Autoimunosne bolesti - od patomehanizama do terapije

Bauer, Kristina

Master's thesis / Diplomski rad

2015

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:700880

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb

Kristina Bauer

Autoimunosne bolesti - od patomehanizama do terapije

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2015.

Ovaj diplomski rad prijavljen je na kolegiju Imunokemija Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen u Zavod za medicinsku biokemiju i hematologiju, Domagojeva 2. Izrađen je pod stručnim vodstvom nasl. izv. prof. dr. sc Slavice Dodig.

Želim zahvalit nasl. izv. prof. dr. sc. Slavici Dodig na stručnom vodstvu tijekom izrade ovog diplomskog rada, na strpljenju i vremenu koje mi je ukazala i pomogla mi da ovaj rad bude što uspješniji. Također velika hvala mojim roditeljima, bratu i baki šta su bili svih ovih godina moja najveća podrška i nisu mi dozvolili da odustanem u najtežim trenucima, isto tako želim zahvaliti mojim prijateljima koji su uvijek bili tu uz mene i uljepšali mi moje studenske dane.

SADRŽAJ

KRATICE I POKRATE 1
1. UVOD 3
2. OBRAZLOŽENJE TEME 4
3. MATERIJALI I METODE 5
4. REZULTATI I RASPRAVA 6
4.1 OPĆI DIO 6
4.1.1Autoimunosne bolesti 6
4.1.2 Etiologija i patogeneza autoimunosnih bolesti 7
4.1.3 Podjela autoimunosnih bolesti 9
4.1.4 Dijagnostički postupci 10
4.1.5 Klinička svojstva autoimunosnih bolesti 11
4.1.6 Laboratorijska dijagnostika 11
4.1.7 Problematika standardizacije autoimunih testova 18
4.1.8 Liječenje autoimunosnih bolesti 19
4.1.8.1. Protuupalni lijekovi 20
4.1.8.2. Kortikosteroidi 21
4.1.8.3. Citostatici 22
4.1.8.4. Biološki lijekovi 23
4.2. SPECIJALNI DIO 25
4.2.1.1. Hashimotov tireoiditis 25
4.2.1.2. Autoimunosni hepatitis 26
4.2.2. Sistemske autoimunosne bolesti 28
4.2.2.1. Multipla skleroza 29
4.2.2.2. Reumatoidni artritis 32
5. ZAKLJUČAK 35
6. LITERATURA 36
7. SAŽETAK/ SUMMARY 39

KRATICE I POKRATE

Kratice

ANA - antinuklearnih antitijela

AST – aspartat-aminotransferaza

ALT – alanin-aminotransferaza

C3 – komponente komplementa C3

C4 – komponente komplementa C4

CH50 – ukupna hemolitička aktivnost klasičnoga puta aktivacije komplementa

CIC – cirkulirajući imuni kompleksi

COX-1 – ciklooksigenaza 1

COX-2 – ciklooksigenaza 2

CRP – C- reaktivni protein

EIA – (eng. enzymeimmunoassay, enzimimunokemijska metoda)

ELISA – (eng. enzyme-linked immunosorbent assay, imunokemijska metoda na tvrdom nosaču, povezana s enzimom)

eng. – engleski

FEIA – (eng. fluoroenzymeimmunoassay, fluoroenzimimunokemijska metoda)

G6PD – glukoza-6-fosfat dehidrogenaza

HLA – humani leukocitni antigen

IIF – indirektna imunofluorescencija

kDA – kiloDalton

RA – reumatoidni artritis

RF – reumatoidni faktor

SE – sedimentacija eritrocita

SLE – sistemski lupus eritematosus

TNF-α – faktor nekroze tumora

TG – tireoglobulin

TPO – tireoidna peroksidaza

Pokrate

CAP - eng. College of American Pathologists, Udruga američkih patologa

IFCC - eng. International Federation of Clinical Chemistry, Međunarodna federacija za kliničku kemiju,

ISO - eng. International Standardization Organization, Međunarodna organizacija za standardizaciju

IUPAC - eng. International Union of Pure and Applied Chemistry, Međunarodna unija čiste i primjenjene kemije,

NCCLS - eng. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Nacionalno povjerenstvo za standarde u kliničkoj kemiji,

WHO - eng. World Health Organization, Svjetska zdravstvena organizacija

ASC - eng. Autoantibody Standardization Committee, Povjerenstvo za standardizaciju autoantitijela

EASI - eng. European Autoimmunity Standardization Initiative, Europska inicijativa za standardizaciju autoimuniteta

1. UVOD

Autoimunosne bolesti nastaju kao posljedica gubitka imunološke tolerancije organizma na vlastite antigene, odnosno, radi se o bolestima kod kojih sam organizam napada vlastite stanice. Uzroci nastanka autoimunosnih bolesti još uvijek nisu otkriveni i većina stručnjaka skreće pažnju na povezanost bolesti s tehnološkim i kulturološkim napretkom, te odmicanjem čovjeka od njegovog prirodnog okoliša (Tešija Kuna, 2004). Za većinu autoimunosnih bolesti još uvijek nema lijeka, pa većina pacijenata zahtijeva doživotnu terapiju. U ovom diplomskom radu se autoimunosne bolesti proučavaju korištenjem deskriptivne metode. U prvom, općem dijelu se govori o definiciji, etiologiji i patogenezi autoimunosnih bolesti, a potom se, prikazuju vrste bolesti, neka njihova klinička svojstva, dijagnostički postupci i liječenje.

U drugom, specijalnom dijelu diplomskog rada su, također korištenjem deskriptivne metode, prikazni primjeri organski specifičnih autoimunosnih bolesti i sistemskih autoimunosnih bolesti, nakon čega slijedi zaključak rada, s dodacima i popisom literature. Od organskih specifičnih autoimunosnih bolesti detaljnije su prikazani Hashimotov tireoiditis te autoimunosni hepatitis, dok su od sistemskih autoimunosnih bolesti detaljnije prikazani multipla skleroza te reumatoidni artritis.

2. OBRAZLOŽENJE TEME

Kompetentan obrambeni sustav svakog čovjeka sposoban je na poticaj različitih egzogenih štetnih agensa, odgovoriti aktivacijom medijatora nespecifične i specifične imunosti. Čovjek je zdrav sve dok obrambeni sustav uspijeva neutralizirati djelovanje štetnih agensa. Katkada obrambeni sustav može reagirati na neodgovarajući, pretjeran način. Poznata su tri oblika pretjeranoga odgovora obrambenog sustava. Osim reakcija preosjetljivosti (alergije) i proliferacije limfocita B koji pojačano sintetiziraju monoklonalne imunoglobuline (monoklonalne gamapatije), organizam čovjeka može na neodgovarajući način reagirati prema vlastitim antigenima, što ima za posljedicu pojavu autoimunosnih bolesti. Danas je poznato oko 50 autoimunosnih bolesti - sistemskih ili organski specifičnih bolesti. Od njih obolijeva oko 2% Europljana. Češće su u žena. Produljenje životnog vijeka povećavat će broj oboljelih.

Simptomi i znakovi autoimunosnih bolesti nisu uvijek specifični (upala, bolovi, osip), pa se katkada postavljanje dijagnoze može odgoditi. Suvremene imunokemijske metode omogućile su da se laboratorijska dijagnostika iz subspecijalističkih kliničkih laboratorija prebaci u specijalističke laboratorije. To unapređivanje laboratorijske dijagnostike skratilo je vrijeme izvođenja metoda i dobivanje kvantitativnh rezultata, što je omogućilo liječniku da dijagnozu autoimunosne bolesti postavi ranije negoli je to prije bilo moguće. Pravovremeno postavljanje dijagnoze omogućuje i pravovremenu terapiju.

Autoimunosne bolesti nisu samo izazov za liječnike i medicinske biokemičare nego i od farmaceuta zahtijevaju dobro poznavanje lijekova koji se primjenjuju te nuspojave njihove primjene. Budući da bolesnici često uzimaju istodobno i druge lijekove, važno je poznavanje interakcija različitih lijekova.

Ovaj rad ima za cilj prikazati autoimunosne bolesti na cjeloviti način – od nastanka bolesti do liječenja. Stoga može biti koristan za svakodnevnu praksu, ali i kao polazište za stručna i znanstvena istraživanja.

3. MATERIJALI I METODE

Za pisanje ovog rada pretraživana je on-line baza podataka, pregledana je dostupna znanstvena literatura, te znanstvena baza podataka i članci u stručnim časopisima. Pri proučavanju relevantnih znanstvenih članaka izdvojeni su značajniji rezultati istraživanja, rasprave i zaključci.

Pretraživalo se prema ključnim riječima: autoimunosne bolesti, kortikosteroidi, biološki lijekovi i citostatici.

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1 OPĆI DIO

4.1.1 Autoimunosne bolesti

Zdrav ljudski organizam za borbu protiv mikroorganizama, a među koje spadaju virusi, bakterije i paraziti ima na raspolaganju paletu mogućnosti. Ove mogućnoti obrane nazivaju se imunološkim sustavom. No, u određenim situacijama imunološki sustav počinje djelovati u suprotnom smjeru te napada ljudski organizam, umjesto da ga štiti. Autoimunosna bolest je upravo taj pogrešan smjer reakcije imunološkog sustava, a očituje se kroz postojanje autoantitijela ili T limfocita reaktivnih s domaćim antigenima.

Dakle, autoimunosna bolest nastaje kada imunološki sustav tijela napada vlastite antigene. Upravo je proizvodnja visoko afinitetnih autoantitijela glavna karakteristika autoimunosnih bolesti.

Može se dogoditi da se vlastiti antigeni, pod djelovanjem različitih okolišnih čimbenika (virusi, radijacija, onečišćenje) tako promijene da ih organizam više nesmatra vlastitima. Ove bolesti se najčešće javljaju kod pacijenata s genetskom predispozicijom, izazvanom brojnim vanjskim i unutarnjim čimbenicima.

Izvršni mehanizmi autoimunoreakcije su humoralni (imunološka preosjetljivost tipa II i III) i stanični (imunološka preosjetljivost tipa IV) (Batinić, 2010). U autoimunosnoj reakciji preosjetljivosti tipa II protutijela se vežu za odgovarajuće antigen(e) na stanicama i tkivima nakon čega mogu dovesti do razaranja stanica (npr. u hemolitičkoj anemiji), sprječavanja normalne funkcije stanica (npr. blokade acetil-kolinskih receptora u mijasteniji gravis) ili pak pretjerane stimulacije stanica (npr. tireocita u hipertireozi) (Batinić, 2010). U bolestima imunokompleksa (imunološka preosjetljivost tip III) nastali kompleksi antigena i autoantitijela se talože u tkiva, posebice u kožu, bubrege, zglobove i pluća, a daljnjim aktiviranjem komplementa i fagocitnih stanica uzrokuju tkivna oštećenja. Za razliku humoralnog, stanična

autoimunoreakcija uzrokuje tkivna oštećenja izravno citokinima koje luče limfociti TH1 ili aktiviranjem makrofaga i upalne reakcije u ciljnom tkivu (klasična preosjetljivost tipa IV) ili izravnim citotoksičnim djelovanjem limfocita T (CTL) protiv stanica koje nose ciljni autoantigen (Batinić, 2010). Bolest je uzrokovana interakcijom izvršnih mehanizama autoimunoreakcije. Kliničku sliku bolesti određuje tkivo i organ u kojemu se nalazi napadnuti autoantigen. Shodno tome, autoimunosne bolesti se dijele na organ specifične i organo nespecifične (sistemske) bolesti.

Neke od češćih bolesti s utvrđenim autoimunosnim porijeklom su: multipla skleroza, dijabetes melitus (tip1), reumatoidni artritis, Hashimotov tireoiditis (ili autoimuni tiroiditis), sistemski eritematozni lupus, SLE, a neke od njih će detaljnije biti objašnjene u nastavku rada.

Smatra se da je uzrok većine autoimunosnih bolesti kombinacija genetike (nasljedni faktor) i okolišnih uvjeta, potaknuta infekcijom. Precizije, odgovornima se smatra kombinacija gena, infekcija te utjecaj okolišnih faktora. Prema provedenim studijama, u SAD-u su gotovo 80% oboljelih od autoimunosnih bolesti žene.

