (Theses and poster presentation).
7. Žukovs, D., Možeitoviča, E., Scientific research supervisor: **Ivanova, K.** 2022. Prevalence of large and small fiber neuropathies among systemic sclerosis patients, and their impact on patients' disability and functional status. *RSU International Student Conference*, Riga, Latvia (Theses and oral presentation).
8. Možeitoviča, E., Scientific research supervisor: **Ivanova, K.** 2024. Potential biomarkers for peripheral nervous system damage in patients diagnosed with systemic sclerosis. *RSU International Student Conference*, Riga, Latvia (Theses and oral presentation).

Literatūras un avotu saraksts

1. Adigun, R., Goyal, A., & Hariz, A. (2024). Systemic sclerosis (scleroderma). In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430875/>
2. Airò, P., Regola, F., Lazzaroni, M. G., Tincani, A., Inverardi, F., Fenini, M. G., Ferrè, F., Furloni, R., & Scarsi, M. (2020). Incidence and prevalence of systemic sclerosis in Valcamonica, Italy, during an 18-year period. *Journal of Scleroderma and Related Disorders*, 5(1), 51–56. <https://doi.org/10.1177/2397198318819908>
3. Al Jasmi, F., Al Zaabi, N., Al-Thihli, K., Al Teneiji, A. M., Hertecant, J., & El-Hattab, A. W. (2020). Endothelial dysfunction and the effect of arginine and citrulline supplementation in children and adolescents with mitochondrial diseases. *Journal of Central Nervous System Disease*, 12, 1179573520909377. <https://doi.org/10.1177/1179573520909377>
4. Alamanos, Y., Tsifetaki, N., Voulgari, P. V., Siozos, C., Tsamandouraki, K., Alexiou, G. A., & Drosos, A. A. (2005). Epidemiology of systemic sclerosis in northwest Greece 1981 to 2002. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 34(5), 714–720. <https://doi.org/10.1016/j.semarthrit.2004.09.001>
5. AlMehmadi, B. A., To, F. Z., Anderson, M. A., & Johnson, S. R. (2021). Epidemiology and treatment of peripheral neuropathy in systemic sclerosis. *The Journal of Rheumatology*, 48(12), 1839–1849. <https://doi.org/10.3899/jrheum.201299>
6. Amanzi, L., Braschi, F., Fiori, G., Galluccio, F., Miniati, I., Guiducci, S., Conforti, M. L., Kaloudi, O., Nacci, F., Sacu, O., Candelieri, A., Pignone, A., Rasero, L., Conforti, D., & Matucci-Cerinic, M. (2010). Digital ulcers in scleroderma: Staging, characteristics and sub-setting through observation of 1614 digital lesions. *Rheumatology*, 49(7), 1374–1382. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/keq097>
7. Amaral, T. N., Peres, F. A., Lapa, A. T., Marques-Neto, J. F., & Appenzeller, S. (2013). Neurologic involvement in scleroderma: A systematic review. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 43(3), 335–347. <https://doi.org/10.1016/j.semarthrit.2013.05.002>
8. Andréasson, K., Saxne, T., Bergknut, C., Hesselstrand, R., & Englund, M. (2014). Prevalence and incidence of systemic sclerosis in southern Sweden: Population-based data with case ascertainment using the 1980 ARA criteria and the proposed ACR–EULAR classification criteria. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 73(10), 1788–1792. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2013-203618>
9. Arana-Guajardo, A. C., Barrera-Torres, G., Villarreal-Alarcón, M. Á., Vega-Morales, D., & Esquivel-Valerio, J. A. (2019). Esophageal symptoms and their lack of association with high-resolution manometry in systemic sclerosis patients. *Reumatología Clínica*, 15(3), 165–169. <https://doi.org/10.1016/j.reuma.2017.09.005>
10. Ardawi, M. S. (1988). Glutamine and glucose metabolism in human peripheral lymphocytes. *Metabolism*, 37(1), 99–103. [https://doi.org/10.1016/0026-0495\(88\)90036-4](https://doi.org/10.1016/0026-0495(88)90036-4)
11. Averbuch-Heller, L., Steiner, I., & Abramsky, O. (1992). Neurologic manifestations of progressive systemic sclerosis. *Archives of Neurology*, 49(12), 1292–1295. <https://doi.org/10.1001/archneur.1992.00530360094024>
12. Bengtsson, A. A., Trygg, J., Wuttge, D. M., Sturfelt, G., Theander, E., Donten, M., Moritz, T., Sennbro, C. J., Torell, F., Lood, C., Surowiec, I., Rännar, S., & Lundstedt, T. (2016). Metabolic profiling of systemic lupus erythematosus and comparison with primary Sjögren’s syndrome and systemic sclerosis. *PLOS ONE*, 11(7), e0159384.
13. Bergamasco, A., Hartmann, N., Wallace, L., & Verpillat, P. (2019). Epidemiology of systemic sclerosis and systemic sclerosis-associated interstitial lung disease. *Clinical Epidemiology*, 11, 257–273. <https://doi.org/10.2147/CLEP.S191418>
14. Bignotti, B., Ghio, M., Panico, N., Tagliafico, G., Martinoli, C., & Tagliafico, A. (2015). High-resolution ultrasound of peripheral nerves in systemic sclerosis: A pilot study of computer-aided quantitative assessment of nerve density. *Skeletal Radiology*, 44(12), 1761–1767. <https://doi.org/10.1007/s00256-015-2230-5>

15. Bobeica, C., Niculet, E., Halip, A. I., Gheuca-Solovastru, L., Draganescu, M. L., Popescu, I. A., Onisor, C., Chirobocea, S., Lungu, M., & Craescu, M. (2021). Predictive value of immunological markers in systemic sclerosis. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 22(3), 994. <https://doi.org/10.3892/etm.2021.10426>
16. Bögl, T., Mlynek, F., Himmelsbach, M., Sepp, N., Buchberger, W., & Geroldinger-Simić, M. (2022). Plasma metabolomic profiling reveals four possibly disrupted mechanisms in systemic sclerosis. *Biomedicines*, 10(3), 607. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10030607>
17. Bratoiu, I., Burlui, A. M., Cardoneanu, A., Macovei, L. A., Richter, P., Rusu-Zota, G., Rezus, C., Badescu, M. C., Szalontay, A., & Rezus, E. (2022). The involvement of smooth muscle, striated muscle, and the myocardium in scleroderma: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(19), 12011. <https://doi.org/10.3390/ijms231912011>
18. Calonje, E., Brenn, T., Lazar, A., & Billings, S. D. (2020). Peripheral nerve and muscle (Chap. 17, pp. 771–825). In E. Calonje, T. Brenn, A. Lazar, & S. D. Billings (Eds.), *McKee's pathology of the skin: With clinical correlations*. Elsevier.
