

PORODIČNA HIPERKOLESTEROLEMIJA
– MISLIMO LI DOVOLJNO O OVOJ TEŠKOJ BOLESTI?

FAMILIAL HYPERCHOLESTEROLEMIA
– DO WE THINK ENOUGH ABOUT THIS SEVERE DISEASE?

IVAN PEĆIN, NEDILJKO ŠUĆUR, ŽELJKO REINER*

Deskriptori: Obiteljska hiperkolesterolemija – genetika, dijagnoza, liječenje, komplikacije; LDL-receptori – genetika; Mutacija; Kardiovaskularne bolesti – etiologija

Sažetak. Porodična hiperkolesterolemija je najčešći genetski metabolički poremećaj koji je povezan sa značajnim pobolom i smrtnosti od kardiovaskularnih bolesti. Glavni uzrok bolesti su mutacije gena za LDL-receptor, molekulu APOB ili enzim PCSK9. Postoji homozigotni oblik bolesti s incidencijom 1:1 000 000 te heterozigotni oblik s 1:500. U kliničkom statusu bolesnika nalazimo ksantome, ksantelazme i *arcus corneae senilis*. U postavljanju dijagnoze pomaže nam iscrpna anamneza (podatak o preboljelim srčanim bolestima te klinički znakovi koronarne bolesti srca, pozitivna obiteljska anamneza o ranoj smrti zbog srca), povišena koncentracija LDL-kolesterola te neka fenotipska obilježja. Konačna pouzdana dijagnoza u bolesnika koji se prema kliničkoj slici i razini LDL-kolesterola uklapaju u definiciju porodične hiperkolesterolemije postavlja se jedino analizom DNK. Pronalazak mutacije otvara mogućnost retrogradnog probira u obitelji s ciljem otkrivanja srodnika koji također nose mutaciju i imaju znatan rizik da preuranjeno obole od koronarne bolesti ili infarkta miokarda pa podlegnu ovoj opasnoj bolesti. Dijeta, statini, kombinirana terapija (statini i ezetimib) prva su linija liječenja, i to uglavnom u visokim dozama. Često ovakav terapijski pristup nije dovoljan pa je uz davanje lijekova potrebno provoditi postupak afereze – mehaničkog uklanjanja LDL-čestica iz krvi. Taj je postupak katkad jedina opcija u bolesnika koji su homozigoti jer je još i sad konzervativniji nego što je to transplantacija jetre. Projektima koji uključuju podizanje svijesti o ovoj bolesti, boljim probirom te omogućavanjem genske analize bolesnika s porodičnom hiperkolesterolemijom postiže se ranija dijagnoza, bolje liječenje te u skladu s time prevencija pobola i smrtnosti od kardiovaskularne bolesti i u svijetu i u Hrvatskoj.

Descriptors: Hyperlipoproteinemia type II – genetics, diagnosis, therapy, complications; Receptors, LDL – genetics; Mutation; Cardiovascular diseases – etiology

Summary. Familial hypercholesterolemia is the most common genetic metabolic disorder and is associated with significant morbidity and mortality from cardiovascular disease, in particular coronary heart disease (CHD). Gene mutations for LDL receptor, APOB or PCSK9 are the main causes of the disease. The incidence of homozygous form of disease is 1:1 000 000 and of heterozygous 1:500. Some of the patients have clinical signs like xanthomas, xanthelasmas and corneal arcus. More predictive for the diagnosis are elevated serum LDL cholesterol values and positive family history of early CHD. Identification of the causative mutation provides definitive diagnosis. Diet, statins, combined therapy (statins and ezetimibe) are the first line of treatment, mostly in high doses. LDL apheresis is the procedure of mechanical removal of LDL particles from plasma and has to be performed in patients with homozygous or severe heterozygous form of the disease together with drug treatment. There is a need to increase the awareness of this disease in Croatia but also worldwide with one main goal: to early diagnose and prevent cardiovascular morbidity and mortality.

Liječ Vjesn 2013;135:145–149

Bolesti kardiovaskularnog sustava (KVB) glavni su uzrok pobola i smrtnosti u Republici Hrvatskoj.¹ Pritom se i dalje uočavaju negativni trendovi na području primarne i sekundarne prevencije.^{2,3} Čimbenici rizika od razvitka KVB dobro su definirani, a neki od njih i promjenjivi.⁴ Naime, ako se rano prepoznaju, može se na njih utjecati (npr. smanjenje prekomjerne tjelesne težine, prestanak pušenja, povećanje svakodnevnih tjelesnih aktivnosti⁵). Ipak, neki od čimbenika rizika u ovom trenutku nisu dostatno promjenjivi, njih ne možemo ili barem ne možemo dovoljno izmijeniti promjenama životnih navika, ali se može puno načiniti ako se takvi bolesnici rano prepoznaju, a zatim i ispravno liječe. U tu se skupinu ubrajaju bolesti osnova kojih su mutacije gena koji imaju važnu ulogu u prometu i metabolizmu lipida. U ovom pregledu posebno se razmatra porodična hiperkolesterolemija (FH – prema engl. *Familial Hypercholesterolemia*) jer

se radi o bolesti koja nikako nije toliko rijetka koliko se to obično misli, a zapravo je često smrtonosna.

Etiologija

Porodična hiperkolesterolemija (FH) bolest je metabolizma lipida koja se nasljeđuje autosomno dominantno. Razlikuje se homozigotni oblik s incidencijom 1:1 000 000 te heterozigotni oblik bolesti s incidencijom 1:500, što ga

* **Zavod za bolesti metabolizma, Klinika za unutarnje bolesti Medicinskog fakulteta, Klinički bolnički centar Zagreb** (mr. sc. Ivan Pećin, dr. med.; Nediljko Šućur, dr. med.; akademik Željko Reiner, dr. med.)

Adresa za dopisivanje: Mr. sc. I. Pećin, dr. med., Zavod za bolesti metabolizma, Klinika za unutarnje bolesti, KBC Zagreb, e-mail: ipecin@kbc-zagreb.hr

Primljeno 21. rujna 2012., prihvaćeno 8. travnja 2013.

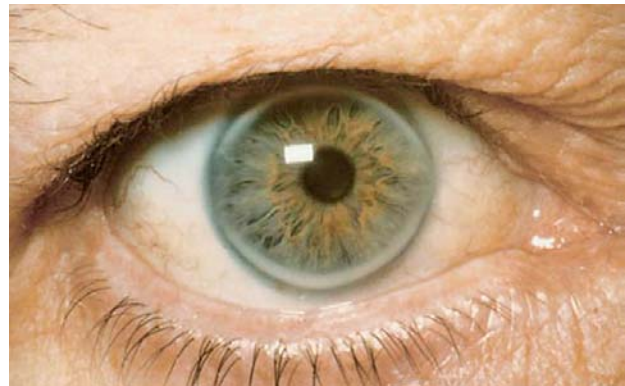


Slika 1. Ksantomi u bolesnika s porodičnom hiperkolesterolemijom
Figure 1. Xanthomata in a patient with familial hypercholesterolemia



Slika 2. Ksantelazme u bolesnika s porodičnom hiperkolesterolemijom
Figure 2. Xanthelasma in a patient with familial hypercholesterolemia
Zahvaljujemo profesoru Stevu Humphriesu iz Centra za kardiovaskularnu dijagnostiku, UCL, London, Ujedinjeno Kraljevstvo, na ustupljenoj slici.
/We thank Professor Steve Humphries from the Centre for Cardiovascular Diagnostics, UCL, London, United Kingdom, for giving us the photo

svrstava među češće nasljedne genske metaboličke poremećaje.⁶ Procjenjujemo da je u Hrvatskoj 8000–9000 bolesnika s ovom bolesti, većina ih je neprepoznata i stoga neliječena te imaju velik rizik od ranog razvitka kardiovaskularnih bolesti i smrti.⁷ Najčešći uzrok bolesti je mutacija na genu za receptor lipoproteina niske gustoće (LDL – *low density lipoprotein*) koji se nalazi na 19. kromosomu i dugačak je 45 kb, a čini ga 17 eksona.⁸ Do sada je, prema registru prijavljenih mutacija pri Centru za kardiovaskularnu genetiku, UCL, London, Ujedinjeno Kraljevstvo, opisano oko 1100 mutacija.⁹ Zbog navedene mutacije dolazi do funkcijske pogreške LDL-receptora zbog čega LDL-čestice bogate kolesterolom ne mogu biti unesene i razgrađene u stanicama, poglavito jetre. Posljedično one se nagomilavaju u krvi te dolazi do povećanja količine ukupnog i LDL-kolesterola.



Slika 3. Arcus corneae u bolesnika s porodičnom hiperkolesterolemijom
Figure 3. Corneal arch in a patient with familial hypercholesterolemia

Zahvaljujemo profesoru Stevu Humphriesu iz Centra za kardiovaskularnu dijagnostiku, UCL, London, Ujedinjeno Kraljevstvo, na ustupljenoj slici.
/We thank Professor Steve Humphries from the Centre for Cardiovascular Diagnostics, UCL, London, United Kingdom, for giving us the photo

Pritom su koncentracije triglicerida u pravilu normalne, a koncentracija kolesterola lipoproteina visoke gustoće (HDL – od engl. *high density lipoprotein*) normalna je ili snižena. Zbog nedostatka kolesterola u stanicama u njima se povećava aktivnost HMG-CoA (3-hidroksi-3-metil-koenzim A) reduktaze, pa je povećana i endogena sinteza kolesterola, poglavito u hepatocitima. Kolesterol kojeg u krvi ima mnogo uzrokuje prerani i intenzivni razvitak ateroskleroze. Odlaganjem estera kolesterola iz LDL-čestica u tkivne makrofage oni se pretvaraju u »pjenaste stanice« te zajedno s kristalima kolesterola nastalim izvan stanica u 50% heterozigota tvore ksantome. Osim mutacija vezanih uz gen za LDL-receptor u 3–4% bolesnika s FH nalazimo mutaciju na genu za apolipoprotein B100 (APOB).¹⁰ U ovoj pogrešci LDL-receptor je intaktan, ali je onemogućeno vezanje LDL-čestica za receptor jer je za to nuždan posrednik, navedeni apolipoprotein. Vrlo rijetko se radi o mutaciji gena za enzim proprotein konvertazu suptilizin/keksin tipa 9 (PCSK9)¹¹ koji sudjeluje u transportu i ponovnom iskorištenju LDL-receptora, što također daje kliničku sliku FH.