4.1.2 Etiologija i patogeneza autoimunosnih bolesti

Poremećaji u funkcioniranju imunološkog sustava izazivaju slabost tog sustava, što dovodi do različitih poremećaja – od laganih oblika alergija, do imunoloških deficijencija i bolesti te različitih tumorskih oboljenja.

Autoimunosne bolesti neće nastati dok imunološki sustav i njegovi regulacijski mehanizmi imaju normalne funkcije. Još uvijek u medicini nije u potpunosti pojašnjeno kako organizam prepoznaje svoje, a kako tuđe antigene i zašto kod zdravih ljudi, on ne napada vlastita tkiva. Prema dosadašnjim saznanjima, najizgledniji razlog je gubitak aktivne tolerancije na antigenske determinante vlastitih stanica što izaziva neodgovarajuće i promijenjene reakcije imunološkog sustava, a što u konačnici ima za rezultat nastanak autoimunosne bolesti. No, zasigurno je da, kako je ranije rečeno, u nastajanju autoimunosnih bolesti ulogu imaju genetski i vanjski čimbenici.

Rose i Bona (Rose i Bona, 1993) razlikuju dokaze za etiologiju autoimunosnih bolesti na tri različita nivoa*: izravne*, *neizravne* i *indikativne*. Izravni dokazi zahtijevaju prenosivost različitih

karakterističnih oštećenja bolesti s čovjeka na čovjeka ili čovjeka na životinju. Ovakav dokaz je moguć samo u slučajevima bolesti posredovanih autoantitijelima.

Primjeri autoimunosnih bolesti koje ispunjavaju kriterije izravnog dokaza su idiopatska trombocitopenična purpura, Gravesova bolest i miastenija gravis, pemfigus vulgaris i bulozni pemfigoid (gdje se bolest može prenijeti s ljudskih na životinjska autoantitijela). Češći slučaj patoloških učinaka autoantitijela je u reprodukciji funkcionalnih nedostataka karakterističnih za bolesti in vitro. Na primjer, autoantitijela mogu biti uzrok perniciozne anemije kod pacijenata kod kojih nema mogućnosti vezanja vitamin B12 za intrinzičn faktor. Također, prekomjerna proizvodnja hormona štitnjače može se izazvati autoantitijelima kod pacijenata s Gravesovom bolesti.

Posredni dokazi su najčešći u slučaju autoimunosnih bolesti. Primjerice, autoimunosni temelj sistemskog eritemskog lupusa je dobro prihvaćen zbog dostupnosti nekoliko genetski utvrđenih mišjih modela koji, dok se ne simulira klinički lups, vrlo slično repliciraju serološke i patološke značajke. Hashimotov tiroiditis i multipla skleroza se mogu reproducirati imunizacijom životinje s antigenom analognim autoantigenu u ljudskoj bolesti.

Kada izravni i neizravni dokazi nisu dostupni, liječniku preostaju indikativni dokazi koji se prepoznaju po deskriptivnim "markerima" autoimunosnih bolesti:

- Pozitivna obiteljska anamneza za iste bolesti, ili druge autoimunosne bolesti
- Prisutnost neke druge autoimunosne bolesti kod istog pacijenta
- Prisutnost infiltriranih mononuklearnih stanica u zahvaćenom tkivu ili organu
- Povlašteno korištenje MHC alela razreda II
- Povišene serumske razine IgG autoantitijela
- Taloženje kompleks antigen-antitijela u zahvaćenom tkivu ili organu
- Smanjenje simptoma korištenjem imunosupresivnih lijekova kao što su kortikosteroidi

Kako je navedeno, genetski faktori mogu igrati važnu ulogu. Također, rođaci oboljelih od autoimunosnih bolesti često imaju isti tip autoantitijela, a pojava autoimunosnih bolesti je češća u jednojajčanih nego u dvojajčanih blizanaca. Žene obolijevaju češće od muškaraca. Čini se da sklonost obolijevanju uvelike objašnjava genetika. U ljudi s povećanim rizikom od obolijevanja,

vanjski faktori mogu potaknuti nastanak bolesti (npr. određeni lijekovi mogu potaknuti nastanak hemolitične anemije u ljudi s manjkom G6PD – glukoze-6-fosfat dehidrogenaze).

Autoimunosne bolesti, nastaju kao posljedica imunološkog oštećenja vlastitih tkiva i organa („organizam napada sam sebe“), ili gubitka tolerancije na vlastita tkiva. Aktivirana stanična i humoralna reakcija vezana uz autoimuni proces u organizmu dovodi do oštećenja vlastitih tkiva. Patogenezu i kliničku sliku bolesti određuje vlastiti antigen, koji je napadnut odnosno organ na čijim se stanicama taj antigen nalazi pa se razlikuju dvije vrste autoimunosnih bolesti:

- sistemske autoimunosne bolesti - tkivno specifične, npr. SLE, multipla skleroza,
- organski specifične autoimunosne bolesti, kao što su npr. Hashimoto tireoiditis ili autoimuni hepatitis.

Imunološki sustav ima za cilj zaštititi organizam od egzogenih čimbenika i sačuvati ga od napada vlastitog organizma na vlastite stanice i na taj način spriječiti:

- Napad endogenih činilaca koji mogu izazvati pojavu tumora, i
- Brojne autoimunske promjene, i utjecaje vanjskih (egzogenih) čimbenika kao što su mikroorganizmi, toksini, različiti antigeni itd.

4.1.3 Podjela autoimunosnih bolesti

Autoimunosne bolesti se dijele po kliničkoj klasifikaciji na **sistemske** (Tablica 1) ili **organski specifične** (Tablica 2).

Kod sistemskih autoimunih bolesti velik je broj autoantitijela što ih pacijent sintetizira. Ona su izrazito specifična za određenu bolest: anti-dsDNA, anti-Sm, anti-ribosomalna P autoantitijela u SLE, anti-topoizomeraza I (Scl-70) u sklerodermiji, autoantitijela na citrulinirane proteine (anti-CCP) kod reumatoidnog artritisa, anti-SS-A/Ro, anti-SS-B/La kod Sjögrenovog sindroma (SjS), anti-U1-RNP, anti-PM-Scl kod miješane bolesti vezivnog tkiva (engl. mixed connective tissue disease, MCTD) ili anti-Jo-1 kod polimiozitisa i dermatomiozitisa (Salamunić, 2010).

Tablica 1. Popis nekih sistemskih autoimunih bolesti

Bolest	**Tkivo, organ**
Sistemski eritematozni lupus	koža, središnji živčani sustav, krvne žile, bubrezi, zglobovi
Reumatska groznica	vezivno tkivo i zglobovi, koža, srčani mišić, bazalne ganglije u mozgu
Sarkoidoza	limfni čvorovi, pluća, vezivno tkivo
Multipla skleroza	aksoni živčanih stanica
Reumatoidni artritis	zglobovi, koža, ostali organi (pluća, srce)

Organski specifične autoimunosne bolesti povezane su s autoantitijelima specifičnima za glavni oboljeli organ, kao što su tireoglobulin (TG) i enzim tireoidna peroksidaza (TPO) kod tiroiditisa, inzulin i autoantitijela na dekarboksilazu glutaminske kiseline kod šećerne bolesti tipa I i antimitohondrijska autoantitijela kod primarne bilijarne ciroze (Salamunić, 2010). Upravo, autoantitijela ukazuju na status aktivnosti bolesti ili predvidjeti buduće patološko stanje.

Tablica 2. Popis nekih organski specifičnih autoimunih bolesti

Bolest	**Tkivo, organ**
Autoimuna enteropatija	tanko crijevo, debelo crijevo
Ulcerozni kolitis	debelo crijevo, rektum
Celijakija	tanko crijevo
Šećerna bolest tip 1	gušterača
Kronični gastritis	želudac
Hashimoto tireoiditis	štitnjača
Sindrom Sjögren	žlijezde slinovnice, suzne žlijezde

4.1.4 Dijagnostički postupci

Dijagnostika autoimunih bolesti podrazumijeva dobivanje podataka o obiteljskoj i osobnoj anamnezi, kliničkim simptomima i znakovima, dijagnostičkim postupcima *in vivo* (npr. radiogram, ultrazvuk) i *in vitro* (laboratorijska dijagnostika).

Klinička iskoristivost rezultata ovisi o kvaliteti laboratorijskih metoda, njihovoj analitičkoj osjetljivosti i specifičnosti, odnosno o njihovoj pouzdanosti. Idealan je onaj dijagnostički test koji

ima veliku dijagnostičku osjetljivost i specifičnost. Takav test ne daje pozitivne rezultate za ispitanike koji ne boluju od bolesti, a prepoznaje sve osobe koje boluju od određene bolesti.
Specifična laboratorijska imunodijagnostika autoimunosnih bolesti temelji se na otkrivanju specifičnih serumskih autoantitijela (serološka imunodijagnostika), imunih limfocita, odnosno citokina (celularna imunodijagnostika), sustava komplementa te određivanja haplotipa HLA (Batinić i Malenica, 2010).

4.1.5 Klinička svojstva autoimunosnih bolesti

Kod sistemskih se bolesti klinička slika može razvijati postupno, ali se prvi znaci bolesti mogu pojaviti iznenada. Očituju se katkada blažim a katkada izraženijim simptomima. Neki od simptoma su: otjecanje ruku i nogu (zahvaćenost bubrega), vrućica veća od 38 °C, osip na rukama, licu, leđima, anemija, bol u prsima, umor, depresija. Ti se opći simptomi u pečetku ne moraju shvatiti kao simptomi uzrokovani sistemskom autoimunom bolešću.

Kod organski specifičnih bolesti pojava simptoma ovisi o tome koji je organ zahvaćen, pa se mogu pojaviti umor, gubitak tjelesne mase, krvave stolice, poremećen metabolizam glukoze.

Klinička slika odnosno pojava simptoma autoimunosnih bolesti nije specifična i podrazumijeva široki spektar tegoba. Katkada bolesnici bivaju upućeni različitim specijalistima prije nego što se postavi sumnja na autoimunosnu bolest. Potvrda bolesti postavlja se laboratorijskim metodama.

4.1.6 Laboratorijska dijagnostika

Unatoč postojećim mogućnostima, rutinska se laboratorijska imunodijagnostika najčešće svodi na određivanje serumskih autoantitijela i dokazivanju njihovih ciljnih autoantigena. Nalaz pojedinog autoantitijela može biti povezan s kliničkom manifestacijom bolesti. Razina koncentracija pojedinog autoantitijela može biti povezana s postojanjem, aktivnošću i raširenošću bolesti te pridonijeti procjeni uspješnosti primijenjenog liječenja. U dijagnostici, prepoznavanje cirkulirajućih imunokompleksa (CIC) nema dijagnostičku pouzdanost poput prepoznavanja

specifičnih autoantitijela jer načini njihovog prepoznavanja ne određuju njihovu antigensku specifičnost pa je time nemoguće specificirati i o kojoj se autoimunosnoj bolesti radi. Tehnološki zahtjevnija, skuplja i manje specifična metoda je određivanje izvršnih molekula stanične autoimunoreakcije (citokina i limfocita T) pa se u rutinskoj laboratorijskoj imunodijagnostici autoimunosnih bolesti koristi vrlo rijetko, odnosno tek u posebnim slučajevima. Ipak upravo se ti parametri koriste u prikupljanju imunopatogeneze i izboru ciljane biološke terapije u liječenju pojedine autoimunosne bolesti.

Mjerenje razine koncentracije specifičnih antitijela protiv specifičnih antimikrobnih antigena koristi se u laboratorijskoj dijagnostici prirođenih imunodeficijencija i dijagnostici infekcija povezanih s pojedinim autoimunosnim bolestima. Nalaz specifičnih serumskih antitijela dokaz je da je imunosni sustav bolesnika prepoznao pojedini mikroorganizam.

Primjenom različitih tehnika razvijaju se specifični testovi za otkrivanje autoantitijela, kao što su imunodifuzija, imunoblot, imunofluorescencija, enzimski imunotestovi i protočna citometrija za testove temeljene na istovremenom višestrukom prepoznavanju specifičnih antinuklearnih antitijela.

