Vaskulitisi povezani s antineutrofilnim citoplazmatskim protutijelima

Milinović, Sara

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:850378

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-19**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Medicine Osijek

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINSKO LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

Sara Milinović

VASKULITISI POVEZANI S ANTINEUTROFILNIM CITOPLAZMATSKIM PROTUTIJELIMA

Diplomski rad

Osijek, 2020.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINSKO LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

Sara Milinović

VASKULITISI POVEZANI S ANTINEUTROFILNIM CITOPLAZMATSKIM PROTUTIJELIMA

Diplomski rad

Osijek, 2020.

Rad je ostvaren u KBC-u Osijek.

Mentorica rada: prof. dr. sc. Jasminka Milas-Ahić, dr. med., internist-reumatolog, klinički imunolog i alergolog

Rad ima 45 listova, 7 tablica i 1 sliku.

ZAHVALA

Zahvaljujem mentorici prof. dr. sc. Jasminki Milas-Ahić na stručnoj pomoći tijekom izrade i pisanja diplomskoga rada.

Zahvaljujem Kristini Kralik na statističkoj obradi podataka.

Zahvaljujem obitelji i prijateljima na potpori i strpljenju tijekom studiranja.

SADRŽAJ

1. UVOD ... 1

1.1. Autoimunost ... 1

1.1.1. Patogenetski mehanizmi autoimunosti ... 2

1.1.2. Vrste autoimunosnih bolesti ... 3

1.1.3. Posredni čimbenici autoimunosti ... 3

1.1.4. Liječenje autoimunosnih bolesti ... 4

1.2. Sindrom vaskulitisa ... 5

1.2.1. Nova klasifikacija vaskulitisa ... 6

1.3. ANCA vaskulitisi ... 9

1.3.1. Patogeneza ... 9

1.3.2. Granulomatoza s poliangiitisom (GPA) ... 11

1.3.3. Mikroskopski poliangiitis (MPA) ... 12

1.3.4. Eozinofilna granulomatoza s poliangiitisom (EGPA) ... 13

1.3.5. Liječenje ... 14

2. CILJ ... 16

3. ISPITANICI I METODE ... 17

3.1. Ustroj studije ... 17

3.2. Ispitanici ... 17

3.3. Metode ... 17

3.3.1. Određivanje ANCA protutijela ... 17

3.3.2. Određivanje sedimentacije eritrocita ... 18

3.3.3. Određivanje C-reaktivnog proteina ... 19

3.3.4. Statističke metode ... 20

4. REZULTATI..... 21

5. RASPRAVA..... 25

6. ZAKLJUČAK..... 29

7. SAŽETAK..... 30

8. SUMMARY..... 32

9. LITERATURA..... 34

10. ŽIVOTOPIS..... 36

POPIS KRATICA

ANCA (engl. *antineutrophil cytoplasmic antibodies*) – antineutrofilna citoplazmatska protutijela

MHC (engl. *major histocompatibility complex*) – glavni sustav tkivne podudarnosti

HLA (engl. *human leukocyte antigen*) – humani leukocitni antigen

Ig (engl. *immunoglobulin*) – imunoglobulin

TNF (engl. *tumor necrosis factor*) – faktor tumorske nekroze

IL (engl. *interleukin*) – interleukin

AAV (engl. *ANCA associated vasculitis*) – ANCA vaskulitisi

MPO (engl. *myeloperoxidase*) – mijeloperoksidaza

PR3 (engl. *proteinase 3*) – proteinaza 3

p-ANCA (engl. *perinuclear ANCA*) – perinuklearna ANCA

c-ANCA (engl. *cytoplasmic ANCA*) – citoplazmatska ANCA

CHC (engl. *Chapel Hill Consensus Conference*) – konferencija u Chapel Hillu

GPA (engl. *granulomatosis with polyangiitis*) – granulomatoza s poliangiitisom

MPA (engl. *microscopic polyangiitis*) – mikroskopski poliangiitis

EGPA (engl. *eosinophilic granulomatosis with polyangiitis*) – eozinofilna granulomatoza s poliangiitisom

NET (engl. *neutrophil extracellular trap*) – neutrofilna izvanstanična zamka

ARDS (engl. *acute respiratory distress syndrome*) – akutni respiratorni distresni sindrom

HIV (engl. *human immunodeficiency virus*) – virus humane imunodeficijencije

GBM (engl. *glomerular basement membrane*) – glomerularna bazalna membrana

SE (engl. *erythrocyte sedimentation rate*) – sedimentacija eritrocita

CRP (engl. *C-reactive protein*) – C-reaktivni protein

MMF (engl. *mycophenolate mofetil*) – mikofenolat mofetil

KBC – Klinički bolnički centar

MAP (engl. M*ulti-Analyte Profiling*) – više-analitsko profiliranje

EDTA (engl. *ethylenediaminetetraacetic acid*) – etilendiamintetraoctena kiselina

IIF (engl. *indirect immunofluorescence*) – indirektna imunofluorescencija

ELISA (engl. *enzyme linked immunosorbent assay*) – enzimski imunotest

RAVE (engl. *Rituximab in ANCA-Associated Vasculitis*) – rituksimab u liječenju ANCA vaskulitisa

RITUXVAS (engl. *Rituximab versus Cyclophosphamide in ANCA-Associated Vasculitis*) – rituksimab nasuprot ciklofosfamidu u liječenju ANCA vaskulitisa

MYCYC (engl. *Mycophenolate mofetil versus cyclophosphamide in ANCA-Associated Vasculitis*) – mikofenolat mofetil nasuprot ciklofosfamidu u liječenju ANCA vaskulitisa

MAINRITSAN2 (engl. *Comparison of individually tailored versus fixed-schedule rituximab regimen to maintain ANCA-associated vasculitis remission*) – usporedba individualizirane terapije rituksimabom nasuprot fiksnih intervala doziranja kod održavanja remisije ANCA vaskulitisa

POPIS SLIKA

Slika 1. Raspodjela bolesnika prema komorbiditetima..... 22

POPIS TABLICA

Tablica 1. Klasifikacija vaskulitisa, CHC 1994. 6

Tablica 2. Nova klasifikacija vaskulitisa, CHC 2012. 8

Tablica 3. Učestalost pozitivnih ANCA u različitim bolestima..... 11

Tablica 4. Osnovna obilježja bolesnika..... 21

Tablica 5. Bolesnici prema zahvaćenosti sustava..... 21

Tablica 6. Raspodjela bolesnika prema imunosupresivnoj terapiji..... 23

Tablica 7. Vrijednosti antitijela na MPO, PR-3, sedimentacije eritrocita i C-reaktivnog proteina kod postavljanja dijagnoze, nakon 3 – 6 mjeseci i nakon godine dana..... 23

1. UVOD

Imunologija je biomedicinska znanost koja proučava imunost, odnosno sposobnost organizma da se odupre djelovanju stranih tvari tj. antigena. Prije stotinjak godina, kad se imunologija razvijala u krilu mikrobiologije, pod tuđim su se tvarima podrazumijevali samo mikroorganizmi i njihovi toksini. Pojam imunosti, u širemu smislu riječi, danas je proširen na specifične i nespecifične reakcije protiv najrazličitijih antigena, u smislu očuvanja antigenskoga i genskoga integriteta organizma. Područje imunologije obuhvaća: imunost na infekcije, stanja imunosne preosjetljivosti, imunodeficijencije, imunosnu reakciju na presatke, tumore i autoimune bolesti (1).

1.1. Autoimunost

U autoimunosnom procesu organizam na vlastite antigene reagira kao na tuđe, odnosno prekida se prirodna imunotolerancija nekih vlastitih antigena. Mehanizme nastanka autoimunosti možemo podijeliti u one koji počinju zbog promijenjenih značajki reagiranja na vlastite antigene i one koji nastaju zbog pojave zabranjenih klonova (2).

U organizmu normalno postoje potencijalno autoreaktivni limfociti B, a u autoimunosti njihovu reakciju, s pomoću limfocita T, izazivaju autoantigeni. Autoantigen najčešće počne podraživati autoreaktivne limfocite nakon unošenja tuđih, izvanjskih antigena koji služe kao imunogenični nosač. Imunotolerancija prema autoantigenima koji se u krvi nalaze u visokim koncentracijama (npr. albumin) održava se tolerancijom limfocita T i B, a prema onima koji se u krvi nalaze u niskim koncentracijama (npr. tireoglobulin) održava se na razini limfocita T. Autoimunost prema nekim autoantigenima mogla bi, dakle, početi gubitkom tolerancije limfocita T. Dostatno je da se izmijeni onaj dio autoantigena koji može poslužiti kao nosač (nekom epitopu koji djeluje kao hapten) tako da na taj novi nosač limfociti T ne budu tolerantni. Mikroorganizmi iz okoliša katkad imaju neke epitope istovjetne epitopima domaćina, a neke različite. Tada oni različiti mogu poslužiti kao nosač i podražiti odgovarajuće limfocite T. Pritom oni nametnički epitopi koji su istovjetni domaćinovim djeluju kao hapteni, pa organizam tijekom infekcije stvara protutijela protiv unesenog antigena, ali i autoantitijela protiv vlastitoga autoantigena zbog križne reakcije. Tako virusi mogu izazvati autoimunosnu reakciju kad na membrani domaćinove stanice iskažu svoj antigen koji može poslužiti kao nosač (2).

Unatoč snažnim selekcijskim mehanizmima koji uspostavljaju toleranciju vlastitoga, organizam ipak ima potencijalno autoreaktivne klonove limfocita. Predočne stanice timusnog epitela, koje predočuju vlastite epitope, izazivaju negativnu selekciju (smrt) nezrelih autoreaktivnih limfocita T ako ih vežu visokim afinitetom. Neki su od tih epitopa ili u premalim koncentracijama ili su vezani premalim afinitetom da bi izazvali negativnu selekciju (ali je njihovo vezanje dovoljno za pozitivnu selekciju) pa potencijalno autoreaktivni klon limfocita T preživi i u za njega pogodnim okolnostima može se aktivirati (2).