Klinička slika

Odlaganje kolesterola iz LDL-a u tkivne makrofage podloga je za fenotipsku ekspresiju bolesti. Pritom nastaju bezbolne potkožne nakupine žute boje koje se nazivaju ksantomima (sl. 1). Ksantomi su najčešće smješteni u području tetiva lakta, dorzuma šake, koljenima i Ahilovoj tetivi. Ksantomi su bitan čimbenik u postavljanju dijagnoze bolesti uz vrlo visoke vrijednosti serumskog LDL-kolesterola (tabl. 1). Budući da su ksantomi prije 40. godine života rijetki, taj kriterij nije koristan pri otkrivanju ove bolesti u djece i mladih. Osim ksantoma, prigodom fizikalnog pregleda bolesnika s FH možemo naći i ksantelazme (sl. 2). Ksantelazme su žučkaste nakupine kolesterola u rahlom tkivu vjeda, najčešće smještene na nazalnim dijelovima vjeda. Ksantelazme međutim nisu patognomonične za ovu bolest. Sljedeći klinički znak može biti *arcus corneae senilis*, bjelkasti prsten uz rub šarenice, koji nastaje odlaganjem kolesterola u rožnicu (sl. 3). U homozigota se katkad takvi klinički znakovi mogu uočiti već prije 20. godine života. U ostala pridružena stanja u homozigota ubraja se poliartritis,

Tablica 1. Kriteriji za postavljanje dijagnoze porodične hiperkolesterolemije. Preuzeto iz Reiner i sur.¹⁶Table 1. Diagnostic criteria for familial hypercholesterolemia. From Reiner et al.¹⁶

	Kriteriji/Criteria	Bodovi/Points
Obiteljska anamneza /Family history	Srodnik iz prvog koljena s KBS* i/ili s LDL-K >95 centile /Next of kin with CHD* and/or LDL-C >95 centile	1
	Srodnik iz prvog koljena s ksantomima u području tetiva i/ili djeca <18 s LDL-K <95 centile /Next of kin with tendon xanthomata and/or children <18 with LDL-C <95 centile	2
Anamneza	Bolesnik ima preuranjenu KBS* /Patient has premature CHD	2
	Bolesnik ima prijevremenu cerebralnu/periferu vaskularnu bolest /Patient has premature cerebral/ peripheral vascular disease	1
Status	Ksantomi u području tetiva /Tendon xanthomata	6
	»Arcus corneae« u mladih od 45 godina /Arcus cornealis in younger than 45 years	4
LDL-K	>8,5 mmol/L (više od ~330 mg/dL) />8.5 mmol/L (over ~330 mg/dL)	8
	6,5–8,4 mmol/L (~250–329 mg/dL)	5
	5,0–6,4 mmol/L (~190–249 mg/dL)	3
	4,0–4,9 mmol/L (~155–189 mg/dL)	1
Sigurno FH /Definitive FH		Bodova >8 /Points >8
Najvjerojatnije FH /Most likely FH		Bodova 6–8 /Points 6–8
Moguća FH /Possible FH		Bodova 3–5 /Points 3–5
Nije FH/Not FH		Bodova <3 /Points <3

* preuranjena KBS ili KVB: muškarci prije 55. godine života; žene prije 60. godine života/premature CHD or CVD: men before age of 55 years; women before age of 60 years

MedPed = Make Early Diagnosis to Prevent Early Deaths

* KBS/CHD – koronarna bolest srca/coronary heart disease; LDL-K/LDL-C – kolesterol »lipoprotein visoke gustoće«/high density lipoprotein cholesterol; FH – porodična hiperkolesterolemija/familial hypercholesterolemia

dok je u heterozigota on rijedak. Bolesnici s FH u pravilu nisu pretili, već, štoviše, češće mršavi te najčešće nemaju ostale čimbenike rizika poput arterijske hipertenzije ili dijabetesa. Iz navedenog je razvidno da je pri postavljanju dijagnoze važan temeljit fizikalni pregled.

Simptomi bolesti očituju se već u djetinjstvu (homozigoti) ili kasnije (heterozigoti) jakim aterosklerotskim promjenama na arterijama. One su najizraženije na aorti i koronarnim arterijama, što se očituje koronarnom bolešću srca (anginom pektoris i/ili infarktom miokarda). Rizik od smrti od koronarne bolesti u tih je bolesnika veći do 100 puta nego u ostalih odraslih osoba.¹² Oko 50% heterozigota za ovu bolest umire prije pedesete godine života od akutnog infarkta miokarda ili ga prebole, dok žene umiru, odnosno prebole infarkt prosječno 10 godina kasnije. Homozigoti imaju izražene aterosklerotske promjene već u dobi od 10 godina

i umiru od infarkta miokarda gotovo redovito prije 20. godine života, gdje već i u ranom djetinjstvu. Konačna dijagnoza FH postavlja se na osnovi iscrpne anamneze (s posebnim naglaskom na podatak o preboljelim srčanim bolestima te simptomima bolesti srca, kao i na podatak o pozitivnoj porodičnoj anamnezi, tj. ranoj smrti zbog srca u bližih srodnika), povišenih vrijednosti LDL-kolesterola te fenotipskih obilježja (ksantomi, ksantelazme, *arcus corneae senilis*) (tabl. 1). Genska analiza (pronalazak mutacije na genu za LDL-receptor, APOB ili PCSK9) znači pouzdanu dijagnozu bolesti, no još bitnije omogućuje promišljanje o retrogradnom probiru u porodici u kojoj je mutacija pronađena, a sve s ciljem ranog otkrivanja srodnika koji također potencijalno nose mutaciju i imaju značajan rizik da podlegnu posljedicama ove opasne bolesti.

Postavljanje dijagnoze bolesti

Dijagnoza se postavlja na osnovi detaljne anamneze, kliničke slike, određivanja ukupnog i LDL-kolesterola u serumu te genskom analizom kojom se dokazuju mutacije gena za LDL-receptor, APOB i PCSK9. U posljednjih nekoliko godina više je dijagnostičkih kriterija predloženo i prihvaćeno, ali u posljednje vrijeme osnova svih je genska analiza za definitivnu potvrdu bolesti.^{13–15} Kriteriji kojima se koristimo u Hrvatskoj prikazani su u tabl. 1.¹⁶ i slijedom njih sumnja na FH mogla bi se postaviti u gotovo svakoj ordinaciji opće/obiteljske medicine. Vodeći europski centar koji se bavi problemom FH nalazi se u Londonu, u Ujedinjenom Kraljevstvu. Radi se o Centru za kardiovaskularnu genetiku koji djeluje pod vodstvom Stevea Humphriesa. Prema podacima iz registra tog Centra do sada je prepoznato više od 1100 mutacija koje dokazano uzrokuju bolest.^{6,9} Analiza DNK radi se uz pomoć *high-resolution melt* (HRM)-aparata. Sam postupak opisan je detaljno prije dvije godine.¹⁷ Podatak koji se dobije analizom uz pomoć HRM-uređaja u grafičkom je obliku i prikazuje krivulje denaturacije DNK-lanaca analiziranog eksona gena (sl. 4). Nakon pronalaska mutacije slijedi sekvencioniranje gena te nakon toga dodatna provjera njegove patogenosti specijalno razvijenim kompjutorskim programima – predikcijskim algoritimima.¹⁸

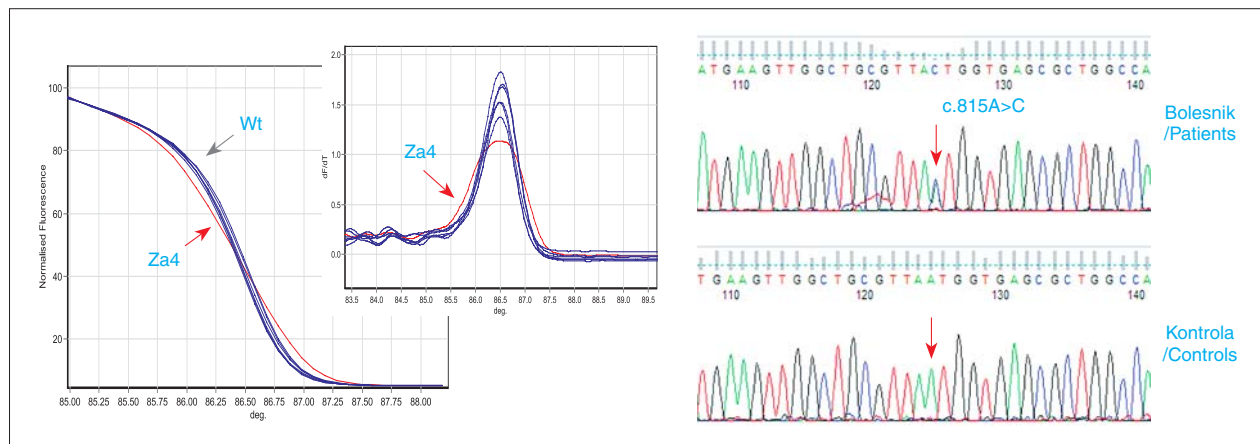
Genska analiza uskoro će biti šire dostupna i u Hrvatskoj. Za sada je moguća zahvaljujući suradnji Zavoda za bolesti metabolizma, Klinike za unutarnje bolesti Medicinskog fakulteta KBC-a Zagreb, glavnog mjesta za dijagnosticiranje i liječenje ove bolesti u nas i Centra za kardiovaskularnu genetiku Sveučilišta u Londonu.