Hargraves je 1947. godine primijenio test LE stanica (LE) za određivanje antinuklearnih antitijela (ANA). Na taj način se povezalo autoimune bolesti sa sistemskim lupusom eritematozusom (Hargraves i sur.,1948). Metoda imunofluorescencije predstavljena je 1957. godine, a koristi se za otkrivanje ANA tako što označava specifične podskupine na temelju nuklearne ili citoplazmatske komponente. Narednih godina razvio se veliki broj postupaka i metoda za otkrivanje antitijela od strane labaratorijskih stručnjaka (Cook,1998).

Prva enzim-imunokemijska metoda predstavljena je 1972. i otada se razvio cijeli niz modificiranih postupaka ove izvorne enzim-imunokemijske metode. One su postale polazište za daljnju automatizaciju i standardizaciju, što je omogućilo da se dijagnostika autoimunosnih bolesti uvede u svakodnevnu praksu medicinsko-biokemijskih laboratorija (Roquette, 2003).

Laboratorijske metode koje pomažu u dijagnostici autoimunosnih bolesti mogu se svrstati u nekoliko skupina:

1. Opće nespecifične metode: kompletna krvna slika, sedimentacija eritrocita (SE), reumatoidni faktor (RF), komponente komplementa, primjerice CH50, C3 ili C4.

2. Metode indirektne fluorescencije (IIF) na rezovima jetre štakora ili na supstratu stanične kulture humanih epiteloidnih stanica.

3. Određivanje specifičnih autoantitijela u serumu pacijenta prema antigenima: antinuklearna antitijela (ANA), anti-dsDNA, anti-DNP, anti-Sm, anti SS-A/Ro, anti SS_B/La, anti-RNP, anti Scl-70,anti-Jo-1 i dr.

4. Određivanje genotipova HLA, kojim se ispituje povezanost alela HLA s autoimunosnim bolestima. Pozitivan nalaz HLA ne znači nužno da će bolesnik razviti autoimunosnu bolest, nego znači da je u te osobe povećan rizik pojave bolesti. (Dodig Imunokemija 2015).

Otkrivanje autoantitijela na antigene SS-A/Ro, SS-B/La, Sm, RNP, Scl-70, PM-Scl i Jo-1 je klinički vrlo korisno posebno kod sistemskih autoimunosnih bolesti (Eissfeller, 2005).

Antigen SS-A/Ro je ribonukleoprotein molekularne mase 60 i 52 kDa. Autoantitijela prisutna u serumu bolesnika mogu biti usmjerena na obje sastavnice proteina. Antigen SS-B/La je fosfoprotein molekularne mase 47 kDa povezan s nizom malih molekula RNA unutar stanice.

Antigeni Sm i RNP predstavljaju skupinu heterogenih molekula koje se sastoje od proteina koji su povezani s malim molekulama RNA. Autoantitijela Sm reagiraju s proteinom B/B' molekularne mase 28kDa i D proteinom mase 14 kDa. Autoantitijela RNP reagiraju najjače s proteinom mase 70kDa i kod pojedinih bolesnika s C proteinom mase 32 ili 20 kDa.

Antigen Scl-70 je protein molekularne mase 70 kDa, sadrži 765 aminokiselina i djeluje kao topoizomeraza. Rekombinantni Scl-70 je osjetljiv, no pokazuje visoku aktivnost enzima.

Antigen PM-Scl je sklop od 11-16 proteina s molekularnom masom koja varira od 20 do 111 kDa (Cook, 1998).

Antigen Jo-1 je identičan histidil-tRNA-sintetazi i prisutan je u citoplazmi. Veliki epitop nalazi se u amino-termalnom dijelu molekule proteina.

Metoda indirektne imunofluorescencije (IIF), koristi razne dijelove tkiva ili ljudsku staničnu liniju tumora (HEp-2) kao izvor antigena, te je bila od velikog utjecaja na razvoj dijagnostike autoimunih bolesti u laboratorijskom radu. Načelo je da se nakon reakcije s mogućim antitijelima iz seruma pacijenta i specifičnog antigena na rezovima animalnog jetrenog tkiva odnosno u kulturi stanica promatra pojava kompleksa antigena i antitijela. Nalaz se očitava s pomoću fluorescentnog mikroskopa. Pregledava se vrsta fluorescencije, koja može biti periferna, točkasta ili homogena. Vrste fluorescencije ukazuje na neku od autoimunosnih bolesti. Pozitivan nalaz

(semikvantitativan) podrazumijeva fluorescencija jezgre pri dodatku seruma u razrjeđenju ≥1 : 160. Procjena mutacije ovisi o iskustvu osobe koja nalaz očitava. Pojava pojedinih autoantitijela povezuje se s različitim autoimunosnim bolestima (Tablica 3.) (Stinton i Fritzler, 2007).

Tablica 3. Obrasci fluorescencije i njihova veza sa specifičnim autoantitijelima i bolesti (Salamunić 2010)

AA patterns	Disease association	Target organelle or antigen
Speckled	SLE, SSc, SjS,MCTD, SCLE, NLS,	Sm, RNP,SS-A/Ro, SS-B/La, PCNA, RNAP II/III, Topo I
Homogeneous/difuse	SLE, DIL,SSc, AH	dsDNA, chromatin, Histone
Peripheral/rim	SLE, APS, AH	Nuclear envelope
Centromere	RP,lcSSc,	CENP-A, B, C
Mitotic apparatus	SLE, SjS	NuMA1, NuMA2 (HsEg5)
Nucleolar	dcSSc, SLE, PM, RP	PM/Scl, fibrillarin (U3-RNP), RNAP I/III, NOR-90 (hUBF)
Cytoplasmic	PM, DM, SLE, SjS, PBC, SSc	Ribosomes, mitochondria, Golgi complex, centrosomes, endosomes, GW bodies, SRP, Jo-1

AA – autoantibody; AH – autoimmune hepatitis; APS – anti-phospholipid syndrome; CENP – centromere protein; dcSS – diffuse cutaneous SSc; DIL – drug–induced lupus; DM – dermatomyositis; GW – glycine, tryptophan containing; hUBF; 1cSSc – limited cutaneous SSc; MCTD – mixed connective tissue disease; NLS – neonatal lupus syndrome; NOR – nucleolar organizer; NuMA – nuclear mitotic apparatus; PBC – primary biliary cirrhosis; PCNA – proliferating cell nuclear antigen; PM – polymyositis; RNAP – RNA polymerase; RNP – ribonucleoprotein; RP – Raynaud´s phenomenon; SCLE – subacute cutaneous lupus erythematosus; SjS – Sjögren syndrome; SLE – systemic lupus erythematosus; SRP – signal recognition particle; SSc – systemic sclerosis.

Specifičnosti određenog antigena koje treba tražiti može se odrediti pomoću indirektne imunofluorescencije pozitivnih uzoraka. Stanice HEp-2, kojima se otkrivaju autoantitijela ne posjeduju odgovarajuću sposobnost davanja pozitivnih rezultata IIF za antitijela na SS-A/Ro-52 i Jo-1 (histidil-tRN-sintetaza). Uzorci iz seruma daju zrnaste ili homogene obrasce, koji se ne prepoznaju odmah kao jedan od poznatih obrazaca. Prisutnost raznih antigena na određenom dijelu tkiva, rezultat je izvrsne osjetljivosti. Antinuklearna antitijela, koja imaju nedefinirane specifičnosti, prisutna su u serumu bolesnika oboljelih od širokog spektra autoimunih bolesti, zaraznih bolesti, a mogu se naći i kod zdravih pojedinaca.

Manjak specifičnosti može uzrokovati krivo tumačenje rezultata, te navesti na krivi zaključak što ukazuje na ograničenja metode IIF za potrebe probira. Mikroskopija kod IIF je osjetljiva metoda, koja također ima ograničenja kao što su varijacije supstrata, neautomatizirana izvedba, subjektivno tumačenje rezultata, niska ponovljivost i manjak standardizacije. Ova metoda zahtjeva puno vremena, rezultira niskom produktivnošću i povećanim troškovima radne snage. Da bi se riješila ta ograničenja uveden je potpuno automatizirani IIF susatv za tumačenje s

programima za prepoznavanje obrazaca (Hieman i sur., 2009). Analiza autoantitijela tehnikom IIF glavna je metoda dijagnosticiranja, međutim stručnjaci smatraju da je zastarijela te je potrebno zamijeniti ju enzimskim imunotestovima ili višestrukim testovima (Dahle, 2004).
Suvremeniji pristup podrazumijeva određivanje spomenutih specifičnih autoantitijela iz razreda IgG-a. Pritom se primjenjuju metode FEIA, ELISA, Western blot. Pozitivan nalaz (kvantitativan) sukladan je s vrijednostima dobivenim mikroskopskim metodama IIF u razrijeđenju seruma ≥1 : 160. Prednost je metode što se nalaz izražava kvantitativno kao koncentracija specifičnih IgG-a u µg/L.

Postoje razlike između različitih EIA-metoda, pogotovo što se pozitivnosti rezultata tiče. Izolacija autoantitijela iz prirodnih izvora, kao što je ljudsko tkivo ima veliko ograničenje u pogledu ponovljivosti testa i njegove čistoće. Mnogi su proteini prisutni samo u ograničenom broju te njihova čistoća zahtjeva odstranjivanje ostalih potencijalnih antigenskih ciljeva. Specifičnost metode ELISA za mjerenje koncentracije autoantitijela jako ovisi o kvaliteti primijenjenih antigena te je važno da antigen ima identičnu sekvencu, konformaciju i post-translacijske modifikacije kao i ljudski antigen (Hieman i sur., 2009).

Metoda EIA je danas u širokoj uporabi za otkrivanje specifičnih nuklearnih ili citoplazmatskih antigena različitih skupina kod organskih imunoloških poremećaja, kao što su Gravesova bolest, primarna bilijarna ciroza, šećerna bolest tipa I. ili sistemskih imunoloških poremećaja koji zahvaćaju različite organe kao što su sistemska skleroza, Sjörgenov sindrom, miješana bolest veznog tkiva ili reumatoidni artritis (Jaskowski i sur., 1996).

Metoda FIA HEp-2 ANA je automatizirana metoda visoke ponovljivosti i interne kalibracije koja je temelj standardizacije. Međutim, procjena klinički dobro definiranih uzoraka na slučaju bolesnika oboljelih od sklerodermijom enzimskim testom HEp-2 ANA EIA, dala je niže pozitivne rezultate od onih dobivenih metodom ANA IIF (Tan i sur, 1999). Mnoga su istraživanja, provedena u standardiziranim uvjetima, pokazala analitičku varijabilnost različitih sustava ispitivanja.

Višestruki imunotestovi podržavaju otkrivanje višestrukih autoantitijela u jednom pokušaju u isto vrijeme. Imunoblot je višestruki imunotest koji može paralelno analizirati različite tipove autoantitijela. Imunoblot s trakama koristi gotovo jedino rekombinantne antigene, koji su imobilizirani u ravnim linijama na najlonskoj test traci. Kad ih se inkubira sa serumom, autoantitijela iz uzorka vežu se na linije antigena na traci.

Vezana autoantitijela možemo detektirati otkrivanjem bojom, a temelji se na aktivnosti alkalne fosfataze. Rezultate tumačimo usporedbom intenziteta boje linija antigena s onim linijama koje predstavljaju graničnu vrijednost. Odeđena istraživanja su pokazala da će manji postotak IIF ANA negativnih seruma postati pozitivan ispitamo li ga imunoblotom s trakama, posebice oni za anti-SS-A/Ro (Gonzales, 2005).

Otkrivanje bioloških biljega novih bolesti u stanicama, tkivima te tjelesnim tekućinama moguće je uz pomoć metode kliničke proteomike koja je usmjerena na analitičku i kliničku validaciju te implementaciju novih dijagnostičkih i terapijskih biljega (Apweiler i sur., 2009).

Kod većine imunokemijskih postupaka primjenjuju se fluoroimunokemijske metoda, a katkada kemiluminiscentne metode (Gordon I sur., 2004).

Radi simultanog otkrivanja različitih antitijela koristi se takozvana sendwic metoda imunotesta, za koju se primjenjuje tehnologija mikropostroja. Na mikropostroju su imobilizirani različiti autoantigeni i kontolni protein. Nizovi su inkubirani serumom bolesnika, a sekundarna antitijela otkrivaju vezana autoantitijela.