19. Campello Morer, I., Velilla Marco, J., Hortells Aznar, J. L., Almárcegui Lafita, C., Barrena Caballo, R., & Oliveros Juste, A. (2003). Manifestaciones neurológicas en la esclerosis sistémica [Neurological involvement in systemic sclerosis]. *Revista Clínica Española*, 203(8), 373–377. <https://doi.org/10.1157/13049434>
20. Campochiaro, C., Lytton, S., Nihtyanova, S., Fuchs, D., Ong, V. H., & Denton, C. P. (2019). Elevated kynurenine levels in diffuse cutaneous and anti-RNA polymerase III positive systemic sclerosis. *Clinical Immunology*, 199, 18–24. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2018.12.009>
21. Castro, S. V., & Jimenez, S. A. (2010). Biomarkers in systemic sclerosis. *Biomarkers in Medicine*, 4(1), 133–147. <https://doi.org/10.2217/bmm.09.79>
22. Catalán, V., Frühbeck, G., & Gómez-Ambrosi, J. (2018). Inflammatory and oxidative stress markers in skeletal muscle of obese subjects. In M. A. M. del Moral & C. M. Aguilera García (Eds.), *Obesity* (pp. 163–189). Academic Press.
23. Cavazzana, I., Vojinovic, T., Airò, P., Fredi, M., Ceribelli, A., Pedretti, E., Lazzaroni, M. G., Garrafa, E., & Franceschini, F. (2023). Systemic sclerosis-specific antibodies: Novel and classical biomarkers. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, 64(3), 412–430. <https://doi.org/10.1007/s12016-022-08946-w>
24. Chiffot, H., Fautrel, B., Sordet, C., Chatelus, E., & Sibilia, J. (2008). Incidence and prevalence of systemic sclerosis: A systematic literature review. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 37(4), 223–235. <https://doi.org/10.1016/j.semarthrit.2007.05.003>
25. Cho, Y. H., Lee, Y., Choi, J. I., Lee, S. R., & Lee, S. Y. (2022). Biomarkers in metabolic syndrome. *Advances in Clinical Chemistry*, 111, 101–156. <https://doi.org/10.1016/bs.acc.2022.07.003>
26. Christmann, R. B., & Lafyatis, R. (2010). The cytokine language of monocytes and macrophages in systemic sclerosis. *Arthritis Research & Therapy*, 12(5), 146. <https://doi.org/10.1186/ar3167>
27. Ciaffi, J., Morabito, M. F., Ruscitti, P., D'Angelo, S., Mancarella, L., Brusi, V., Abignano, G., Pucino, V., Giacomelli, R., Meliconi, R., & Ursini, F. (2021). Incidence, prevalence and mortality of systemic sclerosis in Italy: A nationwide population-based study using administrative health data. *Rheumatology International*, 41(1), 129–137. <https://doi.org/10.1007/s00296-020-04720-3>
28. Clark, K. E. N., Campochiaro, C., Host, L. V., Sari, A., Harvey, J., Denton, C. P., & Ong, V. H. (2022). Combinations of scleroderma hallmark autoantibodies associate with distinct clinical phenotypes. *Scientific Reports*, 12(1), 11212. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-15062-4>
29. Cutolo, M., Soldano, S., & Smith, V. (2019). Pathophysiology of systemic sclerosis: Current understanding and new insights. *Expert Review of Clinical Immunology*, 15(7), 753–764. <https://doi.org/10.1080/1744666X.2019.1614915>
30. Czirják, L., Kumánovics, G., Varjú, C., Nagy, Z., Pákozdi, A., Szekanez, Z., & Szucs, G. (2008). Survival and causes of death in 366 Hungarian patients with systemic sclerosis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 67(1), 59–63. <https://doi.org/10.1136/ard.2006.066340>

31. Dantzer, R., O'Connor, J. C., Freund, G. G., Johnson, R. W., & Kelley, K. W. (2008). From inflammation to sickness and depression: When the immune system subjugates the brain. *Nature Reviews Neuroscience*, 9(1), 46–56. <https://doi.org/10.1038/nrn2297>
32. De Souza, J. M., Trevisan, T. J., Sepresse, S. R., Londe, A. C., França Júnior, M. C., & Appenzeller, S. (2023). Peripheral neuropathy in systemic autoimmune rheumatic diseases – Diagnosis and treatment. *Pharmaceuticals*, 16(4), 587. <https://doi.org/10.3390/ph16040587>
33. Deidda, M., Piras, C., Cadeddu Dessalvi, C., Locci, E., Barberini, L., Orofino, S., Musu, M., Mura, M. N., Manconi, P. E., Finco, G., Atzori, L., & Mercurio, G. (2017). Distinctive metabolomic fingerprint in scleroderma patients with pulmonary arterial hypertension. *International Journal of Cardiology*, 241, 401–406. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2017.04.024>
34. Denton, C. P., Black, C. M., Korn, J. H., & de Crombrugge, B. (1996). Systemic sclerosis: Current pathogenetic concepts and future prospects for targeted therapy. *The Lancet*, 347(9013), 1453–1458.