Liječenje

Liječenje bolesnika s FH uključuje dijetu koja je ključna uz nužnu terapiju lijekovima.

Statini su lijek izbora u liječenju FH, posebice noviji i snažniji statini koji su u posljednje vrijeme dostupni na našem tržištu (npr. atorvastatin, rosuvastatin). U bolesnika s FH kojima se LDL-kolesterol ne uspije dovoljno sniziti ni najvišim dozama statina često postoji potreba za kombiniranom terapijom pa se uz statine dodaju ezetimib, fibrati, a rjeđe ionski izmjenjivači.^{19,20}

Novi lijekovi, poput mipomersena, oligonukleidnog inhibitora sinteze apoB-100^{21,22} otvaraju perspektivu boljeg liječenja i kontrole bolesnika s FH. Trenutačni nedostatak mipomersena sigurno je put primjene (supkutane injekcije). Najnoviji lijek za bolesnike s homozigotnim oblikom FH je lomitapid – mikrosomski trigliceridni transferni protein (MTP) koji postoji u obliku tableta.²³ U osoba s homozigotnim oblikom bolesti liječenje se provodi i aferezom LDL-



Slika 4. Grafički prikaz analize na HRM-uređaju (lijevo) te rezultat sekvencioniranja gena za LDL-receptor uz prikaz mutacije (desno gore) i kontrolnoga genotipa bez mutacije (desno dolje).

Figure 4. High-resolution melting curves (on the left) and gene sequencing result showing wild type (wt) and mutation (red arrow).

-čestica koja je katkad indicirana već od najranije životne dobi,²⁴ jer se samo terapijom statinima u tih bolesnika ne postiže dostatan učinak smanjivanja previsokog LDL-kolesterola. Ovom metodom, nalik na dijalizu, iz krvi se uklanjaju LDL-čestice pa time i suvišak kolesterola. Krv bolesnika prolazi kroz određene filtre u aparatu na kojima se zadržavaju LDL-čestice bogate kolesterolom. Navedeni je postupak perspektiva i za neke bolesnike s heterozigotnim oblikom bolesti koji na konvencionalnu terapiju lijekovima ne postignu zadovoljavajući odgovor. Afereza LDL-čestica se u nas rutinski izvodi u Klinici za unutarnje bolesti KBC-a Zagreb.²⁵ Osim afereze LDL-čestica u obzir dolaze i »agresivniji« postupci poput presađivanja jetre te kirurško formiranje portokavalne anastomoze.

Neka nedavna Hrvatska iskustva

Pri Zavodu za bolesti metabolizma, Klinike za unutarnje bolesti, Medicinskog fakulteta i KBC-a Zagreb, koji je i Referentni centar Ministarstva zdravlja za rijetke i metaboličke bolesti djeluje dulji niz godina Ambulanta za poremećaj lipida. U toj se ambulanti prati stotinjak bolesnika s FH. Zahvaljujući stipendiji Međunarodnog društva za aterosklerozu (IAS – *International Atherosclerosis Society*), ali i dosadašnjoj suradnji s Centrom za kardiovaskularnu genetiku pri UCL, London, pokrenut je pilot-projekt genske analize seruma hrvatskih bolesnika s FH. Ukupno se 20 bolesnika odazvalo pozivu na sudjelovanje te im je načinjena genska analiza. Više o samom projektu, njegovim rezultatima može se doznati iz nedavno objavljenog članka u *Annals of Human genetics*.²⁶ Korist ove analize je višestruka. Prvo, potvrđena je definitivna dijagnoza bolesti. Genskom analizom otkrivene su tri nove, dosad neopisane mutacije na LDL-receptoru uz nekoliko poznatih, već opisanih mutacija i polimorfizama.²⁵ Navedeno daje poticaj za daljnji probir s ciljem pronalaska novih bolesnika s FH u općoj populaciji Hrvatske, ali isto tako i u obiteljima bolesnika s FH. S ciljem povećanja svjesnosti o ovoj bolesti tiskan je i letak s osnovnim informacijama o bolesti za liječnike obiteljske medicine, interniste i kardiologe. Sljedeći je korak uvesti metodu pri Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Zagreb kako bismo približili gensku analizu bolesnicima u Hrvatskoj, ali i u jugoistočnom dijelu Europe.

Kao zaključak bismo na pitanje iz naslova ovog članka mogli odgovoriti da na žalost ne mislimo dovoljno o FH, ali

će, nadamo se, ovaj članak potaknuti da više liječnika opće/obiteljske medicine, ali i pedijata, internista, kardiologa, endokrinologa i ostalih obrati na to veću pozornost.

LITERATURA

1. Čorić T, ur. Izvješće o umrlim osobama u Hrvatskoj u 2010. godini. Zagreb: HZZJZ; 2011, str. 1–125.
2. Reiner Ž, Mihatoš S, Miličić D, Bergovec M, Planinc D. Treatment and secondary prevention of ischemic coronary events in Croatia (TASPIC-CRO study). *Eur J Cardiovasc Prev Rehab* 2006;13:646–54.
3. Pećin I, Miličić D, Jurin H, Reiner Ž. A pilot Croatian survey of risk factor (CRO-SURF) management in patients with cardiovascular disease. *Coll Antropol* 2012;36:369–73.
4. Perk J, De Backer G, Gohlke H i sur. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012): The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *Atherosclerosis* 2012;223:1–68.
5. Vanhees L, Geladas N, Hansen D i sur. Importance of characteristics and modalities of physical activity and exercise in the management of cardiovascular health in individuals with cardiovascular risk factors: recommendations from the EACPR (Part II). *Eur J Prev Cardiol* 2012; 19:1005–33.
6. Usifo E, Whittall R, Lench N i sur. Low-Density Lipoprotein Receptor Gene Familial Hypercholesterolemia Variant Database: Update and Pathological Assessment. *Ann Hum Genet* 2012;76:387–401.
7. Reiner Ž. Genetics of serum lipoprotein disorders. *Paediatr Croat* 2005; 49:10–15.
8. Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* 1986;232:34–47.
9. Leigh SE, Foster AH, Whittall RA, Hubbart CS, Humphries SE. Update and analysis of the University College London low density lipoprotein receptor familial hypercholesterolemia database. *Ann Hum Genet* 2008;72:485–98.
10. Humphries SE, Talmud PJ. Hyperlipidaemia associated with genetic variation in the apolipoprotein B gene. *Curr Opin Lipidol* 1995;6: 215–22.
11. Abifadel M, Varret M, Rabès JP i sur. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nat Genet* 2003;34:154–6.
12. Marks D, Thorogood M, Neil HA, Humphries SE. A review on the diagnosis, natural history, and treatment of familial hypercholesterolaemia. *Atherosclerosis* 2003;168(1):1–14.
13. Goldberg AC, Hopkins PN, Toth PP i sur. Familial hypercholesterolemia: screening, diagnosis and management of pediatric and adult patients: clinical guidance from the National Lipid Association Expert Panel on Familial Hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol* 2011;5:S1–8.
14. Wierzbicki AS, Humphries SE, Minhas R. Familial hypercholesterolaemia: summary of NICE guidance. *Br Med J* 2008;337:a1095.
15. Descamps OS, Tenoutasse S, Stephenne X i sur. Management of familial hypercholesterolemia in children and young adults: consensus paper developed by a panel of lipidologists, cardiologists, paediatricians, nutritionists, gastroenterologists, general practitioners and a patient organization. *Atherosclerosis* 2011;218:272–80.

16. Reiner Ž, Catapano AL, De Backer G i sur. ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: the Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS). Eur Heart J 2011;32:1769–818.
17. Whittall RA, Scartezini M, Li K i sur. Development of a high-resolution melting method for mutation detection in familial hypercholesterolemia patients. Ann Clin Biochem 2010;47:44–55.
18. Schwarz JM, Rödelberger C, Schuelke M, Seelow D. MutationTaster evaluates disease-causing potential of sequence alterations. Nat Methods 2010;7:575–6.
19. Raal FJ, Santos RD. Homozygous familial hypercholesterolemia: Current perspectives on diagnosis and treatment. Atherosclerosis 2012;223:262–8.
20. Raper A, Kolansky DM, Cuchel M. Treatment of familial hypercholesterolemia: is there a need beyond statin therapy? Curr Atheroscler Rep 2012;14:11–6.
21. Parhofer KG. Mipomersen: evidence-based review of its potential in the treatment of homozygous and severe heterozygous familial hypercholesterolemia. Core Evid 2012;7:29–38.
22. Haddley K. Mipomersen sodium: a new option for the treatment of familial hypercholesterolemia. Drugs Today (Barc) 2011;47:891–901.
23. Cuchel M, Meagher EA, du Toit Theron H i sur. Efficacy and safety of a microsomal triglyceride transfer protein inhibitor in patients with homozygous familial hypercholesterolemia: a single-arm, open-label, phase 3 study. Lancet 2013;381(9860):40–46.
24. Dumić M, Uroić AS, Francetić I i sur. Trogodišnji dječak – homozigot za porodičnu hiperkolesterolemiju. Liječ Vjesn 2007;129:130–3.
25. Kes P, Reiner Ž. Extracorporeal treatment for refractory hyperlipidemia. Acta Med Croat 1999;53:83–92.
26. Pećin I, Whittall RA, Futema M i sur. Mutation detection in Croatian patients with Familial Hypercholesterolemia. Ann Hum Genet 2012;77(1):22–30.