1.1.1. Patogenetski mehanizmi autoimunosti

Genska podloga pogoduje prekidanju imunotolerancije na vlastite antigene, a infekcija razvoju upale i aktivaciji imunosnih stanica. Oštećenja tkiva ne nastaju samo zbog djelovanja mikroorganizma nego više zbog reakcije koja je izazvana i neodgovarajuće regulirana. Aktiviranje autoreaktivnih klonova tek je prvi korak na putu do kliničke slike autoimunosne bolesti. Nakon aberantnoga, neželjenog podražaja, aktivirani autoreaktivni klonovi stvaraju izvršne čimbenike imunoreakcije – stanice ili protutijela koja će reagirati s autoantigenima. U patogenezi autoimunosnih bolesti ključnu ulogu imaju pomagački limfociti T $CD4^+$, koji uzrokuju upalu i oštećenje tkiva poticanjem lučenja protutijela i aktiviranjem drugih izvršnih stanica. U izazivanju upale veliku važnost imaju limfociti T_H17 koji se tijekom upalnog odgovora aktiviraju i prije polarizacije imunoreakcije na T_H1 i T_H2. Djelovanje autoantitijela može biti trojako: a) stanica koja nosi ciljni autoantigen biva razorena pa se bolest očituje kao posljedica toga oštećenja (autoimunosna hemolitička anemija), b) ciljni je antigen neki stanični receptor pa autoantitijelo sprječava djelovanje fiziološkoga liganda na taj receptor, a to znači da izostaje odgovarajuća stanična fiziološka funkcija, ali nema značajnijeg razvoja upale (šećerna bolest neosjetljiva na inzulin) i c) ciljni je antigen neki stanični receptor, pa autoantitijelo djeluje kao ligand za taj receptor i oponaša učinak fiziološkoga liganda (hipertireoza). Određivanje razine (titra) stvorenih protutijela često služi kao važna dijagnostička i prognostička značajka bolesti. Kompleksi antigena i protutijela nastaju kad se u reakciji na antigen stvaraju specifična protutijela, ali te imunokomplekse uklanjaju eritrociti i fagociti s pomoću svojih receptora za Fc ulomak protutijela i komponente komplementa. No, kad je riječ o velikim količinama antigena ili kad je antigen trajno prisutan u organizmu, stvaraju se prevelike količine imunokompleksa koji se ne mogu odmah ukloniti nego se taložе u zglobnim ovojnicama, stijenkama malih krvnih žila, bubrežnim glomerulima i koroidnom pleksusu. Značajke bolesti proizlaze iz mjesta nakupljanja imunokompleksa, a ne iz vrste

antigena pa se razvijaju vaskulitis, artritis, glomerulonefritis i dr. Taloženje imunokompleksa izaziva, dalje, aktiviranje komplementa i fagocitnih stanica pa to oštećuje tkiva. Time se oslobađa još više autoantigena, što se naziva širenjem epitopa i uspostavlja začarani krug pozitivne povratne sprege stvaranja autoantitijela i autoimunosne reakcije (2).

1.1.2. Vrste autoimunosnih bolesti

Autoimunosna bolest nastaje kao posljedica gubitka imunološke tolerancije na vlastite antigene, a može biti u genetski predisponiranih osoba potaknuta brojnim egzogenim i endogenim čimbenicima. Aktivirana stanična i humoralna reakcija vezana uz autoimuni proces dovodi do oštećenja tkiva. Autoimunosne bolesti, ovisno o sustavu kojeg zahvaćaju, mogu se različito klinički prezentirati, pa čak i ista bolest u pojedinih osoba može imati vrlo različite slike. Stoga autoimunosne bolesti dijelimo samo grubo na organskospecifične i organskonespecifične (sistemne) bolesti. Između tih dviju krajnosti postoje brojni prelasci pa se u odnosu na njihovu specifičnost za organe najčešće govori o spektru autoimunosnih bolesti. U organskospecifičnim autoimunosnim bolestima autoantitijela su usmjerena na tkivnospecifične autoantigene, a primjeri su bolesti autoimunosne hemolitičke anemije, neutropenije, limfopenije i trombocitopenije te autoimunosne bolesti bazalnih membrana, autoimunosne endokrinopatije i antireceptorske bolesti. Limfopenije, neutropenije i trombocitopenije često se razvijaju sekundarno u autoimunosnim bolestima sistemnoga tipa. Organskonespecifične autoimunosne bolesti usmjerene su na autoantigene koji su uobičajeni sastojci brojnih ili svih tjelesnih stanica ili međustanične tvari. Kako klinička slika ovisi o zahvaćanju pojedinog organskog sustava, može se manifestirati s raznolikim kliničkim simptomima i znakovima u različitih bolesnika. Najpoznatije autoimunosne bolesti te skupine jesu sistemni eritematozni lupus, vaskulitisi i reumatoidni artritis (2).

1.1.3. Posredni čimbenici autoimunosti

Bliski srodnici bolesnika s autoimunosnim poremećajima često imaju također autimunosnu bolest ili barem prisutnost autoantitijela bez pridružene kliničke slike bolesti. Ta pojava upućuje na genske čimbenike u patogenezi tih bolesti. Danas je u patogenezi autoimunosnih bolesti sve više istražena povezanost s postojanjem određenih alela MHC (HLA). To proizlazi iz imunoregulacijske uloge sustava HLA pri odabiru limfocitnih klonova u timusu. Ova povezanost upućuje na to da pojava autoimunosti ovisi o općoj

imunoreaktivnosti. U nastanku autoimunosnih bolesti mogu sudjelovati i brojni drugi geni uključeni u regulaciju upalnog odgovora, izražaja citokina i kemokina te njihovih receptora, kostimulacijskih molekula, rasporeda i izražaja tkivnih antigena, membranskih molekula, transkripcijskih čimbenika i sl. Ostalim čimbenicima autoimunosti ponajprije pripadaju spol i dob, jer autoimunost češće pogađa žene i starije osobe. Osim toga, pojava autoimunosti podudara se katkad s postojanjem drugih imunoloških poremećaja te s prethodnom pojavom neke infekcije. Prethodna izloženost infektivnom uzročniku, te neki drugi utjecaji (primjerice pušenje koje izaziva upalnu reakciju i oštećenje alveolarnog epitela) pripadaju u različite okolišne čimbenike koji pospješuju autoimunost (2).

1.1.4. Liječenje autoimunosnih bolesti

U liječenju sistemnih autoimunosnih bolesti primjenjuju se različiti imunosupresivni lijekovi , najčešće glukokortikoidi uz često dodatnu terapiju kao što su antimalarici (klorokin, hidroksiklorokin), azatioprin, ciklofosfamid, metotreksat i drugi. U bolestima posredovanim protutijelima plazmafereza može biti učinkovita u akutnoj fazi, a visoke doze intravenskih imunoglobulina kroz 5 dana, vjerojatno vezanjem za inhibicijski Fc-receptor, imaju imunosupresijski učinak. Noviji pristup liječenju, proizašao iz rasvjetljavanja mehanizama autoimunosti, uključuje tzv. biološke lijekove koji suprimiraju pretjeranu imunološku reakciju i upalu. Neki su odobreni za primjenu u liječenju reumatoidnog artritisa, multiple skleroze, sistemnog lupusa, psorijaze, Chronove bolesti i nekih drugih, a uključuju primjerice topljive neutralizacijske receptore za TNF-α i IL-1, IL-6 te protutijela protiv citokina (anti-TNF-α), adhezijskih molekula (anti-VLA-4), kostimulacijskih molekula (anti-B7), komponenata komplementa (anti-C5) i limfocita B (anti-CD20) (2).

1.2. Sindrom vaskulitisa

Vaskulitis je heterogena skupina sustavnih upalnih bolesti koje se očituju upalom krvne žile s jasnim strukturnim oštećenjem stijenke. Klinički spektar vaskulitisa prostire se od primarnih bolesti krvnih žila do vaskulitisa kao komponente u nekoj drugoj osnovnoj bolesti. Prvi su sindrom vaskulitisa opisali Kussmaul i Meyer 1866. pod nazivom „periarteritis nodosa“ zbog palpabilnih čvorića uzduž arterija koje su bile zahvaćene upalnim promjenama. Kasniji opisi tog sindroma definirali su današnji klasični nodozni poliarteritis. Na prijelazu u novo stoljeće objavljeni su prikazi arteritisa divovskih stanica – temporalni i Takayasuov arteritis. Nakon Klingerova opisa 1931., Wegener je 1936. definirao posebnu skupinu nekrotizirajućih vaskulitisa s granulomatozom. Upala može zahvatiti bilo koju krvnu žilu, što dovodi do oštećenja odgovarajućeg organskog sustava, pa klinička slika može biti vrlo raznolika. Postoje brojni pokušaji klasifikacija, a u *tablici 1.* navedena je klasifikacija (engl. *Chapel Hill Consensus Conference*, CHC, 1994.) kojom su vaskulitisi podijeljeni na skupine prema veličini krvne žile zahvaćene upalom. Nema jedinstvena patofiziološkog zbivanja koje bi bilo odgovorno za razvoj kliničke slike vaskulitisa. Smatra se da različiti početni mehanizmi mogu dovesti do konačnog patofiziološkog zbivanja čak i unutar specifičnog sindroma vaskulitisa. Uloga imunokompleksa (IK) u razvoju upalne bolesti krvnih žila najbolje je istražena, a uloga antitijela u nastanku vaskulitisa slabije je definirana. Studije *in vitro* pokazuju da se podtip antineutrofilnih citoplazmatskih protutijela (c-ANCA) koja su prisutna u bolesnika s Wegenerovom granulomatozom i nodoznim poliarteritisom, veže za serinsku proteazu (proteinaza 3) te sudjeluje u patofiziologiji nekrotizirajućeg vaskulitisa. U mnogim vaskulitisima dokazana su i antiendotelna protutijela koja mogu oštetiti endotelne stanice mehanizmom stanične citotoksičnosti ovisne o protutijelima ili aktivacijom komplementa. U nastanku vaskulitisa posebna je uloga endotelnih stanica. One služe kao površina između intravaskularnih i ekstravaskularnih prostora i sudjeluju u fiziološkim regulacijskim funkcijama kao što su vaskularna propusnost, agregacija i adhezija stanica, regulacija staničnog prometa u ekstravaskularni prostor i regulacija koagulacije, što većinom posreduju izlučene tvari – prostaglandini, adenozin-nukleotidi i aktivirajući faktor trombocita. Endotelne stanice također imaju sposobnost regulacije imunološkog odgovora; one mogu izlučivati citokine koji mogu imati znatan utjecaj na vaskularni upalni odgovor. Mogu izraziti i važne imunoregulacijske molekule te površinske adhezijske molekule na staničnoj površini. Premda nedostaju neposredni dokazi da senzibilizirani limfociti uzrokuju vaskulitis u čovjeka, oni su odgovorni

za nastanak vaskulitisa u više dobro definiranih mišjih modela autoimunosti, posebno granulomatoznog vaskulitisa. Kad je riječ o bolesniku za kojeg sumnjamo da ima vaskulitis, na temelju detaljne anamneze, fizikalnog pregleda i odgovarajuće laboratorijske obrade valja potvrditi dijagnozu, odrediti proširenost vaskulitisnog procesa i potom dokazati patološku leziju biopsijom i/ili angiografijom (3).