35. Derk, C. T., Artlett, C. M., & Jimenez, S. A. (2006). Morbidity and mortality of patients diagnosed with systemic sclerosis after the age of 75: A nested case–control study. *Clinical Rheumatology*, 25(6), 831–834. <https://doi.org/10.1007/s10067-005-0177-y>
36. Devigili, G., Rinaldo, S., Lombardi, R., Cazzato, D., Marchi, M., Salvi, E., Eleopra, R., & Lauria, G. (2019). Diagnostic criteria for small fibre neuropathy in clinical practice and research. *Brain*, 142(12), 3728–3736. <https://doi.org/10.1093/brain/awz333>
37. Dyck, P. J., Hunder, G. G., & Dyck, P. J. (1997). A case–control and nerve biopsy study of CREST multiple mononeuropathy. *Neurology*, 49(6), 1641–1645. <https://doi.org/10.1212/WNL.49.6.1641>
38. Elhai, M., Hoffmann-Vold, A. M., Avouac, J., Pezet, S., Cauvet, A., Leblond, A., Fretheim, H., Garen, T., Kuwana, M., Molberg, Ø., & Allanore, Y. (2019). Performance of candidate serum biomarkers for systemic sclerosis–associated interstitial lung disease. *Arthritis & Rheumatology*, 71(6), 972–982. <https://doi.org/10.1002/art.40815>
39. Fang, B., McKeon, A., Hinson, S. R., Kryzer, T. J., Pittock, S. J., Aksamit, A. J., & Lennon, V. A. (2016). Autoimmune glial fibrillary acidic protein astrocytopathy: A novel meningoencephalomyelitis. *JAMA Neurology*, 73(11), 1297–1307. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2016.2549>
40. Foti, R., Visalli, E., Amato, G., Benenati, A., Converso, G., Farina, A., Bellofiore, S., Mulè, M., & Di Gangi, M. (2017). Long-term clinical stabilization of scleroderma patients treated with a chronic and intensive IV iloprost regimen. *Rheumatology International*, 37(2), 245–249. <https://doi.org/10.1007/s00296-016-3582-4>
41. Fundaun, J., Kolski, M., Molina-Álvarez, M., Baskozos, G., & Schmid, A. B. (2022). Types and concentrations of blood-based biomarkers in adults with peripheral neuropathies: A systematic review and meta-analysis. *JAMA Network Open*, 5(12), e2248593. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2022.48593>
42. Funes, S. C., Rios, M., Escobar-Vera, J., & Kalergis, A. M. (2018). Implications of macrophage polarization in autoimmunity. *Immunology*, 154(2), 186–195. <https://doi.org/10.1111/imm.12910>
43. Furst, D. E., Fernandes, A. W., Iorga, S. R., Greth, W., & Bancroft, T. (2012). Epidemiology of systemic sclerosis in a large US managed care population. *The Journal of Rheumatology*, 39(4), 784–786. <https://doi.org/10.3899/jrheum.111106>
44. Gafson, A. R., Barthélemy, N. R., Bomont, P., Carare, R. O., Durham, H. D., Julien, J. P., Kuhle, J., Leppert, D., Nixon, R. A., Weller, R. O., Zetterberg, H., & Matthews, P. M. (2020). Neurofilaments: Neurobiological foundations for biomarker applications. *Brain*, 143(7), 1975–1998. <https://doi.org/10.1093/brain/awaa098>
45. Gamal, S. M., Elgengehy, F. T., Kamal, A., El Bakry, S. A., Shabaan, E., Elgendy, A., & Bassyouni, I. H. (2017). Growth differentiation factor-15 (GDF-15) level and relation to clinical manifestations in Egyptian systemic sclerosis patients: Preliminary data. *Immunological Investigations*, 46(7), 703–713. <https://doi.org/10.1080/08820139.2017.1360340>

46. Guo, M., Liu, D., Jiang, Y., Chen, W., Zhao, L., Bao, D., Li, Y., Distler, J. H. W., & Zhu, H. (2023). Serum metabolomic profiling reveals potential biomarkers in systemic sclerosis. *Metabolism*, *144*, 155587. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2023.155587>
47. Haroon, E., Miller, A. H., & Sanacora, G. (2017). Inflammation, glutamate, and glia: A trio of trouble in mood disorders. *Neuropsychopharmacology*, *42*(1), 193–215. <https://doi.org/10.1038/npp.2016.199>
48. Hayashi, T., Nukui, T., Piao, J. L., Sugimoto, T., Anada, R., Matsuda, N., Yamamoto, M., Konishi, H., Dougu, N., & Nakatsuji, Y. (2021). Serum neurofilament light chain in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *Brain and Behavior*, *11*(5), e02084. <https://doi.org/10.1002/brb3.2084>
49. He, L., Zhang, G., Liu, W., Gao, T., & Sheikh, K. A. (2015). Anti-ganglioside antibodies induce nodal and axonal injury via Fcγ receptor–mediated inflammation. *The Journal of Neuroscience*, *35*(17), 6770–6785. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4926-14.2015>
50. Henderson, J., Duffy, L., Stratton, R., Ford, D., & O'Reilly, S. (2020). Metabolic reprogramming of glycolysis and glutamine metabolism are key events in myofibroblast transition in systemic sclerosis pathogenesis. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, *24*(23), 14026–14038. <https://doi.org/10.1111/jcmm.16013>
51. Hietarinta, M., Lassila, O., & Hietaharju, A. (1994). Association of anti-U1RNP- and anti-Scl-70-antibodies with neurological manifestations in systemic sclerosis (scleroderma). *Scandinavian Journal of Rheumatology*, *23*(2), 64–67. <https://doi.org/10.3109/03009749409103029>
52. Hoffmann-Vold, A. M., Midtvedt, Ø., Molberg, Ø., Garen, T., & Gran, J. T. (2012). Prevalence of systemic sclerosis in south-east Norway. *Rheumatology*, *51*(9), 1600–1605. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kes076>
53. Huang, H., Vandekerke, S., Kalucka, J., Bierhansl, L., Zecchin, A., Brüning, U., Visnagri, A., Yuldasheva, N., Goveia, J., Cruys, B., Brepoels, K., Wyns, S., Rayport, S., Ghesquière, B., Vinckier, S., Schoonjans, L., Cubbon, R., Dewerchin, M., Eelen, G., & Carmeliet, P. (2017). Role of glutamine and interlinked asparagine metabolism in vessel formation. *The EMBO Journal*, *36*(16), 2334–2352. <https://doi.org/10.15252/embj.201695518>
54. Hughes, M., Pauling, J. D., Armstrong-James, L., Denton, C. P., Galdas, P., & Flurey, C. (2020). Gender-related differences in systemic sclerosis. *Autoimmunity Reviews*, *19*(4), 102494. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2020.102494>
55. Hunzelmann, N., Moinzadeh, P., Genth, E., Krieg, T., Lehmacher, W., Melchers, I., Meurer, M., Müller-Ladner, U., Olski, T. M., Pfeiffer, C., Riemekasten, G., Schulze-Lohoff, E., Sunderkoetter, C., Weber, M., & German Network for Systemic Scleroderma Centers. (2009). High frequency of corticosteroid and immunosuppressive therapy in patients with systemic sclerosis despite limited evidence for efficacy. *Arthritis Research & Therapy*, *11*(2), R30. <https://doi.org/10.1186/ar2634>
56. Iniesta Arandia, N., Simeón-Aznar, C. P., Guillén Del Castillo, A., Colunga Argüelles, D., Rubio-Rivas, M., Trapiella Martínez, L., García Hernández, F. J., Sáez Comet, L., Egurbide Arberas, M. V., Ortego-Centeno, N., Freire, M., Marí Alfonso, B., Vargas Hitos, J. A., Ríos Blanco, J. J., Todolí Parra, J. A., Rodríguez-Carballeira, M., Marín Ballvé, A., ... GEAS. (2017). Influence of antibody profile in clinical features and prognosis in a cohort of Spanish patients with systemic sclerosis. *Clinical and Experimental Rheumatology*, *35*(Suppl 106), 98–105.
