

Imuno-endokrine osobitosti autoimune bolesti štitnjače tijekom trudnoće i u ranom postporođajnom razdoblju

Bogović Crnčić, Tatjana

Doctoral thesis / Disertacija

2012

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Rijeka, Faculty of Medicine / Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:188:315056>

Rights / Prava: [Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Nekomercijalno-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-18**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the University of Rijeka Library - SVKRI Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET**

Tatjana Bogović Crnčić

**IMUNO-ENDOKRINE OSOBITOSTI AUTOIMUNE
BOLESTI ŠTITNJAČE TIJEKOM TRUDNOĆE I U
RANOM POSTPOROĐAJNOM RAZDOBLJU**

Doktorski rad

Rijeka, 2012.

**SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET**

Tatjana Bogović Crnčić

**IMUNO-ENDOKRINE OSOBITOSTI AUTOIMUNE
BOLESTI ŠTITNJAČE TIJEKOM TRUDNOĆE I U
RANOM POSTPOROĐAJNOM RAZDOBLJU**

Doktorski rad

Rijeka, 2012.

Mentori rada: prof. dr. sc. Ines Mrakovčić-Šutić i prof. dr. sc. Aleksandar Smokvina

Doktorski rad je obranjen dana _____ na Medicinskom fakultetu, Sveučilišta u Rijeci, pred povjerenstvom u sastavu:

- 1.
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.

Rad ima 215 listova, 3 tablice, 77 slika.

UDK:

Rad je izrađen na Kliničkom zavodu za nuklearnu medicinu Kliničkog bolničkog centra Rijeka i na Zavodu za fiziologiju i imunologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Rijeci.

Istraživanja su dio znanstveno-istraživačkog projekta pod naslovom „Regulacijske T i NKT stanice u kontroli tumorskog rasta, opeklina i autoimunosti“, broj 062-0620096-0094, glavnog istraživača prof. dr. sc. Ines Mrakovčić Šutić. Financiran je od strane Ministarstva znanosti, obrazovanja i športa Republike Hrvatske.

Od sveg srca veliko **HVALA** mojim MENTORIMA i voditeljima, prof. dr. sc. Ines Mrakovčić-Šutić i prof. dr. sc. Aleksandru Smokvini na svesrdnoj pomoći, nesebičnoj podršci, kritikama i savjetima pri izradi ovog rada, a nadasve HVALA na optimizmu i povjerenju koje su imali u mene i onda kad je bilo najteže i činilo se neostvarivo. Hvala što ste moji mentori. Učim od Vas svaki dan.

Posebno **HVALA** predstojnici Kliničkog Zavoda za nuklearnu medicinu, prof. dr. sc. Grbac-Ivanković na svim dragocjenim savjetima, prijateljskim i profesionalnim, te velikoj podršci.

Iskreno **HVALA SVIM** djelatnicima Kliničkog zavoda za nuklearnu medicinu, KBC Rijeka, na svakodnevnoj pomoći i suradnji. Omogućili ste mi ostvariti ovaj rad, zajedno smo napravili nešto dobro i nadam se vrijedno. Hvala što ste bili uz mene.

Veliko **HVALA** Kseniji Tulić, inženjeru medicinsko laboratorijske dijagnostike, sa Zavoda za fiziologiju i imunologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Rijeci, na nesebičnoj pomoći, osobnoj podršci i prijateljstvu.

*Neizmjereno i neizrecivo **HVALA** mojoj obitelji*

Ivanu, Ariani i Davidu

Hvala na Vašoj ljubavi, Hvala sto ste moji, uz Vas ja mogu sve.....

Mojim roditeljima

Sve sto jesam Vi ste me naučili, hvala na ljubavi

„The everlasting, pure love arises from the heart

In, fact, it is ever-existing and all-pervading

So, first and foremost, make your heart pure“

SAŽETAK

Imuno-endokrine osobitosti autoimune bolesti štitnjače tijekom trudnoće i u ranom postporođajnom razdoblju

Cilj istraživanja: Autoimuna bolest štitne žlijezde (engl.: autoimmune thyroid disease-AITD) je najčešći organ specifični autoimuni poremećaj koji obuhvaća dva glavna klinička entiteta: Gravesovu bolest i Hashimotov tireoiditis. Za obje bolesti karakteristična je prisutnost organ specifičnih autoprotutijela na tri glavna tireoidna antigena: TSH receptor, tireoperoksidazu i tireoglobulin. Proupalni T pomoćnički tip 1 stanica (Th1) i Th1 citokini imaju ključnu ulogu u patogenezi organ specifičnih autoimunih bolesti, dok se zaštitna uloga pripisuje T pomoćničkim limfocitima tipa 2 (Th2) i Th 2 citokinima. U zdravoj trudnoći dominira Th2 nad Th1 imunosti čime se objašnjava poboljšanje autoimunih bolesti tijekom trudnoće, dok poslije poroda zbog promjene Th1/Th2 omjera često dolazi do pogoršanja AITD. Ukoliko je AITD induciran Th1 mehanizmima, pomak Th2 u Th1 odgovor mogao bi objasniti pogoršanje AITD postpartalno. Međutim, točan patofiziološki mehanizam ovog fenomena nije poznat. NKT i T regulacijske stanice predstavljaju stanične subpopulacije s velikom ulogom u prevenciji autoimunosti i toleranciji alogenih transplantata. Promjene imunoloških parametara tijekom AITD nisu dovoljno razjašnjene, osobito one tijekom trudnoće. Naš cilj je bio ispitati utjecaj imunološkog sustava tijekom trudnoće i nakon poroda na razvoj AITD, tj. utjecaj Th, NK, NKT i T regulacijskih limfocitnih subpopulacija (Tregs) te korelirati rezultate s nalazima hormona i usporediti ih sa onima u zdravih trudnica.

Ispitanici i metode: Ispitali smo prisustvo AITD u ispitanica u trudnoći i postpartalno uz pomoć određivanja hormonskog statusa, titra tireoidnih autoprotutijela i ultrazvučnog pregleda štitnjače (UZV) i rezultate usporedili s kontrolama. Nakon unutarstaničnog i površinskog bojanja uz pomoć protočne citometrije analizirali smo fenotip i citolitički

potencijal izoliranih mononuklearnih stanica periferne krvi ispitanica u trudnoći i u postporođajnom razdoblju te u kontrola.

Rezultati: Srednja vrijednost TSH tijekom normalne trudnoće raste, ali bez značajne razlike u odnosu na kontrolnu skupinu žena, dok postpartalno pada. U trudnoći razina FT4 pada i statistički je značajno niža nego u kontrola, a postpartalno raste i značajno je viša u odnosu na trudnoću. Udio eutireoidnih ispitanica u trudnoći s povišenim titrom tireoidnih autoprotutijela je 16%, dok je postpartalno udio eutireoidnih ispitanica s povišenim titrom autoprotutijela 24%. Srednji TSH je u eutireoidnih trudnica s povišenim protutijelima veći u odnosu na kontrolne trudnice, ali bez statističke značajnosti. Od ukupnog broja ispitanica u trudnoći, 8,6%, je imalo subkl./kl.hipotireozu, a 2,7% subkl./kl. hipertireozu. Od ukupnog broja ispitanica postpartalno, 14% je imalo subkl./kl. hipotireozu, a 2,6% ispitanica subkl./kl hipertireozu. U 6,5% ispitanica dijagnosticirali smo postpartalni tireoiditis. U 25% ispitanica u trudnoći i 41,5 % ispitanica postpartalno smo dokazali prisustvo tireoidne autoimunosti. Stanice urođene imunosti: NKT i Tregs su povišene tijekom zdrave trudnoće, te trudnoće s hipotireozom i hipertireozom, kao i postpartalno u svim ispitivanim skupinama. NKT stanice su snižene u trudnica s pozitivnim protutijelima upućujući na smanjenje protektivne uloge NKT stanica u trudnoći pod djelovanjem protutijela. Ukupni perforin je snižen u zdravih trudnica, ali povišen u trudnica s pozitivnim protutijelima, hipotireozom i hipertireozom, te postpartalno, ukazujući na povećani citolitički potencijal ovih stanica pokrenut autoimunim procesom.

Zaključak: Trudnoća i postpartalno razdoblje utječu na tijek AITD, a tireoidna autoimunost utječe na funkciju štitnjače u trudnoći i postpartalno. NKT i Treg stanice imaju važnu ulogu u regulaciji autoimunosti u ispitanica s AITD tijekom trudnoće i postporođajno.

Ključne riječi: Autoimuna bolest štitnjače, hipertireoza, hipotireoza; NK stanice; NKT stanice; stanična imunost; T-regulacijske stanice; trudnoća; urođena imunost.

SUMMARY

Immune-Endocrine characteristics of autoimmune thyroid disease during pregnancy and in the early postpartum

The aim: Autoimmune thyroid disease (AITD) is the organ specific autoimmune disorder. It comprises two major clinical entities: Graves' disease and Hashimoto's thyroiditis, both characterised by the presence of thyroid specific autoantibodies directed against three major thyroid antigens: TSH receptor, thyroid peroxidase and thyroglobulin. It has been established that the proinflammatory, T helper cell 1 (Th1) type and Th1 cytokines play the major role in the pathogenesis of organ specific autoimmune diseases while the protective role goes to T helper cell 2 (Th2) type and Th2 cytokines. Normal pregnancy is characterised by Th2 domination over Th1 immunity which explains the amelioration of autoimmune disorders. However, after delivery, the Th1/Th2 ratio changes and exacerbation of autoimmune disorders usually occurs. If AITD is induced by Th1 mechanisms, the Th2/Th1 switch could explain the aggravation of AITD after delivery. Still, the exact pathophysiological mechanism remains unclear. NKT and regulatory T cells are considered to have a central role in prevention of autoimmunity and maintaining tolerance of allogenic transplants. The alterations of immunological parameters during AITD remain unclear, especially those concerning AITD during pregnancy. Our aim was to investigate the influence of the immunological parameters during pregnancy and in the postpartum on the development of AITD, more precisely the influence of Th, NK, NKT and T regulatory cells, to correlate the results with the hormone levels and to compare them with healthy pregnant and non pregnant women.

Patients and Methods: We investigated the presence of AITD in women during pregnancy and after delivery by analysing the thyroid hormone levels, thyroid antibody titres and ultrasound examination. We compared the results with healthy pregnant and postpartum

women and non pregnant controls. The phenotype and cytolytic potential of peripheral blood mononuclear cells of non pregnant, pregnant and postpartum women was analysed by flow cytometry after intracellular and surface staining.

Results: The mean TSH level gradually increases during pregnancy, although not significantly compared to non pregnant women. It falls in the postpartum and is significantly lower compared to the second half of pregnancy. The mean FT4 level decreases during pregnancy and is significantly lower compared to non pregnant women, while in the postpartum it is significantly higher than during pregnancy. Positive autoantibodies were found in 16% of euthyroid pregnant and 24% of euthyroid postpartum women. The mean TSH level in euthyroid pregnant women with positive antibodies was slightly, but not significantly, higher compared to control pregnancy. Subclinical or overt hypothyroidism was diagnosed in 8,6 % of pregnant and 14% of postpartum women while 2,7 % of pregnant and 2,6% of postpartum women were in subclinical or overt hyperthyroidism. Postpartum thyroiditis was diagnosed in 6,5% of women. Thyroid autoimmunity was found in 25% of pregnant and 41,5 % of postpartum women. The cells of innate immunity: NKT and Tregs were elevated in healthy pregnancies and in pregnancies with hypo-and hyperthyroidism, as well as postpartum in all experimental groups. NKT cells were reduced in pregnant women with positive antibodies indicating a decrease in NKT cell protective effect of pregnancy under the action of antibodies. Total perforin was decreased in healthy pregnancy, but higher in patients with positive antibodies, hypo-and hyperthyroidism and postpartum indicating the increased cytolytic potential of these cells in autoimmune process.

Conclusion: The pregnancy and postpartum influence the course of AITD, while thyroid autoimmunity also has an impact on the thyroid function during gestation and in the early postpartum. Both, NKT and T reg cells play an important role in regulation of autoimmunity in pregnant and postpartum women with AITD.

Key words: Autoimmune thyroid disease, hypothyroidism, hyperthyroidism; cellular immunity; innate immunity; NK cells; NKT cells; pregnancy; T-reg cells.

SADRŽAJ

1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA.....	1
1. 1. AUTOIMUNA BOLEST ŠTITNE ŽLIJEZDE	2
1.1.1. Gravesova bolest	3
1.1.1.1. TSH receptor i TSH receptor autoprotutijela	4
1.1.1.2. Autoprotutijela na tireoidnu peroksidazu i tireoglobulin	7
1.1.2. Hashimotov tireoiditis	7
1.1.2.1. Uloga TSH receptor autoprotutijela, TPO i TgAt autoprotutijela u Hashimotovom tireoiditisu	8
1.2. TRUDNOĆA I AUTOIMUNA BOLEST ŠTITNE ŽLIJEZDE.....	11
1.2.1. Fiziologija štitnjače u trudnoći	11
1.2.2. Autoimuna bolest štitne žlijezde u trudnoći	13
1.2.2.1. Autoimuna hipertireoza i trudnoća	14
1.2.2.2. Autoimuna hipotireoza i trudnoća.....	17
1.2.2.3. Učinci majčine autoimune hipotireoze na dijete.....	19
1.2.2.4. Tireoidna autoimunost i trudnoća.....	20
1.2.2.5. Postpartalni tireoiditis	22
1.3. Th1/Th2 IMUNOST.....	23
1.4. IMUNOLOŠKE OSOBITOSTI TRUDNOĆE	25
1.4.1. Imunološke osobitosti trudnoće na sistemskoj razini.....	25
1.4.2. Imunološke osobitosti trudnoće na lokalnoj razini	27
1.5. STANICE KOJE SUDJELUJU U REGULACIJI AUTOIMUNOSTI.....	28
1.5.1. NK stanice	28

1.5.1.1. Citolitički medijator perforin	29
1.5.2. NK stanice u autoimunoj bolesti štitne žlijezde	31
1.5.3. Uloga NK stanica u trudnoći i poslije poroda	33
1.5.3.1. NK stanice na materno fetalnoj plohi	34
1.5.4. Limfociti T	35
1.5.4.1. Limfociti T u autoimunoj bolesti štitne žlijezde.....	36
1.5.4.2. Limfociti T u trudnoći i poslije poroda	39
1.5.5. NKT stanice.....	41
1.5.5.1. NKT stanice u autoimunoj bolesti štitne žlijezde	44
1.5.5.2. NKT stanice u trudnoći	45
1.5.6. T regulacijske stanice (T regs)	47
1.5.6.1. Uloga T regulacijskih stanica u autoimunosti	51
1.5.6.2. Uloga T regulacijskih stanica u autoimunoj bolesti štitne žlijezde.....	55
1.5.6.3. Uloga T regulacijskih stanica u trudnoći i poslije poroda	57
2. CILJ ISTRAŽIVANJA.....	62
3. ISPITANICI I METODE.....	65
3.1. ISPITANICE	66
3.2. METODE	68
3.2.1. Nuklearno medicinske laboratorijske metode (radioimunološka analiza-RIA i slične metode).....	68
3.2.2. Ultrazvuk štitnjače.....	71
3.2.3. Metoda imunofluorescencije uz očitavanje protočnim citometrom	71

3.2.3. 1. Obilježavanje površinskih biljega i određivanje staničnog fenotipa metodom direktne i indirektne fluorescencije	71
3.2.3. 1.1. Direktna imunofluorescencija	72
3.2.3. 1.2. Indirektna imunofluorescencija	73
3.2.4. Obilježavanje i određivanje unutarstaničnog sadržaja perforina	73
3.2.5. Etičnost istraživanja i informirani pristanak	74
3.2.6. Statističke metode	75
4. REZULTATI.....	76
4.1. REZULTATI ISPITIVANJA HORMONA I AUTOIMUNOSTI ŠTITNJAČE	77
4.1.1. Ispitanice u trudnoći i poslije poroda s urednim hormonskim statusom i negativnim titrom tireoidnih autoprotutijela	77
4.1.1.1. Prikaz rezultata u prvoj i drugoj polovici eutireoidne trudnoće te postporođajnom razdoblju	79
4.1.2. Analiza vrijednosti hormona u ranom i kasnom postporođajnom razdoblju	82
4.1.3. Ispitanice u trudnoći te u postporođajnom razdoblju s urednim hormonskim statusom i povišenim titrom tireoidnih autoprotutijela	86
4.1.3.1. Usporedba srednjih vrijednosti hormona u eutireoidnih trudnica s povišenim titrom tireoidnih autoprotutijela i trudnica iz kontrolne skupine	89
4.1.3.2. Usporedba srednjih vrijednosti hormona postporođajno u eutireoidnih ispitanica s povišenim titrom tireoidnih autoprotutijela i ispitanica iz kontrolne skupine	91
4.1.4. Ispitanice u trudnoći i poslije poroda u autoimunoj hipotireozii.....	93
4.1.5. Ispitanice u trudnoći i poslije poroda u autoimunoj hipertireozii	95
4.1.6. Ispitanice u remisiji hipertireoze	97
4.1.7. Postpartalni tireoiditis	97

4.1.8. Autoimunost štitnjače u trudnoći	98
4.1.9. Autoimunost štitnjače u postporodajnom razdoblju.....	99
4.1.10. Promjene titra TPO autoprotutijela tijekom trudnoće i poslije poroda	101
4.1.11. Određivanje titra autoprotutijela specifičnih za TSH receptor (TSHR).....	102
4.2. IMUNOLOŠKE PROMJENE.....	103
4.2.1. Promjene urođenog imunološkog odgovora	103
4.2.1.1. Promjene NK stanica	103
4.2.1.2. Promjene NKT stanica	105
4.2.1.3. Promjene T regulacijskih stanica (Tregs).....	108
4.2.2. Izražaj citolitičke molekule perforina u ispitanica u trudnoći i poslije poroda	111
4.2.2.1. Izražaj citolitičke molekule perforina u eutireoidnih trudnica, u trudnica s hipotireozom i hipertireozom	112
4.2.2.2. Izražaj citolitičke molekule perforina u ispitanica poslije poroda	117
4.2.3. Korelacije između postotka NKT stanica i razine TPO protutijela.....	121
4.2.3.1. Korelacije između postotka NKT stanica i razine TPO protutijela tijekom trudnoće.....	121
4.2.3.2. Korelacije između postotka NKT stanica i razine TPO protutijela u postporodajnom razdoblju	124
5. RASPRAVA	128
6. ZAKLJUČCI.....	151
7. LITERATURA (REFERENCIJE)	156
ŽIVOTOPIS.....	190

1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA

1. 1. AUTOIMUNA BOLEST ŠTITNE ŽLIJEZDE

Autoimuna bolest štitne žlijezde (engl.: autoimmune thyroid disease - AITD) danas predstavlja najčešći organ specifični autoimuni poremećaj, kod otprilike 5% ukupne populacije (1). Imunotolerancija se može predstaviti kao uspostavljanje ravnoteže između prirodnih autoreaktivnih stanica s jedne strane i regulacijskih mehanizama koji im se suprotstavljaju s druge strane (2). Mali pomak u smjeru autoreaktivne strane, bilo povećanjem broja ili funkcije autoreaktivnih stanica ili smanjenjem regulacijskih mehanizama, manifestira se kao autoimunost (2). Autoimuna bolest štitne žlijezde je poremećaj funkcije koji nastaje kao posljedica imunološkog odgovora usmjerenog protiv vlastitih folikularnih stanica štitnjače, uz prisustvo cirkulirajućih protutijela specifičnih za tireoidne antigene i uz aktivaciju staničnih imunoloških mehanizama i oslobađanje citokina, limfocitnu infiltraciju i staničnu destrukciju (1,2,3,4). Poremećeno međudjelovanje abnormalnih tireocita, antigen predočnih stanica i T limfocita vodi ka abnormalnoj autoimunoj reakciji, napadajući tireoidne antigene (1). Što se tiče etiopatogeneze AITD, smatra se da u genetski predisponiranih osoba dolazi do poremećaja neuroendokrinološko-imunoloških interakcija uzrokovanih čimbenicima okoliša što vodi ka razvoju autoimune bolesti štitnjače (1). Geni odgovorni za predispoziciju za AITD mogu se podijeliti u dvije glavne grupe: imunomodulacijski geni i geni specifični za štitnu žlijezdu. U prvu grupu spadaju HLA DR, CD40, CTLA-4 i PTPN22 geni, dok drugu grupu čine Tg i TSHR geni (3). Prema današnjem gledištu, AITD se sastoji od dva glavna klinička entiteta: Gravesova bolest i tireoiditis Hashimoto. Patohistološki, oba stanja su karakterizirana limfocitnom infiltracijom tireoidnog parenhima. U Gravesovoj bolesti infiltracija je blaga i inducira stvaranje protutijela koja se specifično vežu za tireotropinski receptor (TSHR) i stimuliraju i rast štitnjače i funkciju tireoidnih folikularnih stanica dovodeći do hipertireoidizma (5). Ova protutijela mogu biti prenijeta fetusu tijekom trudnoće te uzrokovati fetalnu tireotoksikozu (5). S druge strane, u Hashimotovom tireoiditisu,

limfocitna infiltracija je značajnije izražena s posljedičnim subkliničkim ili kliničkim hipotireoidizmom. To je tipična T stanicama posredovana autoimuna bolest karakterizirana ektopičnom formacijom tercijarnih limfoidnih folikula unutar štitne žlijezde (5). Autoimunoj patogenezi AITD govori u prilog stvaranje protutijela na tireoidne antigene i limfocitna infiltracija štitne žlijezde te genetička povezanost s lokusima HLA gena, no, točni stanični imunološki mehanizmi koji posreduju bolest nisu poznati (6). Obzirom na učestalost, AITD je danas tema brojnih istraživanja i rasprava te u središtu interesa kako kliničara, tako i znanstvenika.

1.1.1. Gravesova bolest

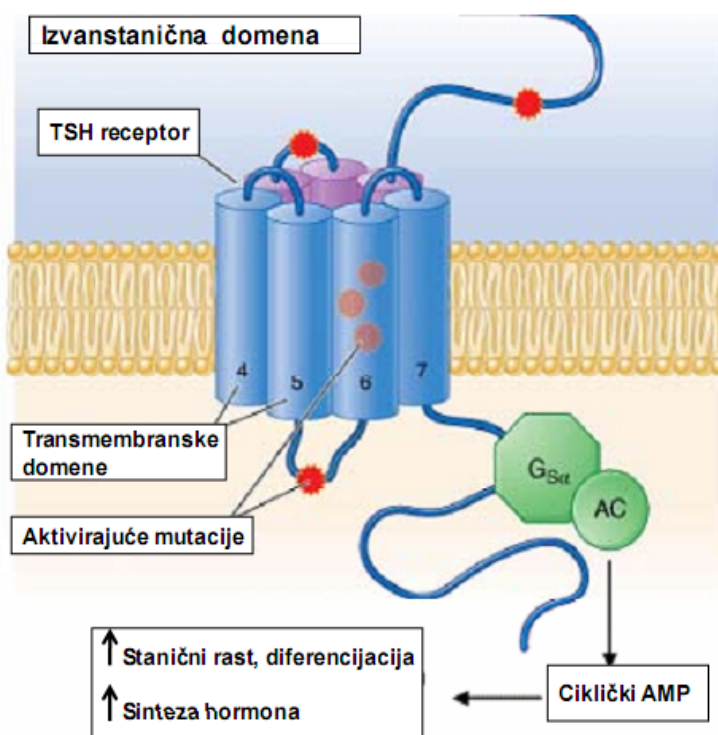
Gravesova bolest (autoimuna hipertireoza, Mb Basedow, difuzna toksična guša) je najčešći uzrok hiperfunkcije štitnjače, odnosno hipertireoze u današnje doba (7). Hipertireoza je patološki sindrom u kojem su tkiva izložena prevelikim količinama cirkulirajućih hormona štitnjače uslijed povećanog stvaranja i oslobađanja hormona iz štitne žlijezde. Brojne epidemiološke studije su pokazale jasan genetički utjecaj na razvoj AITD (4). HLA razred II geni DRB1, DQB1 i DQA1 su pokazali povezanost s Gravesovom bolešću (5, 6). Simmonds i sur. (8) su odredili genotip u 871 pacijenata s Gravesovom bolešću i utvrdili povezanost s DRB1 i DQA1 lokusima što ukazuje da te molekule razreda II imaju ulogu u prezentaciji tireoidnih antigena autoreaktivnim CD4 limfocitima. Za Mb. Basedow je karakteristična prisutnost organ specifičnih protutijela za tri glavna tireoidna antigena: receptor za tireotropin (TSH), tireoperoksidazu i tireoglobulin. Klinička slika hipertireoze varira od gotovo asimptomatskih oblika do klasične slike bolesti sa difuzno uvećanom štitnjačom, različite veličine koja je često glatka, elastična i reznjasta uz opće simptome kao što su nervoza, nemir i razdražljivost, umor, pojačano znojenje, palpitacije, osjećaj gušenja, ispadanje kose, te mršavljenje, unatoč pojačanom apetitu. Moguće su učestale stolice, u žena poremećaji

menstrualnog ciklusa te promjene na očima (retrakcija vjeđa, dvoslike, nemogućnost bulbarne konvergencije, egzoftalmus i dr.), topli i znojni dlanovi, vlažna i baršunasta koža. Nad štitnjačom se zbog prokrvljenosti i ubrzane cirkulacije katkad čuje auskultatorno sistolički, sistoličko-dijastolički ili kontinuirani šum. Akcija srca je tahikardna s divergentnim tlakom (7). Uz navedene, moguće su i ne tireoidne manifestacije kao što je dermatopatija (7).

1.1.1.1. TSH receptor i TSH receptor autoprotutijela

Glavna obilježja ove bolesti i ključni patogeneski mehanizam hipertireoze svakako su funkcionalna heterogena autoprotutijela na receptor za TSH (engl.: TSH receptor autoantibodies - TRAbs) koja se visoko specifično vežu na receptor za TSH (TSHR). Tireotropinski receptor je ciljani antigen T stanica i autoprotutijela u AITD (Graves i Hashimoto) (9). Protutijela na TSHR mogu ga aktivirati i u tom slučaju se zovu stimulirajuća autoprotutijela (engl.: Thyroid stimulating antibodies - TSAbs). To su dominantno autoprotutijela koja su prisutna u 97% bolesnika s Gravesovom bolešću, a svojim specifičnim vezanjem za TSH receptor na tireocitima potiču nekontroliranu stimulaciju tireocita i hipertireozu, odnosno povećanje lučenja hormona štitnjače te sekundarno sniženje lučenja tireotropina iz hipofize. Osim stimulirajućih, u serumu pacijenata s AITD nalaze se i TSHR specifična protutijela s inhibirajućim učinkom (eng.: Thyroid blocking antibodies - TBAs) koja vežući se za TSHR blokiraju tireotropno djelovanje TSH, što posljedično inducira atrofiju štitne žlijezde i hipotireoidizam (10,11). TSH receptor je član G protein vezane obitelji receptora s velikom izvanstaničnom domenom (11,12). Većina istraživača smatra da je izvanstanična podjedinica A receptora (N-terminalni kraj ektodomene receptora) prepoznata od strane stimulirajućih protutijela (TSAbs), a vezana je disulfidnom vezom s podjedinicom B koja je locirana puno bliže staničnoj površini (C terminalni kraj) (11,12). Protutijela koja prepoznaju B podjedinicu funkcioniraju kao blokirajuća protutijela (TBAs)

(11,12). Međutim, precizna lokalizacija vežućih epitopa za TSAbs ili TBAbs, kao i mehanizam aktivacije ili inhibicije TSH receptora još uvijek je nepoznanica. Naime, neka istraživanja su pokazala da TSAbs, TBAbs i TSH dijele epitope u neposrednoj blizini, odnosno imaju slična vezna mjesta (13). Minich WB i sur. (14) zaključili su da vezanje TSAbs i TBAbs za TSH receptor ne mora biti strogo vezano za točno određeni i odvojeni epitop. Krajnji N-terminalni dio čini se manje važan nego središnji dio ektodomene, a određeni udio TSAbs (i TBAbs) protutijela pokazuje interakciju i s C-terminalnim epitopom na TSH receptoru (14).



Slika 1. TSH receptor (prilagođeno iz reference broj 7).

Moguće je da su epitopi za TSAbs i TBAbs sterički vrlo blizu, no ipak različiti na molekularnom nivou, a razlika u jednoj aminokiselini u veznom mjestu može uzrokovati dramatično različite biološke učinke (15). Stimulirajuća protutijela potiču proizvodnju

cikličkog adenozin monofosfata (cAMP) kao rezultat TSHR aktivacije, dok blokirajuća ili inhibirajuća protutijela na TSHR inhibiraju stvaranje cAMP (11). Iz navedenog proizlazi da oboljeli od AITD mogu imati u serumu i stimulirajuća i blokirajuća protutijela, a klinička slika ovisi o vrsti prevladavajućih protutijela, tj. o njihovom međusobnom odnosu (16). Kim i sur. (17) opisuju da je serum pacijenata s Gravesovom bolešću mješavina stimulirajućih i blokirajućih protutijela, a TSH kompetirajuća aktivnost je često rezultanta obiju vrsta protutijela, iako u Gravesovoj bolesti dominiraju stimulirajući učinci (11). Stoga, hipertireoza može prijeći u eufunkcionalno i hipofunkcionalno stanje s odgovarajućom kliničkom slikom. Smatra se da u oko 50% pacijenata s Gravesovom bolešću nakon medikamentoznog liječenja dolazi do relapsa bolesti (18). Michelangeli i sur. (18) su dokazali da u pacijenata u kojih se titar stimulirajućih TRAbs protutijela normalizira tijekom medikamentozne terapije Gravesove bolesti postoji veća vjerojatnost dugotrajne remisije bolesti, za razliku od bolesnika u kojih titar autoprotutijela ostaje visok uz veću vjerojatnost relapsa. Dodatno Tonacchera i sur. (19) spominju i neutralna TSHR protutijela koja se vežu za TSH receptor, a ne utječu na vezanje tireotropina na receptor i njegov učinak. Prema nekim autorima stimulirajuća i blokirajuća protutijela na TSH receptor vežu se za konformacijske epitope, dok se neutralna protutijela na TSH receptor vežu za linearne peptide. Vrlo diskretne razlike u epitopima za stimulirajuća ili blokirajuća protutijela, stoga, čine se odgovorne za različite biološke učinke (20). Također se opisuje da i u serumima zdravih ispitanika mogu biti detektirana neutralna protutijela. Ipak, prisutnost ovih protutijela je rijetka i njihov klinički značaj do sad nije poznat (21). Bez obzira na dosadašnja saznanja, točne biološke karakteristike TSHR protutijela nisu u potpunosti objašnjene na molekularnoj razini, odnosno ne zna se točno što čini protutijelo stimulatorom ili blokatorom (15). Radi se o protutijelima visokog afiniteta (10).