Tablica 1. Klasifikacija vaskulitisa, CHC 1994. (3)

Vaskulitis velikih krvnih žila	**Vaskulitis srednje velikih krvnih žila**	**Vaskulitis malih krvnih žila**
• gigantocelularni arteritis • Takayasuov arteritis	• nodozni poliarteritis • Kawasakijeva bolest	• Wegenerova granulomatoza • Churg-Straussov sindrom • mikroskopski poliangiitis • Henoch-Schönleinova purpura • esencijalni krioglobulinemički vaskulitis • kožni leukocitoklastični angiitis

1.2.1. Nova klasifikacija vaskulitisa

Napredak kliničke imunologije i reumatologije, prepoznavanje novih entiteta kao i nove dijagnostičke i terapijske mogućnosti nametnule su potrebu za revizijom nomenklature vaskulitisa. Godine 2012. održana je nova konferencija u Chapel Hillu na kojoj je predložena nova podjela i nomenklatura vaskulitisa koja je trebala pojednostaviti i olakšati primjenu u kliničkoj praksi. Nomenklaturom iz 2012. godine zadržana je osnovna podjela prema veličini krvne žile. Uvedena je nova kategorija vaskulitisa koji se tipično pojavljuju u krvnim žilama različitog kalibra u koju se ubrajaju Behçetova bolest i Coganov sindrom. Dodatna je novost uvođenje kategorije vaskulitisa bez sustavnih značajki koji zahvaćaju samo jedan organ, tzv. *single organ vasculitis*. Takvi klinički entiteti zahvaćaju samo kožu, središnji živčani sustav, srce, bubrege ili mezenterij. Osobito je važna novost uvođenje kategorije vaskulitisa povezanih s prisutnošću antineutrofilnih citoplazmatskih protutijela (engl. ANCA *associated vasculitis,*

skr. AAV). U ovu se kategoriju ubrajaju Wegenerova granulomatoza, Churg-Straussov vaskulitis te mikroskopski poliangiitis. Njihovo izdvajanje u posebnu kategoriju opravdava činjenica da se spomenuta protutijela gotovo isključivo pojavljuju samo u ovim entitetima. Jedinu pravu iznimku predstavljaju sekundarni vaskulitisi inducirani primjenom pojedinih lijekova u kojima se također mogu pojaviti protutijela ANCA. Opisani su bolesnici s kliničkom slikom vaskulitisa i prisutnošću protutijela ANCA u serumu nakon primjene tireostatika. Uz novosti u klasificiranju vaskulitisa povezanih s ANCA protutijelima uvedene su i novosti u terminologiji, čime su se pokušali iznaći bolji opisni nazivi za pojedine entitete. Tako je za Wegenerovu granulomatozu predložen naziv granulomatoza s poliangiitisom (skr. GPA), za Churg-Straussov vaskulitis naziv eozinofilna granulomatoza s poliangiitisom (skr. EGPA), što se prikladno uklopilo uz postojeći naziv za treći entitet u ovoj skupini – mikroskopski poliangiitis (skr. MPA). Važno je spomenuti da je drugim konsenzusom u Chapel Hillu konačno jasno uspostavljena klinički prepoznatljiva i primjenjiva razlika između mikroskopskog poliangiitisa i nodoznog poliarteritisa. Također se predlaže uvođenje dviju novih skupina vaskulitisa – vaskulitisi udruženi sa sustavnom bolesti te vaskulitisi s vjerojatno poznatom etiologijom (tzv. sekundarni vaskulitisi). Usprkos mogućim primjedbama može se zaključiti da je nova podjela pragmatična, praktična i prihvatljiva za svakodnevni klinički rad s bolesnicima te da istodobno pruža dobru polaznu osnovu za klinička i temeljna istraživanja vaskulitičnih entiteta (4).

Tablica 2. Nova klasifikacija vaskulitisa, CHC 2012. (4)

Vaskulitis velikih krvnih žila	Vaskulitis srednje velikih krvnih žila	Vaskulitis malih krvnih žila
• Takayasuov arteritis • gigantocelularni vaskulitis	• polyarteritis nodosa (PAN) • Kawasakijeva bolest	• **Vaskulitis povezan s protutijelima ANCA** • mikroskopski poliangiitis (MPA) • granulomatoza s poliangiitisom (GPA) • eozinofilna granulomatoza s poliangiitisom (EGPA) • **Vaskulitis povezan s odlaganjem imunokompleksa** • bolest protutijela protiv glomerularne bazalne membrane (anti-GBM) • krioglobulinemični vaskulitis • vaskulitis povezan s IgA (Henoch-Schönlein) • hipokomplementemični urtikarijalni vaskulitis (HUV), vaskulitis s antiC1q protutijelima

Vaskulitis različito velikih krvnih žila	Vaskulitis jednog organa	Vaskulitis udružen sa sustavnom bolesti
• Behçetova bolest • Coganov sindrom	• kožni leukocitoklastični angiitis • kožni arteritis • primarni arteritis središnjeg živčanog sustava • izolirani aortitis • ostali	• lupusni vaskulitis • reumatoidni vaskulitis • sarkoidni vaskulitis • ostali

Vaskulitis s vjerojatno poznatom etiologijom (sekundarni)
• krioglobulinemični vaskulitis povezan s hepatitisom C • vaskulitis povezan s hepatitisom B • aortitis povezan sa sifilisom • vaskulitis s odlaganjem imunokompleksa povezan s primjenom lijekova • vaskulitis udružen s protutijelima ANCA povezan s primjenom lijekova • vaskulitis povezan s malignomima • ostali sekundarni vaskulitisi

1.3. ANCA vaskulitisi

ANCA vaskulitisi su rijetke bolesti, s incidencijom oko 20 na milijun stanovnika godišnje (5). Riječ je o sistemskim nekrotizirajućim vaskulitisima (histološki se nalazi nekroza medije uz upalu intime i adventicije), a u pojedinim ANCA vaskulitisima granulomi okružuju krvne žile. Čine zasebnu skupinu vaskulitisa s obzirom na to da najčešće zahvaćaju malene, katkad i srednje velike krvne žile, obično su udruženi s ANCA protutijelima i povezani s visokim rizikom od nastanka glomerulonefritisa te dobrim odgovorom na imunosupresivno liječenje ciklofosfamidom (6).

1.3.1. Patogeneza

ANCA su autoantitijela usmjerena protiv citoplazmatskih antigena izraženih u primarnim granulama neutrofila i lizosomima monocita. Primarne granule neutrofila sadrže niz antibakterijskih proteina, uključujući lizozim, mijeloperoksidazu (MPO), neutralne serinske proteinaze (PR3, elastaza, katepsin G) i kisele hidrolaze (katepsin B i D). Autoantitijela mogu se razviti protiv bilo kojeg od ovih proteina, ali klinički značajna protutijela usmjerena su protiv

MPO i PR3. Tijekom aktivnog stadija bolesti ANCA su obično IgG razreda, a opisani su i slučajevi ANCA IgM i IgA razreda (5).

PR3-ANCA najčešće su povezana s GPA (75 %), dok su MPO-ANCA češće povezana s MPA (60 %) ili bubrežno ograničenim vaskulitisom (80 %). Atipična ANCA koja nisu usmjerena ni protiv PR3 ni protiv MPO (pozitivan test IIF i negativan ELISA test) mogu se naći u nizu nevaskulitisnih stanja (upalna bolest crijeva, druge autoimune i maligne bolesti). PR3-ANCA i MPO-ANCA mogu se naći i kod kroničnih infekcija (endokarditis, tuberkuloza, infekcije HIV-om, hepatitisom C, bartoneloza). Prisutnost PR3-ANCA i MPO-ANCA kod istog bolesnika vrlo je rijetka i upućuje na vaskulitis izazvan lijekovima (5, 7).

Eksperimentalni i klinički podaci potvrđuju da ANCA nisu samo biomarkeri ANCA vaskulitisa, već igraju važnu ulogu u patogenezi. Cjelogenomska istraživanja povezanosti pokazala su kako polimorfizmi MHC klase II mogu utjecati na razvoj određenih antineutrofilnih citoplazmatskih protutijela. Nađena je snažna povezanost PR3-ANCA s HLA-DP regijom te MPO-ANCA s HLA-DQ regijom, međutim nije nađena povezanost s kliničkim fenotipom AAV. Patogenetska uloga ANCA pokazala se ključnom, budući da ANCA potiče naglašenu aktivaciju neutrofila koji zatim otpuštaju upalne citokine, reaktivne metabolite kisika (ROS) i proteolitičke enzime. Nadalje, djeluje i na povećanje adhezije neutrofila i aktiviranje alternativnog puta komplementa stvaranjem C5a koji privlači još više neutrofila i dodatno potiče upalni proces. Prekomjernim aktiviranjem neutrofila, ANCA inducira stvaranje neutrofilnih izvanstaničnih zamki (tzv. NET-ovi, prema engl. *neutrophil extracellular traps*). Aktivirani neutrofili prolaze kroz specifični oblik smrti (NET-osis) u kojem se NET-ovi izlučuju iz stanice koja u kromatinskoj mreži sadrži MPO, PR3 i komponente komplementa. NET-ovi mogu izravno posredovati u oštećenju endotela, prenijeti MPO/PR3 na endotel krvnih žila i dendritičke stanice za predočavanje antigena i aktivirati alternativni put komplementa. Kemokini i odlaganje MPO i PR3 na površinu endotela dovode do regrutiranja autoreaktivnih limfocita T i monocita povećavajući oštećenje endotela krvnih žila. Iako su NET-ovi bitni elementi urođene imunosti, njihovo prekomjerno stvaranje oštećuje male krvne žile, djeluje protrombotski, a mogu dodatno poticati stvaranje samih ANCA što čini začarani ciklus stavaranja NET-a i ANCA te podržavanje vaskularnog oštećenja (8, 9, 10).