57. Iudici, M., Mongin, D., Siegert, E., Carreira, P. E., Distler, J., Henes, J., Zanatta, E., Hachulla, E., De Luca, G., de Souza Müller, C., Santiago, T., Tandaipan, J. L., Valdetaro Bianchi, B., De Santis, M., Hoffmann-Vold, A. M., Gabrielli, A., Distler, O., Courvoisier, D. S., & EUSTAR collaborators. (2023). Glucocorticoids prescribing practices in systemic sclerosis: An analysis of the EUSTAR database. *Unpublished manuscript*.
58. Jee, A. S., Stewart, I., Youssef, P., Adelstein, S., Lai, D., Hua, S., Stevens, W., Proudman, S., Ngian, G. S., Glaspole, I. N., Moodley, Y. P., Bleasel, J. F., Macansh, S., Nikpour, M., Sahhar, J., Corte, T. J., & Australian Scleroderma Cohort Study et al. (2023). A composite serum biomarker index for the diagnosis of systemic sclerosis–associated interstitial lung disease: A multicenter, observational cohort study. *Arthritis & Rheumatology*, *75*(8), 1424–1433. <https://doi.org/10.1002/art.42491>

59. Jennings, M. J., Kagiava, A., Vendredy, L., Spaulding, E. L., Stavrou, M., Hathazi, D., Grüneboom, A., De Winter, V., Gess, B., Schara, U., Pogoryelova, O., Lochmüller, H., Borchers, C. H., Roos, A., Burgess, R. W., Timmerman, V., Kleopa, K. A., & Horvath, R. (2022). NCAM1 and GDF15 are biomarkers of Charcot–Marie–Tooth disease in patients and mice. *Brain*, *145*(11), 3999–4015. <https://doi.org/10.1093/brain/awac055>
60. Jin, L., & Liu, Y. (2021). Clinical manifestations, pathogenesis, diagnosis and treatment of peripheral neuropathies in connective tissue diseases: More diverse and frequent in different subtypes than expected. *Diagnostics*, *11*(11), 1956. <https://doi.org/10.3390/diagnostics11111956>
61. Jong, C. J., Ito, T., Mozaffari, M., Azuma, J., & Schaffer, S. (2010). Effect of beta-alanine treatment on mitochondrial taurine level and 5-taurinomethyluridine content. *Journal of Biomedical Science*, *17*(Suppl 1), S25. <https://doi.org/10.1186/1423-0127-17-S1-S25>
62. Jud, P., Meinitzer, A., Strohmaier, H., Arefnia, B., Wimmer, G., Obermayer-Pietsch, B., Foris, V., Kovacs, G., Odler, B., Moazedi-Fürst, F., Brodmann, M., & Hafner, F. (2023). Association of amino acids and parameters of bone metabolism with endothelial dysfunction and vasculopathic changes in limited systemic sclerosis. *Frontiers in Medicine*, *10*, 1193121. <https://doi.org/10.3389/fmed.2023.1193121>
63. Kahn, O. I., Dominguez, S. L., Glock, C., Hayne, M., Vito, S., Sengupta Ghosh, A., Adrian, M., Burgess, B. L., Meilandt, W. J., Friedman, B. A., & Hoogenraad, C. C. (2025). Secreted neurofilament light chain after neuronal damage induces myeloid cell activation and neuroinflammation. *Cell Reports*, *44*(3), 115382. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2025.115382>
64. Kang, G. W., Jung, K. H., Lee, Y. S., Kim, H. J., Yoon, D. Y., Lee, S. H., Hann, H. J., Kim, K. H., Han, S., Kim, Y., Kim, D. S., & Ahn, H. S. (2018). Incidence, prevalence, mortality and causes of death in systemic sclerosis in Korea: A nationwide population-based study. *The British Journal of Dermatology*, *178*(1), e37–e39. <https://doi.org/10.1111/bjd.15838>
65. Kaore, S. N., Amane, H. S., & Kaore, N. M. (2013). Citrulline: Pharmacological perspectives and its role as an emerging biomarker in future. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, *27*(1), 35–50. <https://doi.org/10.1111/j.1472-8206.2012.01059.x>
66. Kay, E. J., Koulouras, G., & Zanivan, S. (2021). Regulation of extracellular matrix production in activated fibroblasts: Roles of amino acid metabolism in collagen synthesis. *Frontiers in Oncology*, *11*, 719922. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.719922>
67. Kimmel, J. N., Carlson, D. A., Hinchcliff, M., Carns, M. A., Aren, K. A., Lee, J., & Pandolfino, J. E. (2016). The association between systemic sclerosis disease manifestations and esophageal high-resolution manometry parameters. *Neurogastroenterology & Motility*, *28*(8), 1157–1165. <https://doi.org/10.1111/nmo.12813>
68. Kılıç, L., Akdoğan, A., & Kalyoncu, U. (2020). Sistemik sklerozlu hastalarda dijital ülser oluşumu ve periferik nöropati ilişkisinin değerlendirilmesi [Evaluation of the relationship between digital ulcer formation and peripheral neuropathy in systemic sclerosis]. *Journal of Turkish Society for Rheumatology*, *12*(3), 76–82. <https://doi.org/10.4274/raed.galenos.2020.63626>
69. Kowal-Bielecka, O., Distler, O., & Allanore, Y. (Eds.). (2013). *EULAR textbook on systemic sclerosis* (1st ed., pp. 3–15). BMJ Publishing Group.