Vijesti

News

AKADEMIJA MEDICINSKIH ZNANOSTI HRVATSKE

raspisuje

NATJEČAJ za dodjelu nagrada

– Nagrada »Ante Šercer«

- autoru iz Hrvatske za najbolji znanstveni rad objavljen u 2012. godini

– Nagrada »Borislav Nakić«

- autoru iz Hrvatske mlađem od 35 godina za najbolji znanstveni rad objavljen u 2012. godini

Kandidati mogu predlagati:

1. Kolegiji AMZH
2. Glavni odbor AMZH
3. Znanstveno-nastavna vijeća zdravstvenih fakulteta
4. Hrvatski liječnički zbor i njegova strukovna društva

Prijedlozi trebaju sadržavati:

- životopis kandidata
- publikaciju koja se predlaže za nagradu
- temeljito obrazloženje i prijedlog za jednu od navedenih nagrada

Prijedloge s kompletnom dokumentacijom *u tri primjerka* šaljite na adresu:

**Akademija medicinskih znanosti Hrvatske
– Odboru za nagrade i priznanja AMZH
Praška 2/III, 10000 Zagreb**

Natječajni rok traje od 15. travnja do 1. srpnja 2013.

Sve obavijesti možete dobiti: u tajništvu AMZH, tel. 01/4640 586 ili 4828 662, fax 01/4828 038, e-mail; amzh@zg.t-com.hr ili office@amzh.hr
www.amzh.hr

TRANSPLANTACIJA KRVOTVORNIH MATIČNIH STANICA U LIJEČENJU AUTOIMUNOSNIH BOLESTI

HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION IN TREATMENT OF AUTOIMMUNE DISEASES

LOVRO LAMOT, MANDICA VIDOVIĆ, LANA TAMBIĆ BUKOVAC,
RENATA ŽUNEC, MIROSLAV HARJAČEK*

Deskriptori: Autoimune bolesti – liječenje; Transplantacija krvotvornih matičnih stanica – metode; Transplantacija mezenhimalnih matičnih stanica – metode; Autologna transplantacija; Homologna transplantacija

Sažetak. Transplantacija krvotvornih matičnih stanica (TKMS) postala je učinkovita terapijska mogućnost za liječenje teških oblika autoimunskih bolesti (AB). Krvotvorne matične stanice mogu se skupiti od samog bolesnika (autologno), jednojajčanog blizanca (singeno) te HLA-identičnog davatelja (alogeno). Alogenom transplantacijom mijenjaju se autoagresivne efektorne stanice imunskog sustava bolesnika s neautoagresivnim stanicama davatelja, no ovaj oblik transplantacije manje je privlačan zbog moguće reakcije presatka protiv primatelja (GVHD, engl. *graft-versus-host disease*). S druge strane, autologna transplantacija dovodi do »resetiranja« imunskog sata i ne uzrokuje GVHD, no zahtijeva prethodno kondicioniranje. Kao alternativa ovim oblicima liječenja razvila se i transplantacija mezenhimalnih matičnih stanica (MMS) koje imaju znatan imunosupresivni učinak, ne zahtijevaju prethodno kondicioniranje i ne dovode do GVHD-a. Ipak, s obzirom na još i sad velik postotak smrtnih ishoda povezanih s liječenjem (TRM, engl. *treatment related mortality*), transplantaciju matičnih stanica treba sačuvati za bolesnike s najtežim oblicima AB-a, kojima se ovakvim načinom liječenja pruža čak i mogućnost potpunog izlječenja.

Descriptors: Autoimmune diseases – therapy; Hematopoietic stem cell transplantation – methods; Mesenchymal stem cell transplantation – methods; Transplantation, autologous; Transplantation, homologous

Summary. Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) has become an effective therapeutic option for the treatment of severe cases of autoimmune diseases (AD). Hematopoietic stem cells (HSC) can be collected from the patient (autologous), identical twin (syngenic) or HLA identical donor (allogeneous). In allogeneous transplantation autoaggressive immunological effector cells are substituted with non-autoaggressive cells of the donor. Possible graft versus host reaction (GVHD) makes this type of transplantation less attractive. On the other hand, autologous transplantation can induce the »resetting« of immunological clock without any fear of GVHD, but it requires previous conditioning. As an alternative option, transplantation of mesenchymal stem cells (MSS) was developed. MSS has a strong immunosuppressive effect, while it doesn't require previous conditioning, nor does it induce GVHD. Due to the treatment related mortality, these therapeutic option should remain reserved for the most severe cases of AD. Nevertheless, they present a great opportunity for these patients, and even a chance for full recovery.

Liječ Vjesn 2013;135:150–155

Transplantacija krvotvornih matičnih stanica (TKMS) rabi se za liječenje bolesnika s različitim oblicima leukemije od ranih sedamdesetih godina prošlog stoljeća.¹ Liječnicima nije trebalo dugo da primijete kako je TKMS kod mnogih bolesnika liječenih zbog maligne bolesti koji su imali i popratnu autoimunsku bolest (AB) dovelo do remisije simptoma AB-a.²⁻⁴ Slične rezultate pokazala su i istraživanja na životinjama.⁵⁻⁷ Stoga ne čudi što je TKMS u proteklih petnaestak godina napredovalo od eksperimentalnog koncepta do učinkovite terapijske opcije za liječenje teških slučajeva AB-a. U tom razdoblju više od 1500 bolesnika diljem svijeta bilo je podvrgnuto ovom terapijskom postupku. Većina bolesnika bolovala je od multiple skleroze (MS), sistemske skleroze (SSc), sistemskog eritemskog lupusa (SLE), reumatoidnog artritisa (RA) ili juvenilnog idiopatskog artritisa (JIA).⁸

Krvotvorne matične stanice (KMS) progenitorne su stanice trombocita, eritrocita, granulocita, B i T limfocita, monocita, tkivnih makrofaga i dendritičkih stanica. Istraživanja

na životinjama pokazala su da KMS ima važnu ulogu u patogenezi AB-a, zbog čega se pretpostavilo da bi se u njima mogla skrivati pogreška koja dovodi do povećane sklonosti razvoju AB-a te da bi TKMS mogao biti učinkovit način liječenja AB-a.⁹⁻¹¹ TKMS je kompleksan postupak koji se sastoji od pokretanja i skupljanja KMS-a iz krvi ili koštane srži, imunoablativne terapije te injiciranja KMS-a. KMS se mogu skupiti od samog bolesnika (autologno), jednojajčanog blizanca (singeno) te srodnog ili nesrodnog HLA-identičnog davatelja (alogeno). Cilj je alogenog TKMS-a zamje-

* **Katedra za pedijatriju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu; Dječja bolnica Srebrnjak** (Lovro Lamot, dr. med.), **Dječja bolnica Srebrnjak** (Mandica Vidović, dr. med.; prim. mr. sc. Lana Tambić Bukovac, dr. med.; prof. dr. sc. Miroslav Harjaček, dr. med.), **Zavod za tipizaciju tkiva, Klinički bolnički centar Zagreb** (doc. dr. sc. Renata Žunec, dipl. ing.)

Adresa za dopisivanje: Dr. L. Lamot, Dječja bolnica Srebrnjak, Odjel za reumatologiju, Srebrnjak 100, 10000 Zagreb

Primljeno 23. siječnja 2013., prihvaćeno 26. travnja 2013.

na autoagresivnih efektornih stanica imunskog sustava bolesnika s neautoagresivnim stanicama davatelja, kako bi se potakla tolerancija i trajna remisija AB-a. S druge strane, alogena transplantacija može dovesti do reakcije presatka protiv primatelja (GVHD, engl. *graft versus host disease*), što je potencijalno vrlo teška i za život opasna komplikacija, zbog čega je ovaj oblik transplantacije manje privlačan za liječenje AB-a. Opažanje da transplantacija singenih (engl. *syngenic*; genski identičnih) KMS djeluje u eksperimentalnim modelima AB, dovelo je do mišljenja da bi i autologna transplantacija KMS mogla biti učinkovita za liječenje AB-a.¹¹ Takav oblik transplantacije ima manje komplikacija, i to uglavnom zbog izostanka GVHD-a. No, mnogi znanstvenici i kliničari smatrali su da autologna transplantacija nema budućnosti, navodeći da se bolesnicima presađuje isti »autoagresivni« imunوسي sustav. Ipak, nedavno provedena istraživanja pokazala su da imunoablativna terapija i autologna transplantacija hematopoetskih matičnih stanica rezultiraju ne samo supresijom i/ili eradikacijom autoagresivnih limfocita već i indukcijom regulatornih limfocita T (Treg), zbog čega se »resetira« imunوسي sat.¹¹

TKMS počinje mobilizacijom matičnih stanica iz koštane srži ili periferne krvi, za što se obično rabi G-CSF i ciklofosfamid. Matične stanice prikupljaju se plazmaferezom prilikom čega se odabiru stanice s pozitivnim CD34-biljekom. Tada slijedi imunoablativno kondicioniranje bolesnika, postupak kojim se suprimiraju i/ili uništavaju stanice imunskog sustava. Ovisno o dozama kemoterapije i radioterapije, koje se pri tomu rabe, kondicioniranje može biti nemijeloablativno i mijeloablativno: ciklofosfamid s antitumocitnim globulinom (ATG) ili bez njega smatra se nemijeloablativnim, a kombinacija ciklofosfamida sa zračenjem cijelog tijela (TBI, engl. *total body irradiation*) ili busulfanom smatra se mijeloablativnim kondicioniranjem. Uporaba klasičnih mijeloablativnih postupaka busulfanom i TBI manje je privlačna u liječenju AB-a zbog visoke smrtnosti povezane s liječenjem (TRM, engl. *treatment related mortality*). Ponovno injiciranje KMS-a nakon kondicioniranja služi uglavnom skraćivanju vremena aplazije i smanjenju rizika od krvarenja i infekcije, no postoje i dokazi da transplantirani presadak sam po sebi može imati imunomodulatorni učinak.¹²