Mikropostroj je način otkrivanja koncentracije proteina i njihovih modifikacija. Proteomičke tehnologije s platformama mikropostroja antigena omogućuju širok dijapazin karakterizacija imunih reakcija na strane i vlastite antigene koji mogu biti uključeni u nastanak i napredak razvoja autoimunosne bolesti. Mikropostroji s antigenima omogućavaju detaljne analize autoantitijela koja su fokusirana na antigene, uključujući proteine, peptide, nukleinske kiseline, makrmolekularne komplekse itd (Joos i sur., 2001).

Staničnom kulturom, nad talogom, staničnim lizatom ili serumom ispituju se nizovi autoantitijela. Ovisno o tome koja se molekularna proba primjenjuje, u uzorku se proteini ili antitijela vežu za ravno smješten niz. Sekundarno antitijelo označeno fluorescentnom bojom prepoznaje vezane molekule ili se to događa direktno ukoliko je uzorak označen fluorescentnom bojom. Različiti čitači mogu pročitati vrijednosti inkubiranih mikropostroja na antitijelima po principu ravnog vođenja (Wingren, 2006).

Ipak, razumijevanje i poznavanje narušene regulacije koja je u podlozi, i specifičnosti autoimunog odgovora ostaje ograničeno, unatoč postignutom napretku u razumijevanju funkcije imunog sustava. U patogenezi autoimunosnih bolesti ključne su varijante i promjene u genima koji kontroliraju puteve kontrolirajući toleranciju na vlastite stanice. Danas postoje tehnologije

DNA mikropostroja koje pružaju mnoštvo informacija o patofiziologiji koja se nalazi u podlozi autoimunih bolesti (Robinson i sur., 2002).

Nizovi se mogu ispitivati stničnom kulturom, nadtalogom, staničnim lizatom ili serumom, a u uzorku se proteini ili antitijela vežu za ravno smješten niz. Vezane molekule se prepoznaju sekundarnim antitijelom koje je označeno fluorescentom bojom. Po principu ravnog vođenja može se pročitati vrijednost inkubiranih mikropostroja na antitijelima (Wingren i Borrebaeck, 2006).

Kao alternativa mikropostrojima, gdje su antigeni smješteni ravno na dnu posude, razvijena je protočna citometrija, za testove temeljene na istovremenoj višestrukoj detekciji specifičnih antinuklearnih antitijela. Nedavno je za otkrivanje ANA predstavljen komercijalni fluorescentni test temeljen na mikrosferi. Potencijalno niski troškovi i ušteda u vremenu mogli bi biti razlozi njegove češće rutinske primjene u istraživanju i kliničkim laboratorijima. Sustav imunotesta s tehnologijom mikročestica i određivanje protočnom citometrijom (xMAP tehnologija) primjenjuje se za mjerenje koncentracije različitih autoantitijela (Gonzales-Buitrago, 2006). Sustav rabi polistrenske mikročestice interno označene različitim omjerima dvaju različitih fluorokroma. Svaki fluorokrom može imati bilo koji od 10 mogućih stupnjeva intenziteta fluorescencije, stoga se stvara skupina od 100 spektarskih mjesta na česticama. Antigeni usmjereni na autoantitijela vezani su na mikročestice. Svaka od 100 mikročestica koja se može razlikovati po svojoj fluorescenciji, nosi specifični imobiliziran antigen za svako autoantitijelo. Istodobno, zeleni laser ekscitira vanjski reporter da započne fluorescenciju kako bi uočio i kvantificirao specifične reakcije vezane za svako autoantitijelo.

Procjena testova različitih proizvođača za simultano kvantitativno određivanje u istom uzorku od specifičnosti 9 antinuklearnih autoantitijela (dsDNA, SS-A/Ro, SS-B/La, Sm Sm/RNP, Scl-70, Jo-1, ribosomi i centromera B) dala je dobre rezultate (Rouquette i sur., 2003). Klinička procjena protočne citometrije za metode temeljene na istovremenoj višestrukoj detekciji specifičnih antinuklearnih antitijela, kojom se istovremeno otkrivaju antitijela na tireoidnu peroksidazu i tireoglobulin rezultirala je dobrim slaganjem s metodom ELISA.

Jedan problem kod otkrivanja autoantitijela kod bolesnika je manjak stvarne kvantitativne kalibracije zbog različitih afiniteta antitijela na antigene. Međutim, glavno pitanje ostaje jesu li kvantitativni podaci dobiveni metodama temeljenim na istovremenoj višestrukoj detekciji

specifičnih antinuklearnih antitijela identični ili barem slični onima dobivenim primjenom drugih metoda. Osjetljivost, pouzdanost i točnost ovih testova slične su kao i kod ELISA procedura.

4.1.7 Problematika standardizacije autoimunih testova

Dijagnostičari ističu da je zbog raznolikosti rezultata testova neophodno standardizirati tehnike i metode. Standardizacija autoimunih testova ključna je za postavljanje dijagnoze i praćenje širokog spektra autoimunih bolesti u kliničkoj praksi.

Više organizacija je uključeno u razne aspekte standardizacije imunotestova, na čijem se vrhu hijerarhije nalazi Međunarodna organizacija za standardizaciju (engl. International Standardization Organization, ISO). Svjetska zdravstvena organizacija (engl. World Health Organization, WHO) izdaje standarde za klinički važne antigene koji se određuju imunotestovima. Također, postoji nekoliko stručnih organizacija koje vode projekte, primjerice Međunarodna federacija za kliničku kemiju (engl. International Federation of Clinical Chemistry, IFCC), Međunarodna unija čiste i primjenjene kemije (engl. International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC), Udruga američkih patologa (engl. College of American Pathologists, CAP), Nacionalno povjerenstvo za standarde u kliničkoj kemiji (engl. National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS).

Uvidjevši potrebu za referentnim ljudskim autoimunim serumima u standardizaciji, ranih osamdesetih godina osnovano je povjerenstvo za standardizaciju autoantitijela (engl. Autoantibody Standardization Committee, ASC). Europska inicijativa za standardizaciju autoimuniteta (engl. European Autoimmunity Standardization Initiative, EASI) osnovana je kako bi se raspravilo kako se u praksi može poboljšati međudjelovanje između laboratorija i kliničkih odjela, kako se mogu harmonizirati algoritmi kod testiranja autoantitijela i koji bi se međunarodni koncept standardizacije dijagnostičkih strategija trebao uzeti u obzir.

Prva metoda otkrivanja antinuklearnih antitijela (ANA) bio je 1947. godine test LE stanica (LE), kojeg je prvi primjenio Hargraves, što je povezalo autoimune bolesti sa sistemskim lupusom eritematozusom (Hargraves i sur., 1948). Tehnika imunofluorescencije za otkrivanje ANA, koja označava specifične podskupine na temelju nuklearne ili citoplazmatske komponente,

predstavljena je 1957. Narednih godina laboratorijski stručnjaci i dijagnostička industrija razvili su niz tehnika i različitih metoda za otkrivanje antitijela (Cook, 1998).

Prvi enzimski imunotest predstavljen je 1972. i otada su razvijeni različiti oblici enzimskih imunotestova, koji su bili jednostavne, visoko produktivne analize, koje su se nadalje mogle automatizirati i standardizirati (Roquette, 2003).

Tradicionalne metode koje se temelje na hemaglutinacijskim reakcijama, imunodifuziji i imunofluorescenciji, zamjenjuju se manje zahtjevnim testovima temeljenim na tehnikama imunoblota ili enzimskom imunotestu (EIA), koji se primjenjuje za otkrivanje prisutnosti ili koncentracije pojedinačnih antitijela u biološkim tekućinama. Novorazvijen višestruki imunotest, gdje je veliki broj antigena imobliziran na čvrstoj podlozi te smješten ravno ili u prostoru na česticama, omogućuje istodobno otkrivanje različitih autoantitijela (Engvall, 1972).

4.1.8 Liječenje autoimunosnih bolesti

Liječenje autoimunosnih bolesti zahtjevno je za svakog liječnika i pacijenta.

I dalje ne postoji terapija za potpuno izlječenje autoimunih bolesti. Simptomi se najčešće liječe kortikosteroidima i imunosupresivima (koji smanjuju imunosni odgovor), ali uzrok bolesti se ne može liječiti. U određenim slučajevima se koriste citostatici koji se inače upotrebljavaju u terapiji tumorskih oboljenja. U posljednjih nekoliko godina autoimune bolesti se tretiraju takozvanim biološkim lijekovima čiji je zadatak sprječavanje djelovanja određenih upalnih supstanci u tijelu. No, ni oni ne otklanjaju uzrok bolesti, ali smanjuju simptome kod pacijenata pa olakšavaju život s autoimunom bolešću.

Opća načela u liječenju autoimunosnih bolesti podrazumijevaju primjenu četiri skupine lijekova. To su *protutupalni lijekovi*, *kortikosteroidi*, *ciotostatici* te zadnjih desetak godina *biološki lijekovi*. Lijekovi se primjenjuju stupnjevito, što zači da se liječenje započinje s protuupalnim lijekovima. Zatim se u liječenje uvode kortikosteroidi. Ako ne dolazi do poboljšanja pristupa se liječenju citostaticima. Svaki od tih lijekova primjenjuje se godinu dana. Ako nema poboljšanja simptoma, kreće se na sljedeću skupinu lijekova. Pri liječenju treba imati u vidu nuspojave primjenjivanih lijekova, osobito u trudnica. Katkad je potrebno primijeniti

nadomjesnu hormonalnu terapiju, transfuziju krvi. Liječnik se katkada može suočiti s činjenicom da pacijenti na svoju ruku koriste različite biljne preparate, koji mogu interferirati s ordiniranim lijekovima.

4.1.8.1. Protuupalni lijekovi

Nesteroidnim protuupalnim lijekovima (NSAID) nazivaju se oni lijekovi koji imaju analgetičke, antipiretičke i, u većim dozama, antiupalne osobine. Ti lijekovi ublažavaju bolove, simptome groznice i upale, a nemaju narkotičke osobine. Najpoznatiji lijekovi iz ove kategorije su aspirin i ibuprofen koji se mogu kupiti bez liječničkog recepta.

Većina takvih lijekova djeluju kao neselektini inhibitori enzima ciklooksigenaze (Green, 2001). Ciklooksigenaza postoji u dva oblika COX-1 i COX-2 te ti enzimi započinju biosintezu prostangladina i tromboksana iz arahidonske kiseline. Inhibicijom ciklooksigenaze postiže se olakšavanje simptoma nekih upalnih procesa ili bolova. Razlog tome je što prostaglandin izaziva upalnu reakciju u organizmu. Zbog učestalosti upalnih procesa i bolnih stanja, lijekovi iz ove kategorije su u vrlo širokoj upotrebi. Upravo zbog toga, sve su češći slučajevi neželjenih reakcija, koje se najčešće očituju kao poteškoće u gastrointestinalnom sustavu.

Najčešće nuspojave primjene protuupalnih lijekova su oštećenja gastrointestinalnog (GI) trakta, prvenstveno želučane erozije, krvarenja u gornjim probavnim organima i ulkusi, te problemi s funkcijom bubrega (Fabijanić i sur., 2007). Osim navedenih nuspojava uzimanja protuupalnih nesteroidnih lijekova, javljaju se i mučnina, povraćanje, proljev i bol u gornjem dijelu abdomena (dispepsija).

Uzimanje nesteroidnih protuupalnih lijekova može imati značajno negativne učinke na fetus, ali i na sami tijek poroda. Naime, NSAID mogu odgoditi početak poroda ili mogu utjecati na prijevremeno zatvaranje veze između plućne arterije i aorte, što se u normalnih okolnostima događa neposredno nakon poroda. Zatvaranjem navedenih veza, krv prolazi kroz pluća fetusa koja još nisu otvorena zrakom. Također, uzimanje protuupalnih nesteroidnih lijekova u kasnoj fazi trudnoće može utjecati na smanjenje količine plodne vode, što također može ugroziti život fetusa.

4.1.8.2. Kortikosteroidi

Kortikosteroidi su sintetski oblik prirodnih hormona koji se koriste kao protuupalni lijekovi, ali mnoge negativne nuspojave koje slijede uzimanjem ove vrste lijekova, dovela ih je u pitanje, posebno u slučajevima dugotrajnijeg uzimanja.