Tablica 3. Učestalost pozitivnih ANCA u različitim bolestima (5)

	PR3-ANCA (cANCA)	**MPO-ANCA (pANCA)**	**Ostala**
ANCA vaskulitis			
GPA	75 %	20 %	5 % ANCA negativna
MPA	30 %	60 %	10 % ANCA negativna
EGPA	5 %	45 %	50 % ANCA negativna
Vaskulitis ograničen na bubrege	10 %	80 %	10 % ANCA negativna
Vaskulitis izazvan lijekovima	10 %	90 %	često visok titar, dvostruka pozitivnost, za MPO i PR3
Nevaskulitisna stanja			
Sistemski lupus	2 %	10 %	10 % atipična ANCA
Endokarditis	15 %	5 %	
Upalna bolest crijeva	negativna	negativna	atipična ANCA, različiti antigeni: ulcerozni kolitis (50 −67 %), Chronova bolest (6−15 %)
Primarni sklerozirajući kolangitis	negativna	negativna	atipična ANCA, različiti antigeni: 60−80 %
Cistična fibroza	negativna	negativna	atipični ANCA uzorak, usmjeren protiv BPI (engl. *bactericidal/permeability induced protein*; 90 %)

1.3.2. Granulomatoza s poliangiitisom (GPA)

Glavno obilježje GPA jest granulomatozna nekrotizirajuća upala sluznice gornjeg i donjeg dijela dišnog sustava. Kod zahvaćenosti gornjeg dijela dišnog sustava koja se javlja u 75 % bolesnika na samom početku bolesti, bolesnici imaju bolne i/ili bezbolne ulceracije sluznice. Javljaju se gnojna ili krvava sekrecija iz nosa, kraste, kronični rinitis, sinusitis, otitis media, mastoiditis s posljedičnim gubitkom sluha, sedlasti nos, perforacija nosnog septuma i/ili subglotična stenoza s promuklošću i stridorom. Kod zahvaćenosti donjeg dijela dišnog sustava, koja je prisutna u 2/3 bolesnika u vrijeme postavljanja dijagnoze, tipični je radiološki nalaz fiksnih infiltrata. Kod bolesnika se nerijetko javlja i anemija. Bubreg je nakon gornjeg i donjeg dijela dišnog sustava najčešće zahvaćen organ (40 – 100 %). Patohistološki se u bioptatu bubrega nalazi žarišni, nekrotizirajući, polumjesečasti, pauci-imunosni glomerulonefritis. U

oko 30 % bolesnika zahvaćen je neurološki sustav. Najčešće se javlja mononeuritis multipleks (u oko 79 %), rjeđe simetrična senzomotorna polineuropatija, dok je zahvaćenost središnjega živčanog sustava, obično u kasnijoj fazi bolesti, rijetka (6 – 13 %). Zahvaćenost središnjega živčanog sustava klinički se očituje pahimeningitisom, cerebrovaskularnim inzultom, encefalopatijom, glavoboljom ili konvulzijama. Koža je zahvaćena u 10 – 15 % bolesnika. Najčešće se javljaju palpabilna purpura, nekrotizirajuće papule ekstenzornih površina udova, potom noduli s patohistološkim nalazom granuloma i/ili nekrotizirajućeg vaskulitisa (6).

Razlikuju se dva oblika GPA: sistemski/generalizirani i limitirani/lokalizirani. U sistemskom obliku središnju ulogu imaju limfociti T_H2. Često nakon što se postigne kontrola nad bolesti, lokalno aktivna bolest gornjeg dijela dišnog sustava perzistira i zaostaje. U ovom su obliku tipično zahvaćeni bubreg i pluća s posljedičnim alveolarnim krvarenjem, a nerijetko i drugi organski sustavi. U pravilu prisutni su opći simptomi: povišena tjelesna temperatura, gubitak tjelesne težine, artralgije i/ili mialgije, a u 90 % bolesnika prisutna su i protutijela c-ANCA. U lokaliziranome obliku GPA pretežno se nalaze granulomatozne lezije, a središnju ulogu imaju limfociti T_H1. Uglavnom je ograničen na gornji dio dišnog sustava, što ujedno može biti i jedina manifestacija bolesti, dok je rjeđe zahvaćena koža (1/3 bolesnika). Češće se javlja kod žena mlađe životne dobi. U 50 % bolesnika pozitivna su c-ANCA protutijela, karakteristična je i pojava relapsa. Lokalizirani oblik GPA može prijeći u sistemski, a u 80 % bolesnika s vremenom se razvije glomerulonefritis (6).

1.3.3. Mikroskopski poliangiitis (MPA)

Većina bolesnika s MPA ima opće simptome bolesti (56 – 76 %) prije postavljanja dijagnoze. Čest je indolentni tijek bolesti od nekoliko mjeseci ili čak godina prije dijagnosticiranja MPA s blagim generaliziranim simptomima ili povremenim hemoptizama. Glavna značajka MPA je zahvaćenost bubrega s kliničkom slikom brzoprogresivnoga glomerulonefritisa. U početku bolest bubrega može biti „tiha“ (mikrohematurija i/ili proteinurija u 90 % bolesnika). Bolesnici mogu imati i do nekoliko blažih relapsa MPA koji budu klinički neprepoznati pa se u trenutku dijagnoze u bioptatu bubrega već nalaze „ožiljci“. Koža je zahvaćena u svakoga drugog bolesnika. Najčešći je nalaz makulopapuloznih purpurnih lezija na donjim udovima. Također se javljaju ulceracije u ustima, nekroze i ulceracije kože, noduli, livedo retikularis, eritem prstiju i oteklina lica. Pluća su zahvaćena kod 25 – 55 % bolesnika što se klinički očituje hemoptizama, zaduhom, ARDS-om, bronhijalnim arteritisom

i/ili difuznim alveolarnim oštećenjem s posljedičnom fibrozom pluća. Neurološki sustav zahvaćen je kod 20 % bolesnika. Mononeuritis multipleks najčešće se javlja i čini 2/3 svih kliničkih očitovanja zahvaćenosti neurološkoga sustava. Gastrointestinalni kao i kardiovaskularni sustav rijetko su zahvaćeni u bolesnika s MPA. Što se tiče zahvaćenosti gornjega dijela dišnoga sustava može se eventualno javiti negranulomatozna, neerozivna upala sinusa (6).

1.3.4. Eozinofilna granulomatoza s poliangiitisom (EGPA)

Obilježje EGPA jest sistemski vaskulitis malih krvnih žila s nalazom eozinofilije i ekstravaskularnih granuloma u bolesnika s astmom, alergijskim rinitisom i sinusitisom. Najčešće su zahvaćena pluća iako svaki organ može biti zahvaćen. EGPA se razlikuje od ostalih ANCA vaskulitisa po češćem zahvaćanju srca i gastrointestinalnog sustava. Karakteristične su tri faze bolesti: prodromalna, eozinofilna i vaskulitična faza. U prodromalnom periodu bolesnici se liječe od astme i/ili drugih alergijskih bolesti kao što su alergijski rinitis i polipoza sinusa. Eozinofilnu fazu označavaju periferna eozinofilija i eozinofilna infiltracija brojnih organa, najčešće pluća i gastrointestinalnog sustava. Eozinofilni infiltrati u ovoj fazi bolesti mogu se pojavljivati i povlačiti i godinama prije razvoja sistemskog vaskulitisa. Sistemska bolest razvija se u prosjeku 8–10 godina nakon dijagnoze astme, no ako se razvije ranije, to su često bolesnici s lošijom prognozom. U trećoj fazi bolesnici imaju opće simptome bolesti. Važno je napomenuti da u bolesnika ne moraju biti prisutne sve tri faze bolesti niti moraju biti u slijedu. Zahvaćenost pluća očituje se prisutnošću plućnih infiltrata (38 – 77 %) koji su karakteristično tranzitorni i migrirajući. Pleuralni je izljev rijedak (3 %). Gornji dio dišnog sustava zahvaćen je u 3/4 bolesnika i klinički se očituje alergijskim rinitisom, polipozom sinusa i često maksilarnim sinusitisom. Od neuroloških manifestacija često se, kao i u drugim ANCA vaskulitisima, javlja mononeuritis multipleks (64 – 75 %), dok je središnji živčani sustav rijetko zahvaćen, ali s lošijom prognozom. Kod 50 % bolesnika zahvaćeno je srce što je i glavni uzrok smrtnog ishoda kod bolesnika s EGPA-om. Riječ je o granulomatoznoj infiltraciji miokarda i koronarnih krvnih žila s mogućnošću posljedičnoga brzog kongestivnog zatajenja srca, nastanka aritmija, perikarditisa, dok se angina pektoris i infarkt miokarda rijetko javljaju. Gastrointestinalni sustav često je zahvaćen (37 – 62 %). Vaskulitis s posljedičnom ishemijom crijeva klinički se očituje bolovima u trbuhu, krvarenjem, ulceracijama i peforacijama crijeva s uglavnom lošom prognozom za bolesnika. Kožna očitovanja slična su kao i u drugim ANCA vaskulitisima. Bubrezi su rjeđe zahvaćeni (22 %), čest je nalaz fokalnoga segmentalnoga

glomerulonefritisa s nekrotizirajućim, polumjesečastim lezijama. Protutijela anti-MPO pozitivna su u samo kod 30 – 40 % bolesnika. Jasna razlika u kliničkoj slici u ovisnosti o prisutnosti odnosno odsutnosti protutijela upućuje na mogućnost da se radi o različitom patogenetskom mehanizmu nastanka bolesti (citotoksičnost samih eozinofila u odsutnosti protutijela), što je predmet daljnjeg istraživanja (6).