Autologna transplantacija krvotvornih matičnih stanica

Kod autolognog TKMS-a primjena visokih doza ciklofosfamida, ATG i/ili TBI briše većinu autoreaktivnih efektornih stanica domaćina. Obuhvaćene su stanice nespecifične i specifične imunosti, uključujući B i T-limfocite, monocite, NK-stanice i dendritičke stanice. Takva intenzivna imunosupresija smatra se najvažnijim učinkom koju TKMS ima u liječenju AB-a, barem kratkoročno. Infuzija autolognih KMS-a služi za skraćivanje vremena aplazije, no vjerojatno nije potrebna za direktni antiautoimunosni učinak.¹³ Istraživanja na životinjama pokazala su da se bolji učinak postiže liječenjem AB-a u ranom nego u kasnom stadiju.¹⁴ Preživljavanje autoreaktivnih limfocita domaćina uz i dalje povišen titar autoantitijela nakon autolognog TKMS-a opisano je i nakon mijeloablativnog i nakon nemijeloablativnog kondicioniranja.¹¹ Ove stanice mogu pridonijeti relapsu bolesti, što bi značilo da su kod bolesnika bez relapsa prisutni čimbenici koji ili inhibiraju proliferaciju autoreaktivnih klonova ili potiču anergiju domaćina. U te čimbenike mogu se ubrojiti nespecifični učinci imunoablativne terapije, kao što su posttransplantacijska limfopenija i snižena razina pa-

togenih autoantitijela te specifični učinci poput indukcije regulatornih limfocita T. Istraživanja na životinjama nadalje su pokazala da se početni oporavak nakon autolognog TKMS-a dobro podudara s povećanjem broja regulatornih limfocita koji nose biljeg CD4+CD25+.¹⁵ U početku nije bio izražen FoxP3, no naknadni izražaj bio je povezan s daljnjom stabilizacijom AB-a. Slično su pokazala i istraživanja u kojima su sudjelovala djeca oboljela od juvenilnoga idiopatskog artritisa.^{15,16} CD4+CD25+ Treg imaju ključnu ulogu u održavanju imunosne tolerancije prema vlastitim, ali i prema stranim antigenima, a u više istraživanja pokazalo se da je rizik od razvoja AB-a značajno viši kad je njihova razina snižena.¹⁷⁻¹⁹ Već i sama kvantitativna promjena u populaciji CD4+CD25+ Treg-limfocita može objasniti zašto nakon TKMS-a dolazi do indukcije tolerancije, no analiza izražaja mRNA pokazala je da i autoreaktivni limfociti T nakon TKMS-a prolaze kroz intrinzične promjene u kojima dolazi do zamjene proinflatarnog fenotipa (interferon-gama, T-bet), koji su imali prije transplantacije, tolerantnim fenotipom (IL-10, GATA-3).¹⁶ Regulatorni limfociti T najprije se obnavljaju homeostatskom klonskom ekspanzijom, a nakon nekoliko mjeseci može se opaziti regeneracija naivnih CD4+CD25+ T-regulatornih limfocita ovisnih o timusu.¹⁶ Zanimljivo je da u većini slučajeva relaps nakon autolognog TKMS-a nastupa unutar prvih devet mjeseci, prije oporavka naivnih CD4+CD25+ Treg-limfocita ovisnih o timusu. Pokazalo se da nakon autolognog TKMS-a dolazi do obnavljanja, pa čak i do stvaranja šireg spektra receptora limfocita T te do povećanja broja CD31+ limfocita T u kojima se nalazi mnoštvo »T-cell receptor excision circles (TRECs)«, malih krugova DNA koji se stvaraju u T-limfocitima za vrijeme prolaska kroz timus, što govori u prilog reaktivaciji timusa. Zbog toga se smatra da je funkcionalni timus potreban za stvaranje funkcionalno aktivne CD4+CD25+ populacije Treg-limfocita.^{20,21} Na kraju možemo zaključiti da dugotrajno potiskivanje upalnog odgovora nakon TKMS-a ne ovisi samo o kvantitativnim promjenama u broju limfocita već i o kvalitativnim promjenama koje utječu na samu srž funkcioniranja imunskog sustava.

Autologni TKMS najviše je primjenjivana metoda TKMS-a. U liječenju hematološko-onkoloških bolesnika relativno je sigurna, s TRM-om ispod 3%. U liječenju bolesnika s AB-om, TRM trenutačno iznosi oko 7% te je kao i rizik od samog postupka ovisan o dobi bolesnika, stupnju oštećenja pojedinih organa bolesnika i pridruženim bolestima (komorbiditetu). Čini se da intenzitet i vrsta kondicioniranja manje utječu na učinkovitost terapije, no uzrok smanjene učinkovitosti može biti i težina same bolesti zbog koje se uopće pristupa ovom postupku.

U sklopu Europskog društva za borbu protiv reumatskih bolesti (EULAR) i Europskog društva za transplantaciju koštane srži (EBMT) osnovana je grupa kojoj je zadaća utvrđivanje uloge TKMS-a u liječenju teških slučajeva AB-a s pomoću prospektivnih, randomiziranih kliničkih ispitivanja podprtih pretkliničkim ispitivanjima.² Zahvaljujući tomu, nedavno je objavljeno veliko opservacijsko istraživanje u kojem su analizirani svi slučajevi liječenja AB-a autolognim TKMS-om, koji su u razdoblju od 1997. do 2007. godine bili prijavljeni u registar koji vodi EBMT. U registru je prikupljen do sada najveći broj bolesnika (n=900) s AB-om koji su prvi put bili podvrgnuti autolognom TKMS-u.²² Kod tih bolesnika petogodišnje preživljenje bilo je 85%, a preživljenje bez napredovanja bolesti (engl. *progression free survival*) 43%, no postoci su se razlikovali ovisno o vrsti AB-a. Kod mnogih bolesnika

opaženo je morfološko poboljšanje kakvo se nije postiglo ni jednim oblikom imunosupresivne terapije. Rezultati su doveli do zaključka da TKMS kod bolesnika s teškim oblicima AB-a, refraktornim na standardnu terapiju, može dovesti do održive remisije koja traje duže od pet godina.

Alogena transplantacija hematopoetskih matičnih stanica

Kod alogenog TKMS-a, KMS se prikupljaju od srodnih ili nesrodnih davatelja s odgovarajućom podudarnošću u alelima sustava HLA. Rabe se različite metode kondicioniranja koje najčešće uključuju dva citotoksična lijeka i ATG s TBI ili bez njega.¹¹ Nakon transplantacije provodi se imunosupresija kako bi se spriječio nastup GVHD-a. Za to se najčešće primjenjuju ciklosporin ili metotreksat.¹¹ Alogeni TKMS jedina je terapijska opcija koja može dovesti do izlječenja od AB-a zbog učinka »presatka protiv autoimunosti« (engl. *graft versus autoimmunity*). No, zbog povećanog rizika od razvoja GVHD-a još se ne rabi rutinski.

Budući da kod alogenog TKMS-a dolazi do interakcije dvaju različitih imunskih sustava u jednoj osobi, patogenetski mehanizmi malo su kompliciraniji. Prvi put, kada se ovaj oblik transplantacije upotrijebio za liječenje AB-a, prije transplantacije je učinjena mijeloablativna kemo(radio)terapija, kako bi se odstranio imunski sustav domaćina, slično kao što se čini kod bolesnika s hematološkim bolestima.²³ No, istraživanja na životinjama, kao i iskustva prikupljena u liječenju nekoliko bolesnika, pokazala su da provođenje manje agresivne nemijeloablativne terapije prije transplantacije rjeđe uzrokuje GVHD i da kod bolesnika koji se liječe zbog AB-a ima isti učinak kao provođenje mijeloablativne terapije.^{24,25}

Oporavak prirodnog imunskog sustava (NK-stanice, monociti i granulociti) uslijedi brzo nakon transplantacije, dok se stečeni imunski sustav oporavlja sporije i uglavnom nepotpuno.²⁶ Nakon transplantacije opaža se trajno smanjen broj CD4+ limfocita T, osobito ako je prije transplantacije uslijedila deplecija limfocita T.^{27,28} Stupanj imunosupresije ovisi i o izvoru presatka: nemanipulirane matične stanice iz periferne krvi (PK-KMS, engl. *peripheral blood stem cells*) sadržavaju više limfocita T nego presadci iz koštane srži s održanim omjerom CD4/CD8 i manje aktiviranim imunofenotipom.²⁹ Oporavak je značajno brži za CD4+ limfocite, cirkulirajuće monocite i NK-stanice kada se u transplantaciji rabe stanice iz periferne krvi u odnosu na stanice iz koštane srži.³⁰ Profil citokina limfocita T dobivenih iz PK-KMS-a više je usmjeren k tipu II odgovora, a ti limfociti T pokazuju smanjenu sposobnost odgovora na alogene ili autoantigene.²⁹ Nasuprot tomu, koštana srž sadržava više Treg-limfocita i mezenhimalnih matičnih stanica nego PK-KMS. Te stanice imaju jak imunosupresivni učinak, čime se između ostaloga može objasniti zašto je više infekcija prisutno nakon što se matične stanice transplantiraju iz koštane srži nego kada se transplantiraju iz periferne krvi.³¹

Uloga Treg nakon alogenog TKMS-a analizirana je u slučajevima kroničnog GVHD-a. Deficijencija Treg zbog trošenja za vrijeme akutnog GVHD-a vjerojatno pridonosi razvoju kroničnog GVHD-a, dok je u odsutnosti GVHD-a opaženo povećanje IL-10, što može potaknuti stvaranje Treg. Nakon alogenog TKMS-a kod miševa s kroničnim artritismom opisane su snižene razine interferona, TNF alfa i IL-17.³² Pokazalo se da su stanice koje prezentiraju vlastite antigene predodređene da budu napadnute i eliminirane od strane presatka.³³ Prekursori limfocita T ili NK-stanica da-

vatelja privlače stanice koje prezentiraju antigen domaćina, a imaju izražene takozvane »slabe antigene tkivne podudarnosti« (engl. *minor histocompatibility antigens*).³⁴ Dendritičke stanice koje su specijalizirane za prezentiranje antigena efektivnim stanicama davatelja uključene su u opisani proces, a vjerojatno i u prezentaciju autoantigena kod AB-a. U većini tkiva dendritičke stanice domaćina zamjenjuju se nakon transplantacije zbog brže izmjene prekursora podrijetlom iz koštane srži.³⁵ No, na brojnim mjestima u tijelu, osobito u koži, dendritičke stanice domaćina mogu i dalje biti prisutne, a mogu se čak i obnavljati mjesecima nakon transplantacije.