1.1.1.2. Autoprotutijela na tireoidnu peroksidazu i tireoglobulin

Osim TSHR protutijela, za autoimunu bolest štitne žlijezde karakteristična su još i tireoglobulinska autoprotutijela (TgAt) koja se specifično vežu za antigen tireoglobulin, te mikrosomalna (TPOAt) autoprotutijela koja su specifična za citoplazmatski antigen tireoidnu peroksidazu (TPO) (22,23). Tireoidna peroksidaza je glikoprotein, prvotno opisan kao tireoidni mikrosomalni antigen, a nalazi se vezan za plazmatsku membranu na apikalnoj površini tireoidnih folikularnih stanica, a dobije se iz mikrosomalne frakcije izdvojene ultracentrifugacijom iz homogenata stanica štitnjače (22,23). Tireoidna peroksidaza (TPO) je ključni enzim u sintezi hormona štitnjače tiroksina (T4) i trijodtironina (T3). Sastoji se od 933 aminokiseline i ima približno 107 kDa (22,24). Enzim sadrži prostetičnu skupinu hema i katalizira jodinaciju tirozilskih ostataka i spajanje jodtirozilskih ostataka (monojod tirozina i dijodtirozina u T4 i T3 (25). Uloga TPO autoprotutijela u patogenezi autoimune bolesti štitnjače do danas nije u potpunosti poznata, no značaj ovih protutijela je u tome što njihova prisutnost u serumu dokazuje autoimuni proces u štitnjači (26,27). Utvrđeno je, naime, da je uz pozitivna TPO autoprotutijela uvijek prisutna limfocitna infiltracija štitnjače, a prema nekim autorima ova protutijela uglavnom nastaju u limfocitnim infiltratima u štitnjači (16, 27). Stoga se TPO smatraju jednom od glavnih karakteristika AITD (28).

1.1.2. Hashimotov tireoiditis

Najčešći uzrok primarne hipotireoze u žena reproduktivne dobi je Hashimotov tireoiditis ili kronični limfocitni tireoiditis. To je najčešća autoimuna organ specifična bolest štitnjače koja vodi do hipotireoze uslijed razaranja tkiva štitnjače u sklopu kronične autoimune upale i prethodno opisane značajne limfocitne infiltracije parenhima, te zbog stvaranja autoimunih protutijela na tireoidne antigene. Hashimotova bolest je sistemski poremećaj s hipotireozom, usporenjem metabolizma svih stanica organizma. Može doći do

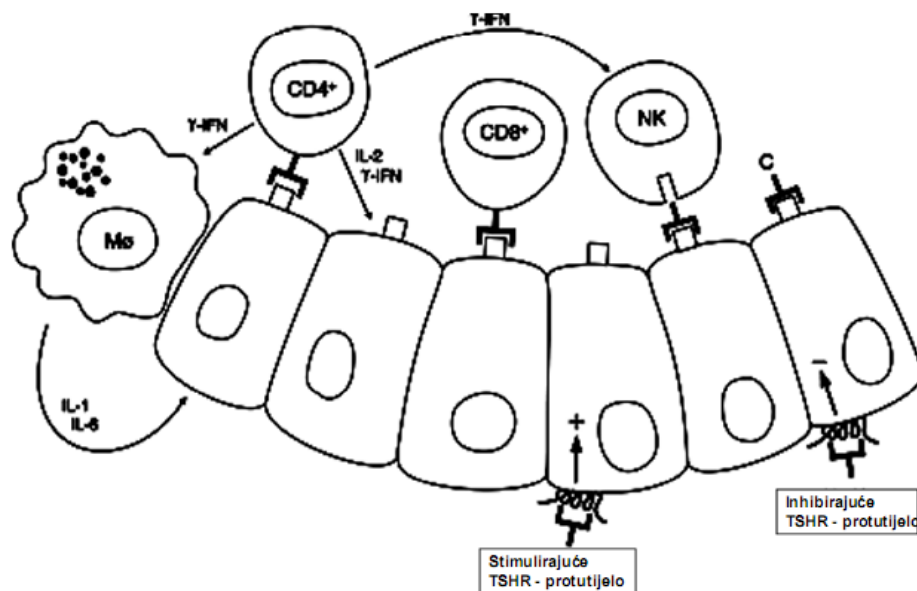
dijastoličke disfunkcije lijeve klijetke, izostanka ovulacije te porasta LDL lipoproteina. Smanjena je ekscitacija i stvaranje topline, metabolizam je usporen, a u manifestnoj bolesti karakteristični su ne tjestasti edemi s nakupljanjem soli, hidrofilnih mukopolisaharida i bjelančevina u intersticiju. U kliničkoj slici prevladava umor, malaksalost, pospanost, zimogroznost, promuklost, zatvor, porast tjelesne težine uz smanjen apetit, smanjeno znojenje, ne tolerancija hladnoće, depresija, grčevi mišića, podbuhlost lica, suha, hrapava, perutava koža, bradikardija te menstrualni poremećaji u žena (7). Hashimotov tireoiditis može koegzistirati s diabetes mellitusom i drugim bolestima sa cirkulirajućim autoprotutijelima kao što su Sjogren sindrom, perniciozna anemija, SLE, reumatoidni artritis i druge (7, 29).

1.1.2.1. Uloga TSH receptor autoprotutijela, TPO i TgAt autoprotutijela u Hashimotovom tireoiditisu

Smatra se da u osoba s nasljednom sklonošću (HLA DR molekule) dolazi do autoimune upale koja vodi ka propadanju funkcionalnog tkiva štitnjače te nastanku ranije spomenutih blokirajućih ili inhibirajućih protutijela na TSH receptor koja se vežu umjesto tireotropina i sprečavaju njegov učinak na tireocit (TBABs) (5, 10). Ova autoprotutijela blokiraju TSH induciranu proizvodnju cAMP, kao i TSH induciranu DNA sintezu te preuzimanje joda u kultiviranim tireoidnim stanicama (30). Epitopi za TBABs smješteni su, prema nekim istraživanjima, na C-terminalnom kraju izvanstanične domene TSH receptora, ostaci 270-395 (9). Ova protutijela, inhibirajući TSH učinak uz limfocitnu infiltraciju štitne žlijezde s funkcijskim propadanjem tkiva, postupno dovode do hipotireoze te uslijed snižene koncentracije hormona i do hipersekrecije TSH. Osim blokirajućih TBAB autoprotutijela, u Hashimotovom tireoiditisu također su utvrđena TgAt i TPO autoprotutijela, TSAB autoprotutijela, a moguća su i autoprotutijela na hormone štitnjače i na TSH (7,16). Protutijela na TPO su heterogena autoprotutijela koja prepoznaju više mjesta na TPO molekuli (31).

Usmjerena su na konformacijske epitope na TPO, na imunodominantnoj regiji koja se sastoji od domene A i B, a prema nekim podacima, prisutna su u gotovo svih pacijenata s Hashimotovom bolešću, u dvije trećine žena s postpartalnim tireoiditisom i u 75% pacijenata s Gravesovom bolešću, no njihova točna uloga u patogenezi ostaje još uvijek nejasna (24,31,32,33). Prema nekim autorima, u etiologiji Hashimotovog tireoiditisa, TPO autoprotutijela imaju sekundarnu ulogu, dok su primarni uzroci drugi destruktivni imuni mehanizmi (23,26,27,28,34). Hawkins i sur. (35) smatraju, međutim, da titar TPO autoprotutijela korelira s ozbiljnošću Hashimotove bolesti, odnosno limfocitne infiltracije. Dokazano je da se TPO protutijela vežu za folikularne stanice štitnjače, pokreću sustav komplementa i stanicama posredovanu citotoksičnost (24). Utvrđena je stanična citotoksičnost ovisna o protutijelima (engl.: antibody dependent cell cytotoxicity - ADCC) u serumu pacijenata s Hashimotovom bolešću, a citotoksični učinak korelira s titrom TPO protutijela (36, 37). Autoprotutijela na TPO ili tzv. mikrosomalna autoprotutijela se, stoga povezuju s komplement fiksirajućim IgG1 protutijelima (38). Do oštećenja tireoidnih stanica in vitro dolazi putem NK stanicama posredovane citotoksičnosti (38). No, još uvijek se ne zna da li mikrosomalna protutijela mogu izravno oštetiti stanice štitnjače (39). Novija istraživanja na humaniziranom T staničnom transgeničnom modelu upućuju da T stanice same mogu izazvati tireoiditis (40). Ova protutijela mogu aktivirati komplement ili NK stanice putem Fc receptora (ADCC). Ciljni antigeni mogu biti prepoznati od strane CD8+ citotoksičnih stanica ili CD4+ stanica koje luče interferon γ (IFN γ) i interleukin-2 (IL-2) (34,36,37). Interferon γ može aktivirati makrofage koji potom ubijaju tireocite ili luče interleukin-1 (IL-1) i interleukin-6 (IL-6) koji utječe na rast tireocita i njihov metabolizam (26). Ovi citokini mogu imati izravne učinke na rast i metabolizam stanica štitnjače. Limfocitna infiltracija štitne žlijezde može se vizualizirati i ehosonografski (41). Hipoehogenost je, naime, rani znak AITD, a može se vidjeti i prije nego su detektabilna TPO autoprotutijela (42, 43). Obzirom da

su u cirkulaciji bolesnika s AITD prisutna i TSABs i TBABs, moguće je da se iz hiperfunkcionalnog stanja prijeđe u hipofunkcionalno i obratno. Receptori za TSH se nalaze u gotovo svim tkivima, pa su i manifestacije hipotireoidizma vrlo varijabilne. U žena su česti poremećaji menstrualnog ciklusa, moguća je povezanost s infertilnošću, učestalim spontanim pobačajima te poremećajima funkcije štitne žlijezde tijekom trudnoće (44,45). Pacijenti su eutireoidni u početku bolesti, odnosno sve do dovoljnog gubitka funkcionirajućih tireoidnih folikularnih stanica. Najranija faza evolucije hipotireoze je subklinička, s povišenim vrijednostima TSH, a još uvijek normalnim koncentracijama tireoidnih hormona u serumu.



Slika 2. Različiti imunološki mehanizmi dovode do alteracije u metabolizmu i rastu stanica štitnjače (prilagođeno iz reference broj 26)

1.2. TRUDNOĆA I AUTOIMUNA BOLEST ŠTITNE ŽLIJEZDE

1.2.1. Fiziologija štitnjače u trudnoći

Autoimuna bolest štitne žlijezde je čest endokrini poremećaj u žena reproduktivne dobi (5-10%), pa tako i u trudnoći (46). Trudnoća ima značajan utjecaj na regulaciju funkcije štitne žlijezde, a poremećaji funkcije štitne žlijezde mogu utjecati na začeće, ali i na tijek trudnoće te u postpartalnom razdoblju. Vrlo složene veze između trudnoće i štitne žlijezde su tema brojnih diskusija i istraživanja. Tijekom same trudnoće dolazi do određenih promjena u fiziologiji funkcije štitne žlijezde, odnosno do promjena u metabolizmu hormona štitnjače koji su dobro poznati. Visoka razina estrogena u trudnoći potiče porast glavnog serumskog transportnog proteina za hormone štitnjače (TGB) potičući povećanje njegove sinteze i smanjenu razgradnju u jetri (47). Osim TGB-a, transtiretin i albumin također imaju ulogu. Razina albumina, koji ima najmanji afinitet za tiroksin (T4) i omogućava njegovo brzo oslobađanje, postepeno opada tijekom trudnoće (48,49). Protein TGB je aktivni nosač koji ima mogućnost izmjene iz visoko afinitetnog oblika u protein niskog afiniteta (50). Razina TGB-a je najveća u drugom i trećem tromjesečju trudnoće, a opada već 3. do 4. dan po porodu (47). Posteljica počinje proizvoditi humani korionski gonadotropin (hCG) u prvom tjednu poslije začeća i njegova razina je najveća u 10 tjednu kada počinje opadati i postiže plato u dvadesetom tjednu (51,52). Humanu korionski gonadotropin (hCG) svojim tireotropnim učincima također stimulira proizvodnju tiroksina i trijodtironina u štitnoj žlijezdi putem stimulacije TSH receptora što dovodi do blagog porasta razine slobodnog trijodtironina (FT3) i slobodnog tiroksina (FT4) sa sekundarnim padom koncentracije TSH (47). Stimulacija TSH receptora ovisi o amplitudi i trajanju hCG pika. Humanu korionski gonadotropin, stoga može izazvati prolaznu gestacijsku hipertireozu koja se dešava u 2-3% trudnoća (47). Približno 10 % žena ima TSH ispod donje granice normale, a do 10% žena ima vrijednost TSH pri donjoj granici (52). Tijekom trudnoće razina TSH raste s najvišim

vrijednostima u trećem tromjesečju, neovisno o zasićenosti jodom (53). Porast glomerularne filtracije tijekom trudnoće dovodi do povećanog renalnog klirensa joda zbog čega dolazi do povećanih potreba za jodom od strane majke (47). Povećani renalni klirens joda zajedno s porastom TGB-a utječe i na fetalnu dostavu joda, stoga štitnjača povećanu potrebu za jodom mora nadoknaditi pojačanim radom za oko 30-50%. To se može postići povećanjem volumena i povećanim dnevnim unosom joda. Povećanje volumena štitnjače u trudnica obično je veće u područjima siromašnima jodom. U drugoj polovici trudnoće, dok TSH raste, koncentracija T4 hormona pada. Čak i u područjima sa zadovoljavajućom zasićenošću jodom, više autora utvrdilo je niže vrijednosti slobodnog tiroksina (FT4) i slobodnog trijodtironina (FT3), nego u ne trudnih žena (54). U zadnjim mjesecima trudnoće, vrijednosti FT4 često budu i ispod referentnog intervala (54). Promijenjen periferni metabolizam majčinih hormona štitnjače povezuje se sa porastom jodtironinskih dejodinacijskih procesa, prvenstveno dejodinaze tipa III. Naime, u posteljici se nalaze dejodinaza tip II i III. Dejodinaza tip II intracelularno aktivira T4 u T3, dok dejodinaza tip III inaktivira T4 i T3 i koncentracija joj se povećava s napredovanjem trudnoće, te se tako omogućuje veći transplacentarni prijenos joda fetusu (47,55). Stoga, nakon prvog tromjesečja trudnoće manje količine majčinog T4 prolaze transplacentarno zbog slabije permeabilnosti i djelovanja placentalnih dejodinaza (56). Fetus je tijekom prvog tromjesečja ovisan isključivo o majčinom tiroksinu, a kasnije postupno započinje vlastitu produkciju hormona koja ovisi o transplacentarnom prijenosu i koncentraciji joda u majčinoj cirkulaciji (56). Na veličinu štitne žlijezde općenito utječu različiti čimbenici kao što je unos joda, genetika, spol, dob, razina TSH, antropometrijska mjerenja, pušenje (57). U područjima sa zadovoljavajućim unosom joda, volumen štitnjače se bitnije ne mijenja tijekom trudnoće (58). Istraživanja su pokazala da u grupi žena koje žive u području s graničnom deficijencijom joda, a uzimale su 200 µg jodida, volumen štitnjače se nije promijenio, dok je u grupi žena koje su uzimale 50 µg jodida došlo do blagog povećanja

štitnjače u trudnoći (59). Međutim, postoje studije koje ukazuju na povećanje volumena štitnjače tijekom trudnoće i u područjima sa zadovoljavajućim unosom joda (60). Nakon poroda dolazi do smanjivanja volumena štitnjače. Uz pomoć color flow Doppler ultrazvučne metode primijećen je povećani intratireoidalni krvni protok u štitnjači tijekom trudnoće, uz smanjenje protoka godinu dana poslije poroda (60,61).

1.2.2. Autoimuna bolest štitne žlijezde u trudnoći

Nekoliko većih studija potvrdilo je predominaciju žena u tireoidnoj autoimunosti, budući da je u njih veća učestalost prisutnosti tireoidnih autoprotutijela, i to približno dva do tri puta veća nego u muškaraca (62). Procjena na temelju jedne od najvećih studija (NHANES III) upućuje da je u 17 % žena povišen titar TPO autoprotutijela (TPOAt), dok je 15,2 % žena pozitivno na tireoglobulinska autoprotutijela (TgAt) (62). Smatra se da i povećani unos joda utječe na tireoidnu autoimunost, iako je točan patogenetski mehanizam nepoznat. Prevalencija tireoidnih autoprotutijela, procijenjena velikom epidemiološkom studijom, iznosi do 18 % u područjima sa zadovoljavajućim unosom joda, a do 25 % u uvjetima pretjeranog unosa joda, te samo 13 % u uvjetima jodne deficijencije (63). Bolesti štitne žlijezde, stoga su danas čest endokrinološki poremećaj u trudnoći. Približno 2-3% žena ima tireoidnu disfunkciju, u smislu hiperfunkcije ili hipofunkcije, a oko 10% žena ima dokazanu autoimunu bolest štitne žlijezde, iako su eutireoidnog hormonskog statusa (64). U zadnjih dvadeset godina, značajno se poboljšalo razumijevanje fiziologije štitnjače u trudnoći te povezanost između tireoidne disfunkcije i opstetričkih/neonatalnih komplikacija kao rezultat više istraživačkih studija. Glinoeur i sur. (47) definiraju pojam autoimunog tireoiditisa kao stanje u kojem je dokazano prisustvo vlastitih cirkulirajućih antitireoidnih protutijela (TPOAt, TgAt, TRAbs), neovisno o funkciji štitne žlijezde. Poremećaj može biti subklinički, gdje je uz povišen titar autoprotutijela, abnormalno snižena ili povišena vrijednost tireotropina (TSH), dok su

serumske koncentracije hormona štitnjače unutar granica normale. U slučaju kliničkog poremećaja, odnosno u klinički manifestnoj hipotireozu ili hipertireozu, uz poremećaj tireotropina abnormalne su i vrijednosti hormona štitnjače (47). Obzirom da se abnormalna funkcija štitnjače povezuje s mogućim neželjenim posljedicama trudnoće i neonatalnim komplikacijama, vrlo je važno identificirati poremećaj funkcije čim ranije u trudnoći, a kao rezultat stalnih hormonskih promjena, predložene su nove referentne vrijednosti za hormon tireotropin u trudnoći žena s AITD, specifične za svako tromjesečje. Gornja granica za TSH, prema novim smjernicama, je 2,5 mIJ/L u prvom tromjesečju, a 3 mIJ/L u drugom i trećem tromjesečju. Nadalje, donja fiziološka granica je 0,1 mIJ/L u prvom, 0,2 mIJ/L u drugom i 0,3 mIJ/L u trećem tromjesečju (65).

1.2.2.1. Autoimuna hipertireoza i trudnoća

U žena reproduktivne dobi, Gravesova bolest je najčešći uzrok hipertireoze, s prevalencijom procijenjenom na 1% (62). Među trudnim ženama, hipertireoza je prisutna u oko 0,2% i uglavnom (85-90%) je uzrokovana Gravesovom bolešću. U ovom tipu autoimunog poremećaja dominira humoralni imunološki odgovor s karakterističnim, prethodno opisanim, stimulirajućim protutijelima protiv TSH receptora (TSAbs) koja uzrokuju hiperfunkciju štitnjače i gušu. Stoga su TSAbs glavni biljeg bolesti, a njihova koncentracija obično pada tijekom trudnoće (46,66). Dijagnoza nekad može biti otežana jer prolazna hipertireoza u trudnoći može biti posljedica i tzv. ne imunog prolaznog hipertireoidizma u Hyperemesis Gravidarum ili gestacijskoj tireotoksikozi, koja je limitirana samo na prvo tromjesečje trudnoće. Karakterizirana je povišenom serumskom vrijednošću slobodnog tiroksina (FT4) i suprimiranim ili nedetektabilnim serumskim TSH, u odsustvu tireoidne autoimunosti (64). Javlja se zbog značajno povišene razine hCG-a, iznad normalne razine za trudnoću ili zbog abnormalne molekularne varijante ovog hormona s povećanom

biološkom aktivnošću. Humani korionski gonadotropin ima najveću vrijednost u prvom tromjesečju, a ima sposobnost stimulacije TSH receptora (64). Serumski FT4 se spontano obično normalizira do 15 tjedna s rezolucijom simptoma, dok serumski TSH može ostati suprimiran još nekoliko tjedana. U većine žena kojima se dijagnosticira hipertireoza prvi put u trudnoći simptomi su obično prisutni i nekoliko mjeseci unaprijed. Prepoznavanje kliničke slike hipertireoidizma može biti otežano jer su ne tolerancija vrućine, tahikardija, znojenje, dispnea, nesanica, smanjena tolerancija fizičke aktivnosti i nervoza prisutni i u zdravih trudnica (46,64). Guša je obično prisutna (64). Komplikacije ne liječene ili ne adekvatno liječene hipertireoze u trudnoći u majke se povezuju s povećanim rizikom od preeklampsije i kongestivnog zatajenja srca te tireoidne oluje. U tijeku trudnoće, hipertireoza može povećati rizik od pobačaja, mrtvorodenosti, prijevremenog poroda i abrupcije posteljice. Fetalna hipertireoza koja se događa u manje od 0,01% trudnoća može dovesti do tahikardije, fetalne guše, ubrzane koštane maturacije, zastoja u rastu, male novorođenačke težine i malformacija (67,68,69). Višak hormona štitnjače u fetusu može biti odraz majčinih tireoidnih hormona ili majčinih stimulirajućih TRAbs koja prelaze posteljicu. Ova protutijela utječu na fetus tek nakon dvanaestog tjedna gestacije, kada fetalna štitnjača počinje odgovarati na stimulaciju (70). U kasnoj trudnoći, odnosno u 36 tjednu gestacije povišen titar TSHR protutijela znači povećan rizik od neonatalne hipertireoze, a obično traje do 12 tjedana postnatalno zbog sporog klirensa majčinih protutijela, s poluvremenom života oko 3 tjedna (70,71,72). Zanimljivo je da se tijek i napredovanje autoimune bolesti štitnjače mijenja tijekom trudnoće i postpartalno (73). Naime, tijekom trudnoće dolazi do odgovarajućih promjena u imunološkom statusu žene zajedno s navedenim promjenama metabolizma u smislu imunotolerancije majke prema fetusu koji na svojim stanicama ima i očeve antigene strane majci. Stoga se smatra da je u trudnoći smanjena stanična imunost kako ne bi došlo do odbacivanja fetusa, a može se pretpostaviti da te promjene u imunološkom statusu trudnice potom utječu i na tijek same

autoimune bolesti. Prirodni tijek Gravesove bolesti u trudnoći karakteriziran je s pogoršanjem simptoma u prvoj polovici trudnoće, te s poboljšanjem u drugoj polovici i s pogoršanjem, odnosno recidivom postpartalno, što se dijelom objašnjava imunomodulacijom majčinog imunološkog odgovora tijekom trudnoće (68). Generalizirana, fiziološka imunosupresija tijekom trudnoće objašnjava se značajnim hormonskim promjenama, prvenstveno značajno povećanom razinom progesterona, no točan patofiziološki mehanizam ovog fenomena nije poznat (34). Postepeno poboljšanje, ranije postojeće hipertireoze u drugoj polovici trudnoće je vjerojatno odraz pada titra TSAbs i TPO autoprotutijela do kojeg obično dolazi u drugom i trećem tromjesečju (34,68,70,74). U poslije porođajnom razdoblju, kada prestaje imunosupresija, dolazi do porasta stimulirajućih, odnosno TSAbs autoprotutijela te često i do relapsa Gravesove bolesti, obično 4-8 mjeseci poslije poroda (34,70). U nedavnoj studiji u kojoj su se pratili pacijenti u remisiji nakon provedene tireostatske terapije, ponovno javljanje Gravesove bolesti utvrđena je u 84% pacijentica u postpartalnom razdoblju u usporedbi s 56% ponovnog javljanja bolesti u populaciji žena koje nisu trudne (75). Treba uvijek uzimati u obzir da i hCG stimulacija u prvom tromjesečju snižava titar TSAbs tijekom trudnoće (76). Iz svega navedenog slijedi da se autoimuna bolest štitnjače tijekom trudnoće i postpartalno dijagnosticira i može se pratiti, osim određivanjem tireoidnog statusa, i putem određivanja titra TPOAt i TSAbs (77). Promjene u titru stimulirajućih i blokirajućih protutijela mogu se povezati s remisijom Gravesove bolesti tijekom trudnoće i ponovnim javljanjem bolesti u postpartalnom periodu (78). Zanimljivo je da oko 30% žena s Gravesovom bolešću prekida liječenje u 2. i 3. tromjesečju (78). Osim toga, imunološki odgovor tijekom trudnoće karakteriziraju i promjene u odnosima limfocitnih subpopulacija koje vjerojatno utječu na klinički tijek bolesti (78). Adekvatno liječenje hipertireoze je od presudne važnosti da bi se spriječile neželjene komplikacije u majke te fetalne i neonatalne komplikacije. Tireostatska terapija je terapija izbora. Cilj je uz najmanju medikamentoznu terapijsku dozu spustiti

vrijednost FT4 u područje gornje trećine referentnih vrijednosti ili barem u područje granično povišenih vrijednosti. Prevelike doze tireostatske terapije mogu utjecati na fetalnu tireoidnu funkciju s razvojem hipotireoze i/ili guše (64).

1.2.2.2. Autoimuna hipotireoza i trudnoća

U područjima s jodnom deficijencijom glavni uzrok hipotireoze je upravo manjak joda. U područjima s adekvatnim unosom joda, glavni uzrok hipotireoze je autoimuni Hashimoto tireoiditis (73). Procijenjena prevalencija Hashimoto tireoiditisa u populaciji je oko 18% . U žena generativne dobi, prevalencija tireoidnih autoprotutijela je između 10 i 15%, a raste s dobi (62). Za razliku od Gravesove bolesti, u Hashimotovom tireoiditisu predominira stanični imunološki odgovor s posljedičnim postupnim razaranjem tkiva štitnjače, što često rezultira hipofunkcijom, tj. hipotireozom (69). Iako, izgleda ne igraju značajnu ulogu u patogenezi ove bolesti, TPO i Tg autoprotutijela prisutna su u više od 90%, odnosno 80% slučajeva (79). Dokazano je, nadalje, da tijekom trudnoće ova protutijela postepeno opadaju s najnižim vrijednostima u trećem tromjesečju, a već 6 tjedana poslije poroda dolazi do njihovog porasta, tako da se približno za 12 tjedana podignu na razinu prije trudnoće (80,81). Subklinička hipotireoza karakterizirana je urednim vrijednostima slobodnih hormona štitnjače, a blago povišenom vrijednošću tireotropina, koja je prema najnovijim smjernicama u žena s pozitivnim tireoidnim protutijelima iznad 2,5 mIJ/L u prvom tromjesečju, te iznad 3 mIJ/L u drugom i trećem tromjesečju (65). I klinička i subklinička hipotireoza, pojavljuju se približno u 2-4% žena, a povezuju se s komplikacijama u trudnoći i pri porođaju kao što su gestacijska hipertenzija, abrupcija posteljice, postpartalna hemoragija, prijevremeni porod, pobačaj, anemija (82). Allan i sur. (82) dokazali su da su trudnice čiji je TSH bio viši od 6mIJ/L imale značajno više slučajeva fetalne smrti u odnosu na kontrolnu skupinu zdravih trudnica. Negro i sur. (83) utvrdili su veću učestalost pobačaja u trudnica s

negativnim tireoidnim autoprotutijelima čiji je TSH bio između 2,5 i 5 mIJ/L u prvom tromjesečju trudnoće u odnosu na trudnice čiji je TSH bio manji od 2,5 mIJ/L. Od fetalnih komplikacija povećani je rizik od male porođajne težine, neonatalnog respiratornog distresa i fetalnih abnormalnosti, zabilježeni su i hidrocefalus, hipospadija, a dokazano je da majčina hipotireoza utječe i na neurofiziološki razvoj djeteta (44,52,84). Međutim, utvrđeno je da korekcija hipotireoze uvođenjem supstitucijske terapije, odnosno L-tiroksina smanjuje rizik od komplikacija (44,52). Hipotireoza se također povezuje s infertilnošću, budući da nepravilnosti menstrualnog ciklusa, uključivši oligomenoreju, menoragiju i ovulacijsku disfunkciju koreliraju s povišenjem serumske razine TSH. Slično tome, hipotireoza se povezuje sa smanjenom uspješnošću s in vitro fertilizacije u infertilnih žena, a uvođenje supstitucijske terapije poboljšava uspješnost implantacije embrija i uspješan ishod trudnoće (4,85). Žene s hipotireozom mogu zanijeti, no učestalost infertilnosti je veća i manja je vjerojatnost za uspješnost in vitro fertilizacije (44). Postavljanje dijagnoze Hashimotovog tireoiditisa u trudnoći je otežano zbog sličnosti simptoma hipotireoze sa subjektivnim smetnjama koje su česte u trudnica te je presudno određivanje koncentracija hormona i titar TPO autoprotutijela u serumu. Utvrđeno je i da u žena s pozitivnim nalazom TPO protutijela tijekom rane trudnoće češće dolazi do značajnog pada u koncentraciji FT4, te porasta vrijednosti TSH u kasnijoj trudnoći (86). To znači da u žena s autoimunim tireoiditisom, odnosno povišenim titrom autoprotutijela, trudnoća može inducirati progresiju u klinički manifestnu hipotireozu. To je zbog toga što tijekom trudnoće majčina štitna žlijezda mora proizvesti više hormona štitnjače, a žene s autoimunim tireoiditisom ili subkliničkom hipotireozom imaju smanjenu funkcijsku rezervu i ne mogu odgovoriti povećanom proizvodnjom, stoga se razvija hipofunkcija koja se pogoršava s napredovanjem trudnoće (86). Zato i kod trudnica koje već primaju supstitucijsku terapiju hormonima štitnjače, tijekom trudnoće treba povećati nadoknadnu terapijsku dozu. Za vrijeme trudnoće, povećana

potreba za hormonima štitnjače od 30 do 40% rezultat je povećanog transplacentarnog prijenosa, povišene razine glavnog serumskog transportnog proteina za hormone štitnjače (TGB) i većeg krvnog volumena. Trudnice sa subkliničkom hipotireozom ili graničnim razinama TSH na početku trudnoće ne mogu zadovoljiti povećane potrebe te mogu pokazivati znakove tireoidne insuficijencije tijekom trudnoće (83).