1.3.5. Liječenje

Glukokortikoidi su temelj liječenja ANCA vaskulitisa, osobito kada su bubrezi zahvaćeni bolešću, ali se uvijek kombiniraju s drugim imunosupresivnim lijekovima. Za vrijeme aktivne bolesti trenutne smjernice predlažu indukciju glukokortikoida u visokim dozama uz postupno smanjenje doze. Bolesnici s brzo progresivnim glomerulonefritisom ili alveolarnim krvarenjem obično primaju pulsni metilprednizolon 500 do 1000 mg i.v. dnevno tijekom 3 dana. Zatim slijedi oralna terapija prednizonom 1 mg/kg dnevno s maksimalno 60 do 80 mg dnevno u trajanju od 2 do 4 tjedna, nakon čega se smanjuju doze prednizona do doze održavanja 5 do 10 mg nakon 6 mjeseci. Ne postoji konsenzus o najboljem režimu smanjenja i trajanja glukokortikoidne terapije. ANCA vaskulitisi s organskim i životno ugrožavajućim manifestacijama liječe se kombiniranom terapijom glukokortikoida i ciklofosfamida već desetljećima. Ovaj je režim, iako učinkovit kod više od 90 % bolesnika, ograničen značajnom toksičnošću. Ciklofosfamid se može dati oralno ili intravenski, a liječenje traje 3 do 6 mjeseci, dok ne nastupi remisija. S obzirom na relapsnu prirodu ANCA vaskulitisa i znatnu toksičnost povezanu s kumulativnom uporabom ciklofosfamida, sve je veća važnost ispitivanja sigurnijih terapija koje ciljaju specifične stanične i molekularne putove koji su uključeni u autoimuni odgovor. Dva randomizirana kontrolirana pokusa (engl. *Rituximab in ANCA-Associated Vasculitis*, skr. RAVE i engl. *the Rituximab versus Cyclophosphamide in ANCA-Associated Vasculitis*, skr. RITUXVAS) procijenila su uporabu rituksimaba, kimernog monoklonskog protutijela na CD20 za indukciju remisije kod GPA i MPA. Zaključeno je da je rituksimab superiorniji od ciklofosfamida kod recidiva bolesti i za indukciju remisije u bolesnika s PR3-pozitivnom ANCA. U travnju 2011. godine Američka organizacija za hranu i lijekove odobrila je rituksimab kao alternativu ciklofosfamidu u kombinaciji s glukokortikoidima za liječenje teških GPA i MPA. Liječenje rituksimabom preferira se kod bolesnika s relapsom bolesti, perzistirajućom bolesti i bolesnika s kontraindikacijama na liječenje ciklofosfamidom. U randomiziranom kontroliranom pokusu (engl. *Mycophenolate mofetil versus cyclophosphamide in ANCA-Associated Vasculitis*, skr. MYCYC) koji je procjenjivao uporabu mikofenolat

mofetila (MMF) za indukciju remisije kod ANCA vaskulitisa, remisija je nakon 6 mjeseci postignuta kod 67 % bolesnika u skupini liječenoj MMF-om u usporedbi sa 61 % bolesnika u skupini liječenoj ciklofosfamidom. Međutim, relapsi su bili češći u skupini liječenoj MMF-om, uglavnom kod PR3-ANCA pozitivnih bolesnika. Stoga se predlaže da su MMF i glukokortikoidi indukcijska terapija prve linije kod MPO-ANCA pozitivnih bolesnika koji imaju blagu do umjerenu zahvaćenost bubrega bez životno ugrožavajućeg ekstrarenalnog vaskulitisa. Imunosupresivna terapija koja se uglavnom sastoji od azatioprina ili metotreksata koristi se kao terapija održavanja remisije (5).

2. CILJ

Ciljevi ovoga diplomskoga rada su:

1. Ispitati razine antineutrofilnih citoplazmatskih (ANCA) protutijela u bolesnika s ANCA vaskulitisima u desetogodišnjem razdoblju na Zavodu za reumatologiju, kliničku imunologiju i alergologiju KBC-a Osijek
2. Ispitati povezanost razine ANCA protutijela s aktivnošću i prognozom ANCA vaskulitisa
3. Odrediti značenje ANCA protutijela kao potencijalnih biomarkera u praćenju aktivnosti bolesti i izbora odgovarajućeg liječenja ANCA vaskulitisa.

3. ISPITANICI I METODE

3.1. Ustroj studije

Studija je ustrojena kao presječno istraživanje s povijesnim podatcima (11).

3.2. Ispitanici

U studiju su uključeni pacijenti Zavoda za reumatologiju, kliničku imunologiju i alergologiju KBC-a Osijek s prethodno postavljenom dijagnozom ANCA vaskulitisa u periodu od 31. 12. 2009. do 31. 12. 2019. godine.

Potrebni podatci prikupljeni su iz povijesti bolesti. Bilježeni su dob, spol, godina postavljanja dijagnoze, klinička obilježja bolesti, vrijednosti pANCA i cANCA protutijela, sedimentacije i CRP-a kod postavljanja dijagnoze, nakon 3 − 6 mjeseci te nakon 12 mjeseci, simptomi, komorbiditeti, terapija i ishod bolesti.

3.3. Metode

Laboratorijska testiranja proveli su djelatnici Kliničkog zavoda za laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Osijek. Podatci o izmjerenim vrijednostima pANCA i cANCA protutijela te sedimentacije eritrocita i C-reaktivnog proteina dobiveni su iz medicinske dokumentacije.

3.3.1. Određivanje ANCA protutijela

Uzorak je venska krv izvađena u epruvetu bez antikoagulansa (crveni čep). Krv se centrifugira deset minuta na 3500 okretaja, nakon čega se pipetom odvaja serum u novu epruvetu i stavlja u uređaj. Vrijednosti pANCA i cANCA protutijela iz seruma pacijenata određene su multipleks tehnologijom na uređaju Luminex®. Pri tome je korišten komercijalno dostupan sustav reagensa FIDIS (BioMedical Diagnostics, Marne la Vallee, France). FIDIS™ VASCULITIS kit koristi se za simultanu detekciju autoantitijela anti-MPO, anti-PR3 i anti-GBM.

Multipleks tehnologija podrazumijeva mogućnost spajanja višestrukih testova i istovremeno mjerenje više analita u jednom uzorku. Za testove temeljene na istovremenoj višestrukoj detekciji specifičnih protutijela, razvijena je protočna citometrija (engl. *flow cytometry for multiplex bead-based assays*) (12).

Luminex® uređaj radi na principu xMAP® tehnologije koja rabi polistirenske mikrokuglice 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 mikrokuglice. Svaka od 100 mikrokuglica koja se može razlikovati po svojoj fluorescenciji, nosi specifični imobiliziran antigen za svako autoantitijelo. Uzorak pacijenta i diluent dodaju se na mikrokuglice, nakon čega se inkubiraju 20-30 minuta. Zatim se dodaje antitijelo na humani IgG konjugirano s fluorescentnim proteinom fikoeritrinom B. Slijedi prolazak kroz protočni citometar. Fluorescencija se očitava dualnim laserskim sustavom. Prvi laser detektira svaku mikrokuglicu dok prolazi kroz citometar, kako bi se utvrdio antigen koji je na nju vezan. Drugi laser detektira intenzitet signala izvedenog iz fikoeritrina B. Ovaj signal pokazuje koncentraciju relevantnog antitijela koje je prisutno u uzorku (13, 14). Mjerna jedinica je AU/ml, rezultat je negativan za vrijednosti < 20, graničan 20-25, a pozitivan > 25 AU/ml.

Moguće ograničenje metode kod otkrivanja autoantitijela je manjak stvarne kvantitativne kalibracije zbog različitih afiniteta antitijela za antigene. S obzirom da je riječ o heterogenoj metodi, različiti izvori antigena i različite granične vrijednosti mogu doprinijeti većoj varijabilnosti rezultata. Čak i ako se primjenjuje isti kit za otkrivanje antitijela određene reaktivnosti, može doći do varijacija rezultata između laboratorija (13).

3.3.2. Određivanje sedimentacije eritrocita

Sedimentacija eritrocita (SE) test je kojim se mjeri brzina taloženja krvnih stanica na dno epruvete pod utjecajem gravitacije. Budući da postoji razlika u gustoći eritrocita i plazme, gdje je gustoća eritrocita veća od gustoće plazme, eritrociti će pasti na dno epruvete i potisnuti plazmu prema gore. SE je jedna od najčešće upotrebljavanih pretraga u laboratoriju za mjerenje aktivnosti bolesti te praćenje upalnih stanja u kliničkoj medicini (15).

Brzina sedimentacije određena je na automatskom uređaju iSED Alcor Scientific metodom fotometrijske reologije. Uzorak je puna krv izvađena u epruvetu s antikoagulansom

EDTA (ljubičasti čep). Fotometrijska reologija metoda je koja mjeri intenzitet transmitirane ili reflektirane svjetlosti tijekom agregacije eritrocita u ovisnosti o vremenu. Intenzitet svjetlosti ovisi o veličini i broju eritrocita u uzorku. Na početku mjerenja eritrociti trebaju biti dispergirani. Nakon prestanka dispergirajućih sila, eritrociti počinju agregirati. Veličina agregata eritrocita počinje se povećavati, a broj raspršenih eritrocita se smanjuje. Vrijednosti brzine SE izračunaju se praćenjem promjene optičke gustoće uzorka. Mjerenje se odvija u kontroliranim uvjetima. Rezultati su gotovi unutar 20 sekundi, zatim se epruveta s uzorkom izbaci iz uređaja na predviđeno mjesto za skupljanje uzoraka te se odmah može staviti novi uzorak u uređaj (16, 17). Sustav internacionalnih jedinica preporuča izražavanje SE u mm/ks. Referentni interval iznosi 5 − 28 mm/3,6ks, a vrijednosti SE promatraju se ovisno o dobi i spolu.

3.3.3. Određivanje C-reaktivnog proteina

C-reaktivni protein (CRP) glikoprotein je sastavljen od 5 identičnih polipeptidnih monomera. Veže se za fosforilkolin i fosforiletanolamin te polisaharide bakterija iz oštećenoga tkiva, a vezanje je ovisno o kalciju. Vezan aktivira klasični put komplementa koji počinje s C1q. U serumu zdravih odraslih osoba i adolescenata ima manje od 5 mg/L CRP-a. Koncentracija mu je povećana kod upalnih bolesti u kojima se mogu naći vrijednosti i do 500 mg/L (18).

Uzorak je venska krv izvađena u epruvetu bez antikoagulansa (crveni čep). Krv se centrifugira deset minuta na 3500 okretaja, nakon čega se pipetom odvaja serum u novu epruvetu i stavlja u uređaj. Vrijednosti CRP-a određene su primjenom automatskog analizatora Beckman Coulter AU680 metodom imunoturbidimetrije. Imunoturbidimetrija je imunokemijska metoda kojom se mjeri koncentracija antigena na temelju apsorpcije (turbidimetrija) zračenja uzrokovanog nastankom kompleksa antigen-antitijelo. Svaki uzorak antigena pomiješa se sa stalnom koncentracijom protutijela u prisutnosti polietilenglikola koji pojačava reakciju vezanja, pomiče točku ekvivalencije prema višim koncentracijama antigena i održava homogenost kompleksa antigen-antitijelo. Nakon inkubacije od 45-75 minuta, svaka se otopina promiješa i mjeri se apsorpcija. Standardna krivulja apsorpcije dobije se mjerenjem poznatih koncentracija antigena. Turbidimetrija je optička metoda koja se zasniva na mjerenju smanjenja intenziteta rasapa zračenja nakon prolaza svjetlosne zrake kroz otopinu s prisutnim česticama. Svaka čestica zajedno s medijem u kojem se nalazi je heterogeni sustav, zbog čega se nakon kontakta s česticama svjetlost rasipa. Ovo zračenje se mjeri pod kutom od 180° u

odnosu na smjer ulazne zrake. Kod primjene turbidimetrijskih mjerenja posebno je važno odrediti područje mjerenja u kojem vrijedi Lambert-Beerov zakon za tvar koja se mjeri, jer je to mjerno područje u kojem je baždarni pravac linearan. Važno je da se analiza otopina standarda, kontrolnih uzoraka, slijepe probe i uzorka seruma obavlja pod istim uvjetima (15).