Trenutačno ne postoje istraživanja koja bi usporedila alogeni i autolagni TKMS u liječenju AB-a kod ljudi. Većina podataka dobivena je iz istraživanja koja su za cilj imala ispitati ishod alogenog TKMS-a kod bolesnika koji su uz neku hematološku bolest imali i prateći AB. Najveće takvo istraživanje proveli su Daikeler i suradnici, a rezultati su pokazali da je više od 75% bolesnika imalo klinički odgovor (55% potpuni i 34% parcijalni), dok je TRM bio oko 20%.³⁶ U nedavno revidiranim smjernicama EBMT-a za TKMS u liječenju AB-a, ovakav oblik liječenja predviđen je samo za bolesnike koji imaju refraktornu, za život opasnu autoimunosu citopeniju.³⁷ No, nizozemski pedijatri nedavno su ovom metodom uspješno liječili bolesnike s prirođenom imunodeficijencijom, autoimunskim bolestima poput refraktornog kolitisa i prije spomenute autoimunosne citopenije, ali i djevojčicu s teškim oblikom refraktorne multiple skleroze.³⁸

Modifikacijom postojećih protokola alogeni TKMS s vremenom bi mogao postati sigurnijom metodom koja bi se primjenjivala za malu grupu bolesnika koji nisu odgovorili na postojeću konvencionalnu terapiju, niti na autolagni TKMS.

Transplantacija mezenhimalnih matičnih stanica

Mezenhimalne matične stanice (MMS, engl. *mesenchymal stem cells*) multipotentne su progenitorne stanice koje nastaju iz strome, zbog čega se često nazivaju i mezenhimalne stromalne stanice. Mogu se skupiti iz različitih tkiva uključujući koštanu srž, posteljicu, pupkovinu, masno tkivo i zube.⁸ Otkada su prije 15 godina prvi put zajedno s KMS-om presađene čovjeku,³⁹ postoji velik interes za imunomodulatorni i antiinflamatorni učinak MMS-a, kao i za ulogu koju imaju u zaštiti tkiva.⁴⁰ Nekoliko istraživanja pokazalo je da MMS *in vitro* suprimira proliferaciju B i T limfocita, dok su druga istraživanja pokazala da *in vivo* dovodi do inhibicije patogenih antitijela. Ipak, točan mehanizam imunosupresivnog učinka još nije potpuno razjašnjen.⁴⁰

Liječenje s pomoću alogeničkih MMS zbog slabe imunogenosti ne zahtijeva kondicioniranje.⁴¹ Upravo to je jedan od razloga zbog kojeg se MMS rabe za liječenje akutnog GVHD-a otpornog na glukokortikoide nastalog nakon alogenog TKMS-a.⁴² U liječenju AB-a, MMS su se prvi put primijenile kod bolesnice sa SSc-om i pokazalo se da su vrlo učinkovite.⁴³ Ista grupa autora nedugo nakon toga objavila je i rezultate transplantacije MMS-a kod četiri druga bolesnika koji su također bolovali od SSc-a.⁴⁴ Opisano je čak i lokalno davanje MMS-a iz koštane srži (KS-MMS, engl. *bone marrow derived mesenchymal stem cells*) injiciranih u skeletni mišić ishemičnog uda kod osam bolesnika s intraktabilnim ulkusima uzrokovanim SSc-om.⁴⁵ Kod bolesnika sa SLE transplantacija MMS-a nije dala jednoznačne rezultate. U prvoj publikaciji objavljenoj o toj temi opisana

su dva slučaja transplantacije KS-MMS-a, no ni kod jednog od bolesnika nije došlo do poboljšanja kliničkog stanja, a nedugo nakon transplantacije kod jednog je došlo do reaktivacije lupusnog nefritisa.⁴⁶ Ipak, nakon transplantacije opaženo je značajno povećanje broja Treg-limfocita. Druga grupa istraživala je transplantaciju KS-MMS-a, kao i MMS-a dobivenih iz pupkovine (P-MMS, engl. *umbilical cord derived mesenchymal stem cells*), kod bolesnika s refraktornim oblikom SLE-a.^{47,48} U oba slučaja opaženo je znatno kliničko poboljšanje uz povišenje koncentracije Treg-limfocita. Ista grupa autora ispitala je i transplantaciju KS-MMS-a ili P-MMS-a kod bolesnika s dermatomiozitisom ili polimiozitisom refraktornim na standardnu terapiju ili sa sistemskim zahvaćanjem⁴⁹ te je i kod tih bolesnika došlo do poboljšanja kliničkog stanja i laboratorijskih nalaza. Spomenuta grupa liječila je transplantacijom KS-MMS-a ili P-MMS-a i četiri bolesnika s RA otpornim na biološku terapiju te je zabilježeno određeno smanjenje aktivnosti bolesti kod 2 bolesnika.⁵⁰ Ipak, oba su bolesnika imala relaps, nakon 7, odnosno nakon 23 mjeseca. Zanimljivo je da je kod bolesnika koji boluju od RA broj MMS-a u sinovijalnoj tekućini smanjen.⁵¹ To se može objasniti poremećajem u regrutiranju MMS-a u zglobov ili suprimiranom proliferacijom potencijalnih MMS-a,⁵² što bi moglo biti uzrokovano dužinom telomere.⁵³ Pokazalo se da MMS bolesnika koji boluju od SLE-a sporije rastu u usporedbi s normalnim kontrolama, no da su ostale osobine poput izražaja, površinskih markera i sposobnosti supresije alogeničkih limfocita T usporedive s normalnim kontrolama.^{54,55} MMS bolesnika sa SSC-om imaju jednake osobine kao i MMS prikupljene od zdravih ljudi.⁵⁶ Pokazalo se da je imunosupresivna sposobnost KS-MMS-a bolesnika koji boluju od AB-a neovisna o kliničkoj aktivnosti njihove bolesti.⁵⁷ Zbog toga bi bilo razumno pretpostaviti da se AB može liječiti injekcijom dodatnih MMS-a lokalno ili sistemski, kako bi se ispravio mogući nedostatak MMS-a. Za to bi se mogle rabiti i autologne MMS, ako bi se dovoljan broj mogao uzgojiti *in vitro*.

Na kraju možemo zaključiti da se liječenje transplantacijom MMS-a sve više rabi za liječenje rezistentnih slučajeva AB-a. U bolesnika s AB-om, kao ni u većim grupama bolesnika koji su primili MMS za liječenje GVHD-a, do sada nisu opažene nuspojave.⁴² Ipak, korist od davanja MMS-a još varira od bolesnika do bolesnika te primjena ovakve terapije zahtijeva daljnja istraživanja.

Smrtnost povezana s liječenjem (engl. *treatment related mortality*)

Problem u liječenju AB TKMS-a jest činjenica da 5–10% tako liječenih bolesnika umire u kratkom razdoblju zbog posljedica samog liječenja, dok bi bez njega preživljenje bilo duže. No, sve je više dokaza da nekontrolirana sistemski upala dovodi do preranog razvoja ateroskleroze i smrtnih ishoda povezanih s kardiovaskularnim bolestima i toksičnim učincima kronične imunosupresije, osobito glukokortikoida.⁵⁸ Postojeću hipotezu da je rana smrtnost nakon TKMS-a zapravo manja nego smrtnost zbog same autoimunsne bolesti tek treba dokazati.

Osim dobro poznate akutne toksičnosti uzrokovane TKMS-om (infekcije i krvarenje tijekom aplastičnog perioda i kasne infekcije tijekom faze rekonstitucije limfocita T), primjenom ove metode otkriveno je nekoliko drugih toksičnih učinaka, poput oštećenja bubrega i pluća kod bolesnika s progresivnim SSC-om ili razvoja sindroma aktivacije makrofaga kod bolesnika s JIA.⁸ Unatoč tomu što su takvi neželjeni ishodi izbjegnuti odgovarajućim modifikacijama

protokola, možemo zaključiti da će uvijek postojati određen broj smrtnih slučajeva uzrokovanih samim postupkom i da zbog toga svakom bolesniku treba pristupiti individualno, kako bi se usporedili potencijalni rizici i potencijalna korist od provođenja ovakvog liječenja.

Liječenje djece oboljele od autoimunskih bolesti autolognom transplantacijom krvotvornih matičnih stanica

Unatoč modernim terapijskim opcijama za liječenje JIA više od jedne trećine djece i u odrasloj dobi ima kronični

Tablica 1. Kriteriji za provođenje autologne transplantacije krvotvornih matičnih stanica kod djece oboljele od autoimunskih bolesti.

Table 1. Inclusion and exclusion criteria for autologous hematopoietic stem cell transplantation in children with autoimmune diseases.