1.2.2.3. Učinci majčine autoimune hipotireoze na dijete

Važno je naglasiti da su majčina i fetalna tireoidna funkcija međusobno povezane. Fetalna štitna žlijezda koncentrira i započinje sintezu tireoidnih hormona tek nakon 10-12. tjedna trudnoće (86,87). No, i nakon toga fetusu su potrebni i majčini i vlastiti tireoidni hormoni za normalan razvoj. Manifestna klinička hipotireoza majke povezuje se s intelektualnim oštećenjem djeteta, no učinci blage majčine tireoidne deficijencije manje su poznati, odnosno jasni (88). Smatra se da štetni učinci ovise o težini i vremenu nastupa insuficijencije majčinih hormona. Poznato je da teška jodna deficijencija dovodi do kretenizma. Snižena vrijednost slobodnog tiroksina u ranoj trudnoći povezuje se s poremećajem psihomotornog razvoja u ranom djetinjstvu (89). Ipak, ukoliko se vrijednosti slobodnog tiroksina povise, odnosno normaliziraju tijekom trudnoće, izgleda da nema štetnih učinaka (89). Također je dokazano da je u djece majki s hipotireoidizmom u sklopu kroničnog autoimunog tireoiditisa, veći rizik od klinički relevantnih kognitivnih deficita (84). Haddow i sur. (84) su uočili da u djece žena koje su imale povišeni tireotropin u sredini trudnoće, postoji mali, ali značajan pad u kvocijentu inteligencije. Jasno je da majčin hipotireoidizam za vrijeme trudnoće zabrinjava zbog mogućih dugotrajnih psihoneuroloških posljedica na potomstvo, odnosno zbog povećanog rizika uslijed nedovoljnog placentarnog transfera majčinih tireoidnih hormona fetusu u razvoju u prvoj polovici trudnoće (56). Smatra se, naime, da je 30% serumske razine T4 izmjereno iz krvi pupkovine pri porodu majčinog

porijekla (90). Razvoj mozga fetusa, s neuronalnom multiplikacijom, migracijom i arhitektonskom organizacijom, u drugom trimestru odgovara fazi u kojoj je dostava tireoidnih hormona fetusu gotovo isključivo majčinog porijekla (56). To znači da majčina hipotireoza u drugom tromjesečju može rezultirati ireverzibilnim neurološkim deficitima (56). Jasno je, stoga, odakle tako veliki interes i važnost istraživanja problematike autoimunog tireoiditisa u trudnoći. Budući da je AITD sve češći poremećaj u mladim žena, a obzirom na posljedice te činjenicu da subklinička hipotireoza može dugo ostati nedijagnosticirana (i zbog toga ne liječena), neki autori predlažu i sistematski probir (prema engl. „screening“) na prisutnost AITD u trudnoći (73). Pogotovo, s obzirom da se tireoidni deficit često povećava s napredovanjem trudnoće u žena s AITD (91).

1.2.2.4. Tireoidna autoimunost i trudnoća

U žena generativne dobi, prevalencija pozitivnih tireoidnih autoprotutijela, odnosno tireoidne autoimunosti uz uredan hormonski status je približno 10-15% i predstavlja najčešću autoimunu bolest današnjice (62). U slučaju trudnoće u ovih žena postoji povećan rizik, odnosno sklonost za razvoj subkliničke ili kliničke hipotireoze kako trudnoća napreduje. To postavlja pitanje kako tretirati, odnosno pratiti trudnice s povišenim titrom tireoidnih protutijela, a s urednim nalazom hormona. Jesu li one u većoj opasnosti od komplikacija tijekom trudnoće i porođaja od žena s negativnim titrom autoprotutijela? Prisutnost ovih autoprotutijela uglavnom se povezivala s opstetričkim poteškoćama, prvenstveno s pobačajem ili prijevremenim porodom, iako su rezultati studija dosta varirali (92). Stagnaro-Green i sur. su 1990 g. (93) objavili rad u kojem su dokazali povezanost između pobačaja i tireoidnih autoprotutijela i utvrdili su da je u žena s povišenim titrom TgAt i TPOAt autoprotutijela dva puta veći rizik od pobačaja (93). Od tad, pa do danas provedena su mnoga istraživanja. Glinoeer i sur. (94) su utvrdili povezanost između pozitivnih tireoidnih protutijela i

prijevremenog porođaja. Negro i sur. su također utvrdili povezanost između tireoidne autoimunosti i prijevremenog poroda u eutireoidnih žena (92). Nor Azlin i sur. (95) opisuju povezanost žena s pozitivnim tireoidnim autoprotutijelima i preeklampsijom (15%), abrupcijom posteljice (4%) i postpartalnim tireoiditisom (19%) te zaključuju da žene s pozitivnom tireoidnom autoimunosti trebaju intenzivnije praćenje tijekom i nakon trudnoće. Dodatno se opisuje da je u žena s urednim tireoidnim hormonskim statusom, ali s povišenim titrom antitireoidnih protutijela približno dva puta veći rizik od pobačaja (96). Nema puno podataka o vođenju trudnoće s dokazanom AITD tijekom trudnoće u eutireoidnih žena. Negro i sur. (97) su analizom velike studije utvrdili smanjenu učestalost pobačaja u eutireoidnih trudnica koje su uzimale L-tiroksin u terapiji (97). Naime, oni su podijelili trudnice s pozitivnim titrom tireoidnih autoprotutijela u dvije grupe; jednoj grupi trudnica je uvedena supstitucijska terapija, a drugoj nije. Rezultati su pokazali značajno manju učestalost pobačaja u grupi žena s L-tiroksinom u terapiji (3,5% vs. 13,8%) (97). Istraživanje u pacijentica u kojih je provedena in vitro fertilizacija nije pokazala povezanost između prisutnosti autoprotutijela i ishoda trudnoće (98). Međutim, učestalost pobačaja je bila dva puta veća u grupi žena s pozitivnim autoprotutijelima. Žene s AITD koje su uzimale supstitucijsku terapiju imale su učestalost pobačaja slično kontrolnoj populaciji žena (98). Rezultati na mišjem modelu također su pokazali povećanu učestalost pobačaja u miševa imuniziranih s TPO protutijelima (99). Vežanje TPO protutijela za preimplantacijski embrio se uspješno detektirati, ali ideja da TPO protutijela mogu utjecati na embrio nakon implantacije nije dokazana (99). Postavlja se pitanje značajnosti ovih protutijela. Alexander EK (100) navodi nekoliko mogućnosti. Prvo, prisutnost TPO protutijela ukazuje na veći rizik za razvoj Hashimotovog tireoiditisa i posljedično hipotireoze te prisutnost ovih autoprotutijela u stanju povećane potrebe za hormonima štitnjače, kao što je trudnoća sugerira da majka može postati hipotireoidna u gestaciji. Majčina hipotireoza, stoga može biti odgovorna za navedene štetne učinke (100).

Drugo, jednako dobro objašnjenje bi bilo da povišena tireoidna autoprotutijela u trudnice predstavljaju signal za prisutnost šire imunološke aktivacije. Prema ovoj hipotezi, TPO protutijela ne uzrokuju sama komplikacije, već označuju postojanje određene autoimunološke dijateze i izvjesne aktivacije autoimunosti u majke te prisutnost odvojenog, ali nedetektiranog imunološkog procesa koji djeluje izravno patološki na trudnoću (100).

1.2.2.5. Postpartalni tireoiditis

Postpartalni tireoiditis (PPT) predstavlja prolazni ili trajni poremećaj funkcije štitne žlijezde koji se javlja unutar godinu dana poslije poroda ili pobačaja, kada poznati imunosuprimirajući učinci trudnoće prestaju, a bazira se na autoimunoj upali štitne žlijezde, odnosno destruktivnoj limfocitnoj infiltraciji štitnjače (26). Klasično se poremećaj manifestira prvo s tireotoksičnom fazom čiji su simptomi obično blagi, potom slijedi faza hipotireoze koja može trajati više mjeseci, a u približno 30% žena ostaje kao trajan poremećaj (26). U oko 22% slučajeva javlja se ovakva, klasična prezentacija postpartalnog tireoiditisa (101). Klinički se bolest može manifestirati i samo s tireotoksičnom (oko 30% žena), a u većine žena (48%) razvija se izolirano samo s hipotireoidnom fazom (101). Prevalencija značajno varira između studija od 1,1-21,1 %, a učestalost se u općoj populaciji procjenjuje na oko 5 % i to šest puta češće u žena s povišenim TPO protutijelima i tri puta češće u žena oboljelih od diabetes mellitusa tipa 1 (26,101,102). Žene s pozitivnim titrom TPO autoprotutijela u ranoj trudnoći razviju PPT u 40-60% slučajeva. Općenito, žene koje obole od PPT imaju u 70% slučajeva povišena TPO protutijela te u njih postoji veća opasnost da razviju trajan poremećaj (81). Tireotoksična faza je prolazna, obično češća u TPO negativnih žena, a javlja se 1-6 mjeseci nakon poroda i traje oko 1-2 mjeseca. Hipotireoidna faza se može razviti nakon tireotoksične faze, ili samostalno, češća je u TPO pozitivnih žena i razvija se između 3 i 8 mjeseci poslije poroda, a uzrokovana je destrukcijom tireoidnog tkiva (26, 81). Česti simptomi u ovoj fazi su

umor, suha koža i slabije pamćenje. Usprkos istraživanjima, nije utvrđena veza između postpartalne depresije i postpartalnog tireoiditisa (101). Postpartalni tireoiditis se može javiti samo kao prolazni poremećaj koji traje 4-5 mjeseci, a prolazi unutar godinu dana od poroda, no može se nastaviti i u trajno stanje (51). U tireotoksičnoj fazi koja je obično blaga, s povišenom razinom hormona štitnjače obično nije potrebna specifična terapija, dok je u hipotireoidnoj fazi često potrebno započeti terapiju s L- tiroksinom (51). Osim toga, istraživanja su pokazala da u žena s pozitivnim titrom TPO autoprotutijela češće dolazi do značajnog pada koncentracije tiroksina i povišenja razine tireotropina u kasnoj trudnoći, što ukazuje na moguć razvoj tireoidne insuficijencije tijekom trudnoće (103). Swelam Eel S i sur. (104) navode da PPT postoji u dva oblika; autoimuni oblik koji je karakteriziran pozitivnim titrom TPO autoprotutijela i povećanim brojem aktiviranih T stanica te smanjenim brojem NK stanica i ne imuni oblik koji nema te karakteristike (104). Vrlo često je povišen titar TPO autoprotutijela u trudnoći jedini biljeg autoimunog procesa u štitnoj žlijezdi, dok su koncentracije hormona štitnjače uredne, a još uvijek se ne zna o čemu ovisi hoće li se ili ne razviti postpartalni tireoiditis, odnosno u kojih žena će se postpartalno razviti i poremećaj funkcije štitne žlijezde. Osim toga, žene s postpartalnim tireoiditisom potrebno je pratiti, budući da postoji 50% vjerojatnosti da će se u tih pacijentica razviti hipotireoza u idućih 7 godina (94).

1.3. Th1/Th2 IMUNOST

Zanimljiva je i često istraživana upravo spoznaja da tijekom trudnoće u bolesnica s autoimunim poremećajima može doći do remisije kliničkog tijeka bolesti. Objašnjenjem ovog fenomena smatra se imunomodulacija tijekom trudnoće, budući da je adaptacija majčinog imunološkog sustava neophodna za imunološku toleranciju prema fetusu kao semi-alograftu koji na svojim stanicama izražava i antigene očeva podrijetla (105,106). Brojne studije na

mišjim i ljudskim klonovima pomagačkih T limfocita ili tzv. pomoćničkih ili helperskih stanica (engl.: T helper - Th) dokazuju postojanje različitih aktivnosti posredovanih T helperima (zovu se Th1 i Th2), što izgleda ovisi o profilu citokina koje izlučuju (107). Citokini su regulacijski peptidi ili glikoproteini koje teorijski može proizvesti svaka stanica s jezgrom i koji imaju pleiotropne regulacijske učinke na stanice hematopoetskog, endokrinog i živčanog sustava. Za razliku od hormona, oni na parakrin ili autokrin način, vežući se za receptor, uzrokuju prijenos unutarstaničnog signala, a u nekim slučajevima mogu biti izlučeni u cirkulaciju i djelovati kao endokrinološki posrednici (108). Th1 podvrsta limfocita je CD4+ i odgovoran je za stimulaciju citotoksičnog kraka stanicama posredovanog imunološkog odgovora, odnosno aktivaciju stanične imunosti (109). Th1 tip imunološkog odgovora zadužen je za aktivaciju sustava makrofaga i NK stanica putem IFN γ za ubijanje ciljnih stanica (109,110). Th1 stanice nadalje, proizvode proupalne IL-2, IFN γ i čimbenik tumorske nekroze α (engl.: Tumor necrosis factor - TNF α) citokine (110). Limfociti Th2 subpopulacije su također CD4+, no proizvode stimulirajuće citokine za B stanice, IL-4, IL-5, IL-6 i IL-10. Stoga su Th2 stanice važne za B staničnu proizvodnju protutijela. Interleukin-4, IL-5, IL-10 imaju imunosuprimirajuće učinke, pogotovo za stanicama posredovane imunološke destruktivne mehanizme (109,110,111). Čimbenici o kojima ovisi diferencijacija Th prekursora u Th1 ili Th2 podvrstu još nisu u potpunosti upoznati. Citokini Th1 profila aktiviraju makrofage, dok Th2 citokini suprimiraju njihovu aktivnost (107). Utvrđeno je da proupalni, T pomoćnički stanični (Th1) tip, citokini imaju ključnu ulogu u patogenezi organ specifičnih autoimunih bolesti, uključivši Gravesovu bolest i Hashimotov tireoiditis (112, 113). Sukladno tome, zaštitni učinak protiv autoimune bolesti dokazan je za citokine koji se suprotstavljaju Th1 odgovoru, kao što je IL-4 kojeg proizvodi Th2 podvrsta stanica i IL-10 te IL-5 (114,115).

1.4. IMUNOLOŠKE OSOBITOSTI TRUDNOĆE

1.4.1. Imunološke osobitosti trudnoće na sistemskoj razini

Tijekom normalne trudnoće dolazi do kompleksne serije određenih promjena u majčinom imunološkom sustavu. Naime, normalna trudnoća se smatra Th2 fenomenom s dominacijom Th2 nad potisnutom Th1 imunosti kako sistemski tako i na materno-fetalnoj plohi (116). Majčina tolerancija prema fetalnim aloantigenima se objašnjava prevladavanjem Th 2 tipa imunosti koji bi imao ulogu štititi fetus od majčinog Th1 tip imunološkog odgovora (105). U prilog trudnoće kao Th2 fenomenu govori i podatak da u približno 70% žena s reumatoidnim artritismom (RA), odnosno stanicama posredovanom autoimunom poremećaju dolazi do remisije simptoma tijekom trudnoće (117). Za razliku od toga, sistemski lupus erythematosus (SLE) koji je karakteriziran velikom proizvodnjom autoprotutijela pogoršava se tijekom trudnoće, pogotovo u žena koje su bile u akutnoj fazi bolesti prije začeca (118). Tako se dominacija Th1 imunosti u trudnoći opisuje u ponavljanim spontanim pobačajima i preeklampsiji (119, 120). Osim toga, u perifernoj krvi žena s normalnom trudnoćom opisane su značajno veće razine Th2 citokina, tj. IL-4, IL-5, IL-6 i IL-10, nego u žena s poviješću učestalih spontanih pobačaja (119). Međutim, Th2 imunost se također navodi i u slučajevima ponavljanih spontanih pobačaja, a miševi deficijentni u Th2 citokinima, kao što je IL-10 su sposobni održati trudnoću (121). Stoga, Th1/Th2 paradigma zapravo više nije dovoljna kao objašnjenje zašto majčine imune stanice ne odbacuju fetus (122). Poznato je da fetalne trofoblastne stanice, hematopoetske stanice i matične stanice migriraju u majčinu cirkulaciju te nema fizičke odvojenosti ovih tkiva. Naprotiv, takav mikrohimerizam postoji i može biti precipitirajući faktor za razvoj autoimune bolesti štitne žlijezde, što bi dijelom moglo pojasniti i veću sklonost žena ka tireoidnoj autoimunosti (34). Imunomodulacija tijekom trudnoće i generalizirano stanje smanjene imunosti smatra se rezultatom značajnih promjena u razinama različitih hormona (34). Progesteron može imati

ključnu ulogu, djelujući sistemski, ali i lokalno, na materno-fetalnoj plohi. Ovaj hormon potiče lučenje hCG iz trofoblasta kroz stimulaciju lučenja Th2 citokina, a hCG potom stimulira lučenje progesterona iz žutog tijela (123). Progesteron inducira lučenje faktora koji usmjerava Th odgovor ka proizvodnji Th2 citokina i ushodno regulira lučenje drugih imunološki aktivnih molekula kao što su estradiol, PIBF (engl.: progesterone induced blocking factor), alpha-fetoprotein, transformirajući faktor rasta β (engl.: Transforming growth factor - TGF β) (20, 21, 34, 106, 124). Iako umanjene, u usporedbi s ženama koje nisu trudne, reakcije stanične citotoksičnosti posredovane protutijelima i NK aktivnost tijekom trudnoće ipak su prisutni. (125). Nema statistički značajne razlike u postotku Th1 i Th2 stanica, te u Th1/Th2 staničnom omjeru limfocita T periferne krvi ne trudnih žena i u žena u ranoj trudnoći. Međutim, postotak Th1 stanica bio je značajno veći u endometriju, nego u perifernoj krvi žena koje nisu trudne (29). Ovaj visoki postotak Th1 stanica vjerojatno ima zaštitnu ulogu protiv virusnih i bakterijskih infekcija endometrija. Ove promjene najvjerojatnije su pod hormonskim utjecajem progesterona, te možda i IL-10 koji su poznati da potiču aktivnost Th2 stanica, a proizvodi ih trofoblast (123, 124, 127). Nakon trudnoće, međutim, dolazi do nagle promjene imunološkog statusa u smislu prestanka „imunoprivilegiranosti“ i brzog prelaska na Th1 imunološki status (105,128). Ova promjena se povezuje i s pogoršanjem drugih autoimunih sindroma (91). Ukoliko je autoimuna bolest štitnjače inducirana Th1 mehanizmima, a uloga TPO autoprotutijela sekundarna imunološkom razaranju tkiva štitnjače, pomak Th2 u Th1 odgovor mogao bi objasniti pogoršanje simptoma autoimune hipertireoze nakon trudnoće, tj. u puerperiju. Međutim, poboljšanje ove bolesti tijekom trudnoće ostaje zagonetno, budući da se Gravesova bolest smatra Th2 tipom imunosti, što upućuje da su i neki drugi imunomodulacijski mehanizmi uključeni (26).

1.4.2. Imunološke osobitosti trudnoće na lokalnoj razini

Smatra se da, osim sistemskih, i zbivanja na materno-fetalnoj plohi imaju ključnu ulogu u regulaciji imunološke aktivnosti, odnosno imunotoleranciji koja omogućava rast i razvoj fetusa. Decidua prvog tromjesečja trudnoće infiltrirana je neklasičnim NK stanicama karakterističnog fenotipa (CD56+CD16CD3-) te makrofagima. Decidualne NK stanice koje su dio prirodene imunosti, iako bogate citolitičkim medijatorom perforinom, odnosno imunokompetentne, imaju nisku citotoksičnost prema fetalnim trofoblastnim stanicama (129). No, nakon stimulacije s Th1 citokinima poprimaju karakteristike limfokinima aktiviranih ubilačkih stanica te koriste perforin i Fas/FasL citolitički mehanizam (130). Trofoblastne stanice ne izražavaju klasične HLA antigene razreda I i II, već neklasične HLA G i C za koje se pretpostavlja da mogu biti ligandi za inhibicijske receptore na NK stanicama čime se blokira njihova citotoksičnost (131). Osim toga, na materno-fetalnoj plohi dolazi do proizvodnje brojnih proteina, hormona i citokina vezanih za trudnoću kao što su indolamin 2,3 dioxigenaza, progesteron, E2 i hCG, koji osim lokalnih imaju i sistemske učinke i podržavaju normalnu trudnoću, poglavito progesteron, čiji učinci su dijelom posredovani i putem PIBF-a kojeg luče aktivirani T limfociti (123, 131). Progesteron tako regulira izražavanje perforina u NK stanicama te utječe na Th1/Th2 ravnotežu povećavajući proizvodnju IL-3, IL-4, IL-10, te smanjujući lučenje IL-12 (132). Estrogen ima sličan učinak na Th1/Th2 ravnotežu (133). Visoka koncentracija estrogena tijekom normalne trudnoće vjerojatno doprinosi padu titra autoprotutijela u pacijentica s autoimunom bolešću štitnjače (128). Istraživanja su, međutim, pokazala da nema značajnih promjena u broju B limfocita tijekom normalne trudnoće (134). U većini studija ukupni IgG kao i razina protutijela viših su vrijednosti 6 mjeseci nakon poroda nego tijekom trudnoće što upućuje na kontinuiranu nespecifičnu stimulaciju (128).

1.5. STANICE KOJE SUDJELUJU U REGULACIJI AUTOIMUNOSTI

1.5.1. NK stanice

NK stanice periferne krvi su sastavni dio prirodene imunosti i izvršni efektori uz T limfocite u stanicama posredovanoj imunosti. NK stanice čine 10-15% limfocita periferne krvi (135). To su stanice s karakterističnim morfološkim i funkcionalnim osobinama koje na površini izražavaju CD16 i CD56 antigene. CD 16 je receptor odgovoran za NK stanicama posredovanu citotoksičnost. CD56 je forma adhezijske molekule neuronalnih stanica, NCAM, i izražavaju ga gotovo sve NK stanice (135). Većina stanica (90%) u perifernoj krvi su CD56dim, odnosno slabije izražavaju CD56 molekulu uz visoko izražavanje CD16 (CD16bright) (136). CD56dim NK stanice su više citotoksične, dok je CD56bright subpopulacija glavni izvor imunomodulacijskih citokina (136). Naime, NK stanice se smatraju regulatorima stečene imunosti, dajući stimulacijske signale T stanicama i dendritičkim stanicama. Upravo ova interakcija im daje ulogu u brojnim imunološkim reakcijama i čini ih sudionicima u različitim bolestima kao što su infekcije, rak i autoimuni poremećaji (137). Ključna karakteristika NK stanica je njihova sposobnost da ubijaju ciljne (virusom inficirane ili maligne stanice) bez prethodne senzibilizacije ili sprege s HLA molekulama, za razliku od limfocita T, a aktiviraju ih proupalni citokini IL-2, IFN- γ , IFN β i IL-12 (135). Na temelju dosadašnjih spoznaja može se zaključiti da nedostatak odgovarajućih HLA molekula razreda I na ciljnim stanicama provodi aktivacijski signal za NK stanicu što konačno rezultira njihovom lizom (138). Istraživanja su pokazala da je aktivnost NK stanica regulirana putem izraženih NK receptora na staničnoj površini koji se mogu podijeliti na aktivacijske i inhibicijske (139). NK stanice imaju vrlo sofisticiran program za kontrolu aktivacije i ubijanja i danas se zna da je to kompleksni sistem različitih inhibicijskih i aktivacijskih receptor-ligand interakcija koje prate promjene u HLA izražavanju. Inhibicijski receptori zaustavljaju signalizaciju putem aktivacijskih receptora, dok vezanjem određenog

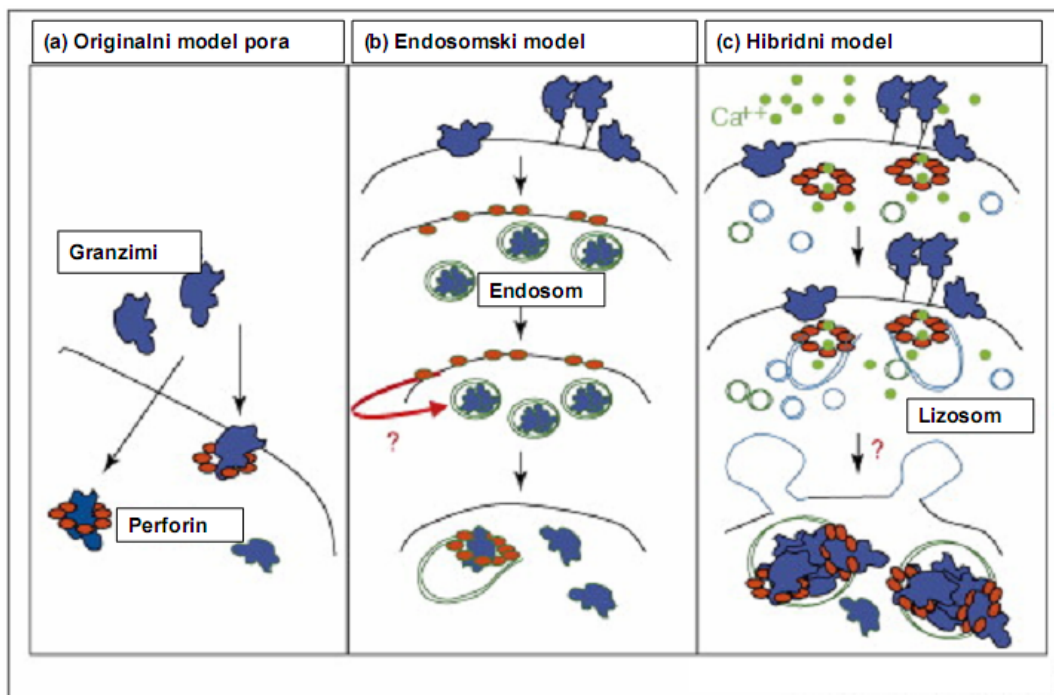
liganda za NK aktivacijski receptor dolazi do aktivacije NK stanice što rezultira pokretanjem izvršnih mehanizma citotoksičnosti i proizvodnje citokina (138,140). Dva su glavna mehanizma kojima NK stanice ubijaju: prvi, putem izravnog oslobađanja citotoksičnih granula (perforin i obitelj granzima) u imunološku sinapsu, te drugi, putem vezanja za tzv. „smrtonosne receptore“ na ciljnim stanicama (obitelj TNF receptora) među kojima je jedan od glavnih Fas/FasL citolitički mehanizam (140,141). U mirovanju NK stanice izražavaju samo nekoliko citokina, međutim aktivirane mogu lučiti brojne citokine među kojima su $IFN\gamma$, $TNF\alpha$, $TNF\beta$ (142). $TNF\alpha$ i $IFN\gamma$ koje luče aktivirane NK stanice imaju važnu ulogu u indukciji apoptoze i regulaciji imunološkog odgovora (136).