3.3.4. Statističke metode

Kategorijski podatci su predstavljeni apsolutnim frekvencijama i udjelom. Normalnost raspodjele numeričkih varijabli testirana je Shapiro - Wilkovim testom. Numerički podatci opisani su medijanom i granicama interkvartilnog raspona. Razlike numeričkih varijabli između tri mjerenja testirane su Friedmanovim testom (19). Sve P vrijednosti su dvostrane. Razina značajnosti je postavljena na Alpha = 0,05. Za statističku analizu korišten je statistički program MedCalc Statistical Software version 19.1.7 (MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgium; https://www.medcalc.org; 2020).

4. REZULTATI

Istraživanje je provedeno na 18 bolesnika, od kojih je prema spolu 4 muškarca i 14 žena. Medijan dobi bolesnika je 66 godina, u rasponu od 30 do 82 godine, a medijan dobi, kod postavljanja dijagnoze, 62 godine, u rasponu od 23 do najviše 82 godine. S obzirom na dijagnozu, 9/18 bolesnika ima granulomatozu s poliangiitisom (GPA) (*Tablica 4*).

Tablica 4. Osnovna obilježja bolesnika

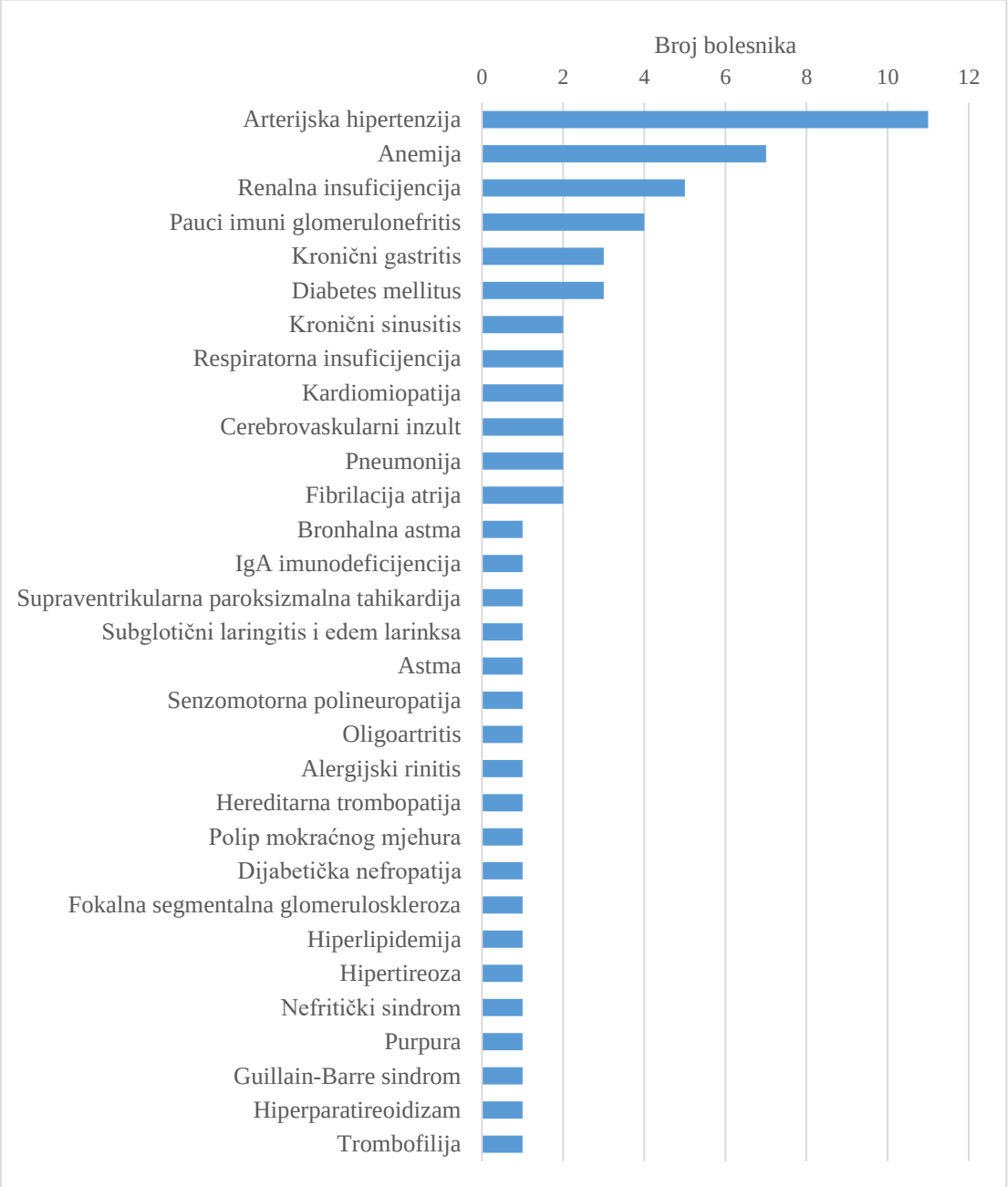
Spol	
Muškarci	4/18
Žene	14/18
Dob (godine) [Medijan (interkvartilni raspon)]	66 (50 – 72)
Dob kod postavljanja dijagnoze (godine) [Medijan (interkvartilni raspon)]	62 (48 – 72)
Dijagnoza	
Granulomatoza s poliangiitisom (GPA)	9/18
Mikroskopski poliangiitis (MPA)	4/18
Eozinofilna granulomatoza s poliangiitisom (EGPA)	5/18

Zahvaćenost pluća i bubrega je imalo 11/18 bolesnika, dok gornji respiracijski sustav ima zahvaćeno 9/18 bolesnika, a paranazalne šupljine (PNŠ) njih 5/18 (*Tablica 5*).

Tablica 5. Bolesnici prema zahvaćenosti sustava

Zahvaćenost sustava	
Pluća	11/18
Bubrezi	11/18
Gornji respiracijski sustav	9/18
PNŠ	5/18

Najučestaliji komorbiditet je arterijska hipertenzija kod 11/18 bolesnika, anemija kod 7/18 bolesnika, renalna insuficijencija kod njih 5/18, dok su ostali komorbiditeti zastupljeni kod manjeg broja bolesnika (*Slika 1*).



Slika 1. Raspodjela bolesnika prema komorbiditetima

S obzirom na imunosupresivnu terapiju, najzastupljeniji je *metilprednizolon* koji se primjenjuje kod 10/18 bolesnika, *azatioprin* i *ciklofosfamid* koji se primjenjuju kod 6/18 bolesnika, a kod njih 4/18 *prednizon* (*Tablica 6*).

Tablica 6. Raspodjela bolesnika prema imunosupresivnoj terapiji

Terapija	
azatioprin	6/18
metilprednizolon	10/18
prednizon	4/18
rituksimab	1/18
ciklofosfamid	6/18
metotreksat	1/18
mikofenolat mofetil	1/18
tocilizumab	1/18

Značajno su niže vrijednosti antitijela na MPO (pANCA) (Friedmanov test, P = 0,02), antitijela na PR-3 (cANCA) (Friedmanov test, P = 0,001), sedimenatacije eritrocita (Friedmanov test, P = 0,03), i C-reaktivnog proteina (Friedmanov test, P = 0,002), nakon godine dana od postavljanja dijagnoze (*Tablica 7*).

Tablica 7. Vrijednosti antitijela na MPO, PR-3, sedimentacije eritrocita i C-reaktivnog proteina kod postavljanja dijagnoze, nakon 3 – 6 mjeseci i nakon godine dana

	Medijan (interkvartilni raspon)			P*
	Kod postavljanja dijagnoze	Nakon 3 – 6 mjeseci	Nakon 12 mjeseci	
pANCA [AU/ml]	2 (0 - 82,5)	1 (0 - 46,5)	0 (0 - 4,5)	**0,02**
cANCA [AU/ml]	7 (0,5 - 303)	2 (0 - 105,5)	0 (0 - 54,5)	**0,001**
Sedimentacija [mm/3,6ks]	43,5 (28,5 - 61)	25 (17,5 - 39)	20 (7 - 30,5)	**0,03**
C-reaktivni protein (CRP) [mg/L]	21,7 (12,6 - 53,9)	7,3 (3,1 - 12,7)	7,95 (5,3 - 15,6)	**0,002**

*Friedmanov test

S obzirom na referentne vrijednosti, pANCA je negativan kod postavljanja dijagnoze kod 11/18 bolesnika, a kod njih 6/18 je pozitivan (> 25), da bi nakon godine dana bilo 11/18 negativnih i 2/18 pozitivna.

Antitijela na PR-3 (cANCA) su negativna kod postavljanja dijagnoze kod 9/18 bolesnika, a njih 8/18 imaju pozitivan nalaz, nakon 3 – 6 mjeseci bilo je 11/18 pozitivnih i 6/18 negativnih nalaza, da bi nakon godine dana imali 9/18 negativnih i 4/18 pozitivna nalaza.

Vrijednosti sedimentacije kod postavljanja dijagnoze bile su povišene kod 12/18 bolesnika, nakon 3 – 6 mjeseci kod 5/18, a nakon godine dana više vrijednosti sedimentacije bilježe se samo kod 2/18 bolesnika.

C-reaktivni protein je prilikom postavljanja dijagnoze povišen kod 15/18 bolesnika, nakon 3 – 6 mjeseci kod njih 5/18, dok povišene vrijednosti CRP-a nakon godine dana imaju 2/18 bolesnika.

S obzirom na ishod liječenja, tijekom promatranog razdoblja, 2/18 bolesnika su umrla, kod 9/18 je nastupila remisija bolesti, stabilnu bolest ima 4/18 bolesnika, dok je kod 3/18 bolesnika došlo do relapsa bolesti.