70. Kowal-Bielecka, O., Fransen, J., Avouac, J., Becker, M., Kulak, A., Allanore, Y., Distler, O., Clements, P., Cutolo, M., Czirjak, L., Damjanov, N., Del Galdo, F., Denton, C. P., Distler, J. H. W., Foeldvari, I., Figelstone, K., Frerix, M., Furst, D. E., Guiducci, S., ... EUSTAR Coauthors. (2017). Update of EULAR recommendations for the treatment of systemic sclerosis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, *76*(8), 1327–1339. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2016-209909>
71. Krzyszczyk, M. E., Li, Y., Ross, S. J., Ceribelli, A., Chan, E. K., Bubb, M. R., Sobel, E. S., Reeves, W. H., & Satoh, M. (2011). Gender and ethnicity differences in the prevalence of scleroderma-related autoantibodies. *Clinical Rheumatology*, *30*(10), 1333–1339. <https://doi.org/10.1007/s10067-011-1751-0>

72. Labrador-Horrillo, M., Martínez-Valle, F., Gallardo, E., Rojas-García, R., Ordi-Ros, J., & Vilardell, M. (2012). Anti-ganglioside antibodies in patients with systemic lupus erythematosus and neurological manifestations. *Lupus*, *21*(6), 611–615. <https://doi.org/10.1177/0961203312436856>
73. Lee, P., Bruni, J., & Sukenik, S. (1984). Neurological manifestations in systemic sclerosis (scleroderma). *The Journal of Rheumatology*, *11*(4), 480–483.
74. Leichenko, T., Herrick, A. L., Alani, S. M., Hilton, R. C., & Jayson, M. I. (1994). Mononeuritis in two patients with limited cutaneous systemic sclerosis. *British Journal of Rheumatology*, *33*(6), 594–595. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/33.6.594>
75. Li, Y., Li, S., Qiu, Y., Zhou, M., Chen, M., Hu, Y., Hong, S., Jiang, L., & Guo, Y. (2022). Circulating FGF21 and GDF15 as biomarkers for screening, diagnosis, and severity assessment of primary mitochondrial disorders in children. *Frontiers in Pediatrics*, *10*, 851534. <https://doi.org/10.3389/fped.2022.851534>
76. Lori, S., Matucci-Cerinic, M., Casale, R., Generini, S., Lombardi, A., Pignone, A., Scaletti, C., Gangemi, P. F., & Cagnoni, M. (1996). Peripheral nervous system involvement in systemic sclerosis: The median nerve as target structure. *Clinical and Experimental Rheumatology*, *14*(6), 601–605.
77. Lu, Y., Li, R., Zhu, J., Wu, Y., Li, D., Dong, L., Li, Y., Wen, X., Yu, F., Zhang, H., Ni, X., Du, S., Li, X., Xiao, J., & Wang, J. (2019). Fibroblast growth factor 21 facilitates peripheral nerve regeneration through suppressing oxidative damage and autophagic cell death. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, *23*(1), 497–511. <https://doi.org/10.1111/jcmm.13952>
78. Maalmi, H., Strom, A., Petretera, A., Hauck, S. M., Strassburger, K., Kuss, O., Zaharia, O. P., Bönhof, G. J., Rathmann, W., Trenkamp, S., Burkart, V., Szendroedi, J., Ziegler, D., Roden, M., Herder, C., & GDS Group. (2023). Serum neurofilament light chain: A novel biomarker for early diabetic sensorimotor polyneuropathy. *Diabetologia*, *66*(3), 579–589. <https://doi.org/10.1007/s00125-022-05846-8>
79. Matucci Cerinic, M., & Kahaleh, M. B. (2002). Beauty and the beast: The nitric oxide paradox in systemic sclerosis. *Rheumatology*, *41*(8), 843–847. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/41.8.843>
80. McNeilage, L. J., Youngchaiyud, U., & Whittingham, S. (1989). Racial differences in antinuclear antibody patterns and clinical manifestations of scleroderma. *Arthritis and Rheumatism*, *32*(1), 54–60. <https://doi.org/10.1002/anr.1780320109>
81. Meadows, C. A., Risbano, M. G., Zhang, L., Geraci, M. W., Tuder, R. M., Collier, D. H., & Bull, T. M. (2011). Increased expression of growth differentiation factor-15 in systemic sclerosis-associated pulmonary arterial hypertension. *Chest*, *139*(5), 994–1002. <https://doi.org/10.1378/chest.10-0302>
82. Meier, F. M., Frommer, K. W., Dinser, R., Walker, U. A., Czirjak, L., Denton, C. P., Allanore, Y., Distler, O., Riemekasten, G., Valentini, G., Müller-Ladner, U., & EUSTAR Co-authors. (2012). Update on the profile of the EUSTAR cohort: An analysis of the EULAR Scleroderma Trials and Research group database. *Annals of the Rheumatic Diseases*, *71*(8), 1355–1360. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2011-200742>
83. Mensching, L., Börger, A. K., Wang, X., Charalambous, P., Unsicker, K., & Haastert-Talini, K. (2012). Local substitution of GDF-15 improves axonal and sensory recovery after peripheral nerve injury. *Cell and Tissue Research*, *350*(2), 225–238. <https://doi.org/10.1007/s00441-012-1493-6>
84. Molnár, Á., Szentpéteri, A., Lőrincz, H., Seres, I., Harangi, M., Balogh, Z., Kempler, P., Paragh, G., & Sztanek, F. (2022). Change of fibroblast growth factor 21 level correlates with the severity of diabetic sensory polyneuropathy after six-week physical activity. *Reviews in Cardiovascular Medicine*, *23*(5), 160. <https://doi.org/10.31083/j.rcm2305160>
85. Morales-González, V., Galeano-Sánchez, D., Covalada-Vargas, J. E., Rodríguez, Y., Monsalve, D. M., Pardo-Rodríguez, D., Cala, M. P., Acosta-Ampudia, Y., & Ramírez-Santana, C. (2023). Metabolic fingerprinting of systemic sclerosis: A systematic review. *Frontiers in Molecular Biosciences*, *10*, 1215039. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2023.1215039>

86. Msheik, Z., El Massry, M., Rovini, A., Billet, F., & Desmoulière, A. (2022). The macrophage: A key player in the pathophysiology of peripheral neuropathies. *Journal of Neuroinflammation*, *19*(1), 97. <https://doi.org/10.1186/s12974-022-02454-6>