1.5.1.1. Citolitički medijator perforin

Jedan od važnih mehanizama kojim NK stanice, bez HLA sprege, mogu ubiti ciljnu stanicu je posredovan brzim mediatorom citotoksičnosti, perforinom. Perforin je o Ca^{2+} ovisna citolitička molekula koja je homologna komponentama komplekta sa sposobnošću izazivanja karakterističnih lezija u vidu pora na staničnoj membrani ciljne stanice, a čuva se u citoplazmatskim granulama citotoksičnih limfocita T i NK stanica, zajedno s enzimima serinskim esterazama (granzimi) i granulizinom (143, 144). Perforin je bjelančevina čija molekulska masa varira od 66 do 70 kDa što ovisi o stupnju glikolizacije, a konstitucijski je izražen i to gRNA i protein, na stanicama citotoksičnog fenotipa, odnosno na NK stanicama, $\gamma/\delta T$ limfocitima i na subpopulaciji $CD8+CD11b+\alpha/\beta TCR+$ (138,143). Usprkos brojnim istraživanjima, točan mehanizam djelovanja perforina ostaje zagonetka. Ovim mehanizmom dolazi do izravnog oslobađanja sadržaja citotoksičnih granula u imunološku sinapsu između efektorske i ciljne stanice. Nekad se mislilo da je perforin potreban samo kao protein koji formira pore na ciljnoj stanici čime omogućava intracelularno oslobađanje granzima u ciljnoj stanici (141). Danas se pretpostavlja da perforin radi male pore na staničnoj membrani koje

induciraju ulazak Ca^{2+} što onda potiče proces reparacije tako da interne vezikule svojom membranom zatvaraju rupe. Zatim, dolazi do brze ko-endocitoze granzima i perforina u gigantske endosome, a perforin potom omogućava oslobađanje granzima iz endosoma u citosol. Ne zna se točno što uzrokuje brzu endocitozu te da li perforinske pore na endosomskoj membrani destabiliziraju endosom dovodeći do njegovog puknuća ili su pore koje učini perforin dovoljno velike da granzimi kroz njih mogu pobjeći. Kad se oslobode granule, u kompleksu s proteoglikanom serglicinom, u ciljnoj stanici induciraju brzu i efikasnu apoptozu cijepanjem određenog seta staničnih proteina (145). Upravo perforin se smatra odgovornim za oslobađanje granzima koji su smješteni u granulama, jer je dokazano da u odsustvu perforina, granzimi ostaju u endocitotičnim vezikulama te ne mogu dovesti do apoptoze (146). Prema novijim istraživanjima perforin, osim formiranja pora, može inducirati i stvaranje invaginacija u membrani, odnosno formiranje internalizacijskih vezikula što daje dodatnu ulogu perforina u induciranju apoptoze, osim dostave granzima u ciljnu stanicu (147).

Osim važne uloge u ubijanju inficiranih i tumorogenih stanica, perforin također može imati ulogu u regulaciji homeostaze imunološkog odgovora za vrijeme infekcije, u proliferaciji CD8^+ stanica, odnosno u modifikaciji staničnog imunološkog odgovora (148).



Slika 3. Predloženi mehanizam djelovanja perforina (prilagođeno iz reference broj 144)

1.5.2. NK stanice u autoimunoj bolesti štitne žlijezde

Zbog svoje citolitičke aktivnosti, proizvodnje citokina i interakcije s antigen predočnim stanicama, T i B stanicama, smatra se da NK stanice imaju važnu ulogu u patogenezi autoimunih bolesti. Istraživanja fenotipa i funkcije NK stanica u autoimunim stanjima otkrila su da je u većini autoimunih bolesti smanjen njihov broj i kompromitiran citotoksični kapacitet (149). Što se tiče NK aktivnosti u autoimunim bolestima štitnjače, postoje različiti stavovi. Dosadašnja istraživanja sugeriraju da bi NK stanice mogle imati regulacijsku ulogu u autoimunosti aktivno suprimirajući genu autoreaktivnog imunog odgovora (149). Budući da su NK stanice izvor Th2 citokina, njihov smanjen broj može dovesti do prevlasti Th1 profila citokina i do razvoja autoimunosti (137). Prema rezultatima nekih autora NK stanice se povezuju s egzacerbacijom autoimune bolesti štitnjače u Hashimotovoj i u Gravesovoj bolesti (150). Također se pretpostavlja da je destrukcija stanica

posredovana staničnim mehanizmima kao što su autoreaktivni T limfociti, NK stanice i citokini. Solerte i sur. (151) navode da do alteracije u citotoksičnosti NK stanica i proizvodnji citokina dolazi u oba autoimuna stanja Hashimotovoj i Gravesovoj bolesti, a normalizacija NK funkcije pridonosi prevenciji nastanka i progresije obje bolesti. Ovi autori su također utvrdili da je u pacijenata s Hashimtovom i Gravesovom bolesti smanjena NK stanicama posredovana stanična citotoksičnost i smanjeno lučenje TNF α od strane nestimuliranih NK stanica te nakon stimulacije s LPS i IL-2 (151). Ko-inkubacija NK stanica s IL-2/IFN- β uz dodatak dehidroepiandrosteron sulfata (DHEAS) u različitim molarnim koncentracijama (od 10^{-8} do 10^{-5} M/ml/NK cells) dovodi do brze normalizacije NK stanicama posredovane citotoksičnosti i TNF- α sekrecije u pacijenata s obje bolesti. Prema nedavnim rezultatima, ljudi koji boluju od AITD imaju značajno smanjen postotak NK i CD25+ stanica u odnosu na zdrave kontrole (152). Međutim, Marazuela i sur. navode da je smanjena efektorska aktivnost limfocita periferne krvi iz hipertireoidnih pacijenata vjerojatno posljedica njihovog funkcionalnog defekta, a ne smanjenog broja NK stanica, a inkubacija limfocita periferne krvi pacijenata s Gravesovom bolešću s rekombinantnim humanim proinflamatornim IL-2 citokinom brzo poništava taj funkcionalni deficit (153). Rezultati su, međutim, konfliktni, budući da su mjerenja NK aktivnosti u perifernoj krvi pacijenata s Gravesovom bolesti uz pomoć testa citotoksičnosti ili fenotipske analize u različitim istraživanjima dala različite rezultate. Pojedini istraživači dokazali su povećanu aktivnost NK stanica, dok su drugi uočili normalnu NK aktivnost (150,154,155,156). Također postoje rezultati koji ukazuju na normalan postotak NK stanica u Hashimotovoj bolesti (157, 158). Za razliku od toga, Hidaka i sur. opisali su povećanu aktivnost NK stanica i u Hashimotovoj i Gravesovoj bolesti (150). Hidaka i sur. su utvrdili značajan porast NK aktivnosti u postpartalnom periodu u tireotoksikozi zbog Gravesove bolesti, ali i u tireotoksičnoj fazi destruktivnog tireoiditisa (2-4 mjeseca postpartalno) (150). Ovi podaci ukazuju na mogućnost da tireotoksikoza potiče NK

aktivnost (26). Tome govori u prilog i povećana razina IL-12, NK aktivirajućeg citokina u tireotoksikozi (159). Kuijpers i sur. utvrdili su da je razina NK stanica povezana s pozitivnim nalazom TPO autoprotutijela, te da su TPO pozitivne trudne žene imale niži postotak cirkulirajućih NK stanica (160). Corrales i sur. (161) naglašavaju da postoji pad u citolitičkoj aktivnosti u pacijenata s hipertireozom što može biti posljedica metaboličkog učinka hormona štitnjače na broj i funkciju NK stanica. Abnormalna raspodjela NK subpopulacija također je uočena u različitim autoimunim bolestima kao što su multipla skleroza i SLE (162,163).

1.5.3. Uloga NK stanica u trudnoći i poslije poroda

Humana trudnoća je karakterizirana kompleksnom serijom antigen specifičnih i ne specifičnih imunoloških promjena koje preveniraju odbacivanje fetalnog semi-alografta (164). Ovaj „supresivni“ milje se naglo prekida poslije porođaja. Smatra se da više imunoloških mehanizama doprinosi majčinoj imunološkoj toleranciji tijekom trudnoće. To se povezuje sa spoznajom da u većem dijelu trudnoće predominira Th2 profil citokina koji se postpartalno brzo mijenja u Th1 profil (165). Opisuje se da je Th2 pomak u trudnoći predominantno u NK (CD56bright i CD56dim) i NKT staničnoj populaciji umjesto u T pomagačkim ili T citotoksičnim stanicama što naglašava ulogu prirođene imunosti, a ne stečene, u kontroli imunoregulacije u trudnoći (166). Za vrijeme normalne trudnoće i aktivnost i postotak NK stanica periferne krvi imaju tendenciju rasta u prvom tromjesečju, a potom pada u drugom tromjesečju s dodatnim padom u 3. tromjesečju (167). Nasuprot tome, dokazano je da povećan broj i ubilačka aktivnost NK stanica povećavaju rizik od pobačaja i povezuju se s rekurentnim spontanim pobačajima (137). Utvrđeno je da je pad NK stanica periferne krvi uglavnom rezultat pada CD16+ subpopulacije (167). Osim toga, NK stanice iz periferne krvi zdravih trudnica imaju smanjenu litičku aktivnost u komparaciji s kontrolama (168).

Ustanovljeno je i povećano izražavanje inhibicijskih receptora (različiti KIR receptori, uključivši CD94/NKG2A) na NK i T stanicama u prvom tromjesečju trudnoće, s najvišim vrijednostima u 3. mjesecu graviditeta, a potom dolazi do postepenog pada do bazalne razine na kraju trudnoće (169). Kung i sur. (78) su također uočili pad ukupnog broja limfocita T, pomoćničkih limfocita T i NK stanica, ali ne i B stanica, u trudnica s Gravesovom bolešću. Naime, trudnice s Gravesovom bolešću imale su značajno više CD5+B stanica u svim stadijima trudnoće u odnosu na kontrole (78). Štoviše, utvrđena je povećana NK aktivnost tijekom postpartalnog pogoršanja autoimunog tireoiditisa (150). Ovi podaci mogli bi upućivati da je porast NK aktivnosti povezan s pogoršanjem AITD u Hashimotovoj i Gravesovoj bolesti te da NK stanice imaju važnu ulogu u tijeku AITD. Promjene broja i aktivnosti NK stanica opisane su u postpartalnom tireoiditisu, ali njihova uloga u patogenezi ostaje i dalje nejasna (26). Rukavina i sur. također su proučavali perforin+ NK stanice u perifernoj krvi trudnica i potvrdili su da je u perifernoj krvi zdravih osoba većina NK stanica (90%) CD56dim+CD16bright+, a samo oko 10% NK stanica je CD56bright+CD19dim+ (170). Nadalje su dokazali da je ukupni broj perforin+ stanica nešto niži u prvom tromjesečju trudnoće u odnosu na zadnje tromjesečje, ali ipak značajno viši nego u žena koje nisu trudne (170). Zabilježen je i značajan porast svih perforin pozitivnih stanica T limfocitnih subpopulacija (CD3P+CD4+ i CD8+) u obje grupe trudnih žena, a također je utvrđena i veća razina CD56+P+ stanica (16%) (170).

1.5.3.1. NK stanice na materno fetalnoj plohi

Najveća populacija limfocita u endometriju tijekom trudnoće sastoji se od NK stanica koje se zovu veliki granulirani limfociti ili decidualne NK stanice (dNK) koje čine preko 70% leukocita u prvom tromjesečju (136, 171). Ove decidualne NK stanice jako izražavaju CD56 molekulu, a vrlo slabo CD16 biljeg (136, 171). Više od 95% svih decidualnih CD56bright+

stanica izražava perforin tako da je sadržaj perforina u decidui veći nego u jednom drugom tkivu u fiziološkim i patofiziološkim uvjetima (171). Dokazano je da je citolitička aktivnost nestimuliranih decidualnih limfocita posredovana perforinom veća nego u limfocita periferne krvi trudnica, a opisano je da decidualni limfociti osim perforina mogu koristiti i Fas/FasL citolitički medijator (130,172). Usprkos brojnim istraživanjima do danas se ne zna točna uloga i zašto je na materno fetalnoj plohi potreban ovaj efikasni ubilački mehanizam NK stanicama. Pretpostavlja se da NK stanice imaju ulogu u poticanju placentarnog i trofoblastnog rasta te imunomodulaciji, odnosno oblikovanju stečenog imunološkog odgovora i regulaciji homeostaze zbog mogućnosti lučenja značajne količine citokina te u obrani od raznih patogenih mikroorganizama (173,174).

1.5.4. Limfociti T

Limfociti T imaju centralnu ulogu u imunoregulaciji i imunostimulaciji. T-pomoćničke ili helperske (Th) stanice, CD4⁺ mogu se podijeliti u Th1 stanice koje sudjeluju u staničnoj imunosti i Th2 koje sudjeluju u humoralnoj imunosti (110). Th1 stanice su karakterizirane transkripcijskim faktorom T-bet i signalnim transduktorom i aktivatorom transkripcije (STAT) 4 te lučenjem IL-2, IFN γ i TNF β . Suprotno tome, CD4⁺ Th2 stanice su posrednici humoralne imunosti, a mogu se razviti u stanice koje luče IL-4, IL-5 i IL-13 pomoću transkripcijskog faktora GATA-3 i STAT6 (175). Subpopulacija Th1 stanica ima važnu ulogu u indukciji klasičnog mehanizma imunološke reakcije odgođenog tipa, tj. proinflamatornog odgovora. Nakon antigenske stimulacije CD4⁺ stanice luče IFN γ koji je aktivator makrofaga i stimulira proizvodnju IgG2a. Stanice Th utječu na diferencijaciju CD8⁺ citotoksičnih limfocita i moduliraju upalni odgovor (110). CD4⁺ stanice koje pripadaju Th2 subpopulaciji stimuliraju imunološki odgovor B limfocita. Osim CD4⁺, postoje i CD8⁺ citotoksični limfociti T koji poput NK stanica imaju ulogu u razaranju ciljnih stanica, a ciljeve

prepoznaju samo u sklopu prezentacije s HLA molekulama razreda I i ubijaju ih putem perforina i drugih citolitičkih molekula (143,144,176). CD8⁺ limfociti stimuliraju citotoksičnost i staničnu imunost aktivacijom makrofaga i NK stanica, npr. putem IFN γ (26).

1.5.4.1. Limfociti T u autoimunoj bolesti štitne žlijezde

Limfociti T smatraju se također ključnim stanicama u patogenezi AITD. Naime, autoreaktivni limfociti B trebaju pomoć Th2 limfocita za stvaranje TPO i TgAt protutijela IgG izotipa čija uloga u patogenezi AITD još nije sa sigurnošću utvrđena (176,177). Muller i sur. (26) navode da ova protutijela ipak imaju sekundarnu ulogu. Postoje studije koje pokazuju proizvodnju IL-4 i TNF α od strane infiltrirajućih T stanica i makrofaga intratireoidno u Gravesovoj bolesti i Hashimotovom tireoiditisu (178). Točna uloga ovih stanica je nepoznata. Pretpostavlja se da neravnoteža pro- i protuinflamatornih citokina može imati ulogu u patogenezi AITD. Th1 stanicama posredovan imunološki odgovor predominira u ranoj patogenezi Gravesove bolesti, dok Th2 stanični imunitet ima ulogu u kasnijim stadijima. Nanba i sur. (179) su ustanovili da je genski polimorfizam za IFN γ i IL-4, koji je povezan s većom proizvodnjom IFN γ i smanjenom IL-4, češći u pacijenata s težim oblikom Hashimotove bolesti, nego u onih s blagim oblikom. Ovi autori su istraživali i postotak perifernih Th1/Th2 stanica u pacijenata s Hashimotovom bolešću i zaključili da je periferni Th1/Th2 odnos povezan s težinom Hashimotove bolesti i teže izlječivom Gravesovom bolešću (179). Nameće se pitanje i značaja CD4⁺ Th1 limfocita za koje se zna da stimuliraju citotoksičnost i staničnu imunost (180). Istraživanja su pokazala povećanje aktiviranih T stanica (HLADR+CD3⁺), dok je postotak $\alpha\beta$ TCR⁺ T stanica snižen u Hashimotovom tireoiditisu (181). Tijekom pogoršanja Hashimotove bolesti zabilježen je pad CD8⁺ ($\gamma\delta$ TCR⁺) stanica, a porast CD4⁺CD8⁺ stanica tijekom tireotoksične krize (182). Porast CD5⁺ B stanica koja stvaraju protutijela zabilježen je poglavito u Gravesovoj bolesti (183). Intratireoidno,

limfociti T dominiraju nad B limfocitima, a broj CD8⁺ limfocita T povećan je u Hashimotovom tireoiditisu, poglavito HLADR⁺CD8⁺ stanica i NK stanica (184). Povećan je broj limfocita T koji luče IFN γ i IL-2 i koji proliferiraju nakon stimulacije s TPO protutijelima. Smatra se da je lučenje Th1 citokina iz CD4⁺ i CD8⁺ T stanica u Hashimotovom tireoiditisu izrazito važno (26). Tireociti poprimaju karakteristike antigen predložnih stanica koje stimuliraju efektorske Th1 i Th2 stanice, u kontekstu deficita imunoregulacijskih T regulacijskih stanica (engl.: T regs) što dovodi do tireoidne limfocitne infiltracije i aktivacije B stanica s proizvodnjom tireoidnih protutijela, tireoidne destrukcije ili stimulacije ovisno o Th1/Th2 ravnoteži (185). Hashimotov tireoiditis aktivira T stanice koje pokazuju dominantno Th1 fenotip. Ovaj profil limfocita luči IL-2, IFN γ i TNF α , uz relativnu odsutnost IL-4 i IL-10 što upućuje da ove stanice podržavaju T stanicama posredovanu indukciju apoptoze (186). Interferon γ potiče infiltrirajuće makrofage na citotoksičnost, a citokini također potiču i CD95/CD95L (Fas/FasL) citolitički mehanizam što dovodi do apoptoze stanica štitnjače (34). Naime, Fas/FasL citolitički mehanizam smatra se glavnim mehanizmom autoimune destrukcije tireocita u Hashimotovom tireoiditisu (187). FasL je konstitutivski izražen na tireocitima (188). Nakon autoimune T i B stanične upale tireociti također izražavaju Fas (CD95) molekulu što vjerojatno dovodi do apoptoze stanica štitnjače zbog suicida, odnosno tzv. „fratricida“ (189). Nasuprot tome, u Gravesovoj bolesti tireociti ne podliježu apoptozi i karakterizirani su uglavnom Th2 infiltratima (190). Th2 profil stanica proizvodi relativno manje IL-2, IFN γ i TNF α , a više IL-4, IL-5 i IL-10 što pokazuje tendenciju prema B staničnom sazrijevanju i protutijelima posredovanom imunološkom odgovoru (186). Tireoidne stanice proizvode više proinflammatoryh molekula kao što su IFN γ i IL-4. Carella i sur. (191) su uočili da je IFN γ kojeg luče dominantno Th1 stanice jasno povezan s AITD, posebno s hipotireozom, iako nije Th1, niti Th2 ovisan. Phenekos C i sur. (192) su utvrdili da pacijenti s Hashimotovim tireoiditisom imaju višu razinu IFN γ nego

pacijenti s Gravesovom bolesti i kontrole. U pacijenata s Gravesovom bolešću dokazane su veće serumske razine IL-4 u komparaciji s pacijentima s Hashimotovim tireoiditisom, što potvrđuje hipotezu da je Th1 obrazac autoimunosti karakterističan za Hashimotovu bolest, a Th2 citokini u Gravesovoj bolesti sugeriraju humoralni obrazac imunološke reakcije. Alnaqdy A i sur. (193) su, međutim, uočili veće razine IL-4 i IFN γ u pacijenata s Gravesovim poremećajem u odnosu na kontrolnu skupinu. Stassi i sur. (194) sugeriraju da infiltracija štitnjače s Th2 limfocitima i lučenje IL-4 i IL-10 od strane tireocita u pacijenata s Gravesovom bolešću može potaknuti izražavanje antiapoptotičkih molekula i tireoidnu rezistenciju na CD95 posredovanu apoptozu. Svi ovi rezultati sugeriraju da tireociti u AITD mogu biti izvor citokina i njihova aktivacija može utjecati na lokalnu interakciju s T limfocitima. Ehlers i sur. (195) dokazali su da su TPO i Tg antigeni prepoznati od strane CD8+ T stanica te mogu utjecati na proces destrukcije tireoidnih stanica. Veći postotak IL-2+ stanica je utvrđen u pacijenata s Hashimotovim tireoiditisom (196). Wu i sur. (197) proučavali su prisutnost perforin pozitivnih stanica u limfocitima koji infiltriraju štitnjaču i njihovi rezultati su pokazali da su CD4+ stanice koje sadrže perforin nađene samo u štitnjači pacijenata s Hashimotovom bolešću. U Gravesovoj bolesti i u manjem postotku u Hashimotovoj bolesti, perforin pozitivne stanice bile su primarno T stanice s T staničnim receptorom TCR $\alpha\beta$ +CD4-CD8-, dok su dvostruko negativne perforin+stanice u perifernoj krvi zdravih kontrola uglavnom bile $\gamma\delta$ + T stanice. U pacijenata s Hashimotovim tireoiditisom predominantna populacija perforin pozitivnih stanica su CD8+ limfociti (197). Aust i sur. (198) utvrdili su niži postotak NK stanica intratireoidno u Gravesovoj bolesti, što može biti posljedica predominacije Th2 klonova u patogenezi Gravesove bolesti. Na temelju rezultata brojnih istraživanja moglo bi se zaključiti i da abnormalni tireoidni status utječe na sistemske promjene imunološkog sustava.

1.5.4.2. Limfociti T u trudnoći i poslije poroda

Prema istraživanjima, apsolutni broj limfocita T, T pomoćničkih limfocita i NK stanica, ali ne i B stanica pada tijekom trudnoće i to zdrave trudnoće i u trudnica s Hashimotovim tireoiditisom (78). Rukavina i sur. dokazali su da su CD3+, CD4+ i CD8+ stanice u perifernoj krvi trudnica perforin pozitivne, te da su značajno povišene u prvom tromjesečju, kao i na kraju trudnoće u odnosu na kontrole (170). Kim i sur. (199) navode da su CD3+/CD4+ stanice koje izražavaju TNF α /IL-10 značajno više u žena s tireoidnim autoimunitetom u komparaciji s ženama koje nemaju autoimunu bolest. To sugerira da aktivirane T stanice u uterusu žena s autoimunom bolešću štitnjače koje luče citokine mogu imati štetne učinke na trudnoću (199, 200). Ovi učinci mogu biti posredovani izravno preko T stanica ili indirektno preko NK stanica (201). Prema ovoj hipotezi tireoidna autoprotutijela služe kao periferni biljeg abnormalne T stanične funkcije, što znači da sama protutijela ne moraju biti odgovorna za gubitak trudnoće (194, 199). U žena s AITD primijećena je i poliklonalna B stanična aktivacija. Dva do tri puta veći titar organ nespecifičnih protutijela na kardiolipin, anti dsDNA i anti ssDNA je primijećen u žena s pozitivnom tireoidnom autoimunošću (199). Ova protutijela mogu križno reagirati s trofoblastno-posteljičnim tkivom te tako utjecati na fertilitet i ishod trudnoće preko citokinske neravnoteže i aktivacije komplementa (202, 203). Kwak-Kim i sur. pokazali su da su žene s rekurentnim spontanim pobačajima imale značajno viši Th1/Th2 odnos IFN γ /IL-4, TNF α /IL-4 i TNF α /IL-10 u CD3+/CD8- Th stanicama nego kontrolne žene (200). Postotak CD3+/CD8- stanica koje luče TNF α i Th1/Th2 odnos TNF α /IL-4 i TNF α /IL-10 bio je značajno viši u žena s neuspjelom in vitro fertilizacijom u odnosu na kontrole. Ovi rezultati upućuju da je dominacija Th1 imunog odgovora u limfocitima periferne krvi povezana s nastankom rekurentnih spontanih pobačaja i utječe na uspjeh in vitro fertilizacije (200). Preeklampsija je ozbiljna komplikacija trudnoće karakterizirana pojačanim majčinim sistemskim imunološkim odgovorom s aktivacijom

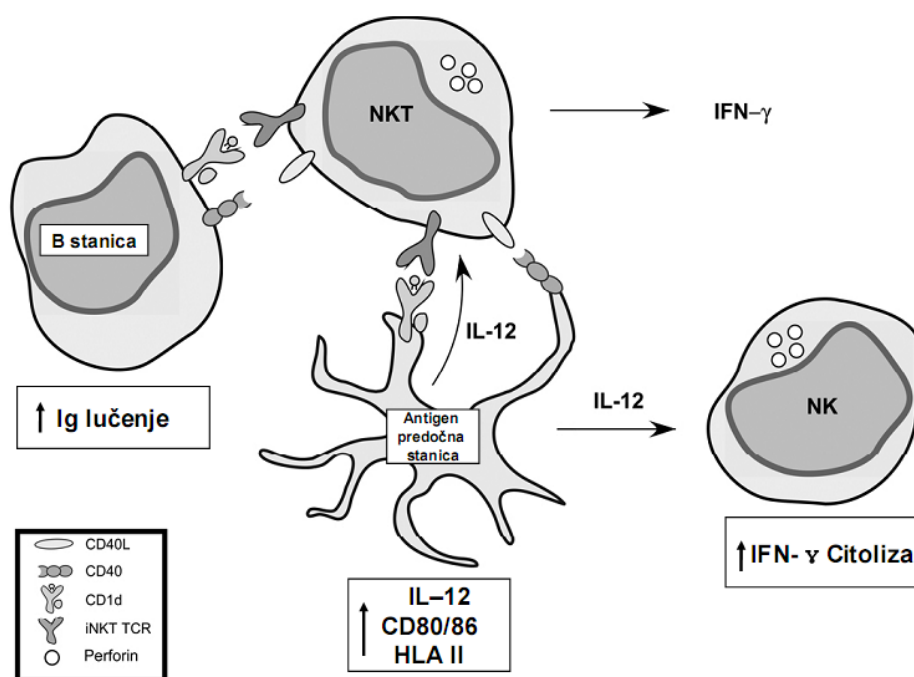
prirođene i stečene imunosti. Molvarec i sur. (204) opisali su da je u žena s preeklampsijom postotak citotoksičnih limfocita koji luče granulizin u perifernoj krvi značajno povišen u odnosu na normalnu trudnoću. Dosadašnja istraživanja, stoga, naglašavaju važnost Th1/Th2 ravnoteže te da su T limfociti među ključnim stanicama koje su uključene u balansiranje Th1/Th2 staničnog profila i očuvanje trudnoće. T limfociti vjerojatno imaju važnu ulogu i u patogenezi postpartalnog tireoiditisa. Tome govore u prilog rezultati istraživanja u kojima je postotak CD4⁺ stanica bio značajno niži u žena s PPT u odnosu na kontrole i to u žena s bifazičnim oblikom bolesti i izoliranom hipotireozom 3 mjeseca poslije poroda (205). Smanjen je bio i odnos CD4/CD8. Ispitanice s pozitivnim titrom TPO autoprotutijela i TgAt autoprotutijela imale su viši postotak aktiviranih HLADR⁺CD3⁺ stanica u odnosu na kontrolne žene postpartalno, a povišeni postotak aktiviranih T stanica korelira s višim postotkom CD8⁺ T stanica i smanjenim postotkom T regulacijskih stanica (CD25⁺CD4⁺) (205).

Swelam i sur. (206) opisuju da je u žena s PPT i pozitivnim titrom TPO protutijela veći postotak aktiviranih T stanica i smanjen postotak NK stanica u komparaciji s kontrolnom skupinom žena s PPT i negativnim protutijelima. Dokazano je i da je u tireotoksičnoj fazi PPT značajno veći broj cirkulirajućih aktiviranih limfocita, ali ne i u hipotireoidnoj i eutireoidnoj fazi. Ispitanice u hipotireoidnoj i eutireoidnoj fazi imale su značajno veći postotak CD4⁺ stanica, a značajno niži CD8⁺ stanica (207). U žena s PPT opisan je i veći omjer CD4⁺/CD8⁺, odnosno relativni manjak CD8⁺ stanica (208). Intratireoidno je, također, prisutan relativni pad CD8⁺ T limfocita što rezultira većim CD4⁺/CD8⁺ omjerom u tireoidnim aspiratima u krvi hipotireoidnih ispitanica s PPT (209). Izražavanje HLA II molekule na tireocitima je znak Th1 obrasca citokinskog lučenja u njihovoj neposrednoj blizini što zapravo doprinosi njihovoj destrukciji (26).