5. RASPRAVA

Rezultati istraživanja pokazuju da se ANCA vaskulitisi češće javljaju kod žena nego kod muškaraca što odgovara češćoj pojavnosti autoimunih bolesti kod žena (20). Dob kod postavljanja dijagnoze kreće se u rasponu od 23 do 82 godine. Prema tome, uočljivo je da dijagnoza ANCA vaskulitisa u istraživanoj populaciji nije isključivo vezana uz srednju životnu dob, premda se najčešće postavljala kod bolesnika te životne dobi. Kada je riječ o pojedinom entitetu ANCA vaskulitisa, među ispitivanim bolesnicima najzastupljenija je granulomatoza s poliangiitisom. S obzirom na zahvaćenost organskih sustava bolešću, ANCA vaskulitisi najčešće pogađaju bubrege i pluća. Od komorbiditeta, najzastupljenija je arterijska hipertenzija, a slijede je anemija i renalna insuficijencija. Najviše bolesnika je na glukokortikoidnoj terapiji metilprednizolonom, a manji dio prednizonom. Nakon uvodne terapije ciklofosfamidom nastavljena je terapija održavanja primjenom azatioprina, dok su tek pojedini bolesnici na biološkoj terapiji rituksimabom ili tocilizumabom. Azatioprinu je dana prednost nad metotreksatom kada je riječ o imunosupresivnoj terapiji. Mikofenolat mofetil korišten je kao terapija održavanja u pacijentice nakon postizanja remisije primjenom rituksimaba.

U svrhu praćenja aktivnosti bolesti mjerene su vrijednosti protutijela na MPO (pANCA), protutijela na PR-3 (cANCA), sedimentacije eritrocita i C-reaktivnog proteina kod postavljanja dijagnoze, 3 −6 mjeseci i 12 mjeseci od postavljanja dijagnoze. Statističkom analizom podataka uočen je pad vrijednosti praćenih pokazatelja što upućuje na povoljan učinak liječenja. Statistički su značajno niže vrijednosti antitijela na MPO (pANCA), antitijela na PR-3 (cANCA), sedimentacije eritrocita i C-reaktivnog proteina godinu dana od postavljanja dijagnoze. S obzirom na ishod liječenja, polovina ispitivanih bolesnika imala je remisiju bolesti što govori o učinkovitosti pravilno određene terapije u liječenju ANCA vaskulitisa. Dvoje bolesnika preminulo je uslijed pogoršanja općega stanja, a četvero bolesnika imalo je stabilnu bolest praćenu pozitivnim nalazom ANCA protutijela. Kod troje bolesnika, godinu dana od postavljanja dijagnoze, došlo je do relapsa bolesti, iako je kod ranijega mjerenja nalaz ANCA protutijela bio negativan.

Ograničenje ovog istraživanja je relativno manji broj bolesnika s potvrđenom dijagnozom ANCA vaskulitisa. Nadalje, kako su tek od 2016. godine nalazi bolesnika elektronski dostupni u Bolničkom informacijskom sustavu (BIS), dodatni izazov je predstavljalo prikupljanje podataka o bolesnicima s ANCA vaskulitisom prije 2016. godine.

Podatci pojedinih bolesnika bili su nepotpuni zbog određivanja jednoga od upalnih parametara (SE ili CRP-a) na kontrolnim pregledima ili nepoznatoga nalaza ANCA protutijela u slučaju bolesnika koji su došli na liječenje u KBC Osijek s prethodno postavljenom dijagnozom bolesti u drugoj zdravstvenoj ustanovi.

Dijagnostička važnost serijskog mjerenja ANCA protutijela u svrhu predviđanja relapsa ANCA vaskulitisa, ispitivana je neposredno nakon otkrića ANCA protutijela u brojnim istraživanjima. Unatoč tome, još uvijek je aktualna rasprava o ulozi povećanja titra ANCA protutijela u predviđanju relapsa bolesti. Ako je doista porast razine ANCA protutijela praćen relapsom, to saznanje moglo bi koristiti u preventivnom liječenju bolesnika u vrijeme povećanog titra protutijela, kako bi se izbjegao relaps. Međutim, prednosti preventivnog liječenja trebaju biti uravnotežene s nepotrebnom izloženošću bolesnika imunosupresivnoj terapiji i nuspojavama povezanim s liječenjem (21).

Istraživanje Fussnerove i suradnika nudi kritički osvrt na odnos povećanja razine PR3-ANCA i relapsa ANCA vaskulitisa (22). Oni opisuju sveobuhvatnu analizu serijskih mjerenja ANCA protutijela kod bolesnika s ANCA vaskulitisima koji su prospektivno praćeni nakon liječenja rituksimabom ili ciklofosfamidom i azatioprinom unutar RAVE (engl. Rituximab in ANCA-Associated Vasculitis) istraživanja. Istraživanje Fussnerove i suradnika sadrži detaljnu analizu promjena titra ANCA protutijela s obzirom na fenotipove bolesti, vrstu izvođenoga testa i vrstu indukcijske terapije. Autori su otkrili da porast titra PR3-ANCA nije dovoljno osjetljiv niti specifičan prediktor relapsa, što je u skladu s ranijim publikacijama iz ovoga područja. Međutim, porast razine PR3-ANCA zabilježen direktnim ELISA testom, povezan je s teškim relapsima, osobito kod bolesnika s bubrežnim zahvaćanjem bolesti i alveolarnim krvarenjem. Zanimljivo je da ta povezanost nije uočena kod bolesnika s fenotipom granulomatoze. To potvrđuje stajalište da PR3-ANCA pretežno utječu na razvoj kapilaritisa, a ne granulomatozne upale, što je dokazano istraživanjima na miševima. Zaključno, ova opažanja daju na važnosti mogućnosti da je serijsko mjerenje PR3-ANCA korisno u predviđanju teških relapsa kod bolesnika s manifestacijama bolesti uzrokovanih kapilaritisom, kao što su bubrežno zahvaćanje i alveolarno krvarenje. Iako je odnos između promjene razine ANCA protutijela i relapsa bolesti intenzivno proučavan, još uvijek postoji potreba za preciznijom metodologijom serijskoga mjerenja ANCA protutijela. Prvo, zasad nije utvrđeno koju metodu treba koristiti za serijska mjerenja ANCA protutijela. Fussnerova i suradnici svojim su istraživanjem pokazali da je porast razine ANCA protutijela izmjeren sendvič-ELISA testom, manje pouzdan prediktor relapsa u usporedbi s razinom protutijela izmjerenom direktnim ELISA testom. Drugo,

nepoznato je koliko često treba mjeriti razinu ANCA protutijela. Poznato je da veća učestalost mjerenja ANCA protutijela, povećava korisnost serijskih mjerenja s obzirom da je moguće propustiti porast razine protutijela u slučaju rijetko izvođenih mjerenja (primjerice dva puta godišnje). Ipak, treba napomenuti da učestalo mjerenje razine protutijela može biti nepraktično, kao i financijski neodrživo. Treće, još nije razjašnjeno na koji način prikazati porast razine protutijela. Karakteristična krivulja prijemnika (engl. *Receiver operating characteristic*, ROC krivulja) često se koristi za utvrđivanje granične vrijednosti rasta razine protutijela. U suprotnom, koristi se fiksno povećanje (npr. dvostruki ili četverostruki porast). Prvi način prikaza, definira rast razine protutijela s većom osjetljivošću i specifičnošću, dok je drugi način prikaza pragmatičniji u kliničkoj praksi. Često se porast razine ANCA protutijela definira kao relativno povećanje u odnosu na prethodne uzorke mjerenja (npr. udvostručenje vrijednosti ANCA protutijela). Budući da vrijeme između mjerenja uzoraka ANCA protutijela može varirati, ova metoda prikaza možda nije optimalna u kliničkoj praksi. Na kraju, prethodna istraživanja nisu uzela u obzir hoće li vrijednosti titra protutijela nastaviti rasti nakon što je zabilježen porast razine protutijela. Izgledno je da će bolesnik imati manju vjerojatnost pojave relapsa, ako se vrijednosti razine protutijela smanje nakon što je prethodno zabilježen porast (21).

Uloga serijskoga mjerenja ANCA protutijela u određivanju liječenja tijekom remisije ostaje sporna. Dosadašnja istraživanja pokazala su da su bolesnici kod kojih ANCA protutijela ostaju prisutna ili njihova vrijednost raste više od četiri puta, izloženi većem riziku od relapsa bolesti. Preporučeno je provoditi češće strukturirane kliničke procjene, a ne mijenjati terapiju isključivo na temelju određivanja ANCA protutijela. Rani prekid terapije (< 1 god.) povezan je s povećanim rizikom od relapsa bolesti. Općenito se savjetuje da se terapija održavanja nastavi najmanje 18 − 24 mjeseca od remisije, prije nego što se postupno ukine. Također, prvo treba započeti sa smanjenjem terapije glukokortikoidima, potom imunosupresivne terapije. Rizik od relapsa veći je kod bolesnika s pozitivnim PR-3 ANCA protutijelima kod postavljanja dijagnoze, kao i kod onih koji imaju pozitivan nalaz ovih protutijela prilikom prekida indukcijske i početka imunosupresivne terapije održavanja (23).

S obzirom da vrijeme potrebno za odgovor organizma na pojedini ciklus terapije rituksimabom varira među bolesnicima, predviđanje relapsa ostaje izazov u liječenju ANCA vaskulitisa. Da bi se riješio ovaj problem, mogu se pratiti razine cirkulirajućih limfocita B i ANCA protutijela u redovitim intervalima nakon liječenja rituksimabom. Važno je naglasiti da sama rekonstitucija limfocita B ne može predvidjeti relaps, iako je rizik od relapsa nizak u

slučaju kada se limfociti B i ANCA protutijela ne detektiraju. U budućnosti, određivanje razina limfocita B i ANCA protutijela, moglo bi postati dominantni čimbenik vođenja terapije održavanja, primjerice u slučaju ponavljanja infuzija rituksimaba (21). Ovo je stajalište istraživano u MAINRITSAN2 randomiziranom kontroliranom pokusu. Svrha je bila procijeniti, je li individualna terapija rituksimabom temeljena na porastu razine limfocita B ili ANCA protutijela, bolja u prevenciji relapsa i s minimalnim nuspojavama, u usporedbi s fiksnim intervalima doziranja. Stope relapsa ANCA vaskulitisa nisu se značajno razlikovale između bolesnika na individualnoj terapiji i onih s fiksnim režimom liječenja rituksimabom (24). Da bi se uveli novi biomarkeri, potrebne su dodatne informacije o fenotipu limfocita B, dodatna testiranja autoantitijela, kao i informacije o osobinama protutijela poput epitopne specifičnosti, avidnosti i razine sijalinizacije.