Među nuspojavama uzimanja kortikosteroida nalaze se povećane vrijednosti glukoze u krvi, povećan rizik od infekcija, osteoporoza, zadržavanje vode. Da bi se izbjegle nuspojave uzimanja kortikosteroida liječnici propisuju najmanje učinkovite doze, osobito u slučaju dugotrajnog liječenja.

Kortikosteroidi se primjenjuju tijekom relapsa u pacijenata oboljelih od multiple skleroze. U ovom stadiju bolesti, oni smanjuju oteklinu te se smatra da ukanjaju tekućin koja se nalazi na mjestu oštećene ovojnice te ondje otežava prolaz živčanog impulsa. Također, kortikosteroidi djeluju na oštećenu krvno-moždanu membranu i tako zaustavljaju prolaz novih aktivnih limfocita iz periferne krvi u središnji živčani sustav. Lijekovi iz ove kategorije smanjuju aktivnost imunološkog sustava te smiruju aktivnost limfocita. U ovim slučajevima primjenjuje se tzv. pulsna terapija tijekom koje se velike doze kortikosteroida primjenjuju tijekom kraćeg vremenskog razdoblja (3-7 dana ovisno o dozi koja se primjenjuje).

Nakon početnih velikih doza najčešće se nastavlja s malim dozama tijekom narednih nekoliko dana. S obzirom da je jedna od nuspojava pulsne terapije oštećenje želučane sluznice, uz terapiju kortikosteroidima liječnici preporučuju i lijekove koji štite želučanu sluznicu.

Dugotrajnu upotrebu kortikosteroida trebalo bi izbjegavati koliko je to moguće jer može uzrokovati ozbiljnije nuspojave kao što su porast tjelesne težine, šećerna bolest, akne, osteoporoza (pojačana lomljivost kostiju).

Dugotrajno uzimanje kortikosteroida ima brojne nuspojave među kojima se ističe insuficijencija nadbubrežne žlijezde koja se događa i nekoliko godina nakon prestanka primjene lijeka. U slučaju kortikosteroida ne preporučuje se nagli prestanak uzimanja jer su u tom slučaju mogući mnogi simptomi i nuspojave, poput povišenja tjelesne temperature, mialgija, konjunktivitisa i gubitka tjelesne težine.

Kao najznačajnije nuspojave uzimanja kortikosteorisa navodi se porast rizika od infekcija te nuspojave povezane uz poteškoće u endokrinom, gastrointestinalnom, mišićno-koštanom sustavu te problemi s očima i neurološki problemi. Od endokrinih nuspojava nejčešće su dijabetes

melitus, Cushingoidni izgled, zastoj rasta djece te smanjena tolerancija na šećere. Gastrointestinalni problemi koje izazivaju kortikosteroidi su ulkus, različite iritacije sluznice želuca te masna jetra. Problemi s mišićima i kostima nakon uzimanja kortikosteroida se primarno odnose na povećanu opasnost od spontanih prijeloma i povećan rizik od razvoja osteoporoze. Među neurološke nuspojave se ubrajaju depresija, psihoze, euforije i poremećaji spavanja.

Uzimanje većih i dugotrajnijih terapija kortikosteroidima posebno je opasno tijeko trudnoće zbog niza nuspojava koje ova vrsta lijekova može imati kod fetusa i trudnice. Među nuspojavama se ističu prijevremeni porod, povećana šansa da će porod završiti carskim rezom, rascjep usne i nepca, smanjena težina novorođenčeta, ali i smrt fetusa. Također, povećava se opasnost od napada astme u trudnice.

4.1.8.3. Citostatici

Citostatici su lijekovi koji onemogućavaju staničnu diobu ili izazivaju staničnu smrt pa se primarno koriste u kemoterapiji kod oboljelih od karcinoma. Budući da primarno djeluju na stanice koje karakterizira brzo umnožavanje, poput T-limfocita, može ih se smatrati imunosupresivnima (Brogan i Dillon, 2000). Zbog njihovog djelovanja, citostatike se može promatrati i po njihovom utjecaju na imunološki sustav, a upravo to djelovanje je važno u tretiranju autoimunosnih bolesti, kao poremećaja imunosnog sustava.

Među najčešćim nuspojavama citostatika su proljev, mučnina, povraćanje, gubitak apetita, opstipacija, alergijske reakcije i porast tjelesne temperature. Osim toga, velik broj citostatika izaziva alopeciju i supresiju koštane srži zbog koje dolazi do smanjenje proizvodnje crvenih krvnih stanica, bijelih krvnih stanica i krvnih pločica. Također, postoji niz nuspojava vezanih uz uzimanje citostatika, a koje se očituju u probavnom sustavu. To su upala sluznice usne šupljine, ranice u ustima te upala sluznice jednjaka, želuca i crijeva.

Citostatici mogu uzrokovati oštećenje ploda pa se ne preporučuje tretiranje tijekom trudnoće. Naime, ova vrsta lijekova djeluje na reproduktivne stanice, odnosno mogu imati mutagene ili teratogene efekte (uzrokuju stečene anomalije fetusa).

4.1.8.4. Biološki lijekovi

Biološki lijekovi pripadaju novoj skupini lijekova, razvijenih za čitav spektar bolesti. Preparati su proizvodeni u živim stanicama pomoću rekombinantne tehnologije i učinkoviti su u poticanju ili inhibiciji djelovanja prirodnih spojeva. Obično se injiciraju parenteralno, budući da bi se u oralnoj primjeni protein, od kojih se sastoje, razgradio tijekom prolaska kroz želudac. Kako je ranije navedeno, ni biološki lijekovi ne otklanjaju uzrok bolesti – sintezu autoantitijela, nego ih uklanjaju, tako da se simptomi bolesti smanjuju. Time olakšavaju život pacijenta.

Posebnu skupinu bioloških lijkova predstavljaju terapija protutijela, proizvedena metodama genetskog inženjerstva. Danas se proizvodi nekoliko vrsta terapijskih protutijela (Dodig, 2015). To su kimerična, mišja, humanizirana i humana protutijela. Razlikuju se prema sufiksu nadodanom imenu monoklonalnog antitijela:

- Kimerična protutijela, sufiks –**ximab**,
- Mišja protutijela, sufiks – **omab**,
- Humanizirana protutijela, sufiks – **zumab**,
- Humana protutijela, sufiks - **umab**.

Ta su protutijela nastala fuzijom različitih dijelova molekula imunoglobulina mišjeg humanog porijekla. Biološki lijekovi koji se primjenjuju u liječenju autoimunosnih bolesti su kimerična, humanizirana ili humana protutijela, a prikazani su u Tablici 4.

Tablica 4. Terapijska monoklonalna kimerična, humana i humanizirana antitijela za liječenje autoimunosnih bolesti (Dodig, 2015)

Protutijelo	**Ime**	**Vrsta**	**Ciljni antigen**	**Bolest**
Adalimumab	Humira	humano	TNF-α	autoimunosne bolesti
Belimumab	Benlysta	humano	Faktor aktivacije B-limfocita	sistemski eritemski lupus
Certolizumab	Cimzia	humanizirano	TNF-α	Crohnova bolest
Galimumab	Simponi	humano	TNF-α	reumatoidni i psorijatični artritis, ankilozirajući spondilitis
Natalizumab	Tysabri	Humanizirani IgG4	Integrin α4	multipla skleroza, Crohnova bolest
Tocilizumab	Actemra	humanizirano	Anti-IL-6R	reumatoidni artritis
Infliximab	Remicade	kimerično	TNF-α	autoimunosne bolesti
Efalizumab	Raptiva	humanizirano	CD 11a	psorijaza

Faktor tumorske nekroze alfa, TNF-α, je citokin koji potiče upalu kod različitih bolesti. Primjenom terapijskih monoklonalnih protutijela inhibira se njegovo djelovanje, te smanjuje upala kod bolesnika s Crohnovom bolesti, reumatoidnim ili psorijatičnim artritisom, ankilozirajućim spondilitisom. Subjektivno se kod pacijenta smanjuje osjećaj bola, a objektivno se smanjenje upale može pratiti uobičajenim hematološkim i biokemijskim analizama, primjerice određivanjem sedimentacije eritrocita, odnosno koncentracije CRP-a.

Nuspojave koje izazivaju biološki lijekovi su ponajprije povezane s slabljenjem imunološkog sustava pa su pacijenti skloniji infekcijama.

Jedan broj bioloških lijekova može imati nuspojave na fetus pa se preporučuje prestanak uzimanja 6 mjeseci prije trudnoće.

4.2. SPECIJALNI DIO

4.2.1 Organski specifične autoimunosne bolesti

Kako je ranije navedeno, organski specifične autoimunosne bolesti povezane su s autoantitijelima specifičnima za glavni oboljeli organ, kao što su tireoglobulin (TG) i enzim tireoidna peroksidaza (TPO) kod tiroiditisa, inzulin i autoantitijela na dekarboksilazu glutaminske kiseline kod šećerne bolesti tipa I. i antimitohondrijska autoantitijela kod primarne bilijarne ciroze (Salamunić, 2010). U ovom diplomskom radu detaljnije ćemo prikazati Hashimotov tireoiditis i autoimunosni hepatitis kao primjere organski specifičnih autoimunosnih bolesti.

4.2.1.1 Hashimotov tireoiditis

Hashimotov tireoiditis je autoimunosna bolest poznata i pod imenima autoimunosni tireoiditis, kronični limfocitni tireoiditis ili Hashimotova struma. Ova autoimunosna bolest je dobila ime po liječniku dr. Hakaru Hashimotou koji je prvi opisao ovaj poremećaj rada i bolest štitnjače, 1912 godine. Bolest se ubraja u skupinu upalnih bolesti štitnjače, ali autoimunosnih, jer se počinju sintetizirati protutijela protiv stanica štitnjače u kojima se sintetizira hormon štitnjače. Ova reakcija izaziva promjene u samoj strukturi štitnjače te utječe na poremećaj svih njezinih brojnih funkcija.

Bolest se očituje kao bezbolno uvećanje štitnjače uz simptome hipotireoze. Dijagnoza se temelji na dokazu povećane koncentracije antitireoglobulinskih protutijela i koncentracije antitireoperoksidaze, te je potrebna trajna nadoknada tiroksina (u obliku sintetskog hormona levotiroksina). Hashimotov tireoiditis je često prisutan uz druge autoimune bolesti, a povećana je i učestalost tumora štitnjače, osobito limfoma.

Hipotireoza (smanjenje funkcije štitnjače) dovodi do usporavanja fizičkih i psihičkih funkcija, pa stvara bezvoljnost, depresiju, zaboravljivost i poremećaje koncentracije.

Uz bezbolno uvećanje štitnjače, oboljeli ističu osjećaj punoće ždrijela. Liječnik utvrđuje bezbolnu, čvrstu, glatku ili čvorastu gušu, izrazitije tvrdo–elastične, gumene konzistencije za

razliku od normalne štitnjače. Mnogi bolesnici imaju simptome hipotireoze, a u nekim slučajevima hipotireoza može prijeći u hipertireozu.

Što je hipotireoza izraženija, to je više uobičajenih smetnji: umor, malaksalost, pospanost, usporenost, promuklost, porast tjelesne težine uz smanjenje apetita, opstipacija, smanjeno znojenje, parestezije i nagluhost. Bolesnici imaju podbuhla lica, smanjena im je mimika, usporeni su, a neki imaju gušu. Koža oboljelih je blijedožućkaste boje, suha, hrapava, prhutava i hladna, znatno je smanjena dlakavost, a kosa je prorijeđena i gruba. Žene koje boluju od ove bolesti imaju često menstrualne poremećaje, a neplodnost je česta u oba spola.

Hashimotov tireoiditis se dijagnosticira određivanjem koncentracije antitireoglobulinskih protutijela i koncentracije antitireoperoksidaze, ukupnog slobodnog tiroksina (uT4, sT4) i tireotropina (TSH), ultrazvučnim nalazom hipoehogenih zona u štitnjači, citološki nalaz limfocitne infiltracije, uz urednu scintigrafiju štitne žlijezde. Ultrazvučna slika za Hashimotov tiroiditis pokazuje uvećanu ili urednu veličinu štitnjače s neujednačenim područjima u strukturi, "otocima tamne i svijetle strukture štitnjače", ponekad s prisutnim čvorovima. Dakle, može se reći da je za Hashimotov tireoiditis karakteristična "šarena štitnjača" – na ultrazvuku su vidljivi različiti kontrasti tkiva koja nije karakteristična za druge vrste promjena strukture štitnjače. Punkcija štitnjače provodi se pri sumnji na malignu bolest štitnjače. Hashimotov tireoiditis je, kao i druge autoimunosne bolesti, neizlječiv i pacijentima je potrebna doživotna terapija (levotiroksin), uz longitudinalnu kontrolu serumskih vrijednosti hormona u serumu.