1.5.5. NKT stanice

Stanice NKT su jedinstvena T limfocitna subpopulacija koja dijeli karakteristike NK stanica i konvencionalnih T limfocita, a sudjeluju u regulaciji imunoloških odgovora koji se povezuju s autoimunim stanjima, zaraznim bolestima i rakom. Po definiciji NKT stanice su T limfociti, budući da izražavaju T stanični receptor (engl.: T cell receptor - TCR), te poput T stanica potječu od timusnih progenitorskih stanica (210). Po tome se razlikuju od NK stanica, iako NKT stanice imaju i karakteristike NK stanica kao što je CD161 ili NKR-P1 molekula. Za razliku od konvencionalnih T limfocita i regulacijskih T stanica (engl.: Tregs), NKT stanični TCR ne reagira s peptidnim antigenima predodčenim od strane klasičnih HLA molekula, već prepoznaje glikolipide predodčene preko CD1d, ne klasične antigen predodčne molekule u sklopu HLA molekula razreda I (211). NKT stanice izražavaju manje varijabilnih (V) gena za TCR. Mnogo konvencionalnih T stanica ushodno regulira NK receptore, uključujući CD161 molekulu nakon aktivacije, dok ih mnogo CD1d ovisnih NK stanica ne izražava. NKT stanice koje su CD1d ovisne i izražavaju invarijantni V α 24-J α 18 TCR rearanžman zovu se klasične NKT stanice ili invarijantne NKT (iNKT stanice) (210, 211). NKT stanice se dijele na dva stanična podtipa koja se razlikuju kao CD4⁺ ili CD4⁻, iako u ljudi i majmuna, ali ne i miševa, neke od ovih stanica izražavaju CD8 molekulu. Ljudske CD4⁺ NKT stanice luče veći Th1/Th2 citokinski omjer i izražavaju poseban obrazac kemokinskih receptora i citotoksičnih molekula, u odnosu na CD4⁻ NKT stanice. CD4⁺ i CD4⁻ subpopulacije NKT stanica raspoređene su gdje god su i T limfociti, iako njihova relativna frekvencija varira ovisno o tkivu (212). U miševa, najveća frekvencija NKT stanica je u jetri, a znatno manje su zastupljene u timusu, koštanoj srži, slezeni, limfnim čvorovima i u krvi. Distribucija ovih stanica u ljudi je znatno manje frekvencije u jetri u usporedbi s mišem (213). Značaj ovih razlika u učestalosti NKT stanica ovisno o vrsti i tkivu nije poznat. Prepoznavanje glikolipidnih antigena u ovisnosti o CD1d molekule znači da NKT stanice

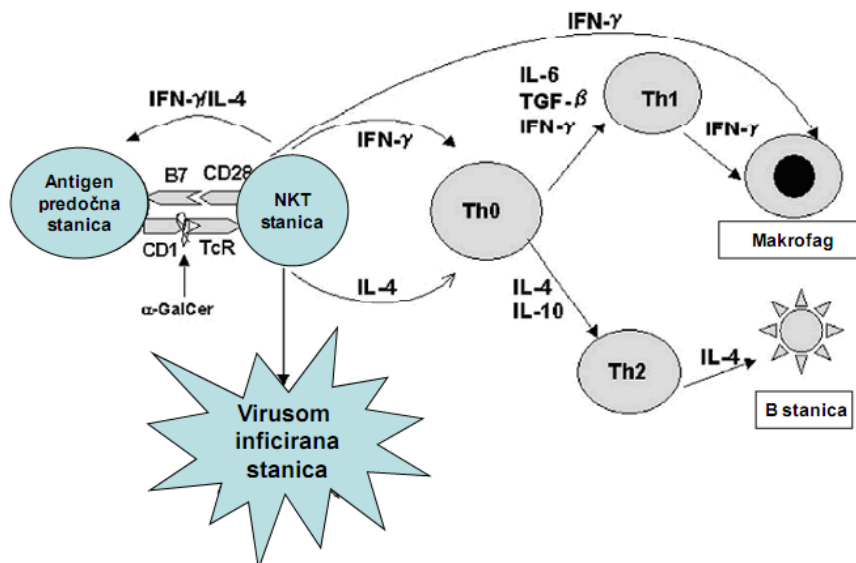
prepoznaju razred antigena kojeg ignoriraju konvencionalne T stanice. Najuspješniji u aktiviranju NKT stanica je glikolipid α -galaktozilceramid (α -GalCer). Kompleks glikolipid plus CD1d veže se za TCR NKT stanice što dovodi do aktivacije ovih stanica u miševa i ljudi (214). Nakon aktivacije, NKT stanice odgovaraju sa snažnom citokinskom proizvodnjom unutar 1-2 sata od vezanja za TCR (210). Ove stanice oslobađaju brojne citokine i to Th1 tip citokina uključujući $\text{IFN}\gamma$ i $\text{TNF}\alpha$, kao i Th2 citokine kao što su IL-4, IL-5 i IL-13. Štoviše, individualne NKT stanice mogu lučiti Th1 i Th2 citokine simultano, nakon aktivacije in vivo, što se čini paradoksalno, budući da Th1 citokini često antagoniziraju učinke Th2 citokina i obratno (210, 215).



Slika 4. Modulacija prirodnog i stečenog imunološkog odgovora putem NKT stanica.

Aktivacija NKT stanica dovodi do aktivacije različitih leukocitnih subpopulacija kao što su B stanice, dendritičke stanice i NK stanice (prilagođeno iz reference broj 230).

NKT stanice, stoga mogu ići u oba pravca, budući da njihova aktivacija nekad polarizira imunološki odgovor u Th1 smjeru, a nekad u tolerogenom Th2 pravcu. U nekim imunološkim reakcijama, stoga sudjeluju kao imunosuprimirajuće stanice, ali mogu djelovati i pro-inflamatorno i poticati staničnu imunost (210). Mehanizmi koji određuju citokinski polaritet NKT odgovora i utjecaj NKT staničnog odgovora na sistemski imunološki sustav nisu u potpunosti upoznati (210). Zbog proizvodnje imunosupresivnih citokina kao što su IL-4, IL-10 i IL-13 nameće se pretpostavka da ove stanice mogu suprimirati stanični imunološki odgovor (210). Iako NKT stanice mogu potencijalno djelovati kao efektori, odnosno CD8+ stanice i izražavati citotoksičnu aktivnost, upitno je imaju li sve NKT stanice ovu sposobnost i vjerojatno je regulacijska funkcija njihova prava fiziološka uloga. To bi bilo u skladu s njihovim malim brojem, regulacijskim učincima citokina koje luče i bliskom interakcijom s dendritičkim stanicama i drugim staničnim tipovima koji utječu na stečenu imunost (210). Pretpostavlja se da prema tipu signala kojeg prime, NKT stanice prvenstveno luče pro- ili protuupalne citokine; u slučaju stimulacije s IL-12 od strane dendritičkih stanica ili makrofaga luče dominantno proupalni $\text{IFN}\gamma$, dok ih IL-7 potiče na proizvodnju IL-4 (216, 217).



Slika 5. Brzi odgovor NKT stanica u kontroli imuniteta i bolesti (prilagođeno iz reference broj 215).

1.5.5.1. NKT stanice u autoimunoj bolesti štitne žlijezde

Postoje dokazi da NKT stanice prirodno utječu na autoimunost, međutim dokazano je da je nekad potrebna aktivacija putem α -GalCer da bi se potakla njihova regulacijska funkcija (210). Brzi odgovor NKT stanica koji više upućuje na prirodenu, nego na stečenu imunost, može omogućiti NKT stanicama da reguliraju stečeni imunološki odgovor kao što je zaštita od virusa i bakterija te regulacija autoimunih bolesti. Pokazalo se da su NKT stanice kritične u imunološkom odgovoru protiv infekcije malarijom, te u tumorskoj imunosti i nekim autoimunim bolestima kao što su dijabetes, ateroskleroza, lupus i alergijska astma (218). Najveći broj studija proučavao je ulogu NKT stanica u patogenezi tip I dijabetesa. NKT stanice su smanjene u NOD miševa sklonih dijabetesu, a povećanje njihovog broja putem adoptivnog transfera smanjuje progresiju bolesti (218). Humane NKT stanice su smanjene u perifernoj krvi pacijenata s raznim organ specifičnim i sistemskim autoimunim bolestima, ali obzirom na vrlo mali broj i varijabilnost NKT stanica u perifernoj krvi ljudi, procjena ovih

stanica je ograničena, rezultati ne moraju biti reprezentativni i moraju se oprezno interpretirati. Naime, u ljudi, samo 0,2 % perifernih limfocita su NKT stanice, no ipak se smatra da ove stanice pomažu očuvanju tolerancije prema autoantigenima, te sprječavaju autoimunost (210). Mišje iNKT stanice nakon stimulacije s α -GalCer luče ključne citokine kao što su IL-2, IL-4, IFN γ , IL-10 i TNF α . Invarijantne NKT stanice iz slezene NOD.H2h4 miševa nakon transfera u singeničnog domaćina odgovaraju na stimulaciju tireoglobulinom te dovode do pogoršanja autoimunog tireoiditisa (219). Wu i sur. (220) pretpostavljaju da učinak NKT stanica ovisi o stadiju bolesti, odnosno ukoliko se stanice prenesu u ranom stadiju, prije početka bolesti, rezultat je zaštitni učinak NKT stanica. No, ako se ove stanice daju nakon početka bolesti, rezultat je pojačanje upale (220). Nadalje, utvrđen je manji postotak humanih NKT stanica intratireoidalno u pacijenata s Gravesovom bolešću, nego u perifernoj krvi istih pacijenata i u perifernoj krvi kontrola (221). Za razliku od toga, Roman-Gonzales i sur. (222) nisu uočili razliku u frekvenciji iNKT stanica u perifernoj krvi pacijenata s Gravesovom i Hashimotovom bolešću u odnosu na perifernu krv kontrola (222).

1.5.5.2. NKT stanice u trudnoći

Stanice NKT u decidui prvog tromjesečja čine 0,48% od CD3+ stanica, što je 10 puta više nego u perifernoj krvi (223). Boyson i sur. (223) su pokazali da decidualne NKT stanice proizvode IFN γ i GM-CSF, dok NKT stanice iz periferne krvi trudnica luče IL-4. Tsuda i sur. (224) su potvrdili da je postotak stanica koje luče IFN γ veći u decidui nego u perifernoj krvi. Međutim, oni su dokazali i veći postotak stanica koje luče IL-4, nego u perifernoj krvi, što je suprotno rezultatima Boysona i sur. Autori komentiraju da se ovi rezultati možda razlikuju jer je Tsuda proučavao CD4+CD161+V α 24+NKT stanice (223, 224). Nekoliko studija upućuje da iNKT stanice mogu imati ulogu u trudnoći. Naime, tretiranje trudnih mišica s α -galcer rezultira pobačajem zbog lučenja IFN γ od strane NKT stanica što upućuje da namjerna

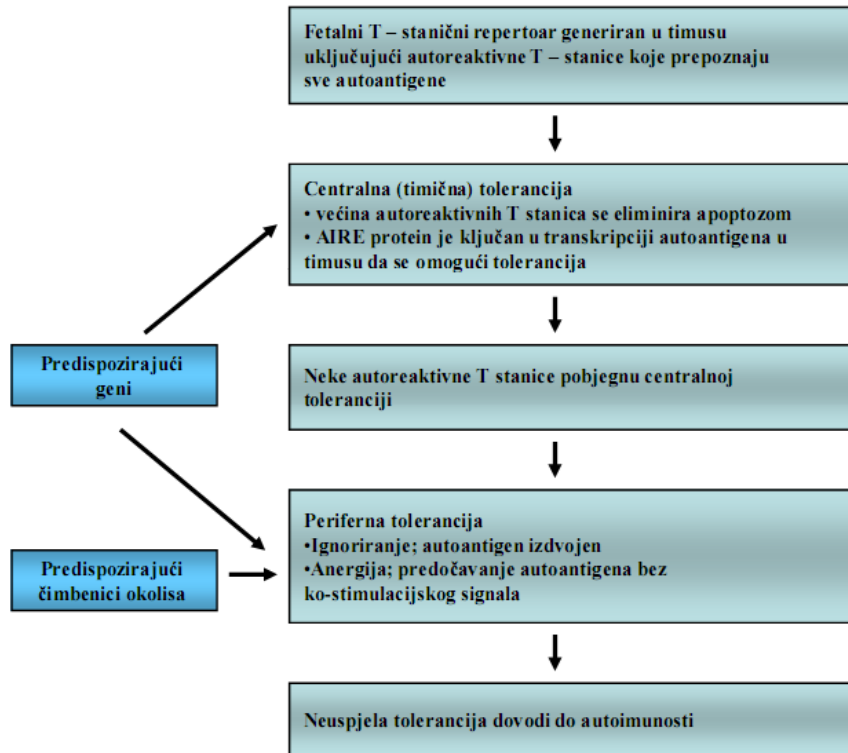
stimulacija NKT stanica putem glikolipida snažno stimulira NKT stanice koje ne moraju nužno inducirati tolerogeni učinak (223, 225). Osim toga, NKT stanice imaju ulogu u samom početku razvoja Th2 imunološkog odgovora (226). Nadalje, iNKT stanice reguliraju NK staničnu aktivaciju i proliferaciju, a NK stanice su ključne za napredovanje i uspjeh trudnoće (227). Southcombe i sur. (228) istraživali su broj i fenotip te funkcijsku aktivnost (proizvodnju IFN γ) iNKT stanica u svim tromjesečjima trudnoće u normalnoj trudnoći te u trudnica s preeklampsijom i u kontrola. Utvrdili su da se broj i tip NKT stanica ne razlikuje tijekom trudnoće, ali stanice postaju aktivirane što je dokazano povećanim izražavanjem CD69 na CD4-/CD8- i CD8+ iNKT stanicama u trećem tromjesečju (228). Opisana je i smanjena proizvodnja IFN γ , što je u skladu s poznatim pomakom u Th2 fenotip NK i NKT stanica i Th 2 tipom pomaka u citokinskom lučenju u trudnoći (167, 228). Opisana pojačana aktivacija CD4- stanica koje tipično luče Th1 citokine se čini paradoksalna i nije potpuno jasna. Autori navode da se može raditi o dijelu stanica koje su aktivirane i postaju anergične kao odgovor na kroničnu stimulaciju in vivo (228). Ova studija je pokazala da nema razlika u broju i funkciji NKT stanica u žena s preeklampsijom u odnosu na kontrolne trudnice. Mali, ali ne i statistički značajni pad, uočen je u proizvodnji IFN γ u kontrolnih trudnica u odnosu na preeklamptične žene (228). Za razliku od toga Miko i sur. (229) su uočili veći postotak aktiviranih (CD69+) iNKT stanica u preeklampsiji u odnosu na zdrave trudne žene i kontrole te povećan postotak iNKT stanica koje luče IFN γ . Southcombe i sur. (228) navode da se ovi rezultati možda razlikuju i zbog različite metodologije. Uloga NKT stanica, kako u perifernoj krvi, tako i na materno-fetalnoj plohi je za sada još uvijek upitna. Slično u čovjeka i miša, te klasične NKT stanice čine se aktivirane i pokazuju Th1 citokinski profil, prema lučenju IFN γ (223). Iako se zna vrlo malo o njihovoj mogućoj funkciji, čine se vrlo zanimljive, obzirom da mogu posredovati pro- i protuinflamatorni odgovor te čine „most“ između prirodene i stečene imunosti. Pretpostavlja se da možda moduliraju odgovor decidualnih NK stanica i

koordiniraju interakcije između decidualnih leukocita na materno-fetalnoj plohi (230). Daljnja istraživanja su potrebna.

1.5.6. T regulacijske stanice (T regs)

CD4⁺/CD25⁺ regulacijske T stanice (T regs) su jedinstvena subpopulacija T stanica (231). Utvrđeno je da one imaju jednu od glavnih uloga u prevenciji autoimunosti i toleranciji alogernih transplantata (232). Sve više je dokaza da su Tregs, nekad poznate kao T supresijski limfociti, sastavni dio normalnog imunološkog sustava kao osnovna stanična komponenta odgovorna za održavanje imunološke tolerancije prema vlastitom tkivu i imunološke homeostaze. Njihova anomalija može biti uzrokom aberantnog ili ekcesivnog imunološkog odgovora, uključujući i autoimune i imunopatološke bolesti (232). Postoje rezultati koji utvrđuju ulogu Tregs u supresiji prirođenih i stečenih imunoloških odgovora u eksperimentalnim modelima autoimunosti kao što su artritis, kolitis, diabetes, lupus, gastritis i tireoiditis (233). Stoga su regulacijske T stanice danas priznate u smislu profesionalnih supresora imunološkog odgovora (234). Još u kasnim šezdesetim godinama dokazano je da CD4⁺ stanice u miševa mogu suprimirati autoimunost. Danas se zna da ove stanice aktivno potiskuju aktivaciju i proliferaciju drugih imunoloških stanica i da su ključne za očuvanje tolerancije na vlastite antigene i u prevenciji autoimunosti (234). Molekula CD25 na ovim CD4⁺ stanicama je njihov konstitucijski biljeg, a u miševa je dokazano da neke od ovih stanica izražavaju i Foxp3 transkripcijski faktor. Anomalije u Foxp3 genu su odgovorne za razvoj autoimunog i upalnog odgovora u ljudi i miševa zbog deficijencije u razvoju i funkciji CD25⁺CD4⁺ Tregs stanica. Foxp3 je transkripcijski represor i aktivator koji interferira s aktivacijom gena ovisnom o T staničnom receptoru (TCR) (235). Regulacijska T stanica nastaje kada T stanica u razvoju sretne agoniste liganda za TCR u timusu. Ovaj proces ne treba TGFβ signaliranje u T stanicama, ali treba kostimulacijske signale (235). Za razliku od

toga, konverzija naivnih u Tregs stanice u perifernoj krvi prvenstveno ovisi o TGF β i inhibira se kostimulacijom. Periferno konvertirane T reg stanice imaju stabilan Foxp3 fenotip u miša i mogu preživjeti nekoliko mjeseci u odsustvu antigena koji je inducirao njihovo stvaranje. U stvari, prospektivna indukcija T reg stanica može se koristiti i za nastajanje antigen-specifične tolerancije koja se oslanja na imunosupresiju susjednih CD4+ i CD8+ stanica s Foxp3+ T reg stanicama u perifernim limfnim čvorovima (235). Osim CD25 i Foxp3, T reg stanice izražavaju i druge molekule kao što su neuropilin, CD103, GPR83, CTLA-4. Nedavno je dokazano da su CD4+CD25+ T reg pozitivne i na receptor za IL-7 (IL-7R), za razliku od CD4+CD25+ stanica koje predstavljaju aktivirane T stanice, bez regulacijske funkcije (235). Foxp3 T reg stanice imaju centralnu ulogu u održavanju periferne tolerancije, a nastaju kao i konvencionalne T stanice u timusu (236). Timične CD4+CD25+ T stanice, koje se još zovu prirodene (engl.: natural) inhibiraju autoimunost induciranu transferom T stanica u atimičnog miša. Dokazano je da aktivno suprimiraju autoreaktivne stanice koje su izmakle negativnoj selekciji u timusu, sprječavajući niz autoimunih bolesti (237). Sudjeluju u regulaciji imunološkog odgovora na autologne, alogenične, patogenski promijenjene i tumorske antigene. Nastaju u timusu kao potpuno funkcionalna subpopulacija CD4+ T stanica koje migriraju na periferiju da bi aktivno suprimirale autoreaktivne stanice (236,237).

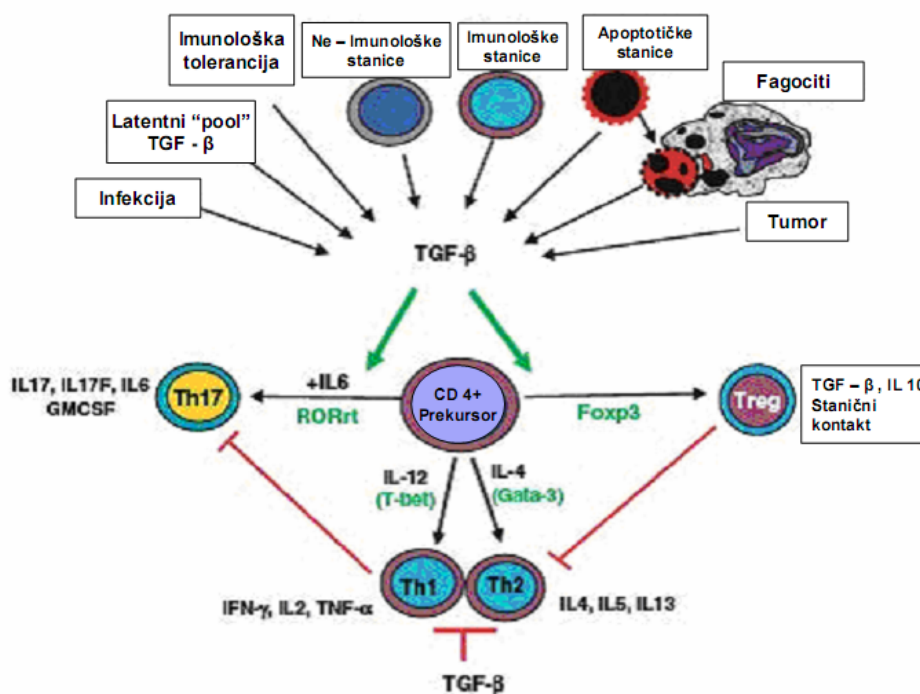


Slika 6. Osnovni mehanizmi na kojima se temelji stvaranje i održavanje tolerancije na autoantigene. Neuspjeh ovih mehanizama, određenih genetičkim ili čimbenicima okoliša, rezultira autoimunošću (prilagođeno iz reference broj 164).

Ova populacija stanica izražava visokoafinitetni receptor za IL-2 (IL-2R) koji se sastoji od 3 podjedinice poznate kao α lanac (CD25), β lanac (CD122) i γ lanac (CD132) (237). Prema današnjim saznanjima IL-2/IL-2R interakcija, kroz aktivaciju STAT5 kontrolira T reg u timusu i u perifernom imunološkom odgovoru (236, 237). Konstitucijsko izražavanje visoko afinitetnog IL-2R na T reg populaciji stanica sugerira ulogu IL-2 u signaliranju i funkciji T reg stanica (237). Aktivacija IL-2R dovodi do proteinske fosforilacije preko proteinskih kinaza (Jak1 i Jak3) te potom do aktivacije signalnih prijenosnika i aktivatora transkripcije (STAT) (238). Transformirajući faktor rasta (TGF β) je jedan od ključnih citokina koji zajedno s T reg stanicama sudjeluje u supresiji imunološkog odgovora (239). Kao što je već navedeno,

osim intratimično, CD4+CD25+Foxp3+ T reg stanice mogu nastati i ekstratimično od CD4+CD25- naivnih T stanica, putem indukcije Foxp3 uz pomoć TGFβ. Tako osim prirodnih, timičnih CD4+CD25+ T reg, unatrag nekoliko godina identificirane su i inducirane ili stečene (engl.: induced) CD4+CD25+Foxp3+ T regulacijske stanice koje su konvertirane iz naivnih CD4+CD25- T stanica na periferiji (240). CD4+CD25+ T stanice su anergične na stimulaciju T staničnog receptora in vitro i suprimiraju proliferaciju CD4+ stanica u ko-kulturi (240). Ovi limfociti također inhibiraju proliferaciju CD8+ stanica i B limfocita te makrofaga, dendritičkih stanica (DC) i NK stanica. U odsustvu funkcionalnih CD4+CD25+ T reg stanica miševi razvijaju letalnu autoimunost, dok adoptivni transfer prevenira autoimunost, alergiju i odbacivanje grafta (241). Regulacijske T stanice također suprimiraju antigenom stimuliranu T staničnu ekspanziju (240). Inducirane (i)T reg stanice se fenotipski i funkcionalno ne razlikuju od timičkih, prirodnih (n)T reg stanica, a njihova diferencijacija je neovisna o timusu (240). Naivne CD4+ T stanice se inače jednim dijelom diferenciraju u Th1 i Th2. Nakon aktivacije T staničnog receptora, IL-12 i IFNγ usmjeravaju CD4+ stanicu u Th1 subtip, dok je IL-4 potreban za diferencijaciju u Th2 subtip. Međutim, moguća je i konverzija u CD4+CD25+Foxp3+ T reg limfocite. Za konverziju stanica iz naivnih CD4+CD25-Foxp3- T stanica potrebno je TGFβ posredovano signaliranje putem poticanja Foxp3. Nedavno, proinflamatorna Th subpopulacija stanica koja luči IL-17 je identificirana. Th17 stanice nastaju također diferencijacijom iz CD4+CD25- naivnih T stanica, a za njihovu diferencijaciju također je potreban TGFβ, a u prisustvu proinflamatornog citokina IL-6 (240). Th17 stanice su nedavno identificirana podskupina CD4+ Th stanica i karakterizirane su proizvodnjom efektorskih citokina, IL-17, IL-17A i IL-6 (240). Odgovorne su za niz kroničnih upalnih i autoimunih poremećaja kao što je eksperimentalni autoimuni encefalitis (EAE) (multipla skleroza u ljudi) i kolagenom inducirani artritis (CIA) (reumatoidni artritis u ljudi) (240). Th17 stanice su uključene u obranu i protiv bakterija,

virusa te gljivica. Citokin TGF β luče uglavnom svi tipovi stanica u svakom tkivu i organu kao odgovor na različite fiziološke i patološke stimulanse. Transformirajući faktor rasta β inhibira T staničnu proliferaciju i Th1, Th2 diferencijaciju, a u kontekstu TCR stimulacije, inducira T reg ili Th17 diferencijaciju iz CD4⁺ T prekursora, ovisno o prisustvu ili odsustvu IL-6. Transformirajući faktor rasta (TGF β) u prisustvu IL-6 usmjerava konverziju u Th17 stanice iz naivnih CD4⁺ prekursora, a u odsustvu IL-6 potiče se nastanak T reg stanica. Regulacijske T stanice potom suprimiraju Th1 i Th2 odgovore, dok Th1 i Th2 nishodno reguliraju Th17 diferencijaciju (240).

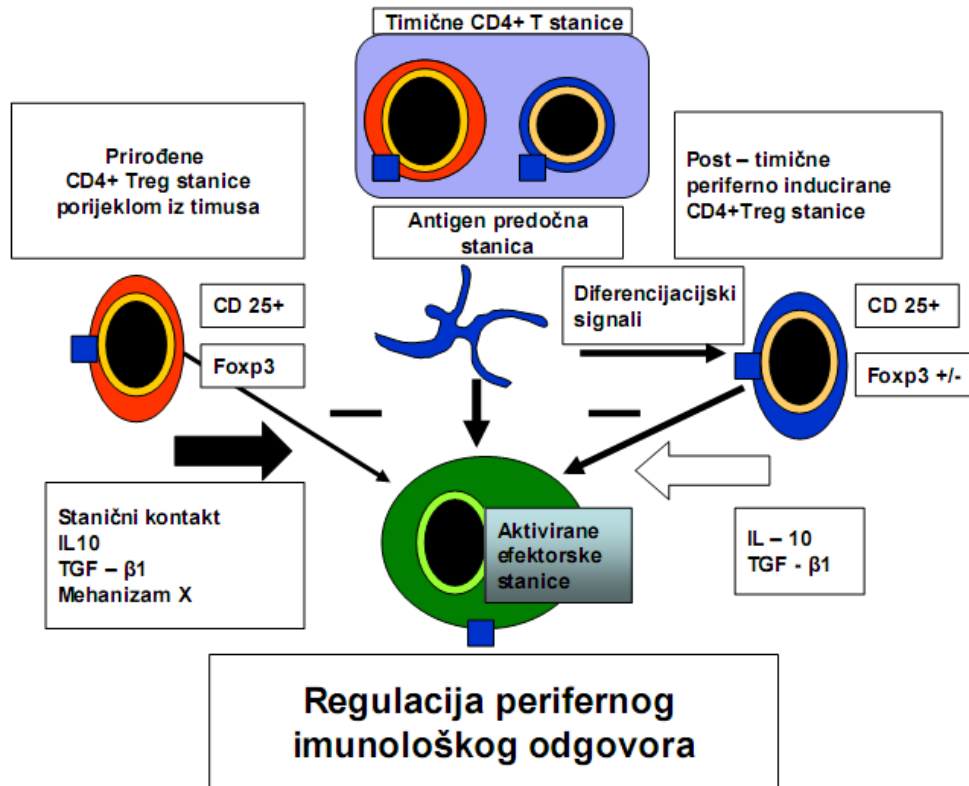


Slika 7. TGF- β kontrolira recipročnu diferencijaciju T reg stanica i Th17 stanica (prilagođeno iz reference broj 240).

1.5.6.1. Uloga T regulacijskih stanica u autoimunosti

Imunotolerancija se bazira na homeostatskoj i balansiranoj ravnoteži između očuvanja periferne tolerancije na vlastite antigene uz generiranje zaštitne imunosti protiv različitih

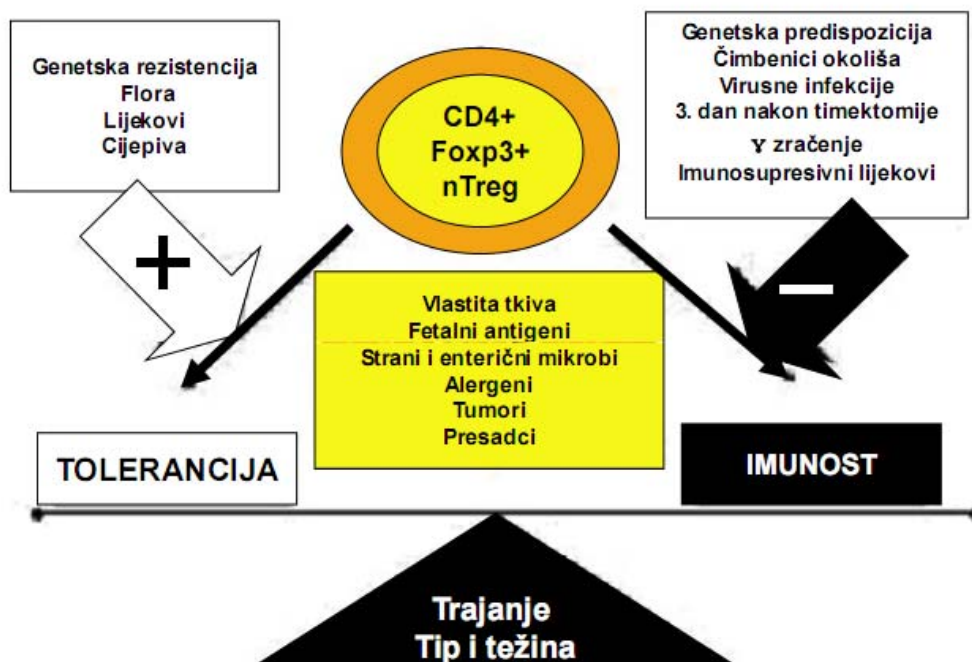
patogena. Da bi se uspostavila ravnoteža između ova dva različita imunološka ishoda postavljena je periferna mreža induciranih (i) i prirodnih (n) CD4⁺ regulacijskih T stanica (242, 243). Neke od (i)T reg stanica induciraju Th2 stanice koje luče IL-4 i Tr1 stanice koje luče IL-10, a koordiniraju periferni imunološki odgovor na više razina i imaju potencijal lučiti različite citokine nakon stimulacije s antigenom (242). Prirodne (n)T reg stanice se razvijaju u sklopu repertoara naivnih T stanica i intrinzično su regulacijske po prirodi te surađuju s (i)T reg u cilju modulacije imunološkog odgovora. Ova subpopulacija je specijalizirana za supresivnu funkciju prije prezentacije, odnosno izlaganju antigena (242,243). Relativan doprinos svake od ovih subpopulacija u ukupnoj regulaciji imunološkog odgovora nije potpuno jasan, ali oba podtipa stanica djeluju u sinergiji i zajedno nishodno reguliraju funkciju efektorskih T stanica u nekoliko tipova perifernog imunološkog odgovora (242). Točan mehanizam nastanka autoimunih bolesti nije poznat. Prirodne (n)T reg stanice predstavljaju 1-10% ukupnog broja CD4⁺ T stanica u timusu, perifernoj krvi i limfatičnom tkivu. Deplecija ovih stanica iz periferije na eksperimentalnim životinjskim modelima dovodi do različitih organ specifičnih bolesti kao što su gastritis, tireoiditis, DM tip I. Nadalje deplecija (n) Treg pojačava imunološki odgovor na različite mikrobe, provocira alergijske reakcije i kompromitira materno-fetalnu toleranciju tijekom trudnoće (242). Prirodne (n)T reg stanice, jednom kad su aktivirane snažno suprimiraju aktivaciju, proliferaciju i efektorsku funkciju CD4⁺, CD8⁺ T stanica, NK stanica, NKT i B stanica te dendritičkih stanica, još uvijek nepotpuno definiranim mehanizmom (242,243). Nije jasno da li se autoimunost razvije kao posljedica reduciranog broja ili funkcije T reg stanica ili povećane rezistencije patogenih T stanica na regulaciju.