6. ZAKLJUČAK

Temeljem provedenoga istraživanja mogu se iznijeti sljedeći zaključci:

1. Statistički su značajno niže vrijednosti antitijela na MPO (pANCA), antitijela na PR-3 (cANCA), sedimentacije eritrocita i C-reaktivnog proteina godinu dana od postavljanja dijagnoze i početka liječenja.
2. S obzirom na ishod liječenja, polovina ispitivanih bolesnika imala je remisiju bolesti što govori o učinkovitosti pravilno određene terapije u liječenju ANCA vaskulitisa. Dvoje bolesnika preminulo je uslijed pogoršanja općega stanja, a četvero bolesnika imalo je stabilnu bolest praćenu pozitivnim nalazom ANCA protutijela. Kod troje bolesnika, godinu dana od postavljanja dijagnoze, došlo je do relapsa bolesti, iako je kod ranijega mjerenja nalaz ANCA protutijela bio negativan.
3. Porast titra ANCA protutijela nije dovoljno osjetljiv niti specifičan prediktor relapsa. Međutim, serijsko mjerenje PR3-ANCA moglo bi biti korisno u predviđanju teških relapsa kod bolesnika s manifestacijama bolesti uzrokovanih kapilaritisom, kao što su bubrežno zahvaćanje i alveolarno krvarenje. Preporučeno je provoditi češće strukturirane kliničke procjene, a ne mijenjati terapiju isključivo na temelju određivanja ANCA protutijela.

7. SAŽETAK

Cilj istraživanja:

Cilj je ispitati povezanost razine ANCA protutijela s aktivnošću i prognozom ANCA vaskulitisa te odrediti značenje ANCA protutijela kao potencijalnih biomarkera u praćenju aktivnosti bolesti i izbora odgovarajućeg liječenja ANCA vaskulitisa.

Ustroj studije:

Presječno istraživanje s povijesnim podatcima.

Ispitanici i metode:

U studiju su uključeni pacijenti Zavoda za reumatologiju, kliničku imunologiju i alergologiju KBC-a Osijek s dijagnozom ANCA vaskulitisa u periodu od 31. 12. 2009. do 31. 12. 2019. godine.

Vrijednosti pANCA i cANCA protutijela određene su multipleks tehnologijom na uređaju Luminex®. Brzina sedimentacije eritrocita izmjerena je na automatskom uređaju iSED Alcor Scientific, a vrijednosti CRP-a određene su primjenom automatskog analizatora Beckman Coulter AU680. Provedena je deskriptivna statistička analiza podataka.

Rezultati:

Među ispitivanim bolesnicima najzastupljenija je dijagnoza granulomatoze s poliangiitisom, a bolešću su najčešće zahvaćeni bubrezi i pluća. Najučestaliji komorbiditeti su arterijska hipertenzija, anemija i renalna insuficijencija. S obzirom na terapiju, najzastupljeniji su glukokortikoidi, slijede azatioprin i ciklofosfamid. Značajno su niže vrijednosti pANCA i cANCA protutijela, sedimenatacije eritrocita i C-reaktivnog proteina godinu dana od postavljanja dijagnoze. S obzirom na ishod liječenja, 2/18 bolesnika su umrla, kod 9/18 je nastupila remisija bolesti, stabilnu bolest ima 4/18 bolesnika, dok je kod 3/18 bolesnika došlo do relapsa bolesti.

Zaključak:

Porast titra ANCA protutijela nije dovoljno osjetljiv niti specifičan prediktor relapsa. Međutim, serijsko mjerenje PR3-ANCA moglo bi biti korisno u predviđanju teških relapsa kod bolesnika s bubrežnim zahvaćanjem bolesti i alveolarnim krvarenjem. Preporučeno je provoditi

češće strukturirane kliničke procjene, a ne mijenjati terapiju isključivo na temelju određivanja ANCA protutijela.

Ključne riječi: ANCA protutijela; biomarkeri; relaps; vaskulitisi

8. SUMMARY

Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies associated vasculitides

Objectives:

The aim of the study is to examine the association of ANCA levels with disease activity and prognosis and to determine the significance of ANCA as potential biomarkers in monitoring disease activity and selecting appropriate ANCA-associated vasculitis treatment.

Study design:

Cross-sectional study with historical data.

Participants and methods:

The study included patients of the Department of Rheumatology, Clinical Immunology and Allergology of the Clinical Hospital Center Osijek with a diagnosis of ANCA-associated vasculitis in the period from 31st December 2009 to 31st December 2019. The values of pANCA and cANCA were determined by multiplex technology on the Luminex® device. The erythrocyte sedimentation rate was measured on the iSED Alcor Scientific automated device and CRP values were determined on the Beckman Coulter AU680 automated analyzer. Descriptive statistical analysis of the gained results was performed.

Results:

Among the examined patients, the most common diagnosis was granulomatosis with polyangiitis and the disease most often affected the kidneys and lungs. The most common comorbidities were arterial hypertension, anemia and renal failure. In terms of therapy, glucocorticoids were the most common, followed by azathioprine and cyclophosphamide. Significantly lower values of pANCA and cANCA, erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein were measured one year after diagnosis. Depending on the treatment outcome, 2/18 patients died, 9/18 patients had remission, 4/18 patients had stable disease and 3/18 patients had relapses.

Conclusion:

The increase in the ANCA titer is not sufficiently sensitive or specific predictor of relapse. However, serial measurement of PR3-ANCA could be useful in predicting severe relapses in patients with renal involvement and alveolar haemorrhage. It is recommended to perform more frequent structured clinical evaluations rather than to change therapy solely based on the ANCA determination.

Keywords: ANCA; biomarkers; relapse; vasculitis

9. LITERATURA

1. Volner Z, Batinić D i sur: Opća medicinska mikrobiologija i imunologija, Školska knjiga, Zagreb, 2005.
2. Andreis I, Batinić D, Čulo F, Grčević D, Lukinović-Škudar V, Marušić M, Taradi M, Višnjić D: Imunologija, Medicinska naklada, Zagreb, 2010.
3. Vrhovac B, Jakšić B, Reiner Ž, Vucelić B: Interna medicina, Naklada Ljevak, Zagreb, 1396-1397, 2008.
4. Anić B. Nova klasifikacija vaskulitisa, Liječ Vjesn. 2014;136 (7-8). pp. 226-228.
5. Geetha D and Jefferson JA. ANCA-Associated Vasculitis Core Curriculum 2020, Am J Kidney Dis. 2020; Jan;75(1):124-137.
6. Morović-Vergles J i sur. Klinička obilježja ANCA vaskulitisa, Liječ Vjesn. 2014;136 (7-8):228-231.
7. Prendecki M, Pusey CD. Recent advances in understanding of the pathogenesis of ANCA-associated vasculitis, F1000Research 2018;7(F1000 Faculty Rev):1113 Last updated: 17 Jul 2019.
8. Xiao H et al. Overview of the Pathogenesis of ANCA-Associated Vasculitis, Kidney Dis. 2015;1:205-215.
9. McKinney Eoin F et al. The immunnopathology of ANCA-associated vasculitis, Semin Immunopathol. 2014;36:461-478.
10. Milas-Ahić J. Nove spoznaje u patogenezi vaskulitisa, Reumatizam. 2019;66 (Suppl 1):9–14.
11. Marušić M i sur: Uvod u znanstveni rad u medicini, 4. izd. udžbenika, Medicinska naklada, Zagreb, 2008.
12. Salamunić I, Martinović Kaliterna D. Laboratorijska dijagnostika ANCA-vaskulitisa, Reumatizam, 2013;60(2).
13. Salamunić I. Laboratorijska dijagnostika autoimunih bolesti - nove tehnologije, stare nedoumice, Biochemia Medica 2010;20(1):45-56.
14. Binder SR. Autoantibody detection using multiplex technologies, Lupus 2006;15(7):412-421.
15. Jagečić D: Sedimentacija eritrocita i C-reaktivni protein analitička osjetljivost i dijagnostička primjena, Završni rad, Split, 2015.

16. Grgurić M: Validacija uređaja za automatsku sedimentaciju eritrocita *iSED ALCOR SCIENTIFIC,* Završni rad, Osijek, 2018.
17. Čičak H: Verifikacija automatskih analizatora Roller 20 PN i iSED za mjerenje brzine sedimentacije eritrocita, Diplomski rad, Zagreb, 2018.
18. Čvorišćec D, Čepelal I: Štrausova medicinska biokemija, Medicinska naklada, Zagreb, 2009.
19. Ivanković D i sur: Osnove statističke analize za medicinare, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, 1988.
20. Bauer K: Autoimunosne bolesti - od patomehanizama do terapije, Diplomski rad, Zagreb, 2015.
21. Koh JH et al. Can an Increase in Antineutrophil Cytoplasmic Autoantibody Titer Predict Relapses in Antineutrophil Cytoplasmic Antibody-Associated Vasculitis, Arthrits & Rheumatology. July 2016;Vol. 68, No. 7, pp 1571-1573.
22. Fussner LA, Schroeder DR, Silva F, Cartin-Ceba R, Snyder MR, i sur. Arthritis Rheumatol. 2016 July;68(7):1700–1710.
23. Yates M and Watts R. ANCA-associated vasculitis, Clinical Medicine, 2017; Vol 17, No 1:60-4.
24. Charles P, Terrier B, Perrodeau E, Cohen P, Faguer S, Huart A, Hamidou M, i sur. Comparison of individually tailored versus fixed-schedule rituximab regimen to maintain ANCA-associated vasculitis remission: results of a multicentre, randomised controlled, phase III trial (MAINRITSAN2), Ann Rheum Dis. 2018;77(8):1143-1149.

10. ŽIVOTOPIS

Osobni podatci

Ime i prezime	Sara Milinović
Datum rođenja	10. studenoga 1996.
Državljanstvo	Hrvatsko
Adresa	Gospe u Siti 54, 21312 Podstrana
Web adresa	sara.milinovic.sm80@gmail.com

Školovanje

2003. - 2011.	Osnovna škola Strožanac - Podstrana
2011. - 2015.	IV. gimnazija „Marko Marulić“ - Split; Opća gimnazija
2015. - 2018.	Odjel zdravstvenih studija Sveučilište u Splitu; Preddiplomski sveučilišni studij Medicinsko laboratorijska dijagnostika
2018. - 2020.	Medicinski fakultet Osijek Sveučilište J. J. Strossmayera; Diplomski sveučilišni studij Medicinsko laboratorijska dijagnostika

Osobne vještine i kompetencije

Strani jezici	Engleski jezik Talijanski jezik
Korištenje računala	Rad u operacijskom sustavu Windows, korištenje Microsoft Office paketa
Vozačka dozvola	B kategorija

Dodatni podatci

Sudjelovanja	Kongres Hrvatske komore zdravstvenih radnika, Strukovnog razreda za medicinsko-laboratorijsku djelatnost s međunarodnim sudjelovanjem (7. - 9. lipnja 2018.)