87. Murgia, F., Svegliati, S., Poddighe, S., Lussu, M., Manzin, A., Spadoni, T., Fischetti, C., Gabrielli, A., & Atzori, L. (2018). Metabolomic profile of systemic sclerosis patients. *Scientific Reports*, *8*(1), 7626. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-25992-7>
88. Nagaraja, V., Matucci-Cerinic, M., Furst, D. E., Kuwana, M., Allanore, Y., Denton, C. P., Raghu, G., McLaughlin, V., Rao, P. S., Seibold, J. R., Pauling, J. D., Whitfield, M. L., & Khanna, D. (2020). Current and future outlook on disease modification and defining low disease activity in systemic sclerosis. *Arthritis & Rheumatology*, *72*(7), 1049–1058. <https://doi.org/10.1002/art.41246>
89. Naik, G. S., Meena, A. K., Reddy, B. A. K., Mridula, R. K., Jabeen, S. A., & Borgohain, R. (2017). Anti-ganglioside antibodies profile in Guillain-Barré syndrome: Correlation with clinical features, electrophysiological pattern, and outcome. *Neurology India*, *65*(5), 1001–1005. https://doi.org/10.4103/neuroindia.NI_1226_15
90. Nitta, Y., & Sobue, G. (1996). Progressive systemic sclerosis associated with multiple mononeuropathy. *Dermatology*, *193*(1), 22–26. <https://doi.org/10.1159/000246193>
91. Notturmo, F., Capasso, M., De Lauretis, A., Carpo, M., & Uncini, A. (2009). Glial fibrillary acidic protein as a marker of axonal damage in chronic neuropathies. *Muscle & Nerve*, *40*(1), 50–54. <https://doi.org/10.1002/mus.21323>
92. Orphanet. (n.d.). Systemic sclerosis. Retrieved March 10, 2025, from <https://www.orpha.net/en/disease/detail/90291>
93. Ottria, A., Hoekstra, A. T., Zimmermann, M., van der Kroef, M., Vazirpanah, N., Cossu, M., Chouri, E., Rossato, M., Beretta, L., Tieland, R. G., Wichers, C. G. K., Stigter, E., Gulersonmez, C., Bonte-Mineur, F., Berkers, C. R., Radstake, T. R. D. J., & Marut, W. (2020). Fatty acid and carnitine metabolism are dysregulated in systemic sclerosis patients. *Frontiers in Immunology*, *11*, 822. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00822>
94. Pasarikovski, C. R., Granton, J. T., Roos, A. M., Sadeghi, S., Kron, A. T., Thenganatt, J., Moric, J., Chau, C., & Johnson, S. R. (2016). Sex disparities in systemic sclerosis-associated pulmonary arterial hypertension: A cohort study. *Arthritis Research & Therapy*, *18*, 30. <https://doi.org/10.1186/s13075-016-0933-1>
95. Patel, S., Haider, A., Alvarez-Guaita, A., Bidault, G., El-Sayed Moustafa, J. S., Guiu-Jurado, E., Tadross, J. A., Warner, J., Harrison, J., Virtue, S., Scurria, F., Zvetkova, I., Blüher, M., Small, K. S., O’Rahilly, S., & Savage, D. B. (2022). Combined genetic deletion of GDF15 and FGF21 has modest effects on body weight, hepatic steatosis, and insulin resistance in high fat fed mice. *Molecular Metabolism*, *65*, 101589. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2022.101589>
96. Pathak, S., Nadar, R., Kim, S., Liu, K., Govindarajulu, M., Cook, P., Watts Alexander, C. S., Dhanasekaran, M., & Moore, T. (2024). The influence of kynurenine metabolites on neurodegenerative pathologies. *International Journal of Molecular Sciences*, *25*(2), 853. <https://doi.org/10.3390/ijms25020853>
97. Pavlova, N. N., Hui, S., Ghergurovich, J. M., Fan, J., Intlekofer, A. M., White, R. M., Rabinowitz, J. D., Thompson, C. B., & Zhang, J. (2018). As extracellular glutamine levels decline, asparagine becomes an essential amino acid. *Cell Metabolism*, *27*(2), 428–438.e5. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.12.006>
98. Peoples, C., Medsger, T. A., Jr, Lucas, M., Rosario, B. L., & Feghali-Bostwick, C. A. (2016). Gender differences in systemic sclerosis: Relationship to clinical features, serologic status, and outcomes. *Journal of Scleroderma and Related Disorders*, *1*(2), 177–240. <https://doi.org/10.5301/jsrd.5000209>
99. Subcommittee for Scleroderma Criteria of the American Rheumatism Association Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee. (1980). Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis (scleroderma). *Arthritis and Rheumatism*, *23*(5), 581–590. <https://doi.org/10.1002/art.1780230510>

100. Qiu, S., Cai, Y., Yao, H., Lin, C., Xie, Y., Tang, S., & Zhang, A. (2023). Small molecule metabolites: Discovery of biomarkers and therapeutic targets. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 8(1), 132. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01399-3>
101. Reveille, J. D., Fischbach, M., McNearney, T., Friedman, A. W., Aguilar, M. B., Lisse, J., Fritzler, M. J., Ahn, C., Arnett, F. C., & GENISOS Study Group. (2001). Systemic sclerosis in three U.S. ethnic groups: A comparison of clinical, sociodemographic, serologic, and immunogenetic determinants. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 30(5), 332–346. <https://doi.org/10.1053/sarh.2001.20268>
102. Rodnan, G. P., & Benedek, T. G. (1962). An historical account of the study of progressive systemic sclerosis (diffuse scleroderma). *Annals of Internal Medicine*, 57, 305–319. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-57-2-305>
103. Salazar, G. A., Assassi, S., Wigley, F., Hummers, L., Varga, J., Hinchcliff, M., Khanna, D., Schioppa, E., Phillips, K., Furst, D. E., Steen, V., Baron, M., Hudson, M., Tallefer, S. S., Pope, J., Jones, N., Docherty, P., Khalidi, N. A., Robinson, D., Simms, R. W., & Mayes, M. D. (2015). Antinuclear antibody-negative systemic sclerosis. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 44(6), 680–686. <https://doi.org/10.1016/j.semarthrit.2014.11.006>