Slika 8. Kontrola imunološkog odgovora putem CD4+ regulacijskih T stanica
(prilagođeno iz reference broj 242)

Za de novo razvoj induciranih (i)T reg na periferiji iz naivnih CD4+CD25- T stanica nakon ekspozicije s antigenom navodi se da su potrebni citokini kao TGFβ, IL-2, čak i IFNγ (244).

Regulacijske CD4+Foxp3+ T stanice predstavljaju centralni prekidač periferne T stanične tolerancije, budući da sprječavanje razvoja ili funkcije (n)T reg stanica može provocirati autoimunost, ali i pojačati imunološki odgovor prema tumoru, alergenima, graftu ili različitim patogenima. Alteracije u razvoju ili funkciji T stanica mogu biti izazvane fizikalnim, kemijskim, genetičkim čimbenicima, kao i čimbenicima okoliša. Trajanje i stupanj poremećaja (n)T reg disfunkcije mogu utjecati na imunološku ravnotežu i presuditi o stupnju tolerancije ili imuniteta na vlastite i strane antigene (242, 244).



Slika 9. CD4+Foxp3+ regulacijske T stanice: centralni kontrolni prekidač periferne tolerancije (prilagođeno iz refernce broj 242)

Tr1 stanice su poseban tip T stanica različit od Th1, Th2, Th17 i drugih T regs, a potječu od naivnih prekursora (245). Karakterizira ih proizvodnja velikih količina IL-10, nakon aktivacije T staničnog receptora, u odsustvu IL-4 (245). To su anergične stanice koje suprimiraju proliferaciju T stanica IL-10 ovisnim mehanizmom. Humane Tr1 stanice sudjeluju u održavanju tolerancije na vlastite antigene, na aloantigene, ali isto tako i na infektivne agense i tumorske stanice (245). Za razliku od CD4+CD25+Foxp3 T reg stanica, Tr1 stanice nastaju na periferiji pod tolerogenim uvjetima. Interleukin 10 (IL-10) kojeg luče ove stanice se detektira već 4 sata po aktivaciji (245). Lučenje TGFβ i IL-5 se također pripisuje ovim stanicama, ali ne u svim eksperimentalnim uvjetima. Glavna efektorska funkcija ovih stanica bila bi supresija imunog odgovora putem imunosupresijskih citokina (245). Nova subpopulacija T reg stanica su i CD8+ααTCRαβ T reg subpopulacija limfocita

koja specifično suprimira T stanicama posredovan autoimuni odgovor, odnosno cilj su im aktivirane T stanice (246). Ove stanice imaju sposobnost modulirati stimulacijski kapacitet antigen predočnih stanica čineći ih tolerogenim tako da aloreaktivne CD4+ T stanice koje posljedično reagiraju s antigen predočnim stanicama postaju anergične (246). One prepoznaju peptid putem T staničnog receptora, a u sklopu HLA molekule razreda Ib. Pretpostavlja se da CD4+CD25+ T reg stanice reguliraju rani imunološki odgovor, dok CD8αα T reg stanice suprimiraju imunološki odgovor u kasnoj fazi i cilj njihovog djelovanja su T efektorske stanične populacije (246).

1.5.6.2. Uloga T regulacijskih stanica u autoimunoj bolesti štitne žlijezde

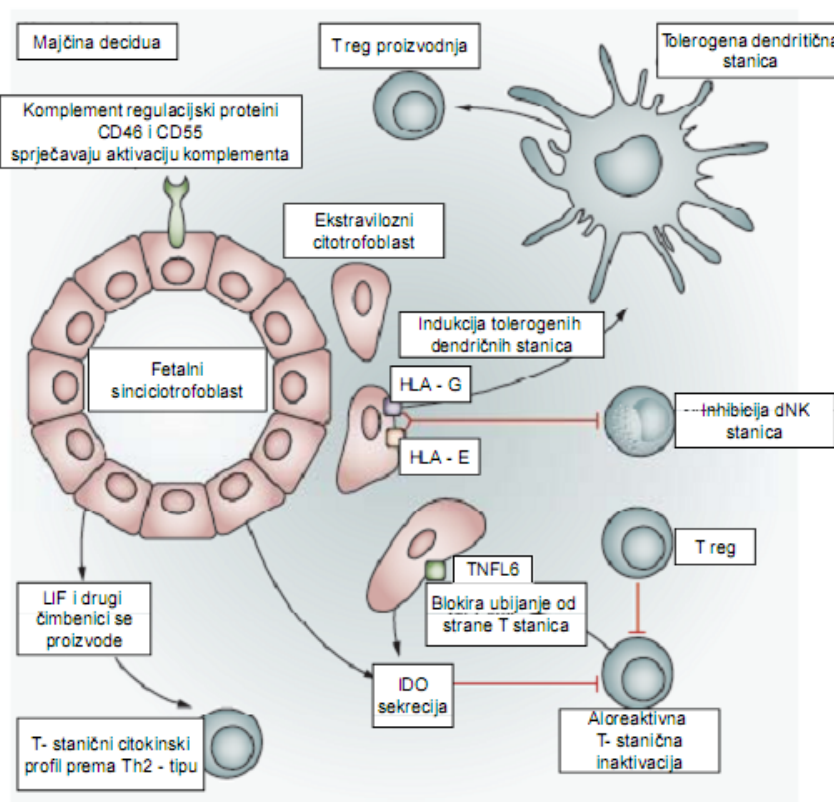
Nakon stimulacije, CD4+CD25+FoxP3+ T reg stanice suprimiraju proliferaciju konvencionalnih CD4+CD25- T stanica te citokinsku proizvodnju od strane CD4+CD25- i CD8+ T stanica, odnosno stanica Th1 i Th2 profila (247,248). Deplecija CD25+CD4+ T stanica iz normalnih životinja dovodi do spontanog razvoja različitih autoimunih bolesti, kao što su autoimuni gastritis, tireoiditis i diabetes mellitus tipa I, upalna bolest crijeva, a rekonstitucija normalnih CD25+CD4+ T stanica sprečava ove poremećaje (249). Značajan pad u postotku cirkulirajućih CD4+CD25+ T reg stanica je nađen u ne liječenih pacijenata s Gravesovom bolešću koji je negativno korelirao s koncentracijom TSHR protutijela (250). Također je dokazano da su CD4+CD25+Foxp3+ Treg stanice neophodne za razvijanje tolerancije u eksperimentalnom autoimunom tireoiditisu (EAT), što upućuje da je tolerancija na inducirani eksperimentalni tireoiditis rezultat aktivacije prirodnih (n) T reg stanica (251). Utvrđeno je i da T reg limfociti imaju ulogu u patogenezi jodom inducirano autoimunog tireoiditisa na mišjem modelu, budući da deplecija T reg stanica značajno pogoršava tireoiditis (252). CD4+CD25+ T stanice iz naivnih miševa inhibirale su multi-organsku autoimunost uključujući tireoiditis, koji se razvio nakon transfera CD4+CD25- stanica u

atimične BALB/c miševе (249). Istraživanja su pokazala smanjenje intratireoidnih T reg stanica kao odgovor na apoptozu u pacijenata s AITD. Ovo smanjenje može doprinijeti nepotpunoj regulaciji autoreaktivnih T stanica u autoimunoj bolesti štitne žlijezde (253). Na mišjem modelu dokazano je i da deplecija drugog subtipa T reg stanica, CD8+CD122+ povećava incidenciju hipertireoidizma u rezistentnih i ne rezistentnih miševa (254). U hipertireoidnih, rezistentnih miševa u kojih su depletirane CD8+CD122+ stanice primijećena je intratireoidalna limfocitna infiltracija (254). Stoga i CD4+CD25+ i CD8+CD122+ T reg stanice negativno reguliraju ekperimentalno induciranu Gravesovu bolest, a budući da deplecija bilo kojeg od ova dva subtipa pogoršava Gravesovu bolest, vjerojatno je da supresivni mehanizmi kojima djeluju nisu identični (254). U Hashimotovom tireoiditisu u ljudi je utvrđena smanjena supresivna sposobnost CD4+CD25+ T reg stanica (255). Drugi autori su utvrdili da je štitnjača infiltrirana s T reg stanicama u pacijenata s Gravesovom bolešću, ali je supresijska funkcija perifernih T reg stanica bila smanjena (256). Naime, Marazuela i sur. (256) dokazali su prisutnost više subtipova T reg stanica u pacijenata s AITD, tj. CD4+Foxp3+ i CD4+IL-10+ koji vjerojatno odgovaraju T reg i Tr1 stanicama, a neke od njih sposobne su lučiti imunosupresivne IL-10 i TGFβ citokine, no njihova supresijska funkcija je čini se deprimirana te one ne mogu nishodno regulirati upalni odgovor i oštećenje tkiva prisutno u AITD (256). Limfociti Th17 također imaju važnu ulogu u različitim kroničnim upalnim i autoimunim stanjima. Jedna studija je pokazala povećanu diferencijaciju Th17 limfocita i povećanu sintezu Th17 citokina u AITD, prvenstveno u Hashimotovom tireoiditisu (257). Th17 stanice inače proizvode proinflamatorne citokine te imaju važnu ulogu u poticanju upale (175)

1.5.6.3. Uloga T regulacijskih stanica u trudnoći i poslije poroda

Za vrijeme normalne trudnoće majčin imunološki sustav je modificiran da bi omogućio rast i razvoj fetusa koji se smatra semi-alograftom (164,165). Generalizirano stanje smanjene, točnije modificirane majčine imunološke reaktivnosti može biti posljedica značajnih promjena u razinama različitih hormona (164). Predložena i uglavnom prihvaćena hipoteza je da su tip 2 citokini (IL-4, IL-5, IL-6, IL-10) tijekom trudnoće dominirajući, a tip 1 citokina (IFN γ , IL-2, IL-12, TNF α i TNF β) smanjeni, u cilju sprječavanja aktivacije stanicama posredovane imunosti i upale (105,165). Zapravo, radi se o ravnoteži Th1/Th2, s blagim pomakom ka Th2 (69,175). I majčina i posteljina imunosupresija su uključene u očuvanje trudnoće i inducirane značajnim hormonskim promjenama (69). U ovom kontekstu, T reg stanice su predložene kao ključne stanice u uspostavljanju Th1/Th2 ravnoteže i tolerancije prema fetusu koji izražava aloantigene, te i u postpartalnom razdoblju (258). Normalne trudne mišice pokazuju ekspanziju CD4+CD25+ i IL-10+ T reg stanica na periferiji u komparaciji s ne trudnim životinjama (258, 259). Ovaj značajno manji postotak T reg stanica opisuje se u miševa sklonih pobačajima. Štoviše, CD4+CD25+ T reg stanice iz normalnih trudnih mišica su sposobne spriječiti odbacivanje fetusa (258, 259). Izgleda da T reg stanice reguliraju i Th1 stanice koje usmjeravaju imunološki odgovor ka staničnom imunitetu i Th2 aktivnost, koja je uključena u humoralnu imunost (175). Regulacijske T stanice preveniraju pobačaje omogućavajući stvaranje prolaznog tolerogenog mikrookoliša karakteriziranog visokim razinama TGF β , LIF i HO-1 (259). Nishodno regulirane razine T reg stanica su također opisane za vrijeme pobačaja u žena (259). Također, postoje dokazi koji upućuju da T reg stanice, da bi imale zaštitnu funkciju, moraju biti aktivirane muškim antigenima za vrijeme trudnoće (259). Prema nekim autorima, učestali pobačaji su rezultat povećane aktivnosti prirođenog imunološkog sustava, posebno NK stanica (260,261). Limfni čvorovi koji dreniraju uterus i slezenu u miša sadrže povećan broj CD4+CD25+ stanica u

ranog trudnoći, neovisno o tome da li je fetus singeničan ili alogeničan (262). Na mišjem modelu spontanog pobačaja, adoptivni transfer T reg stanica iz normalnih trudnih mišica, prevenirao je pobačaj (258). Oko trećine svih CD4+ T stanica u uterusu su CD25+ T reg stanice i izražavanje Foxp3 je također povećano (164). CD4+CD25+Foxp3+ T stanice su povećane u broju, u cirkulaciji i uterusu, za vrijeme prvog te izgleda i drugog tromjesečja, a opadaju u poslije porođajnom razdoblju (263, 264). Opisano je da T reg stanice koje čine oko 20% decidualnih CD4+ stanica u ranoj trudnoći padaju na 6% u decidui spontanog pobačaja (263). Ove T reg stanice mogu biti ključne u regulaciji fetalnih T staničnih odgovora protiv stranih i vlastitih antigena za vrijeme trudnoće (164).



Slika 10. Sumarni prikaz mehanizama uključenih u majčinu toleranciju prema fetalnom semi-alograftu. Fetalna tkiva su prikazana ružičastom, a majčina plavom bojom (prilagođeno iz reference broj 164)

Izgleda da decidua akumulira fetus specifične T reg stanice iz periferne krvi majke što pomaže u lokalizaciji tih stanica tamo gdje su najpotrebnije (265). I druge populacije T reg stanica mogu biti aktivne za vrijeme trudnoće, npr. CD8+ T reg stanice koje su opisane, a aktivirane ranim humanim trofoblastnim stanicama. Ove stanice izražavaju mukozni biljeg CD103 i koriste jedinstvene elemente HLA restrikcije i kostimulacijske signale (266). Ipak, usprkos istraživanjima, nije potpuno jasno kako T reg stanice funkcioniraju i akumuliraju se na materno-fetalnoj plohi. Vrlo visoka razina cirkulirajućeg estrogena u trudnoći može biti jedan od čimbenika koji promovira razvoj T reg stanica, dok progesteron može biti odgovoran za smanjenje broja stanica u drugoj polovici trudnoće (267). Trudnoća ima značajan učinak na tireoidnu homeostazu i predstavlja povećani stres za štitnjaču, reflektirajući povećanu potrebu za povećanom proizvodnjom hormona štitnjače da bi se zadovoljile majčine i fetalne potrebe (268). Trudnoća utječe na funkciju štitnjače i obratno poremećaj funkcije štitnjače može utjecati na začeće i očuvanje, odnosno ishod trudnoće. Sam tijek AITD se mijenja tijekom trudnoće i postpartalno. Pad titra tireoidnih autoprotutijela tijekom trudnoće može biti posljedica utjecaja supresije posredovane T reg stanicama (164). Nakon poroda, razina tireoidnih autoprotutijela se vraća na prije trudničku razinu i može se povezati s postpartalnom egzacerbacijom tireoidne autoimunosti (69, 70, 80, 269). Zahvaljujući fiziološkoj imunosupresiji, Gravesova bolest se obično poboljšava tijekom trudnoće, a često dolazi do relapsa postpartalno. Postepeno poboljšanje prethodno postojećeg hipertireoidizma je vjerojatno posljedica pada stimulirajućih protutijela na TSH receptor (TRAbs) u drugom i trećem tromjesečju (69,70, 269). U poslije porođajnom razdoblju dolazi do porasta stimulirajućih TRAbs, zajedno s relapsom Gravesove bolesti (68, 69, 164, 269).

Poboljšanje tireoidne autoimunosti i nekih drugih imunih poremećaja tijekom trudnoće je moguće posljedica ekspanzije T reg stanica (164). Pad autoprotutijela protiv TSH receptora u trudnih žena s Gravesovom bolešću može se vjerojatno objasniti tipom T reg stanicama

posredovane supresije, iako je citokinski profil u trudnoći usmjeren ka Th2 odgovoru (164). T reg stanice inducirane za vrijeme trudnoće mogu se akumulirati u štitnoj žlijezdi, modulirati dendritičke stanice i konvertirati ih u stanice sposobne pojačati imunosupresiju (164). Bilo kako bilo, inhibicija T stanica putem T reg limfocita nije jedina u igri, budući da su Th17 inflamatorne stanice praktično odsutne u ljudskoj decidui, Th1 stanice su usmjerene ka profilu sa smanjenim lučenjem IFN γ , a Th2 stanice su prisutne u istom postotku kao i u cirkulaciji (270). U uvjetima mirovanja Th17 stanice su rijetke i inaktivne, međutim, nakon stimulacije se aktiviraju i proizvode IL-17. Ipak, u slučaju ljudske trudnoće, ostaje nepoznato kako se točno T reg stanice nakupljaju u decidui. Zanimljivo, slično mišjem modelu, in vitro deplecija T reg stanica iz decidualnih limfocita, ali ne i iz limfocita periferne krvi, dovodi do pojačane reaktivnosti prema fetalnim antigenima za vrijeme trudnoće (265). U skladu s rezultatima na mišjem modelu, prve studije na ljudima su pokazale povećan broj T reg stanica u cirkulaciji trudnica s najvišim vrijednostima u drugom tromjesečju te padom prema kraju trudnoće i postpartalno (263, 264). Međutim, postoje i novija istraživanja koja su pokazala drugačije rezultate. Naime, opisano je da je zapravo u cirkulaciji, u trudnoći povećana subpopulacija CD4⁺CD25^{high} Th stanica što zapravo nije „pravi“ fenotip T reg stanica. Kada se ove stanice isključe iz analize, učestalost „pravih“ T reg stanica se nije razlikovala u trudnih i ne trudnih žena (271). Prava, supresivna CD25^{high} subpopulacija T reg stanica pokazuje slabije izražavanje CD4 molekule, tako da su one CD4⁺dimCD25⁺high stanice. Možda je upravo važno da postoji različita raspodjela T reg stanica u različitim odjeljcima. Dok su T reg stanice u većem postotku zastupljene u decidui i imaju stabilan supresivni fenotip, u cirkulaciji nisu prisutne u većem postotku i imaju normalni supresijski kapacitet. Može se pretpostaviti da su T reg stanice zapravo plastične i fleksibilne, odnosno mogu se reprogramirati u druge T helper fenotipove npr. u IL-17 stanice, u Th2 ili Tr1 slične stanice (271). Nakon stimulacije mogu proizvoditi veće količine transkripcijskih faktora za različite

linije Th stanica. U trudnoći bi ta fleksibilnost bila važna, budući da su ove stanice primarno supresivne, ali se isto tako mogu brzo pretvoriti u agresivniji fenotip u slučaju infekcije (271). Aberacije u funkciji T reg stanica povezuju se i s komplikacijama trudnoće kao što je preeklampsija. Naime, u preeklampsiji se opisuje smanjen broj i funkcija T reg stanica (272). U jednoj studiji smanjen broj T reg stanica praćen je s povećanim brojem Th17 stanica (273). Usprkos brojnim istraživanjima o biologiji i funkciji T reg stanica, saznanja o njihovoj ulozi u reprodukcijskoj imunologiji još uvijek su nedostatna, a onih koja proučavaju njihovu ulogu u autoimunoj bolesti štitne žlijezde u trudnoći praktično nema.

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Promjene imunoloških parametara koje prate tijek autoimune bolesti još uvijek nisu u dovoljnoj mjeri razjašnjene, posebice one promjene koje prate autoimunu bolest štitnjače tijekom trudnoće. Poseban izazov predstavlja ispitivanje utjecaja imunološkog statusa tijekom trudnoće i nakon porođaja na progresiju ili remisiju AITD te razvoj postpartalnog tireoiditisa. Postpartalni tireoiditis povezuje se s povišenim titrom TPO protutijela, ali neosporno je da su i neki drugi imunološki mehanizmi uključeni u etiopatogenezu ove bolesti. Stoga je naše istraživanje imalo za glavni cilj rasvijetliti upravo neke od komponenata stanične (Th) i prirodene (NK stanice) imunosti u trudnica koje boluju od autoimunog poremećaja štitne žlijezde s ili bez poremećaja funkcije te ih usporediti sa vrijednostima u zdravih trudnica u nadi boljeg razumijevanja složenog međudjelovanja koje se zbiva tijekom trudnoće udružene s autoimunom subkliničkom ili klinički razvijenom hipotireozom ili hipertireozom, te autoimunim tireoiditisom, te istim kliničkim entitetima u postpartalnom razdoblju.

U ovom istraživanju cilj nam je bio istražiti:

1. Fenotipske karakteristike imunoloških stanica tijekom autoimune bolesti štitnjače (oba oblika: hiperfunkcija i hipofunkcija štitne žlijezde) tijekom trudnoće (u prvoj i u drugoj polovici trudnoće), kao i u ranom postporođajnom razdoblju
2. Utjecaj promijenjenih imunoloških parametara tijekom autoimune bolesti štitnjače na klinički tijek same autoimune bolesti, te na nalaz specifičnih protutijela prije i tijekom trudnoće, kao i poslije poroda.
3. Pratiti tijek trudnoće i vršiti korelaciju svih nalaza s promjenama imunoloških parametara, kao i s koncentracijom specifičnih protutijela.
4. Utvrditi postoje li značajne razlike u titru specifičnih protutijela te imunoloških parametara između autoimune hipertireoze i hipotireoze.

5. Utvrditi osobitosti stanica prirodene imunosti (NKT i T regulacijskih stanica) tijekom trudnoće udružene s razvojem autoimune bolesti.
6. Citolitički potencijal imunoloških stanica tijekom trudnoće udružene sa razvojem autoimune bolesti

Analizom navedenih parametara želimo doprinijeti temeljitijem sagledavanju uzročno-posljedičnih veza između stupnja razvijenosti autoimune bolesti štitnjače i imunološkog statusa tijekom trudnoće, kao i u ranom postpartalnom razdoblju, te utjecaju promijenjenih imunoloških parametara na eventualni razvoj postpartalnog tireoiditisa. Nadamo se da će ovi naši rezultati pridonijeti boljem sagledavanju promjena u tijeku razvoja autoimune bolesti štitnjače za vrijeme trudnoće, kao i u patogenetskoj slici koja je praćena povišenim titrom protutijela, a bez pratećih kliničkih simptoma, te pridonijeti adekvatnijoj terapiji i posljedičnom bržem sprječavanju komplikacija trudnoće praćene autoimunim poremećajima štitnjače, te boljem i bržem liječenju u postpartalnom razdoblju.

3. ISPITANICI I METODE

Studija je provedena u vremenskom razdoblju od siječnja 2009. do travnja 2012. godine kao prospektivna longitudinalna studija uz pridržavanje etičkih principa i dobre kliničke prakse.

3.1. ISPITANICE

Ispitanice su odabrane iz stratificiranog uzorka populacije trudnica koje su u prvoj polovici trudnoće dolazile na Kliniku za ginekologiju i porodništvo Kliničkog bolničkog centra Rijeka ili u specijalizirane ginekološke ambulante pri Domovima zdravlja Rijeka, Krk, Pula, Rab na pregled, ili u ambulantu Kliničkog Zavoda za nuklearnu medicinu Kliničkog bolničkog centra Rijeka, a koje ranije nisu uzimale terapiju zbog hipotireoze ili hipertireoze, uključivši i žene kojima je prethodno (prije trudnoće) postavljena dijagnoza AITD, ali im nije propisano liječenje, te dodatno trudnice koje su zbog poremećaja funkcije štitnjače u sklopu AITD uzimale terapiju prije trudnoće, ali ne i u trudnoći, a to se odnosi na trudnice u remisiji Gravesove bolesti. Sve ispitanice, odnosno njihove nalaze potom smo razvrstali u šest skupina (Tablica 1).

Ovo istraživanje je obuhvatilo ukupno 193 ispitanica u trudnoći i to 115 u prvoj polovici trudnoće (6-20 tjedan gestacije) i 78 u drugoj polovici trudnoće (21-36 tjedan gestacije) i 77 žena u poslije porođajnom razdoblju (3 tjedna - 9 mjeseci poslije porođaja), koliko ih se odazvalo na naš poziv. Dio trudnica sudjelovao je u ispitivanju u prvoj i u drugoj polovici trudnoće, a dio je kontroliran samo jednom tijekom trudnoće. 185 ispitanica nije imalo ranije dijagnosticiranu autoimunu bolest štitne žlijezde, niti su ikad uzimale terapiju zbog poremećaja funkcije štitnjače, a 77 ih se poslije poroda odazvalo na kontrolu. Zasebno smo, dodatno izdvojili trudnice u remisiji hipertireoze, 4 u prvoj i 4 u drugoj polovici trudnoće koje su u trudnoći imale uredan status hormona. Sve ispitanice uključene u studiju dale su dobrovoljni pristanak i potpisale su pisanu suglasnost (engl.: informed consent), a njihovi nalazi raspodijeljeni su u jednu od navedenih 6 skupina.

Tablica 1: SKUPINE ISPITANICA

Skupina I:	normalna trudnoća+postporođajno razdoblje
Skupina II:	AITD (povišen titar TPO i/ili TgAt i/ili TRAbs protutijela, uredan hormonski status) u prvoj polovici trudnoće, drugoj polovici trudnoće+postporođajno razdoblje
Skupina III:	AITD (povišen titar TPO i/ili TgAt i/ili TRAbs protutijela, supkl. ili kl. hipotireoza) u prvoj polovici trudnoće, drugoj polovici trudnoće +postporođajno razdoblje
Skupina IV :	AITD (povišen titar TPO i/ili TgAt i/ili TRAbs protutijela, supkl. ili kl. hipertireoza) u prvoj polovici trudnoće, drugoj polovici trudnoće +postporođajno razdoblje
Skupina V:	AITD (trudnice u remisiji hipertireoze) (povišen titar TPO i/ili TgAt i/ili TRAbs protutijela, uredan hormonalni status) u prvoj polovici trudnoće, drugoj polovici trudnoće+postporođajno razdoblje
Skupina VI:	dobrovoljne davateljice krvi (zdrave žene-kontrola)

Kontrolna skupina sastojala se od 44 zdrave žene fertile dobi (dobrovoljne davateljice krvi) koje ne uzimaju nikakve lijekove, a dobrovoljno su dale krv te potpisale suglasnost. Standardiziranim upitnikom zabilježeni su opći podaci o ispitanicama, kao što su ime, prezime, dob, tjedan trudnoće, broj dosadašnjih trudnoća i porođaja, komplikacije tijekom prethodnih trudnoća i porođaja te obiteljska anamneza u smislu postojanja AITD u obitelji. Također su se uzimali podaci vezani uz prethodno pojavljivanje AITD ili drugih bolesti štitnjače, podaci o dosadašnjim bolestima i liječenju te promjene vezane uz praćenje trudnoće. Iz anamnestičkih podataka analiziralo se sve podatke koji bi mogli utjecati na naše rezultate.

3.2. METODE

3.2.1. Nuklearno medicinske laboratorijske metode (radioimunološka analiza-RIA i slične metode)

Laboratorijski hematološki parametri izmjereni su u laboratoriju Kliničkog bolničkog centra Rijeka na Kliničkom zavodu za nuklearnu medicinu. Iz periferne krvi ispitanica određivani su standardni laboratorijski parametri: koncentracije hormona štitnjače, odnosno slobodni tiroksin (FT4) i slobodni trijodtironin (FT3), koncentracija tireotropina (TSH) te titar specifičnih autoprotutijela na tireoidnu peroksidazu (TPOAt) i tireoglobulin (TgAt) kao i titar visoko specifičnih stimulirajućih autoprotutijela na receptor za TSH (TSHR), tzv. TSAbs u trudnica te nakon njihovog poroda, kao i u kontrolnoj skupini. Pri analizi koncentracije TSH iz svakog uzorka krvi korištena je kemiluminiscentna imunološka metoda (LIA) na uređaju Immulite (Siemens Healthcare Diagnostic Products Ltd., Llanberis, Gwynedd, Velika Britanija, /Munchen, Njemačka) ili dvije imunoradiometrijske metode (IRMA) od dva različita proizvođača: Siemens (Siemens Healthcare Diagnostic Products Ltd., Llanberis, Gwynedd, Velika Britanija, -Munchen, Njemačka) i Brahms (Berlin, Njemačka).

To su kvantitativne imunoradiometrijske kemijske analitičke metode ili metode imunoradiometrijske analize koje se temelje na imunokemijskoj reakciji između antigena kao analita i izotopom obilježenog specifičnog protutijela kao imunoreagensa pri kojoj nastaje kompleks antigen-obilježeno protutijelo. Značajke ovih metoda su velika osjetljivost, visoka specifičnost i reproducibilnost.