4.2.1.2. Autoimunosni hepatitis

Autoimunosni hepatitis je upala jetre koja nastaje u situacijama kada imunološki sustav napada hepatocite. Iako uzrok autoimunosnog hepatitisa nije posve jasan (kao ni kod drugih autoimunosnih bolesti), neke bolesti, toksini i lijekovi mogu potaknuti autoimunosni hepatitis kod osoba kod kojih se u obitelji pojavljuju autoimmune bolesti. Točan uzrok nastanka bolesti još nije otkriven, međutim uzrok mogu biti interakcije rizičnih čimbenika tipa infekcije, genetske predispozicije, te razni lijekovi.

Incidencija iznosi 1,9/100.000, a prevalencija od 5 do 20/100.000 stanovnika. Veliku većinu bolesnika (70-85%) čine žene, u dobi od 15 do 40 godina (Ostojić, 2003).

Žene su sklonije pojavi autoimunosnih bolesti. Ako se autoimunosni hepatitis ne liječi može dovesti do pojave ciroze jetre i na kraju do zatajenja jetre i smrti oboljeloga. Ako ga se dijagnosticira i liječi u ranoj fazi, autoimunosni hepatitis se u većini slučjeva može kontrolirati lijekovima koji reguliraju rad imunološkog sustava. Kada autoimunosni hepatitis ne reagira na liječenje ili kada je bolest jetre uznapredovala, kao rješenje se preporučuje transplantacija jetre.

Simptomi autoimunog hepatitisa mogu biti su u rasponu od blagih do teških. Iskustvo je pokazalo da se mogu pojaviti naglo ili se mogu razviti tijekom vremena. Neki bolesnici imaju tek neznatne smetnje u početnim fazama bolesti. Mnogi se žale na umor, nelagodu u trbuhu, bol u zglobovima, svrbež, mučninu i povraćanje. Neki odlaze liječniku kad se razvije žutica ili hepatomegalija (Hrstić i sur., 2006).

Identificirana su dva glavna oblika autoimunog hepatitisa

- Tip 1 – često se razvija naglo, to je najčešći tip ove bolesti. Može se pojaviti u bilo kojoj dobi. Oko polovice ljudi ima i druge autoimunosne bolesti, kao što su tireoiditis, reumatoidni artritis ili ulcerozni kolitis.
- Tip 2 – najčešće se javlja kod mladih djevojaka, iako ga mogu razviti i odrasli (Manns i Vogel, 2006).

Postoji nekoliko dijagnostičkih testova kojima se utvrđuje postojanje autoimunog hepatitisa:

- Krvni testovi – pomoći će odrediti vrstu autoimunosnog hepatitisa od kojeg osoba boluje.
- Biopsija jetre – liječnici obavljaju biopsiju da potvrde dijagnozu u koju se sumnja nakon obavljenih krvnih testova, i odrede stupanj i vrstu oštećenja jetre. Tijekom postupka, mala količina jetrenog tkiva se uzima i šalje na analizu.

International Autoimmune Hepatitis Group i International Association for the Study of the Liver izradili su sustav bodovanja koji se koristi u dijagnostičkim postupcima te sa velikom sigurnošću može potvrditi da se radi o autoimunosnom hepatitisu (Alvarez i sur., 1999).

Laboratorijski nalazi pokazuju izrazito povećane vrijednosti serumskih aminotransferaza: AST i ALT, te bilirubina. Vrijednosti aminotransferaza mogu se povećati više od 1,5 puta (Ostojić 2003). Biopsija jetre je obavezna prije početka i prije prekida provođenja terapije. Zbog različitog vremena očitovanja dolazi do promjena u histološkim i biokemijskim nalazima.

Terapijski odgovor mora se ocijeniti histološki jer kontinuirana nekroinflamatorna aktivnost ne mora uvijek biti praćena povećanim vrijednostima AST i ALT (Kneser i sur., 2005).

Cilj liječenja autoimunog hepatitisa je smanjiti sintezu autoantitijela te usporiti ili zaustaviti napade imunološkog sustava na hepatocite, što može pomoći usporiti napredak bolesti. Liječnici obično preporučuju početnu visoku dozu kortikosteroida, a kad se simptomi smire doza lijekova se smanjuje na minimalnu koja može držati bolest pod kontrolom. Većina oboljelih nastavlja s uzimanjem kortikosteroida godinama, a neki doživotno. Iako je moguća remisija nekoliko godina nakon početka liječenja, bolest se obično vraća kada se lijek prestaje uzimati.

Zlatni standard liječenja autoimunosnog hepatitisa je kombinirana terapija koja sadržava kortikosteroide i azatioprin. Upravo azatioprin omogućuje smanjivanje doze kortikosteroida i često se rabi u terapiji održavanja. Najčešća pogreška u terapiji autoimunosnog hepatitisa jest prekratka i neredovita terapija. Budući da se histološke promjene mogu pojaviti tri do šest mjeseci nakon biokemijskih promjena, terapiju treba kontinuirano davati i nakon dostignute biokemijske remisije bolesti. Smatra se da terapija kod oboljelih treba trajati najmanje dvije godine. U slučajevima da se bolest počne liječiti u fazi razvijene ciroze jetre oboljeli najčešće trebaju doživotnu terapiju održavanja. Prema Mannsu, nuspojave kortikosteroidne terapije su prisutne u 45 % bolesnika nakon 12 mjeseci terapije odnosno u 80 % bolesnika nakon 24 mjeseca terapije (Manns, 2006).

Ciroza se razvije unutar pet godina kod 17 % bolesnika s portalnim hepatitisom, odnosno oko 80 % ako su histološki verificirane premoštavajuće ili multilobularne nekroze. Vjerojatnost preživljavanja pet godina nakon histološki utvrđene ciroze iznosi oko 50 % (Ostojić i sur., 1996)

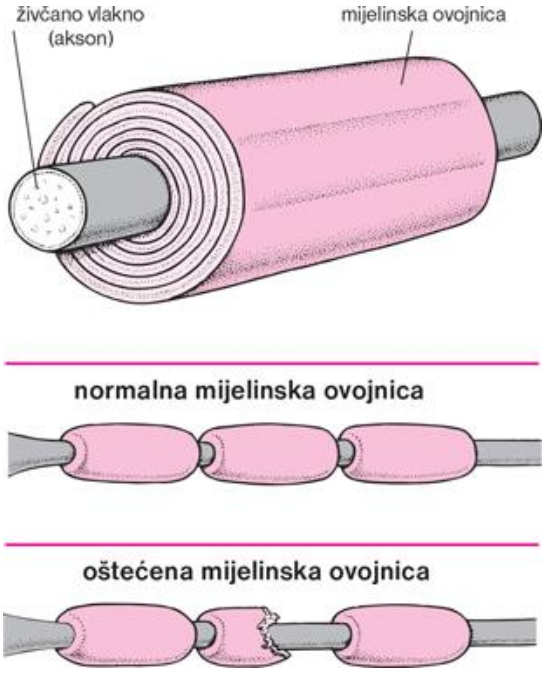
4.2.2. Sistemske autoimunosne bolesti

Kod sistemskih autoimunosnih bolesti velik je broj autoantitijela visoko specifičan za određenu bolest, navodi Salamunić anti-dsDNA, anti-Sm, anti-ribosomalna P autoantitijela u SLE-u, anti-topoizomeraza I (Scl-70) u sklerodermiji, autoantitijela na citrulinirane proteine (anti-CCP) kod reumatoidnog artritisa, anti-SS-A/Ro, anti-SS-B/La kod Sjögrenovog sindroma (SjS), anti-U1-RNP, anti-PM-Scl kod miješane bolesti vezivnog tkiva (MCTD) ili anti-Jo-1 kod polimiozitisa i dermatomiozitisa (Salamunić, 2010). U ovom diplomskom radu detaljnije će biti

prikazana multipla skleroza i reumatoidni artritis kao primjeri sistemskih specifičnih autoimunosnih bolesti.

4.2.2.1. Multipla skleroza

Multipla skleroza je sistemska autoimunosna bolest. Živci oka, mozga i kralješnične moždine gube dijelove mijelina (omotača živčanog vlakna) (Slika 1). Simptomi demijelinizacije ovisit će o tome koje područje je zahvaćeno, a može nastati u bilo kojem dijelu mozga ili kralježnične moždine. Probleme kretanja uzrokovat će demijelinizacija na živčanim putovima jer se preko njih prenose signali na mišiće, a oni signali koji prenose osjete u mozak uzrokuju senzoričke simptome (smetnje u osjećanju).



Slika 1. Izgled zdrave i oštećene mijelinske ovojnice

Neurološki znakovi i simptomi multiple skleroze mogu biti različiti pa se katkad dijagnoza ne može postaviti odmah, što odgađa početak liječenja.

Ni kod multiple skleroze uzrok bolesti nije moguće sa sigurnošću utvrditi, no jedan od mogućih uzroka je infekcija latentnim (prikrivenim) neidentificiranim virusom. Aktivacija virusa, povećana incidencija u pojedinim obiteljima te određeni HLA alotipovi, (npr. HLA–DR2), ukazuju na genetsku predispoziciju (Ivančević, 2010). Istraživanja su pokazala da oko 5% oboljelih ima brata ili sestru koji su također imaju znakove bolesti te da oko 15% ima bliskog rođaka s multiplom sklerozom (Ivančević, 2010). Simptomi se općenito pojavljuju u ljudi između 20. i 40. godine života; vjerojatnost obolijevanja je veća u žena nego u muškaraca.

Okoliš također ima ulogu u obolijevanju od ove autoimunosne bolesti. Multipla skleroza se pojavljuje u 1 na 2.000 ljudi koji su proveli prvo desetljeće života u umjerenoj klimi, ali samo 1 na 10.000 ljudi rođenih u tropskoj klimi (Ivančević, 2010). Bolest se gotovo nikada ne pojavljuje u ljudi koji žive blizu ekvatora. Čini se da je važnija klima u kojoj je osoba provela prvo desetljeće života nego ona u kojoj je provela kasnije godine.

Pacijenti se žale na poremećaj osjeta, osjećaj slabosti, spazme, urinarne probleme i blago kognitivno oštećenje. Razdoblja pogoršanja (egzacerbacija) i poboljšanja (remisija) se izmjenjuju, neurološki ispadi su dosta česti u konačnici se razvija invalidnost. Postavljanje dijagnoze temelji se na osobnoj anamnezi koja potvrđuje upravo te izmjene remisije i egzacerbacija i prisutnost još barem dva neurološka ispada koja nisu ovisna jedan o drugome u neurološkom statusu. Da bi se postavila dijagnoza potrebno je vidjeti lezije u nalazu magnetske rezonancije. Kod nekih se bolesnika javljaju simptomi samo u očima tipa bol u jednom oku, zamagljen vid, dvoslike, gubitak centralnog vida. Blage emocionalne ili intelektualne promjene mogu se javiti kao rani simptomi. Oštećenja živčanih vlakana u mozgu mogu se javiti puno prije nego se prepozna sama bolest.

Od općih simptoma bolesnici navode: svrbež, manjak snage ili spretnosti u nogama ili šakama. Oboljeli se žale na mnoge psihičke smetnje, a nisu rijetka ni blaga kognitivna oštećenja. Pojavljuju se apatija, nesposobnost procjenjivanja ili poremećaji pažnje. Vrlo su česte afektivne smetnje, emocionalna nestabilnost, euforija ili depresija. Ponekad se mogu pojaviti i epileptični napadaji.

Bolest ima različit i nepredvidljiv tijek. Često počinje izoliranim simptomom nakon čega prolaze dulji periodi bez daljnjih simptoma. U nekim se slučajevima simptomi pogoršavaju i

proširuju u samo nekoliko tjedana. Simptomi se mogu pojačati drugim čimbenicima poput visoke temperature, kupke i sl. Recidiv bolesti može nastati spontano ili može biti potaknut infekcijom, a kako postaju češći, onesposobljenost bolesnika se pogoršava i može postati trajna. Ipak, unatoč onesposobljenosti većina oboljelih ima normalno trajanje života.