Kriteriji za uključivanje / Inclusion criteria:

- postavljena dijagnoza sistemskog ili poliartikularnog oblika juvenilnog idiopatskog artritisa u skladu s ILAR-kriterijima;⁵⁹
/ diagnosis of systemic or polyarticular juvenile idiopathic arthritis according to ILAR criteria;⁵⁹
- trajanje bolesti od najmanje jedne godine
/ disease duration at least one year;
- dokazi da aktivna upalna bolest traje najmanje šest mjeseci u skladu s utvrđenim kriterijima,⁶² ali bez osipa ili visoke temperature u vrijeme liječenja kod bolesnika sa sistemskim oblikom bolesti
/ evidence that active inflammatory disease has existed at least six month according to the established criteria,⁶² but without rash or fever at the time of treatment in a patient with systemic disease;
- dokazi da standardna terapija ne djeluje ili da je toksična:
/ evidence that standard therapy is not effective or that it is toxic:
 - neuspjehom standardne terapije smatra se nekontrolirana bolest uz:
/ failure of standard therapy is defined as uncontrolled disease with:
 - visoke doze glukokortikoida (>0,3 mg/kg)
/ high glucocorticoid doses (>0.3 mg/kg);
 - visoke doze metotreksata (1 mg/kg) parenteralno tijekom tri mjeseca;
/ high parenteral methotrexate doses (1 mg/kg) through three months;
 - kombinaciju metotreksata i nekoga drugog lijeka, npr. ciklosporina;
/ combination of methotrexate and another drug, e.g. cyclosporine;
 - liječenje u skladu sa »Seattleškim protokolom« u razdoblju od šest mjeseci;⁶³ / treatment according to »Seattle protocol« in the period of six months;⁶³
 - anti-TNF-terapiju u odgovarajućim dozama u razdoblju od šest mjeseci;
/ anti-TNF therapy in appropriate doses in the period of six months
 - neprihvatljiva toksičnost znači / unacceptable toxicity is:
 - toksičnost glukokortikoida, npr. zaostajanje u rastu, osteoporoza s frakturama, avaskularna nekroza, hipertenzija, katarakta;
/ glucocorticoid toxicity, e.g. failure to thrive, osteoporosis with fractures, avascular necrosis, hypertension, cataract;
 - neprihvatljiva renalna toksičnost povezana s primjenom ciklosporina; / unacceptable renal toxicity associated with cyclosporine administration;
 - neprihvatljivo povišenje koncentracije jetrenih enzima zbog primjene metotreksata, / unacceptable increase in liver enzyme levels due to methotrexate administration;
 - citopenija inducirana lijekovima / drug induced cytopenia;
 - samo stanje pacijenta mora biti takvo da autologna TKMS neće biti nepopravljiv rizik; / patient's condition should be such that autologous HSCT would not represent irreparable risk;
 - moguće je dovesti do poboljšanja invalidnosti;
/ it is possible to ameliorate disability.

Kriteriji za isključivanje / Exclusion criteria:

- teška kronična infekcija (osobit oprez potreban je prilikom sumnje na TBC)
/ severe chronic infection (special caution is needed when TBC is suspected);
- teški invaliditet bez mogućnosti za oporavak
/ severe disability without chance of improvement;
- teško zatajenje organa (srca, pluća, jetre, bubrega)
/ severe organ failure (heart, lungs, liver, kidneys);
- sociološki čimbenici / sociological factors.

arthritis.^{59,60} Najgoru prognozu imaju djeca s poliartikularnim i sistemskim oblikom bolesti. S obzirom na to, do danas je više od 45-ero djece koja boluju od JIA podvrgnuto autolognomu TKMS-u.⁶¹ Zbog visokog morbiditeta i mortaliteta koji prate ovaj oblik liječenja vrlo je važan odabir pacijenta, koji ovisi o tri čimbenika: težini bolesti, nedjelotvornosti lijekova i toksičnosti lijekova. Kriteriji za autologni TKMS prikazani su u tablici 1.

Od ukupno 45 bolesnika oboljelih od JIA koji su bili podvrgnuti ovom postupku trenutno postoje objavljeni podaci o 29 bolesnika. Najduže vrijeme praćenja iznosilo je tri godine. Šesnaestero djece bilo je u »remisiji bez lijekova«, osam u djelomičnoj remisiji ili relapsu, jedno dijete nije odgovorilo na liječenje, a četvero djece je umrlo. Devero djece još je pod terapijom.⁶¹

Možemo zaključiti da je ovakav oblik liječenja vrlo dobar u kontroli bolesnika s teškim oblicima JIA, nakon neuspjeha ostalih oblika liječenja, i da može vratiti potpunu funkcionalnost i aktivnost djeci koja su prije toga imala teški oblik bolesti.

Zaključak

U ovom radu opisane su postojeće mogućnosti liječenja AB-a metodom transplantacije KMS-a i MMS-a. Najviše iskustva do sada postoji u primjeni autologne transplantacije. Takav oblik liječenja dovodi do značajnih poboljšanja u kliničkoj slici i laboratorijskim nalazima bolesnika, no zbog samog provođenja takvog postupka može umrijeti i do 10% bolesnika. Osim toga, takav oblik liječenja često ne može dovesti do potpunog izlječenja. Zato se provodi sve više ispitivanja u kojima se izvede transplantacija MMS-a, koja može poslužiti kao alternativni oblik liječenja za životno ugrožene bolesnike s AB-om, za liječenje i sprječavanje GVHD-reakcija kod transplantiranih bolesnika i za dopunu konvencionalnim oblicima liječenja. Daljnje smanjenje rizika od teških oblika GVHD-a trebalo bi dodatno potaknuti i provođenje alogenog TKMS-a, metode koja ima velik potencijal u konačnom izlječenju AB-a. Ipak, još su potrebni individualni pristup svakom bolesniku i detaljna procjena moguće koristi i potencijalnih rizika koje takve metode liječenja nose sa sobom. Na kraju možemo zaključiti da će se u budućnosti ovakvi postupci zasigurno sve više primjenjivati i da u sadašnjosti možemo biti sretni što postoje mogućnosti za liječenje bolesnika s najtežim oblicima AB-a.

LITERATURA

1. Tyndall A, LeBlanc K. Stem cells and rheumatology: update on adult stem cell therapy in autoimmune diseases. *Arthritis Rheum* 2006;55:521–5.
2. Tyndall A, Gratwohl A. Blood and marrow stem cell transplants in autoimmune disease: a consensus report written on behalf of the European League against Rheumatism (EULAR) and the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Bone Marrow Transplant* 1997;19:643–5.
3. Sullivan KM, Furst DE. The evolving role of blood and marrow transplantation for the treatment of autoimmune diseases. *J Rheumatol Suppl* 1997;48:1–4.
4. van Laar JM. Immune ablation and stem-cell therapy in autoimmune disease. Immunological reconstitution after high-dose immunosuppression and hematopoietic stem-cell transplantation. *Arthritis Res* 2000;2:270–5.
5. van Bekkum DW. Stem cell transplantation for autoimmune disorders. Preclinical experiments. *Best Pract Res Clin Haematol* 2004;17:201–22.
6. van Bekkum DW. Stem cell transplantation in experimental models of autoimmune disease. *J Clin Immunol* 2000;20:10–6.
7. Knaan-Shanzer S, Houben P, Kinwel-Bohre EP, van Bekkum DW. Remission induction of adjuvant arthritis in rats by total body irradiation and autologous bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1991;8:333–8.
8. Tyndall A. Application of autologous stem cell transplantation in various adult and pediatric rheumatic diseases. *Pediatr Res* 2012;71:433–8.
9. Morton JI, Siegel BV. Transplantation of autoimmune potential. I. Development of antinuclear antibodies in H-2 histocompatible recipients of bone marrow from New Zealand Black mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1974;71:2162–5.
10. Ikehara S, Kawamura M, Takao F i sur. Organ-specific and systemic autoimmune diseases originate from defects in hematopoietic stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990;87:8341–4.
11. Hugle T, van Laar JM. Stem cell transplantation for rheumatic autoimmune diseases. *Arthritis Res Ther* 2008;10:217.
12. Jacobs P, Vincent MD, Martell RW. Prolonged remission of severe refractory rheumatoid arthritis following allogeneic bone marrow transplantation for drug-induced aplastic anaemia. *Bone Marrow Transplant* 1986;1:237–9.
13. Tehlirian CV, Hummers LK, White B, Brodsky RA, Wigley FM. High-dose cyclophosphamide without stem cell rescue in scleroderma. *Ann Rheum Dis* 2008;67:775–81.
14. Van Wijmeersch B, Sprangers B, Rutgeerts O i sur. Allogeneic bone marrow transplantation in models of experimental autoimmune encephalomyelitis: evidence for a graft-versus-autoimmunity effect. *Biol Blood Marrow Transplant* 2007;13:627–37.
15. Roord ST, de Jager W, Boon L i sur. Autologous bone marrow transplantation in autoimmune arthritis restores immune homeostasis through CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells. *Blood* 2008;111:5233–41.
16. de Kleer I, Vastert B, Klein M i sur. Autologous stem cell transplantation for autoimmunity induces immunologic self-tolerance by reprogramming autoreactive T cells and restoring the CD4+CD25+ immune regulatory network. *Blood* 2006;107:1696–702.
17. Asano M, Toda M, Sakaguchi N, Sakaguchi S. Autoimmune disease as a consequence of developmental abnormality of a T cell subpopulation. *J Exp Med* 1996;184:387–96.
18. Shevach EM. Regulatory T cells in autoimmunity. *Ann Rev Immunol* 2000;18:423–49.
19. Baecher-Allan C, Hafler DA. Suppressor T cells in human diseases. *J Exp Med* 2004;200:273–6.
20. Muraro PA, Douek DC, Packer A i sur. Thymic output generates a new and diverse TCR repertoire after autologous stem cell transplantation in multiple sclerosis patients. *J Exp Med* 2005;201:805–16.
21. Thiel A, Alexander T, Schmidt CA i sur. Direct assessment of thymic reactivation after autologous stem cell transplantation. *Acta Haematol* 2008;119:22–7.
22. Farge D, Labopin M, Tyndall A i sur. Autologous hematopoietic stem cell transplantation for autoimmune diseases: an observational study on 12 years' experience from the European Group for Blood and Marrow Transplantation Working Party on Autoimmune Diseases. *Haematologica* 2010;95:284–92.
23. Nash RA, McSweeney PA, Nelson JL i sur. Allogeneic marrow transplantation in patients with severe systemic sclerosis: resolution of dermal fibrosis. *Arthritis Rheum* 2006;54:1982–6.
24. Loh Y, Oyama Y, Statkute L i sur. Non-myeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for severe systemic sclerosis: graft-versus-autoimmunity without graft-versus-host disease? *Bone Marrow Transplant* 2007;39:435–7.
25. Smith-Berdan S, Gille D, Weissman IL, Christensen JL. Reversal of autoimmune disease in lupus-prone New Zealand black/New Zealand white mice by nonmyeloablative transplantation of purified allogeneic hematopoietic stem cells. *Blood* 2007;110:1370–8.
26. Peggs KS. Reconstitution of adaptive and innate immunity following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in humans. *Cytherapy* 2006;8:427–36.
27. Hakim FT, Cepeda R, Kaimei S i sur. Constraints on CD4 recovery postchemotherapy in adults: thymic insufficiency and apoptotic decline of expanded peripheral CD4 cells. *Blood* 1997;90:3789–98.
28. Mackall CL, Fleisher TA, Brown MR i sur. Distinctions between CD8+ and CD4+ T-cell regenerative pathways result in prolonged T-cell subset imbalance after intensive chemotherapy. *Blood* 1997;89:3700–7.
29. Tayebi H, Kuttler F, Saas P i sur. Effect of granulocyte colony-stimulating factor mobilization on phenotypical and functional properties of immune cells. *Exp Hematol* 2001;29:458–70.
30. Talmadge JE, Reed E, Ino K i sur. Rapid immunologic reconstitution following transplantation with mobilized peripheral blood stem cells as compared to bone marrow. *Bone Marrow Transplant* 1997;19:161–72.
31. Storek J, Dawson MA, Storer B i sur. Immune reconstitution after allogeneic marrow transplantation compared with blood stem cell transplantation. *Blood* 2001;97:3380–9.
32. Wekerle T, Kurtz J, Ito H i sur. Allogeneic bone marrow transplantation with co-stimulatory blockade induces macrochimerism and tolerance without cytoreductive host treatment. *Nat Med* 2000;6:464–9.
33. Ruggeri L, Capanni M, Urbani E i sur. Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants. *Science* 2002;295:2097–100.
34. Robertson NJ, Chai JG, Millrain M i sur. Natural regulation of immunity to minor histocompatibility antigens. *J Immunol* 2007;178:3558–65.