Imunoradiometrijska metoda (IRMA) je nekompetitivna imunoradiometrijska analiza s radioaktivno obilježenim protutijelom koja se bazira na reakciji obilježenog specifičnog protutijela i antigena. Molarna koncentracija obilježenog protutijela veća je od molarne koncentracije antigena (reagens u suvišku), a radioaktivnost kompleksa antigen-protutijelo razmjerna je s količinom prisutnog antigena. Protutijela ili antigeni su vezani za čvrstu

podlogu (presvučena stijenka epruvete), pa se odvajanje vezanog od nevezanog obilježenog protutijela provodi odlijevanjem supernatanta.

LIA je imunoluminiscentna metoda koja kombinira enzim koji obilježava (alkalna fosfataza) i kemiluminiscentni supstrat (fosfatni ester). Nastali kompleks antigena i specifičnog protutijela s alkalnom fosfatazom je srazmjeran razgradnji luminiscentnog supstrata i emitiranoj luminiscenciji koja se u tom trenutku mjeri luminometrom (sastavni dio Immulite sistema). Izmjerenu luminiscenciju izražavamo u CPS (engl.: counts per second) te preračunavamo u koncentraciju ispitivanih hormona. Sustav je zatvoren i potpuno automatiziran.

Prema preporuci proizvođača normalni raspon TSH je od 0,3 do 5 mIJ/L za žene koje nisu trudne, odnosno kontrolnu populaciju. Dok je, prema novim smjernicama za dijagnozu i liječenje bolesti štitnjače tijekom trudnoće i u poslijeporođajnom razdoblju Američkog društva za štitnjaču (ATA), koje su objavljene u časopisu Thyroid, 2011 godine, gornja granica TSH u trudnoći 2,5 mIJ/L u 1. tromjesečju, a 3 mIJ/L u drugom i trećem tromjesečju trudnoće. Donja granica TSH za trudnice je 0,1 mIJ/L u prvom, 0,2 mIJ/L u drugom i 0,3 mIJ/L u trećem tromjesečju (65).

Osim koncentracije TSH, analizirane su i koncentracije FT4 i FT3 hormona korištenjem radioimunološke metode (RIA) (DPC, Los Angeles, SAD).

RIA je imunokemijska reakcija specifičnog protutijela, obilježenog i neobilježenog antigena te nastaju kompleksi, obilježeni antigen-protutijelo i neobilježeni antigen-protutijelo. Molarna koncentracija protutijela manja je od molarnih koncentracija antigena, pa je vezanje obilježenog i neobilježenog antigena za receptore protutijela kompetitivno. RIA se izvodi pomoću komercijalnih kitova koji sadrže sve potrebne reagense. Analiza se izvodi tako da se u označene epruvete pipetiraju uzorci standardnih koncentracija hormona koji se ispituje, kontrolni uzorci i uzorci seruma koje želimo analizirati. U sve epruvete dodaje se zatim ista

količina obilježenog antigena i specifičnog protutijela. Epruvete se inkubiraju na propisanoj temperaturi. Nakon završene inkubacije odvaja se vezani od slobodnog dijela obilježenog antigena te mjeri radioaktivnost kompleksa. Iz baždarne krivulje koja se dobije iz izmjerenih radioaktivnosti za poznate koncentracije hormona očitava se koncentracija ispitivanog hormona u analiziranom uzorku.

Referentni raspon za FT4 je 10-25 pmol/L, a za FT3 2,2-6,8 pmol/L.

Titar protutijela specifičnih za tireoidnu peroksidazu (TPOAt) i protutijela na tireoglobulin (TgAt) je također mjeren kemiluminiscentnom imunološkom metodom (LIA) (Immulate, Siemens Healthcare Diagnostic Products Ltd., Llanberis, Gwynedd, Velika Britanija/Munchen, Njemačka). Prema našim laboratorijskim i preporukama proizvođača pozitivan titar smatra se iznad 60 mIJ/L za obje vrste protutijela.

Za analizu koncentracije, odnosno kvantitativno određivanje stimulirajućih protutijela (TSAbs) na tireotropinski receptor (TSHR) koristila se RIA metoda (TRAK human, Brahms, Berlin, Njemačka). Prema preporuci proizvođača, normalni titar protutijela je vrijednost manja od 1 IJ/L (<1IJ/L), povišeni titar je vrijednost veća od 1,5 IJ/L (>1, 5 IJ/L), a tzv. „siva zona“ je područje između 1 i 1,5 IJ/L.

Nakon venepunkcije krvni uzorci su pokupljeni u epruvete s vakumom (BD Vacutainer systems, Plymouth, Velika Britanija). Nakon 10 minuta krvni uzorci su centrifugirani 10 minuta na 3000 okretaja u minuti da bi se izdvojio serum. Kada se koristio IRMA test za analizu uzorci su odvojeni u alikvotne i čuvani u električnom hladnjaku na +4°C ili analizirani isti dan. Iz onih uzoraka koji su čuvani na +4°C, analizirane su koncentracije TSH IRMA testom, kao i FT4 i FT3 koncentracije uz pomoć RIA metode, unutar 24 sata od uzimanja uzoraka. Uzorci seruma za čiju analizu TSH, TPO te TgAt titra je korištena kemiluminiscentna metoda, Immulate (Siemens Healthcare Diagnostic Products Ltd.,

Llanberis, Gwynedd, Velika Britanija/Munchen, Njemačka) čuvani su na -20°C najviše 7 dana i odležani na sobnoj temperaturi na dan analize. Svi analitički postupci u svrhu određivanja koncentracija TSH, FT4, FT3 te TPOAt, TgAt i TSABs titra izvršeni su u skladu s preporukama proizvođača.

3.2.2. Ultrazvuk štitnjače

Svim ispitanicima rađen je ultrazvučni pregled štitnjače (UZV) na ultrazvučnom aparatu, Aloka Co., LTD, Mitaka-Shi, Tokyo, Japan.

3.2.3. Metoda imunofluorescencije uz očitavanje protočnim citometrom

3.2.3.1. Obilježavanje površinskih biljega i određivanje staničnog fenotipa metodom direktne i indirektno fluorescencije

Imunofluorescencijska metoda je standardna, laboratorijska metoda koja se koristi u imunologiji, a kojom se fluorescentnim obilježavanjem površinskih biljega na stanicama određuje fenotip stanica. Bazira se na konjugaciji monoklonskih protutijela fluorescentnim bojama, a omogućava specifičnu reakciju epitopskog vezivanja antigena za protutijelo. Fluorescentna boja nakon obasjavanja ultraljubičastom ili laserskom svjetlošću određene valne duljine, počinje emitirati vlastitu svjetlost kojom se tada dokazuje antigen. Stanice se moraju, tijekom postupka držati na ledu te pobrojati. U svakoj probi, odnosno uzorku se potom podese na 1×10^6 stanica/ml. Nakon toga slijedi bojanje metodom direktnog ili indirektnog obilježavanja. Mi smo u našoj studiji obilježavali mononuklearne limfatične stanice periferne krvi, a njihov fenotip, odnosno izražavanje staničnih biljega očitavano je metodom protočne citometrije na protočnom citometru FACScalibur (Becton Dickinson, Mountain View, CA, USA). Analizirani su standardni parametri:

- FSC- parametar veličine stanica,

- SSC - parametar granuliranosti-gustoće stanica,
- valna dužina,
- intezitet tri različita emisijska spektra fluorescentnih boja: FL1- intenzitet zelene fluorescencije, FL2 - (intenzitet narančaste fluorescencije) i FL3 - intenzitet crvene fluorescencije.

3.2.3. 1.1. Direktna imunofluorescencija

Za obilježavanje mononuklearnih limfatičnih stanica periferne krvi podesili smo broj stanica na 10^6 po uzorku. Stanice smo resuspendirali u 50 μ l hladnog FACS pufera, a potom smo u suspenziju stanica dodali 1; 2; 2,5; ili 5 μ g monoklonskih protutijela direktno ili u otopljenom obliku u istom volumenu. Ova metoda omogućava istovremenu detekciju dva biljega na stanicama zbog istovremenog dvostrukog obilježavanja stanica monoklonskim protutijelima koja su direktno vezana s različitim fluorescentnim bojama.

Za detekciju staničnih biljega T stanica (CD3, CD4, CD8) koristili smo FITC-om (engl.: fluorescein isothiocyanate) konjugirana protu-CD3 monoklonska protutijela, PE (engl.: phycoerythrin) konjugirana protu-CD4 i CD8 monoklonska protutijela (Becton Dickinson Co). Za imunofenotipizaciju NK i NKT stanica koristili smo CD16+56 monoklonska protutijela (Becton Dickinson Co). Komercijalni kit (eng.: Human Regulatory T cell Staining KIT; eBioscience) korišten je za detekciju regulacijskih T_{regs} (engl.: Human Regulatory T cell) stanica. Ovaj kit sadrži FITC CD4, APC, CD25 i PE (phycoerythrin)-Foxp3 monoklonska protutijela po protokolu. U kitu za regulacijske T stanice istovremeno su korištene tri boje. Za sve uzorke korištene su po protokolu preporučene odgovarajuće izotipske kontrole. Stanice su inkubirane u trajanju od 30 minuta na +4°C, a potom su isprane u FACS mediju 5 min

(350 g) čime se odstranjuje suvišak nevezanih protutijela. Stanice se nakon toga resuspendiraju u 1 ml FACS medija s 1 µg/ml propidijum jodida koji kao fluorescentna boja služi za obilježavanje mrtvih stanica na protočnom citometru.

3.2.3. 1.2. Indirektna imunofluorescencija

U indirektnoj metodi imunofenotipizacije, primarna protutijela koja se specifično vežu za određeni epitop, odnosno biljeg nisu vezana za fluorescentnu boju, a za obilježavanje specifične reakcije vezanja primarnog protutijela za antigen koristi se sekundarno protutijelo. Sekundarno protutijelo je konjugirano s fluorescentnom bojom, a specifično je za vrstu i razred primarnog protutijela. Primarno protutijelo specifično veže (Fab)₂ fragment, a mora biti iste vrste i izotopa.

Stanice se inkubiraju trideset minuta na +4°C. Nakon ponovne inkubacije sa suspenzijom stanica od 30 minuta na +4°C, uz pomoć ispiranja odstrane se suvišna, nevezana protutijela i dodaje se propidij jodid. Suspenzija stanica se potom očitava na protočnom citometru kao i u postupku direktne imunofluorescencije. Radi očuvanja vijabilnosti stanica, tijekom cijele metode pripremanja, stanice se također čuvaju na ledu, a postotak nespecifičnog vezivanja za metode direktne ili indirektno imunofluorescencije određuje se uz pomoć kontrolne probe, odnosno primarnog protutijela irelevantnog za biljege analiziranih stanica.

3.2.4. Obilježavanje i određivanje unutarstaničnog sadržaja perforina

U našem istraživanju obilježavali smo unutarstanični perforin te određivali količinu, odnosno sadržaj perforina u limfocitima periferne krvi naših ispitanica, tj. u trudnoći i u

postpartalnom razdoblju, te uspoređivali s unutarstaničnom količinom perforina u kontrolnoj skupini žena fertile dobi.

Radi se o unutarstaničnom antigenu, stoga je prvo bilo potrebno provesti postupak fiksiranja i permeabiliziranja stanične membrane. Stanične membrane smo fiksirali s 4% otopinom paraformaldehida (100µg) koja se dodaje na talog (100µg) te inkubira 10 minuta na sobnoj temperaturi. Nakon toga su stanice isprane dva puta u mediju za protočni citometar i resuspendirane u 100 µl saponinskog pufera, da bi došlo do permeabilizacije stanične membrane. Stanice smo potom inkubirali 20 minuta, a po isteku vremena inkubacije na talog smo dodali monoklonska mišja protu-humana protu-perforinska protutijela, 3 µl po uzorku, a razrijeđena u 100 µl saponinskog pufera. Slijedi inkubacija u trajanju od 30 minuta na +4°C. Nakon inkubacije, da bi isprali nevezana primarna protutijela, uzorci se moraju dva puta isprati u saponinskom puferu. Potom smo na talog dodali sekundarno protutijelo GAM-FITC (engl.:Goat-Anti-Mouse) obilježeno bojom fluorescein-izo-tio-cijanatom (FITC), 1 µg po uzorku i razrijeđeno u 100 µl saponinskog pufera te stanice inkubirali 30 minuta na +4°C. Slijedi dva puta ispiranje u saponinskom puferu. Nadalje smo na talog stavljali 0,5 ml FACS medija uz pomoć kojega se na kraju zatvaraju stanične membrane prvotno permeabilizirane saponinom.

3.2.5. Etičnost istraživanja i informirani pristanak

Istraživanje je odobreno od strane Etičkog povjerenstva KBC Rijeka i Povjerenstva za etička pitanja Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Rijeci. Prije uključivanja u istraživanje svaka ispitanica je, nakon upoznavanja s ciljem i protokolom istraživanja, kao i obavijesti da će njeni medicinski podatci biti korišteni isključivo u navedenom istraživanju, potpisala informirani pristanak. Istraživanjem je osigurano poštivanje temeljnih etičkih i bioetičkih

načela: osobni integritet, pravednost, dobročinstvo i neškodljivost za ispitanika. U prikupljanju i prikazivanju podataka očuvana je privatnost ispitanica i zaštićen njihov identitet.

3.2.6. Statističke metode

U analizi prikupljenih podataka statistička obrada podataka je vršena u aplikacijskom programu Statistica, verzija 10 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA). Rezultati su slikovno prikazani u računalnim programima Excel i Statistica. Statističku značajnost smo procjenjivali na razini statističke značajnosti $P \leq 0,05$, tj. uz 95%-tne granice pouzdanosti. Najprije smo ispitali normalnost uz pomoć Kolmogorov-Smirnovljevog testa. Za rezultate koji se ne raspođjeljuju u skladu s normalnom raspođjelom koristili smo neparametrijske testove, a u slučaju raspođjele u skladu s normalnom korišteni su parametrijski testovi. Imali smo više od dvije skupine nezavisnih uzoraka pa smo morali koristiti analizu varijance tj. ANOVA test. Kod parametrijskih testova to je bila jednosmjerna analiza varijance (one-way ANOVA), dok je kod neparametrijskih testova to Kruskal Wallisov test. Ako je ANOVA iskazala značajnu razliku postoji veliki izbor naknadnih ili post-hoc testova (engl.: post hoc test) sa svrhom pronalaženja statistički značajne razlike između bilo koje dvije skupine. Mann-WhitneyU-testom smo se koristili kao karakterističnim testom za male nezavisne uzorke za analizu različitosti između grupa kada smo razinu značajnosti izračunavali u ovisnosti o broju međusobno uspoređivanih grupa. Kod one-way ANOVe smo koristili Scheffeov post-hoc test.

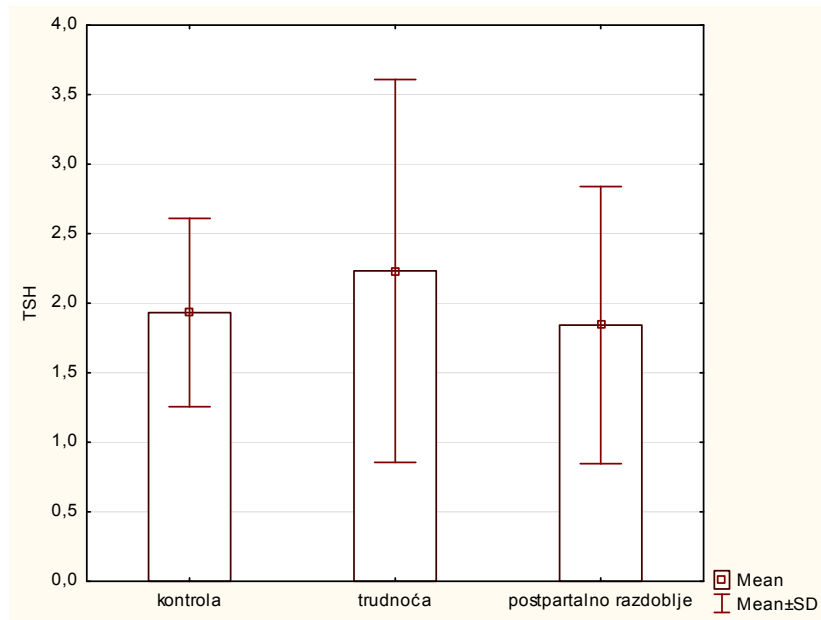
4. REZULTATI

4.1. REZULTATI ISPITIVANJA HORMONA I AUTOIMUNOSTI ŠTITNJAČE

Ispitano je 193 ispitanica u trudnoći i 77 ispitanica u postpartalnom razdoblju podijeljenih u različite skupine, kako je i objašnjeno u poglavlju o ispitanicima i metodama. Rezultati su uspoređeni međusobno te s nalazima u zdravih žena fertile dobi, dobrovoljnih davateljica krvi (kontrolna skupina). Srednja dob ispitanica u trudnoći je 31 godina, najmlađa trudnica ima 20, a najstarija 42 godine. Srednja dob ispitanica u postpartalnom razdoblju je 31 godina. Najmlađa ispitanica poslije poroda ima 20, a najstarija 41 godinu. Srednja dob kontrolne skupine ispitanica je 33 godine, najmlađa ispitanica ima 22, a najstarija 41 godinu.

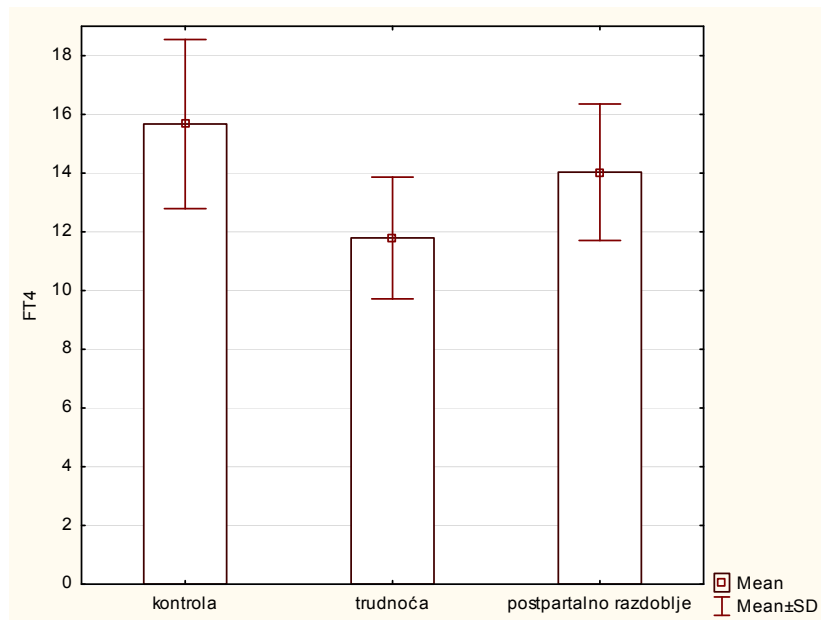
4.1.1. Ispitanice u trudnoći i poslije poroda s urednim hormonskim statusom i negativnim titrom tireoidnih autoprotutijela

Slika 11 prikazuje srednju vrijednost tireotropina u ispitanica u urednoj trudnoći (kontrola trudnice) koja se sastoji od 138 zdravih trudnica, te srednju vrijednost TSH u 45 zdravih ispitanica poslije poroda s negativnim titrom TPO i TgAt autoprotutijela. Rezultati su uspoređeni s kontrolnom skupinom žena. Vidi se da je prosječna vrijednost TSH nešto veća u urednoj trudnoći u odnosu na kontrolu, odnosno ispitanice koje nisu trudne, no razlika nije statistički značajna. Srednja vrijednost TSH u poslije porođajnom razdoblju je niža nego u trudnoći, vrijednosti su bliže razini TSH u kontrola, no bez statističke značajnosti (slika 11).



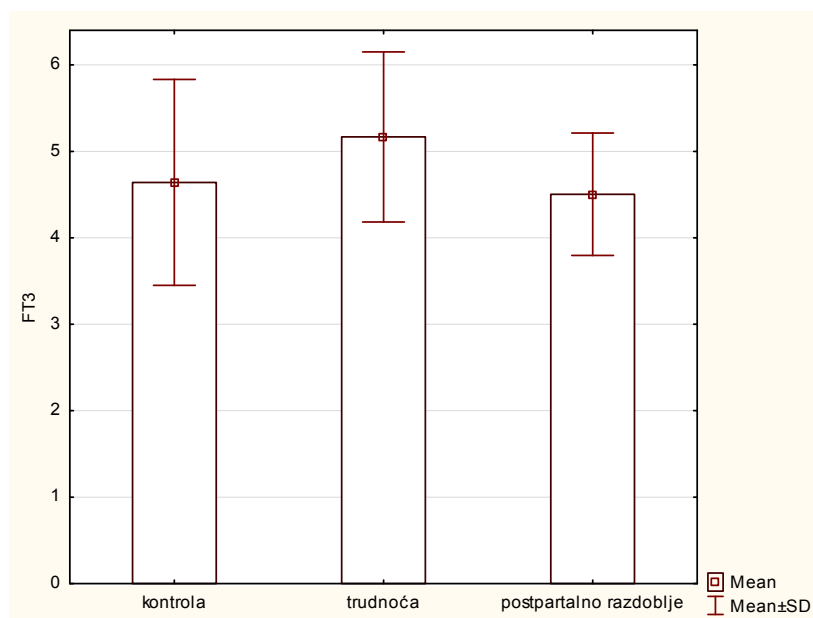
Slika 11. Prikaz srednjih vrijednosti TSH tijekom uredne trudnoće i postpartalno

Slika 12 prikazuje da je razina FT4 u urednoj trudnoći statistički značajno niža nego u kontrolnoj skupini ispitanica ($p < 0,001$), a postpartalno značajno viša nego u trudnoći ($p < 0,001$).



Slika 12. Prikaz srednjih vrijednosti FT4 tijekom uredne trudnoće i postpartalno

Razina FT3 u trudnoći je nešto viša nego u kontrolnoj skupini žena (slika 13), dok je postpartalno statistički značajno niža u odnosu na trudnoću ($p < 0,05$).

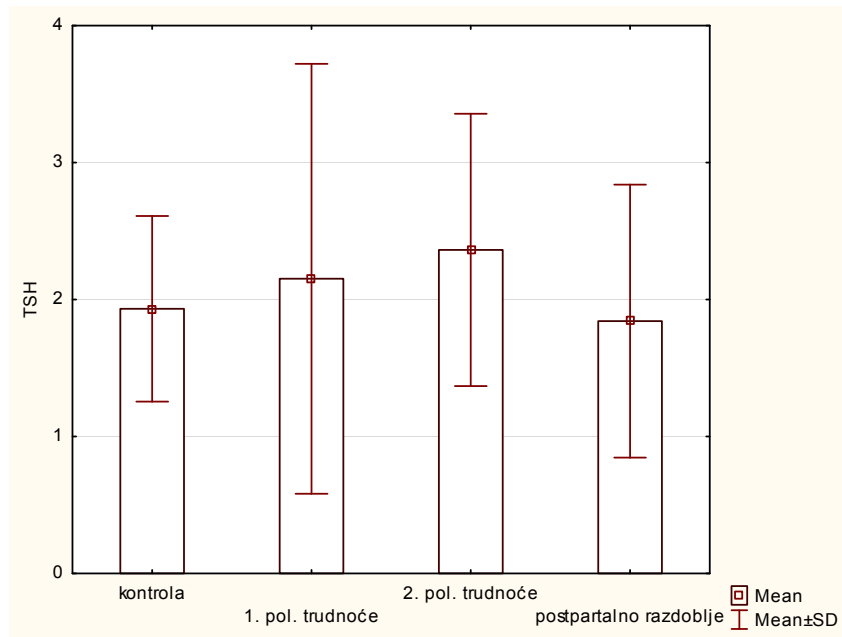


Slika 13. Prikaz srednjih vrijednosti FT3 tijekom uredne trudnoće i postpartalno

4.1.1.1. Prikaz rezultata u prvoj i drugoj polovici eutireoidne trudnoće te postporodajnom razdoblju

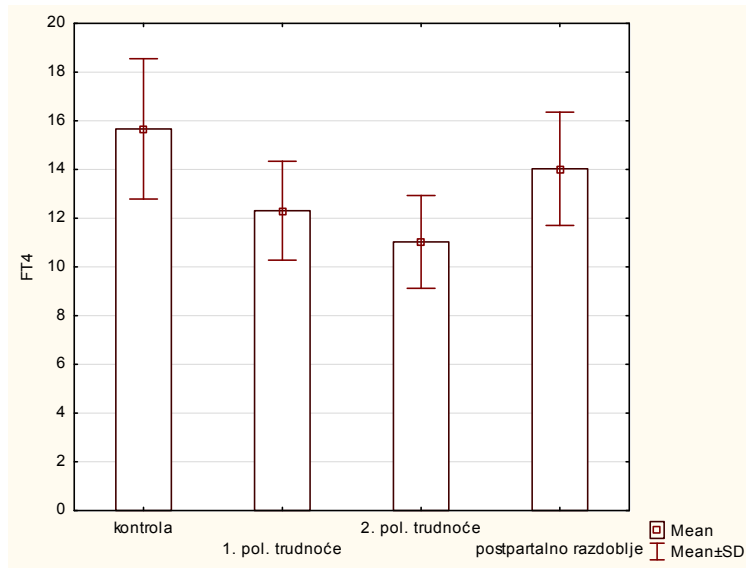
Zbog praćenja promjena razine hormona tijekom trudnoće, određena je srednja vrijednost TSH, FT4 i FT3 hormona u trudnica tijekom 1. i 2. polovice uredne trudnoće te postpartalno. Rezultati su prikazani grafički na slikama 14, 15 i 16.

Na slici 14 vidljivo je da je srednja vrijednost TSH u obje polovice trudnoće nešto veća u odnosu na kontrolu, a raste s napredovanjem trudnoće. Međutim, postpartalno srednji TSH pada, tako da je srednja vrijednost TSH u postpartalnom razdoblju i statistički značajno niža u odnosu na srednji TSH u drugoj polovici trudnoće ($p < 0,01$). U komparaciji s prvom polovicom trudnoće, nema značajne razlike (slika 14).



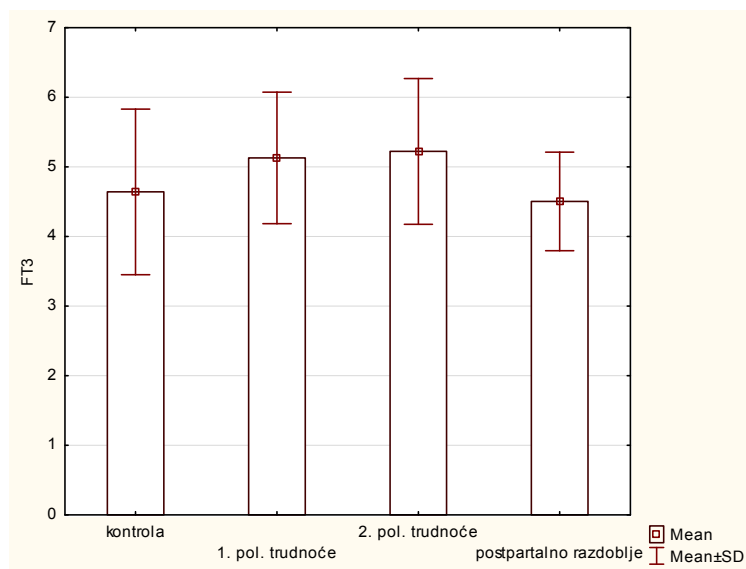
Slika 14. Prikaz srednjih vrijednosti TSH u prvoj i drugoj polovici trudnoće te postpartalno

Na slici 15 se vidi da srednji FT4 u trudnoći pada. Naime, prosječna vrijednost FT4 je u 1. i u 2. polovici trudnoće značajno niža, nego u kontrolnoj skupini ispitanica ($p < 0,001$; $p < 0,001$), a u 2. polovici trudnoće značajno niža nego u 1. polovici trudnoće ($p < 0,05$). Srednji FT4 postpartalno raste i statistički je značajno veći nego u prvoj i drugoj polovici trudnoće ($p < 0,001$). Postpartalno je i u komparaciji sa srednjim FT4 u kontrola statistički značajno niži ($p < 0,05$) (slika 15).



Slika 15. Prikaz srednjih vrijednosti FT4 u prvoj i drugoj polovici trudnoće te postpartalno

Slika 16 prikazuje da je srednja vrijednost FT3 u 1. i 2. polovici trudnoće nešto veća u odnosu na kontrolnu skupinu ispitanica. Statistički značajan je njegov pad postpartalno, srednji FT3 je značajno niži postpartalno u odnosu na srednju vrijednost u 2. polovici trudnoće ($p < 0,05$).