Za utvrđivanje multiple skleroze ne postoji neka pojedinačna pretraga koja bi imala dijagnostičku vrijednost, ali se prema laboratorijskim nalazima može razlikovati od drugih stanja sa sličnim simptomima. Većina uvjeta za dijagnosticiranje multiple skleroze zahtijevaju anamnestički podatak o pogoršanju i poboljšanju uz objektivni nalaz ≥ 2 neovisna neurološka oštećenja u neurološkom statusu ili testiranju (Ivančević, 2010). Također, liječnici upućuju na magnetsku rezonanciju mozga i kralježnice, a ako ni to nije dovoljno za postavljanje dijagnoze, potrebno je učiniti dodatne testove. Magnetskom rezonancijom, kao najosjetljivijom dijagnostičkom slikovnom tehnikom, moguće je otkriti područja u mozgu u kojima je nastala demijelinizaicja. Štoviše, moguće je, razlikovati područja u kojima je mijelin izgubljen nedavno od područja u kojima se to davno desilo.

Evocirani potencijali su vrsta pretrage koja bilježi električne odgovore u mozgu kada se potiču živci. Rezultati su različiti između zdravih ljudi te onih koji boluju od multiple skleroze, kod oboljelih su odgovori na podražaje bitno sporiji zbog slabijeg provođenja signala kroz demijelinizirana živčana vlakna.

Laboratorijska dijagnostika obično započinje analizom cerebrospinalnog likvora (likvor), kojem se otkriva povećan broj leukocita (s prevagom limfocita) i povećana koncentracija proteina. Koncentracija protutijela u likvoru može biti povećana, a specifični tipovi protutijela mogu biti prisutni u do 90% bolesnika s multiplom sklerozom (Ivančević, 2010). Mijelinski bazični protein može biti povećan u fazi aktivne demijelinizacije (Ivančević, 2010).

Cilj liječenja je skratiti akutna pogoršanja, smanjiti njihovu učestalost i ublažiti simptome. Održavanje sposobnosti hoda je osobito važno. Učestalost recidiva smanjuje relativno novo liječenje beta-interferonom u injekcijama. U fazi ispitivanja još je uvijek primjena drughi interferona, mijelin uzet na usta te kopolimer 1 koji bi trebao spriječiti autodestrukciju mijelina (Ivančević, 2010).

Kortikosteroidi su niz godina bili glavni oblik liječenja simptoma multiple skleroze. Premda oni mogu skratiti vrijeme napadaja bolesti, ne zaustavljaju na dulje vrijeme onesposobljenost koja napreduje. Korist kortikosteroida mogu poništiti mnoge moguće nuspojave koje nastaju

tijekom dugotrajne uporabe (npr. povećana opasnost od infekcija, povećan rizik od nastanka šećerne bolesti, povećanje tjelesne mase umor, osteoporoza i dr). Druge, imunosupresivne terapije nisu se pokazale korisnima u liječenju tim više što mogu uzrokovati značajne komplikacije.

Iako se lako umaraju i ne mogu zadovoljiti zahtjevne programe vježbanja, bolesnici mogu često zadržati aktivan način života. Redovita tjelesna aktivnost, kao što su hodanje, vježbe istezanja, vožnje sobnog bicikla ili plivanja smanjuju ukočenost i pomažu u očuvanju kardiovaskularnog, mišićnog i psihičkog zdravlja. Fizikalna terapija može pomoći u održavanju ravnoteže, sposobnosti hodanja i opsegu kretnji, te može smanjiti ukočenost i slabost.

Česti su slučajevi kada multipla skleroza zahvaća živce koji upravljaju mokrenjem ili stolicom što dovodi do nemogućnosti zadržavanja mokraće i stolice ili njihovog skupljanja. Kod zastoja mokraće bolesnici se sami kateteriziraju da bi ispraznili mokraćni mjehur. Ako postoji zatvor bolesnici provode redovit program laksativima.

4.2.2.2. Reumatoidni artritis

Reumatiodni artritis je kronična sustavna autoimunosna upalna bolest nepoznatog uzroka. Označena je trajnom upalom zglobova (artritis), odnosno sinovijalne membrane (sinovitis). Bolest može zahvatiti i dijelove ostalih organa kao što su koža, srce, pluća i oči. Upalni posrednici reumatoidnog artritisa su citokini, kemokini i metaloproteaze, navodi Ivančević.

Točan uzrok reumatoidnog artritisa nije poznat, kao ni kod drugih autoimunosnih bolesti. Ipak, utvrđena je genetska sklonost, a smatra se da određenu ulogu igraju neutvrđeni okolišni faktori (npr. virusne infekcije), te pušenje cigareta. Od RA žene češće oboljevaju, ugroženije su 2-3 puta više nego muškarci te se najčešće javlja između 35. i 50.godine života ali se isto tako može pojaviti u svim uzrastima. Zbog različitih srčanih promjena, infekcija, nuspojava primjenjenih lijekova, maligniteta ili nekih drugih pratećih bolesti može doći do skraćivanja očekivanog trajanja života za 3-7 godina.

Plazma stanice stvaraju autoantitijela koja u oštećenim stanicama sinovije i krvnim žilama stvaraju imune komplekse. U ranoj fazi bolesti prema oštećenim stanicama u sinoviji migriraju makrofagi. Limfociti koji ulaze u sinoviju su pretežno CD4ßT stanice. Makrofagi i limfociti tu

stvaraju upalne citokine i kemokine (npr. TNF, GM–CSF, razni IL, interferon γ). Oslobađanje upalnih posrednika pridonosi kako zglobnim tako i općim simptomima RA (Ivančević, 2010).
Bolest najčešće zahvaća zglobove (u pravilu simetrično, na lijevoj i desnoj strani). Po učestalosti to su: zglobovi prstiju, zglobovi zapešća, zglobovi dlana, koljena, zglobovi stopala, ramena, zglobovi gležnja, vratni dio kralježnice, kukove, laktove i zglobove lica. Oštećeni zglobovi postaju osjetljivi, topli, rumeni, otečeni i ograničeno pokretni.

Na koži bolesnika mogu se pojaviti reumatoidni čvorići (noduli) veličine nekoliko milimetara do nekoliko centimetara. Patohistološki radi se o nekrotizirajućem granulomu koji se obično nalazi na područjima najvećeg mehaničkog stresa (npr. laktovima ili petama).
Oboljeli od reumatoidnog artritisa često se žale na opće simptome, kao što su umor, malaksalost, blago povećana tjelesna temperatura, nedostatak apetita, gubitak tjelesne mase. Fibroza pluća je često pokazatelj zahvaćenosti pluća. Osim toga, oboljeli su skloniji aterosklerozi te imaju povećan rizik od srčanog i moždanog udara. Ostale srčane komplikacije vezane uz RA mogu biti perikarditis, endocarditis i fibroza.

RA može zahvatiti i oči; sindrom suhog oka je česta komplikacija ove bolesti, uzrokovana ulaskom limfocita u suzne žlijezde i žlijezde slinovnice. Sindrom karpalnog tunela je izazvan oteklinom u području zglobova šaka kuda prolazi medijani živci.
Za postavljanje dijagnoze reumatoidnog artritisa treba utvrditi najmanje 4 navedena kriterija (Ivančević, 2010):

- Jutarnje zakočenje ≥1 h
- Artritis ≥3 zgloba†
- Artritis zglobova šake (zapešće, metakarpofalangealni ili proksimalni interfalangealni zglobovi)†
- Simetrični artritis†
- Reumatoidni čvorići
- Reumatoidni faktor u serumu (RF pozitivan u <5% zdravih)
- Radiološke promjene (Rtg šaka mora pokazivati erozije ili očitu dekalcifikaciju kosti)

(† Moraju trajati ≥ 6 tjedana.)

U početnim fazama bolesti radiogrami pokazuju samo nateknuće mekih tkiva. Kasnije se javljaju osteoporoza, suženje hrskavice i rubne erozije koji se mogu otkriti magnetskom rezonancom.

RA se može dijagnosticirati različitim kliničkim pretragama tipa radiološkim pretragama (Rtg zglobova, UVZ zglobova), nalazima upalnih parametara (CRP, SE), anticitrulinskim protutijelima, kliničkim pregledom zglobova.

Bolest se ne može izlječiti, ali se simptome bolesti može umanjiti ili smiriti različitim terapijskim postupcima i lijekovima. Olakšanju simptoma pomažu ravnoteža odmora i vježbe, prilagođena prehrana, fizikalna terapija, Ponekad se bolest liječi kirurškim zahvatima. Primjena kiruških zahvata potrebna je kod promijene djela zgloba ili kod čitavog zgloba ili zbog sinovektovije.

U liječenju bolesti koriste se nesteroidni protuupalni lijekovi, kortikosteroidi, antimetaboliti, nebiološki i biološki lijekovi koji inhibiraju TNF-α, blokatori IL-1, monoklonalna antitijela protiv B-limfocita, blokatori kostimulacije T-limfocita (Ivančević, 2010). Aspirin je temelj u liječenju reumatoidnog artritisa.

5. ZAKLJUČAK

1. Autoimunosne bolesti izazov su za medicinske stručnjake, kako za liječnike, tako i za medicinske biokemičare i farmaceute. Sve faze skrbi za bolesnika, od kliničkog pregleda, dijagnostike i liječenja trebaju biti provedeni na najbolji mogući način koji aktualna medicinska znanost primjenjuje.
2. Za liječnike je važno da što prije prepoznaju simptome i znakove bolesti, odnosno da kod pojave prvih znakova bolesti pomisle i na moguću autoimunosnu bolest.
3. Medicinski biokemičari zajedno s liječnicima sudjeluju u odabiru onih biomarkera za koje se zna da imaju optimalnu kliničku značajnost (dijagnostičku osjetljivost i dijagnostičku specifičnost) za svaku pojedinu bolesti. Osim toga medicinski biokemičari odabiru metodu koja će osigurati pouzdane nalaze.
4. Bolnički farmaceuti svojim savjetima o karakteristikama i njihovim učincima zajedno sudjeluju u brizi o liječenju bolesnika. Farmaceuti koji rade u ljekarni posobnu odgovornost imaju jer odgovaraju na brojna pitanja pacijenata o propisanim lijekovima, o njihovim pozitivnim i negativnim učincima, o interakcijama s drugim lijekovima.

6. LITERATURA

1. Alvarez F, Berg PA, Bianchi FB i sur. International Autoimmune Hepatitis Group Report: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis. *J Hepatol,* 1999, 31, 929-938.
2. Apweiler R, Aslandis C, Defuel T, Gerstner A, Hansen J, Hochstrasser D i sur. Approaching clinical proteomics: current state and future fields of application in fluid proteomics. *Clin Chem Lab Med,* 2009, 47, 724-744.
3. Batinić, D. Malenica B. Racionalni pristup laboratorijskoj dijagnostici imunoloških poremećaja. Paediatr Croat. 2012; 56 (Supl 1), 53-61
4. Brogan, P. Dillon, M. The use of immunosuppressive and cytotoxic drugs in non-malignant disease. Arch Dis Child. 2000, 83(3), 259–264.
5. Cook L. New Methods for Detection of Anti-nuclear Antibodies. *Clin Immunol Immunopathol*, 1998, 88, 211-220.
6. Dahle C, Skogh T, Åberg AK, Jalal A, Olcén P. Methods of choice for diagnostics antinuclear antibody (ANA) screening: Benefit of adding antigen-specific assays to immunofluorescence microscopy. *J Autoimmun,* 2004, 22, 241-248.
7. Dodig S. Imunokemija. Zagreb, Medicinska naklada, 2015.
8. Eissfeller P, Sticherling M, Scholz D, Hennig K, Lüttich T, Motz M i sur. Comparison of Different Test Systems for Simultaneous Autoantibody Detection in Connective Tissue Diseases. *Ann NY Acad Sci,* 2005, 1050, 1-13.
9. Fabijanić D i sur. Nesteroidni protuupalni lijekovi i ozbiljne gastrointestinalne nuspojave, *Liječ Vjesn,* 2007, 129, 205-213.
10. Gonzalez-Buitrago JM. Multiplexed testing in the autoimmunity laboratory. *Clin Chem Lab Med*, 2006, 44, 1169-1174.
11. Gordon P, Khamashta MA, Rosenthal E, Simpson JM, Sharland G, Brucato A i sur. Anti-52 kDa Ro, Anti-60 kDa Ro, and Anti-La antibody profiles in neonathal lupus. *J Rheumatol*, 2004, 31, 2480-2487.
12. Green GA. Understanding NSAIDS: from aspirin to COX-2. Clin Cornerstone, 2001, 3(5), 50-59.