35. Kamath AT, Henri S, Battye F, Tough DF, Shortman K. Developmental kinetics and lifespan of dendritic cells in mouse lymphoid organs. *Blood* 2002;100:1734–41.
36. Daikeler T, Hugel T, Farge D i sur. Allogeneic hematopoietic SCT for patients with autoimmune diseases. *Bone Marrow Transplant* 2009;44:27–33.
37. Snowden JA, Saccardi R, Allez M i sur. Haematopoietic SCT in severe autoimmune diseases: updated guidelines of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2012;47:770–90.
38. Swart JF, Lindemans CA, van Royen A, Boelens JJ, Prakken BJ, Wulfraat N. Changing winds in refractory autoimmune disease in children: clearing the road for tolerance with cellular therapies. *Curr Opin Rheumatol* 2012;24:267–73.
39. Lazarus HM, Koc ON, Devine SM i sur. Cotransplantation of HLA-identical sibling culture-expanded mesenchymal stem cells and hematopoietic stem cells in hematologic malignancy patients. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005;11:389–98.
40. Tyndall A, Uccelli A. Multipotent mesenchymal stromal cells for autoimmune diseases: teaching new dogs old tricks. *Bone Marrow Transplant* 2009;43:821–8.
41. Le Blanc K, Rasmussen I, Sundberg B i sur. Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells. *Lancet* 2004;363:1439–41.
42. Le Blanc K, Frassoni F, Ball L i sur. Mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant, severe, acute graft-versus-host disease: a phase II study. *Lancet* 2008;371:1579–86.
43. Christopeit M, Schendel M, Foll J, Muller LP, Keysser G, Behre G. Marked improvement of severe progressive systemic sclerosis after transplantation of mesenchymal stem cells from an allogeneic haploidentical-related donor mediated by ligation of CD137L. *Leukemia* 2008;22:1062–4.
44. Keysser G, Christopeit M, Fick S i sur. Treatment of severe progressive systemic sclerosis with transplantation of mesenchymal stromal cells from allogeneic related donors: report of five cases. *Arthritis Rheum* 2011;63:2540–2.
45. Ishigatsubo Y, Ihata A, Kobayashi H i sur. Therapeutic angiogenesis in patients with systemic sclerosis by autologous transplantation of bone-marrow-derived cells. *Mod Rheumatol* 2010;20:263–72.
46. Carrion F, Nova E, Ruiz C i sur. Autologous mesenchymal stem cell treatment increased T regulatory cells with no effect on disease activity in two systemic lupus erythematosus patients. *Lupus* 2010;19:317–22.
47. Liang J, Zhang H, Hua B i sur. Allogenic mesenchymal stem cells transplantation in refractory systemic lupus erythematosus: a pilot clinical study. *Ann Rheum Dis* 2010;69:1423–9.
48. Sun L, Wang D, Liang J i sur. Umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation in severe and refractory systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2010;62:2467–75.
49. Wang D, Zhang H, Cao M i sur. Efficacy of allogeneic mesenchymal stem cell transplantation in patients with drug-resistant polymyositis and dermatomyositis. *Ann Rheum Dis* 2011;70:1285–8.
50. Liang J, Li X, Zhang H i sur. Allogeneic mesenchymal stem cells transplantation in patients with refractory RA. *Clin Rheumatol* 2012;31:157–61.
51. Jones EA, English A, Henshaw K i sur. Enumeration and phenotypic characterization of synovial fluid multipotential mesenchymal progenitor cells in inflammatory and degenerative arthritis. *Arthritis Rheum* 2004;50:817–27.
52. Jones E, Churchman SM, English A i sur. Mesenchymal stem cells in rheumatoid synovium: enumeration and functional assessment in relation to synovial inflammation level. *Ann Rheum Dis* 2010;69:450–7.
53. Kastrinaki MC, Sidiropoulos P, Roche S i sur. Functional, molecular and proteomic characterisation of bone marrow mesenchymal stem cells in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2008;67:741–9.
54. Sun LY, Zhang HY, Feng XB, Hou YY, Lu LW, Fan LM. Abnormality of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2007;16:121–8.
55. Nie Y, Lau C, Lie A, Chan G, Mok M. Defective phenotype of mesenchymal stem cells in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2010;19:850–9.
56. Larghero J, Farge D, Braccini A i sur. Phenotypical and functional characteristics of in vitro expanded bone marrow mesenchymal stem cells from patients with systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis* 2008;67:443–9.
57. Bocelli-Tyndall C, Bracci L, Spagnoli G i sur. Bone marrow mesenchymal stromal cells (BM-MSCs) from healthy donors and auto-immune disease patients reduce the proliferation of autologous- and allogeneic-stimulated lymphocytes in vitro. *Rheumatology (Oxford)* 2007;46:403–8.
58. Bartoloni E, Shoenfeld Y, Gerli R. Inflammatory and autoimmune mechanisms in the induction of atherosclerotic damage in systemic rheumatic diseases: two faces of the same coin. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2011;63:178–83.
59. Petty RE. Classification of childhood arthritis: a work in progress. *Baillieres Clin Rheumatol* 1998;12:181–90.
60. Zak M, Pedersen FK. Juvenile chronic arthritis into adulthood: a long-term follow-up study. *Rheumatology (Oxford)* 2000;39:198–204.
61. Wedderburn LR, Abinun M, Palmer P, Foster HE. Autologous haematopoietic stem cell transplantation in juvenile idiopathic arthritis. *Arch Dis Child* 2003;88:201–5.
62. Giannini EH, Ruperto N, Ravelli A, Lovell DJ, Felson DT, Martini A. Preliminary definition of improvement in juvenile arthritis. *Arthritis Rheum* 1997;40:1202–9.
63. Wallace CA, Sherry DD. Trial of intravenous pulse cyclophosphamide and methylprednisolone in the treatment of severe systemic-onset juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1997;40:1852–5.



Vijesti News



HRVATSKO DRUŠTVO ZA HIPERTENZIJU
HRVATSKOG LIJEČNIČKOG ZBORA

organizira



TREĆI HRVATSKI KONGRES O HIPERTENZIJI s međunarodnim sudjelovanjem

**Šibenik, hotel Ivan, Hotelsko naselje Solaris
17–20. listopada 2013.**

Glavne teme: nove smjernice u liječenju hipertenzije, epidemiologija hipertenzije i cerebrovaskularnog infarkta, primarna prevencija – nacionalni programi za smanjenje unosa kuhinjske soli, novi pristup liječenja – renalna denervacija, intervencijska radiologija u arterijskoj hipertenziji, nadležnosti liječnika obiteljske medicine

Obavijesti: www.hdh.hr, www.HDHkongres2013.org