104. Samuelsson, K., & Press, R. (2018). Microangiopathy – a potential contributing factor to idiopathic polyneuropathy: A mini review. *Frontiers in Neurology*, 9, 43. <https://doi.org/10.3389/fneur.2018.00043>
105. Samuelsson, K., & Press, R. (2020). Chronic axonal idiopathic polyneuropathy: Is it really benign? *Current Opinion in Neurology*, 33(5), 562–567. <https://doi.org/10.1097/WCO.0000000000000847>
106. Sandelius, Å., Zetterberg, H., Blennow, K., Adiutori, R., Malaspina, A., Laura, M., Reilly, M. M., & Rossor, A. M. (2018). Plasma neurofilament light chain concentration in the inherited peripheral neuropathies. *Neurology*, 90(6), e518–e524. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000004932>
107. Sangha, O. (2000). Epidemiology of rheumatic diseases. *Rheumatology*, 39(Suppl 2), 3–12. https://doi.org/10.1093/rheumatology/39.suppl_2.3
108. Santos, C. S., Morales, C. M., Castro, C. Á., & Álvarez, E. D. (2023). Clinical phenotype in scleroderma patients based on autoantibodies. *Rheumatology Advances in Practice*, 7(Suppl 1), i26–i33. <https://doi.org/10.1093/rap/rkad010>
109. Sari, A., Esme, M., Aycicek, G. S., Armagan, B., Kilic, L., Ertenli, A. I., Halil, M. G., & Akdogan, A. (2021). Evaluating skeletal muscle mass with ultrasound in patients with systemic sclerosis. *Nutrition*, 84, 110999. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2020.110999>
110. Schady, W., Sheard, A., Hassell, A., Holt, L., Jayson, M. I., & Klimiuk, P. (1991). Peripheral nerve dysfunction in scleroderma. *The Quarterly Journal of Medicine*, 80(292), 661–675.
111. Schaffer, S., & Kim, H. W. (2018). Effects and mechanisms of taurine as a therapeutic agent. *Biomolecules & Therapeutics*, 26(3), 225–241. <https://doi.org/10.4062/biomolther.2017.251>
112. Setlere, S., Grosmane, A., Kurjane, N., Gailite, L., Rots, D., Blennow, K., Zetterberg, H., & Kenina, V. (2023). Plasma neurofilament light chain level is not a biomarker of Charcot-Marie-Tooth disease progression: Results of 3-year follow-up study. *European Journal of Neurology*, 30(8), 2453–2460. <https://doi.org/10.1111/ene.15858>
113. Shao, M. M., Xiang, H. J., Lu, H., Yin, P. H., Li, G. W., Wang, Y. M., Chen, L., Chen, Q. G., Zhao, C., Lu, Q., Wu, T., & Ji, G. (2022). Candidate metabolite markers of peripheral neuropathy in Chinese patients with type 2 diabetes. *American Journal of Translational Research*, 14(8), 5420–5440.
114. Sharma, S., Zhang, X., Azhar, G., Patyal, P., Verma, A., Kc, G., & Wei, J. Y. (2024). Valine improves mitochondrial function and protects against oxidative stress. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 88(2), 168–176. <https://doi.org/10.1093/bbb/zbad169>

115. Shetewy, A., Shimada-Takaura, K., Warner, D., Jong, C. J., Mehdi, A. B., Alexeyev, M., Takahashi, K., & Schaffer, S. W. (2016). Mitochondrial defects associated with β -alanine toxicity: Relevance to hyper- β -alaninemia. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 416(1–2), 11–22. <https://doi.org/10.1007/s11010-016-2688-z>
116. Simpson, C. E., Ambade, A. S., Harlan, R., Roux, A., Aja, S., Graham, D., Shah, A. A., Hummers, L. K., Hemnes, A. R., Leopold, J. A., Horn, E. M., Berman-Rosenzweig, E. S., Grunig, G., Aldred, M. A., Barnard, J., Comhair, S. A. A., Tang, W. H. W., Griffiths, M., Rischard, F., Frantz, R. P., & the PVDOMICS Study Group. (2023). Kynurenine pathway metabolism evolves with development of preclinical and scleroderma-associated pulmonary arterial hypertension. *American Journal of Physiology – Lung Cellular and Molecular Physiology*, 325(5), L617–L627. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00177.2023>
117. Skare, T. L., Fonseca, A. E., Luciano, A. C., & Azevedo, P. M. (2011). Autoantibodies in scleroderma and their association with the clinical profile of the disease: A study of 66 patients from southern Brazil. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 86(6), 1075–1081. <https://doi.org/10.1590/s0365-05962011000600003>
118. Smolenska, Z., Zabielska-Kaczorowska, M., Wojteczek, A., Kutryb-Zajac, B., & Zdrojewski, Z. (2020). Metabolic pattern of systemic sclerosis: Association of changes in plasma concentrations of amino-acid-related compounds with disease presentation. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 7, 585161. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2020.585161>
119. Soldano, S., Pizzorni, C., Paolino, S., Trombetta, A. C., Montagna, P., Brizzolara, R., Ruaro, B., Sulli, A., & Cutolo, M. (2016). Alternatively activated (M2) macrophage phenotype is inducible by endothelin-1 in cultured human macrophages. *PLOS ONE*, 11(11), e0166433. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0166433>
120. Staats Pires, A., Heng, B., Tan, V. X., Latini, A., Russo, M. A., Santarelli, D. M., Bailey, D., Wynne, K., O'Brien, J. A., Guillemin, G. J., & Austin, P. J. (2020). Kynurenine, tetrahydrobiopterin, and cytokine inflammatory biomarkers in individuals affected by diabetic neuropathic pain. *Frontiers in Neuroscience*, 14, 890. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00890>
121. Steen, V. D., Oddis, C. V., Conte, C. G., Janoski, J., Casterline, G. Z., & Medsger, T. A., Jr. (1997). Incidence of systemic sclerosis in Allegheny County, Pennsylvania: A twenty-year study of hospital-diagnosed cases, 1963–1982. *Arthritis and Rheumatism*, 40(3), 441–445. <https://doi.org/10.1002/art.1780400309>
122. Stochmal, A., Czuwara, J., Trojanowska, M., & Rudnicka, L. (2020). Antinuclear antibodies in systemic sclerosis: An update. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, 58(1), 40–51. <https://doi.org/10.1007/s12016-018-8718-8>