13. Hieman R, Büttner T, Krieger T, Roggenbuck D. Challenges of automated screening and differentiation of non-organ specific autoantibodies on HEp-2 cells. *Autoimmun Rev*, 2009, 9, 17-22.

14. Hargraves M, Richmond H, Morton R. Presentation of two bone marrow components, the tact cell and the LE cell. Mayo Clin Proc, 1948, 27, 25-28.

15. Hrstić I, Brinar M, Ostojić R. Autoimune bolesti jetre. *Medicus*, 2006, Vol 15, No. 1, 131 – 136.

16. Ivančević, Ž (ur.). MSD Priručnik dijagnostike i terapije. Placebo. Split. 2010.

17. Jaskowski TD, Schroder C, Martins TB, Mouritsen CL, Litwin CM, Hill HR. Screening for antinuclear antibodies by enzyme immunoassay. *Am J Clin Pathol*, 1996, 105, 468-473.

18. Joos TO, Stoll D, Templin MF. Miniaturised multiplexed immunoassays. Curr Opin Chem Biol, 2001, 6, 76-80.

19. Kneser JM, Bantel H, Manns MP. Diagnostic and therapeutic management of autoimmune hepatitis. *Hepatology Rev*, 2005, 2, 80-87.

20. Lernmark A. Autoimmune diseases: are markers ready for prediction? J *Clin Invest*, 2001, 108, 1091-1096.

21. Manns MP, Vogel A. Autoimmune hepatitis, from mecha- nisms to therapy. *Hepatology*, 2006, 43, 132-144.

22. Ostojić R. Autoimuni hepatitis. *Acta Med Croatica*, 2003, 57, 201-205.

23. Ostojić R, Handžić N, Dubravčić D, Vucelić B. Longterm prognosis of autoimmune hepatitis. *J Hepatology*, 1996, 25(Suppl 1),184.

24. Robinson WH, Steinman L, Utz PJ. Proteomics technologies for the Study of Autoimmune Disease. *Arthritis Rheum*, 2002, 46, 885-93.

25. Rose N.R, Bona C. Defining criteria for autoimmune diseases (Witebsky's postulates revisited). *Imunol Today*,1993 Sep, 14(9), 426-430.

26. Rouquette AM, Desqruelles C, Larosche P. Evaluation of the new multiplexed immunoassays, FIDIS, for simultaneous quantitative determination of antinuclear antibodies and comparison with conventional methods. *Am J Clin Pathol*, 2003, 120, 676-681.

27. Salamunić I. Laboratorijska dijagnostika autoimunih bolesti – nove tehnologije, stare nedoumice. Biochemia Medica, 2010, 20(1), 45-56.

28. Stinton LM, Fritzler MJ. A clinical approach to autoantibody testing in systemic autoimmune rheumatic disorders. *Autoimmun Rev*, 2007, 7, 77-84.

29. Tan EM, Smolen JS, McDougal JS, Butcher BT, Conn D, Dawkins R, i sur. A critical evaluation of enzyme immunoassays for detection of antinuclear autoantibodies of defined specificities. *Arthritis Rheum,* 1999, 42, 455-464.

30. Tešija Kuna A. Autoimunosne bolesti. U: E. Topić, D. Primorac, S. Janković. Medicinsko biokemijska dijagnostika u kliničkoj praksi. Medicinska Naklada, Zagreb, 2004, 288-303.

31. Wingren C, Borrebaeck CA. Antibody microarrays: current status and key technological advances. OMICS, 2006, 10, 411-427.

7. SAŽETAK/ SUMMARY

Autoimunosne bolesti predstavljaju posebnu skupinu mnogobrojnih i klinički raznovrsnih bolesti. Nastaju kao posljedica gubitka imunološke tolerancije organizma na vlastite antigene, kao posljedica sinteze autoantitijela koja napadaju vlastite stanice. Uzroci nastanka autoimunosnih bolesti su još uvijek nejasni i mnogi stručnjaci smatraju da ih je većina uzrokovana tehnološkim i kulturnim napretkom i odmicanjem čovjeka od njegovog prirodnog okoliša (tzv. *bolesti obilja*). Također, za autoimunosne bolesti nema lijeka koji bi trajno otklonio uzrok, nego većina pacijenata doživotno ostaje na terapiji prilagođenoj bolesti od koje boluje. Autoimunosne se bolesti svrstavaju u dvije osnovne skupine: organski specifične i sistemske bolesti.

Dok klinička slika organski specifičnih autoimunosnih bolesti ovisi o organu koji je zahvaćen, klinička slika sistemskih bolesti, osobito u ranoj fazi bolesti, nije toliko specifična, pa se postavljanje dijagnoze često odgađa.

Dijagnostika autoimunosnih bolesti temelji se na obiteljskoj i osobnoj anamnezi, kliničkoj slici te različitim dijagnostičkim postupcima *in vitro* (npr. radiogram, ultrazvuk) i *in vivo* (laboratorijske pretrage). Laboratorijska dijagnostika podrazumijeva određivanje nespecifičnih upalnimih pokazatelja (npr. SE, CRP, RF) te određivanjem velikog spektra autoantitijela.

Opća načela u liječenju su postupno primjena četiri skupine lijekova. Stupnjevito liječenje započinje s protuupalnim lijekovima, potom se nastavlja s kortikosteroidima. Ako ne dolazi do poboljšanja pristupa se liječenju citostaticima, a u novije vrijeme biološkim lijekovima. Pri liječenju treba imati u vidu nuspojave primjenjivanih lijekova.

Autoimmune diseases represent a special group of the numerous and clinically different diseases. They appear as a result to the loss of immunological tolerance to the body's own antigens, from the synthesis of autoantibodies that attack its own cells. The causes of autoimmune diseases are still unclear, and many experts believe that most of them are largely caused by technological and cultural progress and removing human away from his natural environment (the so-called diseases of affluence). Also, there is no cure for the autoimmune disease that would permanently eliminate the cause, so the majority of patients remain on lifetime therapy, adjusted to their illness. Autoimmune diseases are classified into two main groups: organic specific and systemic diseases.

While clinical picture of the organic specific autoimmune diseases depends on the organ affected, the clinical picture of systemic disease, especially in the early phase of the disease, is not so specific, so the diagnosis is often delayed.

Diagnosis of autoimmune diseases is based on family and personal medical history, clinical picture and different diagnostic methods in vitro (radiogram, ultrasound) and in vivo (laboratory tests). Laboratory diagnosis involves determination of non-specific inflammatory indicators (SE, CRP, RF) and determining a large spectrum of autoantibodies.

The general principles of the treatment are gradual application of four groups of medicines. Gradually treatment begins with anti-inflammatory medicines, than it continues with corticosteroids. If there is no improvement, treatment with the cytostatics should be adapted, and more recently biological medicines. During the treatment the side effects of drugs applied should be taken into account.

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Zavod za mikrobiologiju
Schrottova 39/I. kat, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

AUTOIMUNOSNE BOLESTI - OD PATOMEHANIZAMA DO TERAPIJE

Kristina Bauer

SAŽETAK

Autoimunosne bolesti predstavljaju posebnu skupinu mnogobrojnih i klinički raznovrsnih bolesti. Nastaju kao posljedica gubitka imunološke tolerancije organizma na vlastite antigene, kao posljedica sinteze autoantitijela koja napadaju vlastite stanice. Uzroci nastanka autoimunosnih bolesti su još uvijek nejasni i mnogi stručnjaci smatraju da ih je većina uzrokovana tehnološkim i kulturnim napretkom i odmicanjem čovjeka od njegovog prirodnog okoliša (tzv. bolesti obilja). Također, za autoimunosne bolesti nema lijeka koji bi trajno otklonio uzrok, nego većina pacijenata doživotno ostaje na terapiji prilagođenoj bolesti od koje boluje. Autoimunosne se bolesti svrstavaju u dvije osnovne skupine: organski specifične i sistemske bolesti.

Dok klinička slika organski specifičnih autoimunosnih bolesti ovisi o organu koji je zahvaćen, klinička slika sistemskih bolesti, osobito u ranoj fazi bolesti, nije toliko specifična, pa se postavljanje dijagnoze često odgađa.

Dijagnostika autoimunosnih bolesti temelji se na obiteljskoj i osobnoj anamnezi, kliničkoj slici te različitim dijagnostičkim postupcima in vitro (npr. radiogram, ultrazvuk) i in vivo (laboratorijske pretrage). Llaboratorijska dijagnostika podrazumijeva određivanje nespecifičnih upalnimih pokazatelja (npr. SE, CRP, RF) te određivanjem velikog spectra autoantitijela.

Opća načela u liječenju su postupno primjena četiri skupine lijekova. Stupnjevito liječenje započinje s protuupalnim lijekovima, potom se nastavlja s kortikosteroidima. Ako ne dolazi do poboljšanja pristupa se liječenju citostaticima, a u novije vrijeme biološkim lijekovima. Pri liječenju treba imati u vidu nuspojave primjenjivanih lijekova.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 39 stranica, 4 tablice , 1 slika. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: autoimunosne bolesti, imunost, klinička slika, laboratorijska dijagnostika, liječenje

Mentor: **Prof.dr.sc.Slavica Dodig,** *naslovna izvanredna profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta*

Ocjenjivači: **Prof.dr.sc Slavica Dodig,** *naslovna izvanredna profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta*
Dr.sc. Biljana Nigović, *redovita profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko- biokemijskog fakulteta*
Dr.sc Jadranka Vuković Rodriguez, *izvanredna profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko – biokemijskog fakulteta*

Rad prihvaćen: rujan 2015.

Basic documentation card

University of Zagrebu
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Department of Microbiology
Schrottova 39/I. st floor, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

AUTOIMMUNE DISEASE- FROM PATHOGENETIC MECHANISAM TO THERAPY

Kristina Bauer

SUMMARY

Autoimmune diseases represent a special group of the numerous and clinically different diseases. They appear as a result to the loss of immunological tolerance to the body's own antigens, from the synthesis of autoantibodies that attack its own cells. The causes of autoimmune diseases are still unclear, and many experts believe that most of them are largely caused by technological and cultural progress and removing human away from his natural environment (the so-called diseases of affluence). Also, there is no cure for the autoimmune disease that would permanently eliminate the cause, so the majority of patients remain on lifetime therapy, adjusted to their illness. Autoimmune diseases are classified into two main groups: organic specific and systemic diseases.

While clinical picture of the organic specific autoimmune diseases depends on the organ affected, the clinical picture of systemic disease, especially in the early phase of the disease, is not so specific, so the diagnosis is often delayed.

Diagnosis of autoimmune diseases is based on family and personal medical history, clinical picture and different diagnostic methods in vitro (radiogram, ultrasound) and in vivo (laboratory tests). Laboratory diagnosis involves determination of non-specific inflammatory indicators (SE, CRP, RF) and determining a large spectrum of autoantibodies.

The general principles of the treatment are gradual application of four groups of medicines. Gradually treatment begins with anti-inflammatory medicines, than it continues with corticosteroids. If there is no improvement, treatment with the cytostatics should be adapted, and more recently biological medicines.

During the treatment the side effects of drugs applied should be taken into account.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 39 pages, 4 tables, 1 picture. Original is in Croatian language

Keywords: Autoimmune disease, immunity, clinical picture, laboratory diagnostics, treatment

Mentor: **Slavica Dodig**, **Ph.D.**.*Associate professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry*

Reviewers: **Slavica Dodig**, **Ph.D.** *Associate professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry*
Biljana Nigović, **Ph.D.** *Full professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry*
Jadranka Vuković Rodriguez, **Ph.D.** *Associate professor, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry*

The thesis was accepted: September, 2015.