123. Tagliafico, A., Panico, N., Resmini, E., Derchi, L. E., Ghio, M., & Martinoli, C. (2011). The role of ultrasound imaging in the evaluation of peripheral nerve in systemic sclerosis (scleroderma). *European Journal of Radiology*, 77(3), 377–382. <https://doi.org/10.1016/j.ejrad.2009.08.010>
124. Tan, E. M. (1989). Antinuclear antibodies: Diagnostic markers for autoimmune diseases and probes for cell biology. *Advances in Immunology*, 44, 93–151. [https://doi.org/10.1016/S0065-2776\(08\)60641-0](https://doi.org/10.1016/S0065-2776(08)60641-0)
125. Ung, C. Y., Onoufriadis, A., Parsons, M., McGrath, J. A., & Shaw, T. J. (2021). Metabolic perturbations in fibrosis disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 139, 106073. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2021.106073>
126. Utsunomiya, A., Oyama, N., & Hasegawa, M. (2020). Potential biomarkers in systemic sclerosis: A literature review and update. *Journal of Clinical Medicine*, 9(11), 3388. <https://doi.org/10.3390/jcm9113388>
127. Van den Hoogen, F., Khanna, D., Fransen, J., Johnson, S. R., Baron, M., Tyndall, A., Matucci-Cerinic, M., Naden, R. P., Medsger, T. A., Jr, Carreira, P. E., Riemekasten, G., Clements, P. J., Denton, C. P., Distler, O., Allanore, Y., Furst, D. E., Gabrielli, A., Mayes, M. D., van Laar, J. M., Seibold, J. R., ... Pope, J. E. (2013). 2013 classification criteria for systemic sclerosis: An ACR/EULAR collaborative initiative. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 72(11), 1747–1755. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2013-204424>

128. Volkmann, E. R., Tashkin, D. P., Silver, R., Bostwick, C. F., Assassi, S., Frost, D. B., Leng, M., Wilhalme, H., Kim, G. H., Goldin, J., & Roth, M. D. (2022). Sex differences in clinical outcomes and biological profiles in systemic sclerosis-associated interstitial lung disease: A post-hoc analysis of two randomised controlled trials. *The Lancet Rheumatology*, 4(10), e668–e678. [https://doi.org/10.1016/S2665-9913\(22\)00193-X](https://doi.org/10.1016/S2665-9913(22)00193-X)
129. Wallace, N., Gaboyan, S., Nichols, W. C., Pauciulo, M., Cheng, S., Chan, S. Y., Jain, M., & Alotaibi, M. (2023). Metabolites of the kynurenine pathway are significantly altered in systemic sclerosis-associated PAH compared to other subgroups of PAH (abstract). *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 207, A2517.
130. Wan, Y., & Fu, J. (2024). GDF15 as a key disease target and biomarker: Linking chronic lung diseases and ageing. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 479(3), 453–466. <https://doi.org/10.1007/s11010-023-04743-X>
131. Wang, H., Zheng, X., Liu, B., Xia, Y., Xin, Z., Deng, B., He, L., Deng, J., & Ren, W. (2021). Aspartate metabolism facilitates IL-1 β production in inflammatory macrophages. *Frontiers in Immunology*, 12, 753092. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.753092>
132. Weng, S. W., Chen, W. C., Shen, F. C., Wang, P. W., Chen, J. F., & Liou, C. W. (2022). Circulating growth differentiation factor 15 is associated with diabetic neuropathy. *Journal of Clinical Medicine*, 11(11), 3033. <https://doi.org/10.3390/jcm11113033>
133. Westerlind, H., Bairkdar, M., Gunnarsson, K., Moshtaghi-Svensson, J., Sysojev, A. Ö., Hesselstrand, R., & Holmqvist, M. (2022). Incidence and prevalence of systemic sclerosis in Sweden, 2004–2015: A register-based study. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 53, 151978. <https://doi.org/10.1016/j.semarthrit.2022.151978>
134. Wischhusen, J., Melero, I., & Fridman, W. H. (2020). Growth/differentiation factor-15 (GDF-15): From biomarker to novel targetable immune checkpoint. *Frontiers in Immunology*, 11, 951. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00951>
135. Yang, C., Tang, S., Zhu, D., Ding, Y., & Qiao, J. (2020). Classical disease-specific autoantibodies in systemic sclerosis: Clinical features, gene susceptibility, and disease stratification. *Frontiers in Medicine*, 7, 587773. <https://doi.org/10.3389/fmed.2020.587773>
136. Yang, S., Zhao, M., & Jia, S. (2023). Macrophage: Key player in the pathogenesis of autoimmune diseases. *Frontiers in Immunology*, 14, 1080310. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1080310>
137. Yang, Z., & Wang, K. K. (2015). Glial fibrillary acidic protein: From intermediate filament assembly and gliosis to neurobiomarker. *Trends in Neurosciences*, 38(6), 364–374. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2015.04.003>
138. Yen, E. Y., Singh, D. R., & Singh, R. R. (2021). Trends in systemic sclerosis mortality over forty-eight years, 1968–2015: A U.S. population-based study. *Arthritis Care & Research*, 73(10), 1502–1510. <https://doi.org/10.1002/acr.24411>
139. Zeballos, R. S., Fox, R. I., Cheresch, D. A., & McPherson, R. A. (1994). Anti-glycosphingolipid autoantibodies in rheumatologic disorders. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 8(6), 378–384. <https://doi.org/10.1002/jcla.1860080607>
140. Zhang, A., Sun, H., Yan, G., Wang, P., & Wang, X. (2015). Metabolomics for biomarker discovery: Moving to the clinic. *BioMed Research International*, 2015, 354671. <https://doi.org/10.1155/2015/354671>
141. Zis, P., Sarrigiannis, P. G., Rao, D. G., Hewamadduma, C., & Hadjivassiliou, M. (2016). Chronic idiopathic axonal polyneuropathy: A systematic review. *Journal of Neurology*, 263(10), 1903–1910. <https://doi.org/10.1007/s00415-016-8082-7>