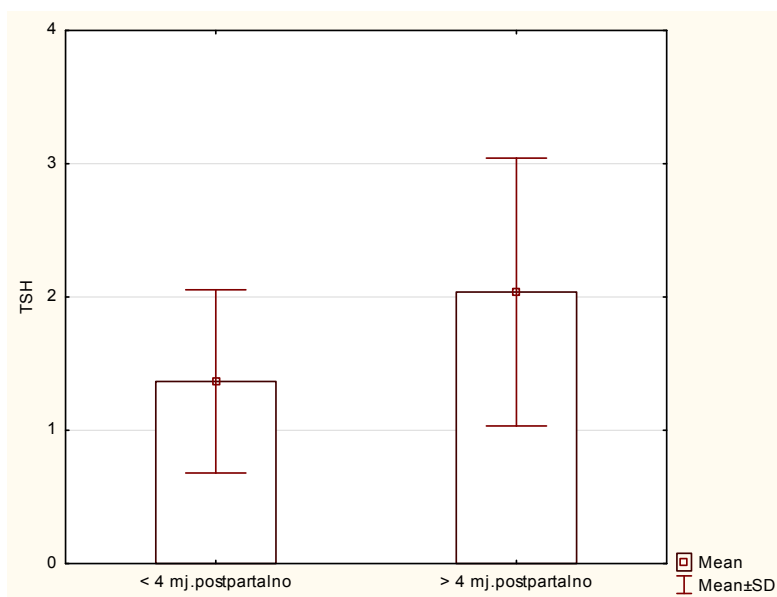


Slika 16. Prikaz srednjih vrijednosti FT3 u prvoj i drugoj polovici trudnoće te postpartalno

4.1.2. Analiza vrijednosti hormona u ranom i kasnom postporođajnom razdoblju

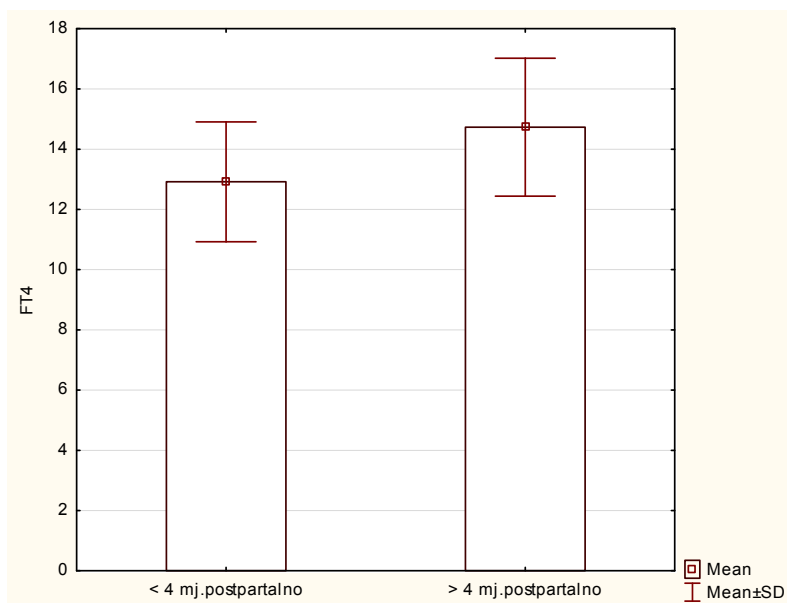
Na slikama 17, 18 i 19 prikazane su srednje vrijednosti hormona štitnjače i tireotropina u skupinama: ranog postporođajnog razdoblja, do 4 mjeseca poslije poroda i kasnog postporođajnog razdoblja, više od 4 mjeseca poslije poroda.

Na slici 17 se vidi da je srednji TSH značajno niži u ranom u odnosu na kasno postpartalno razdoblje ($p < 0,05$).



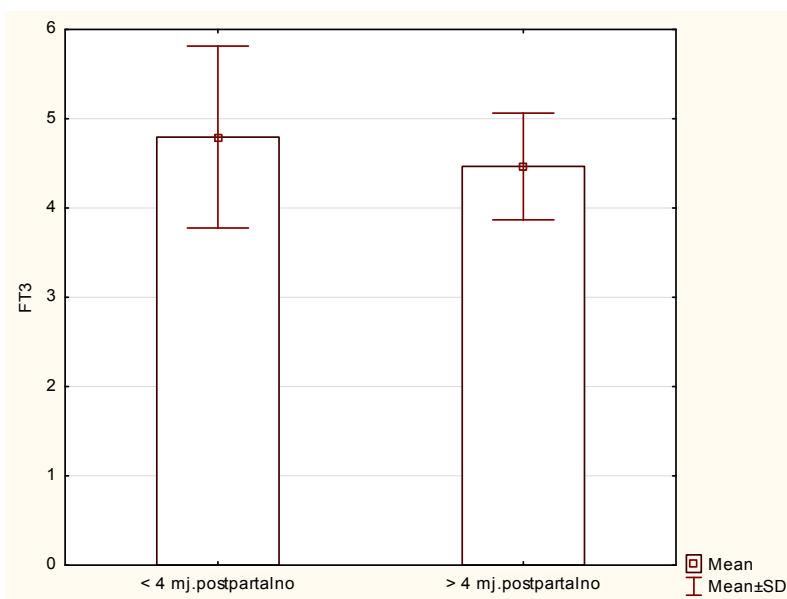
Slika 17. Usporedba srednjih vrijednosti TSH do 4 mjeseca poslije poroda i nakon 4 mjeseca poslije poroda

Na slici 18 se uočava da razina FT4 poslije poroda, osobito u skupini nakon 4 mjeseca poslije poroda, raste tako da se gotovo izjednačava s vrijednostima u žena koje nisu trudne (kontrola). Njegova je razina nakon 4 mjeseca postpartalno značajno viša u odnosu na razdoblje do 4 mjeseca postpartalno ($p < 0,01$) (slika 18).



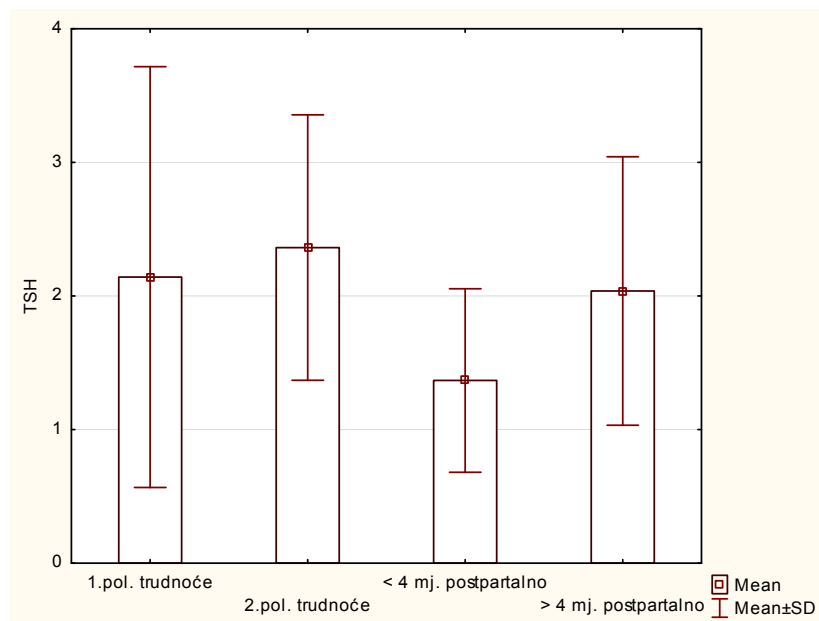
Slika 18. Usporedba srednjih vrijednosti FT4 do 4 mjeseca poslije poroda i nakon 4 mjeseca poslije poroda

Na slici 19 se vidi da je razina srednjeg FT3 bez statistički značajne razlike u razdobljima do i nakon 4 mjeseca poslije poroda.



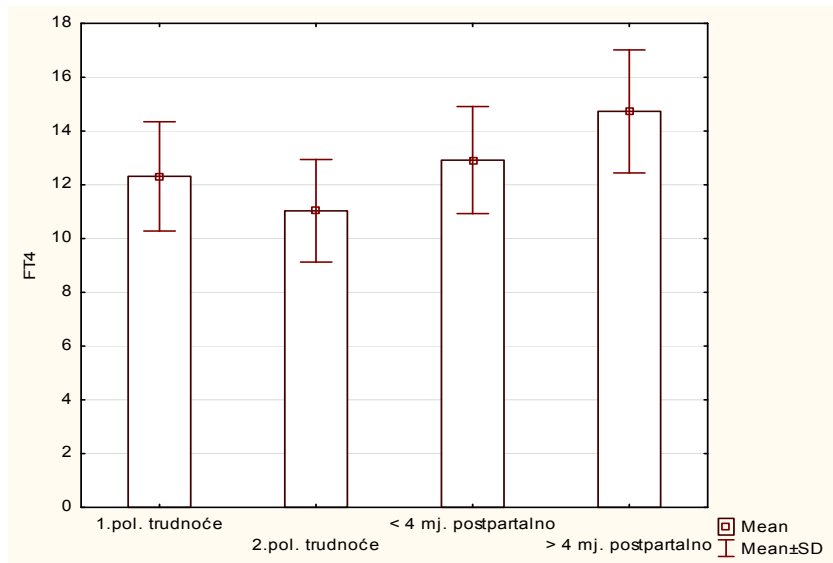
Slika 19. Usporedba srednjih vrijednosti FT3 do 4 mjeseca poslije poroda i nakon 4 mjeseca poslije poroda

U 1. i u 2. polovici uredne trudnoće srednji TSH je statistički značajno viši nego u prvih 4 mjeseca postpartalno ($p < 0,01$; $p < 0,01$). Nakon 4 mjeseca postpartalno, TSH lagano raste i ne razlikuje se statistički značajno u odnosu na trudnoću (slika 20).



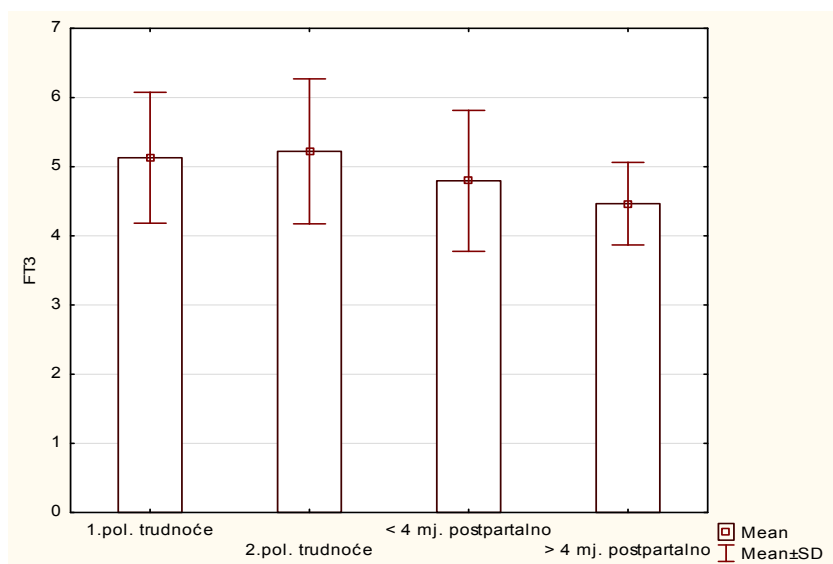
Slika 20. Usporedba srednjih vrijednosti TSH u prvoj i drugoj polovici trudnoće s razdobljem do 4 mjeseca i nakon 4 mjeseca poslije poroda

Na slici 21 se vidi da se srednji FT4 u prvih 4 mjeseca postpartalno statistički značajno ne razlikuje u odnosu na 1. polovicu uredne trudnoće, međutim, značajno je viši u nego 2. polovici trudnoće ($p < 0,01$). Nakon 4 mjeseca postpartalno srednji FT4 je statistički značajno veći u odnosu na 1. polovicu ($p < 0,01$) i 2. polovicu trudnoće ($p < 0,01$).



Slika 21. Usporedba srednjih vrijednosti FT4 u prvoj i drugoj polovici trudnoće s razdobljem do 4 mjeseca i nakon 4 mjeseca poslije poroda

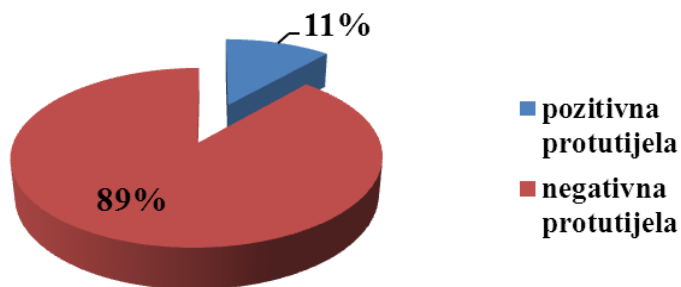
Slika 22 prikazuje da je FT3 u 1. i u 2. polovici uredne trudnoće značajno viši nego u kasnijem postpartalnom razdoblju, nakon više od 4 mjeseca poslije poroda ($p < 0,05$), dok nema statistički značajne razlike u komparaciji s ranim postpartalnim razdobljem.



Slika 22. Usporedba srednjih vrijednosti FT3 u prvoj i drugoj polovici trudnoće s razdobljem do 4 mjeseca i nakon 4 mjeseca poslije poroda

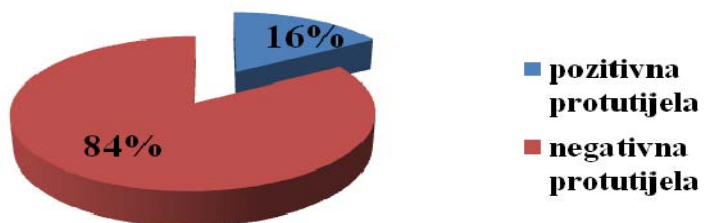
4.1.3. Ispitanice u trudnoći te u postporodajnom razdoblju s urednim hormonskim statusom i povišenim titrom tireoidnih autoprotutijela

Na slici 23 se vidi da 11% zdravih žena fertile dobi (kontrolna skupina) ima povišen titar tireoidnih autoprotutijela tj. TPO i/ili TgAt. Titar TSAbs je u svih ispitanica negativan.



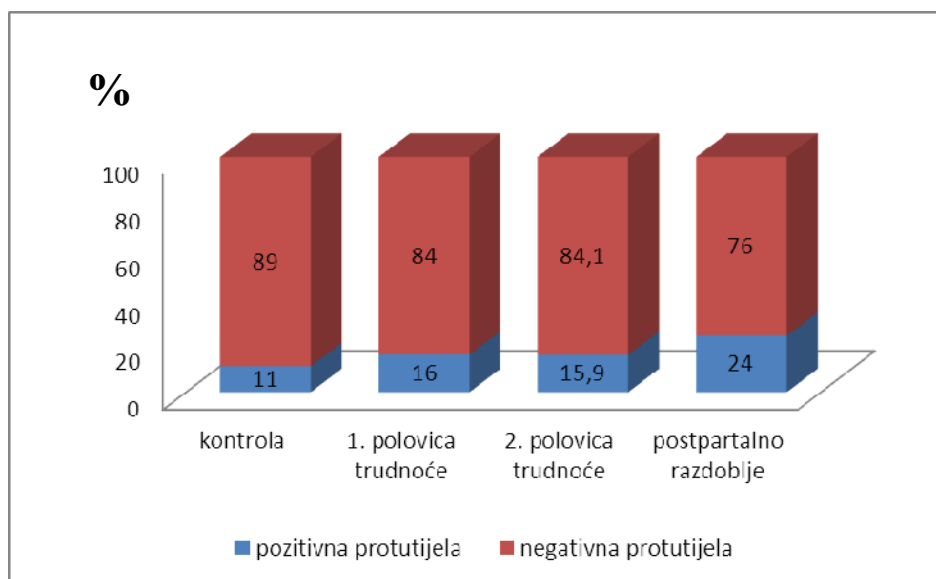
Slika 23. Udio ispitanica kontrolne skupine s povišenim titrom tireoidnih autoprotutijela (TPO autoprotutijela i/ili TgAt autoprotutijela)

Od ukupnog broja zdravih trudnica (164) s urednim statusom hormona i negativnom anamnezom AITD, 26 trudnica, 16% ima povišeni titar tireoidnih autoprotutijela (TPO i/ili TgAt titar) (slika 24). Samo jedna trudnica iz ove skupine ima, osim TPO i/ili TgAt i blago povišen titar TSAbs protutijela (3,45 IJ/L).



Slika 24. Udio eutireoidnih trudnica s povišenim titrom tireoidnih autoprotutijela (TPO i/ili TgAt)

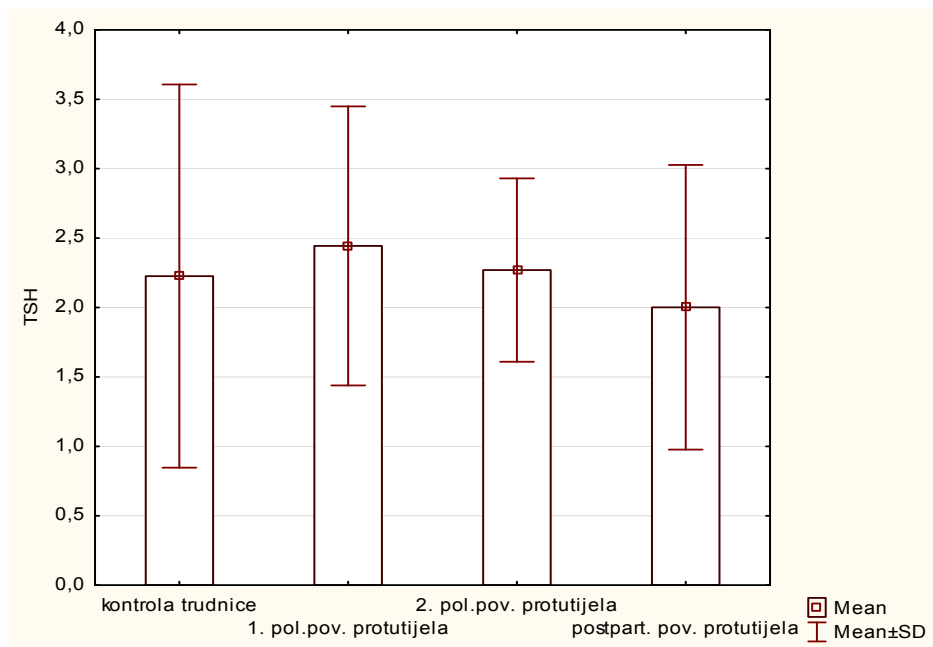
Slika 25 prikazuje da 16 od 101 eutireoidnih trudnica (16%) u prvoj polovici trudnoće i 10 od 63 eutireoidnih trudnica (također 16%) u drugoj polovici trudnoće ima povišeni titar tireoidnih autoprotutijela. Četrnaest od 59 ispitanica s urednim hormonskim statusom (24%) u postporođajnom razdoblju ima povišen titar tireoidnih protutijela (slika 25).



Slika 25. Udio žena s urednim hormonima i povišenim titrom tireoidnih autoprotutijela (TPO i/ili TgAt protutijela) u prvoj i drugoj polovici trudnoće te postpartalno.

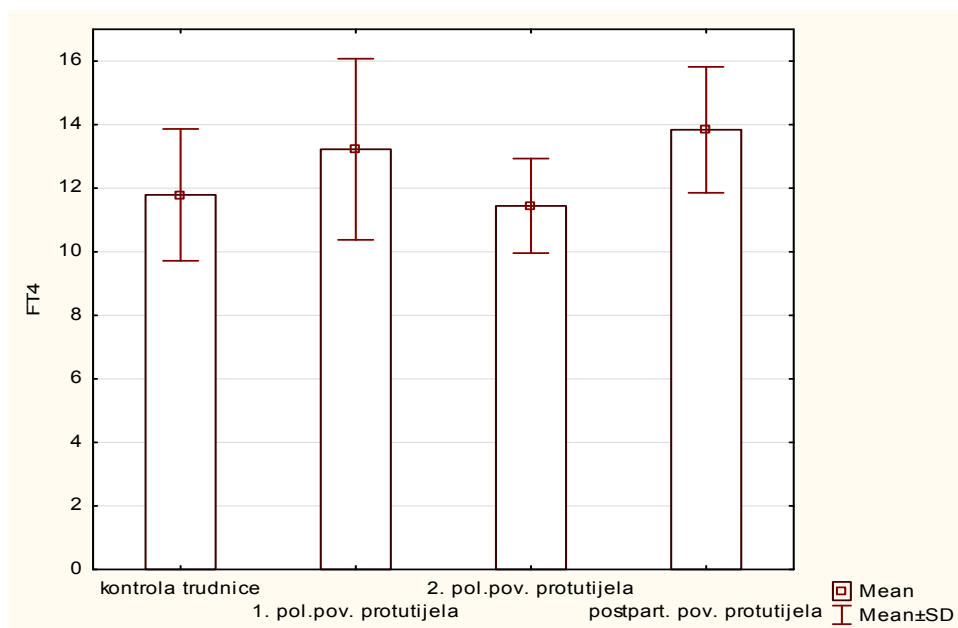
Slike 26 i 27 prikazuju srednje vrijednosti hormona u eutireoidnih ispitanica s povišenim titrom tireoidnih autoprotutijela (TPO i/ili TgAt) u 1. i 2. polovici trudnoće te u postpartalnom razdoblju.

Na slici 26 se vidi da je srednji TSH u prvoj i drugoj polovici trudnoće s povišenim protutijelima nešto veći u odnosu na postpartalni srednji TSH te TSH u kontrolnoj trudnoći, no bez statistički značajne razlike.



Slika 26. Prikaz srednjih vrijednosti TSH u kontrolnoj trudnoći, u ispitanica s povišenim titrom tireoidnih autoprotutijela u prvoj i drugoj polovici trudnoće te postpartalno u ispitanica s povišenim titrom autoprotutijela

Na slici 27 se vidi da je srednji FT4 u ispitanica s povišenim titrom protutijela niži u trudnoći nego postpartalno. Statistički značajna razlika utvrđena je između druge polovice trudnoće i postpartalnog razdoblja ($p < 0,05$), dok razlika između prve polovice trudnoće i postpartalnog razdoblja nije značajna. Nema značajne razlike u srednjem FT4 između kontrolne trudnoće i trudnoće s povišenim protutijelima ni u 1., niti u 2. polovici trudnoće (slika 27). FT4 je statistički značajno niži i u kontrolnoj skupini trudnica u odnosu na ispitanice postpartalno s povišenim autoprotutijelima ($p < 0,01$) (slika 27).

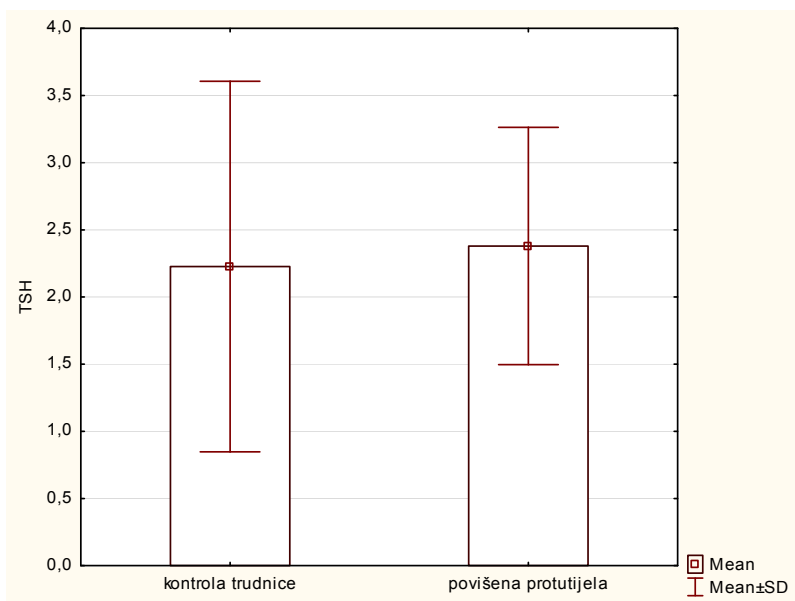


Slika 27. Prikaz srednjih vrijednosti FT4 u kontrolnoj trudnoći, u ispitanica s povišenim titrom tireoidnih autoprotutijela u prvoj i drugoj polovici trudnoće te postpartalno u ispitanica s povišenim titrom autoprotutijela

Razina FT3 se poslije poroda u ispitanica s povišenim titrom protutijela ne razlikuje značajno u odnosu na srednji FT3 u trudnoći (nije grafički prikazano).

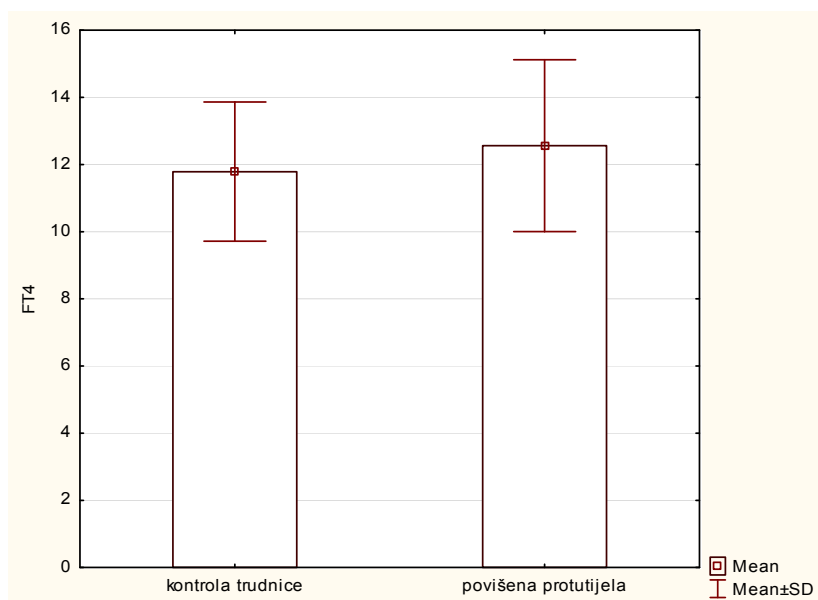
4.1.3.1. Usporedba srednjih vrijednosti hormona u eutireoidnih trudnica s povišenim titrom tireoidnih autoprotutijela i trudnica iz kontrolne skupine

Na slici 28 se može vidjeti da je srednji TSH u trudnica s povišenim titrom protutijela nešto veći nego u kontrolnoj trudnoći s negativnim protutijelima, no razlika nije statistički značajna.

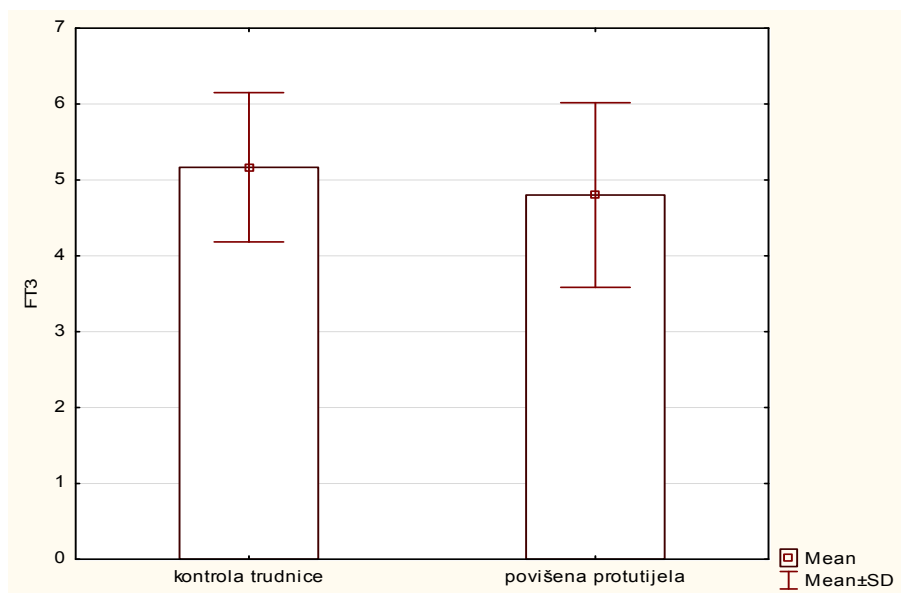


Slika 28. Usporedba srednjih vrijednosti TSH između kontrolne skupine trudnica i trudnica s povišenim titrom tireoidnih autoprotutijela

Na slikama 29 i 30 se vidi da nema statistički značajnih razlika u srednjim vrijednostima FT4 i FT3 između ovih dviju skupina trudnica.



Slika 29. Usporedba srednjih vrijednosti FT4 između kontrolne skupine trudnica i trudnica s povišenim titrom tireoidnih autoprotutijela

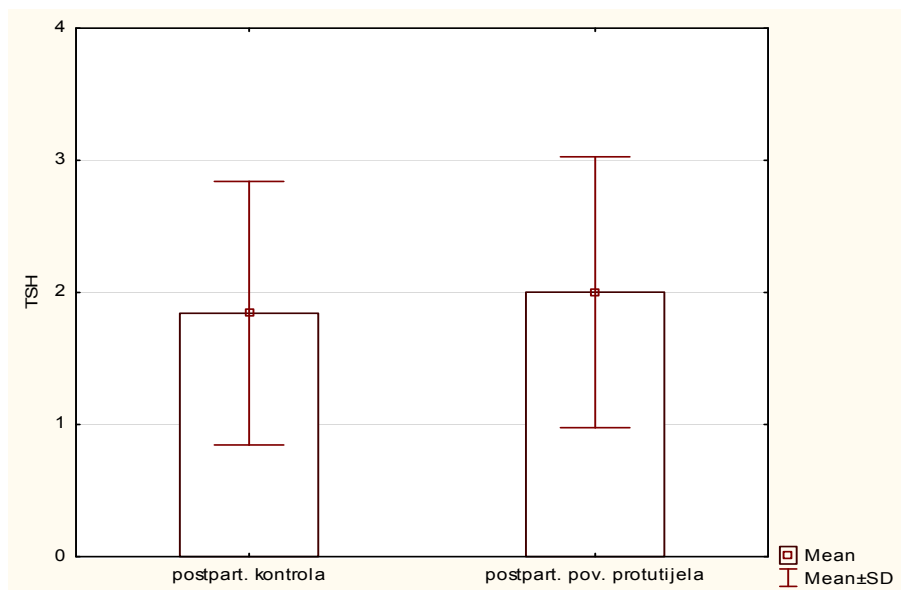


Slika 30. Usporedba srednjih vrijednosti FT3 između kontrolne skupine trudnica i trudnica s povišenim titrom tireoidnih autoprotutijela

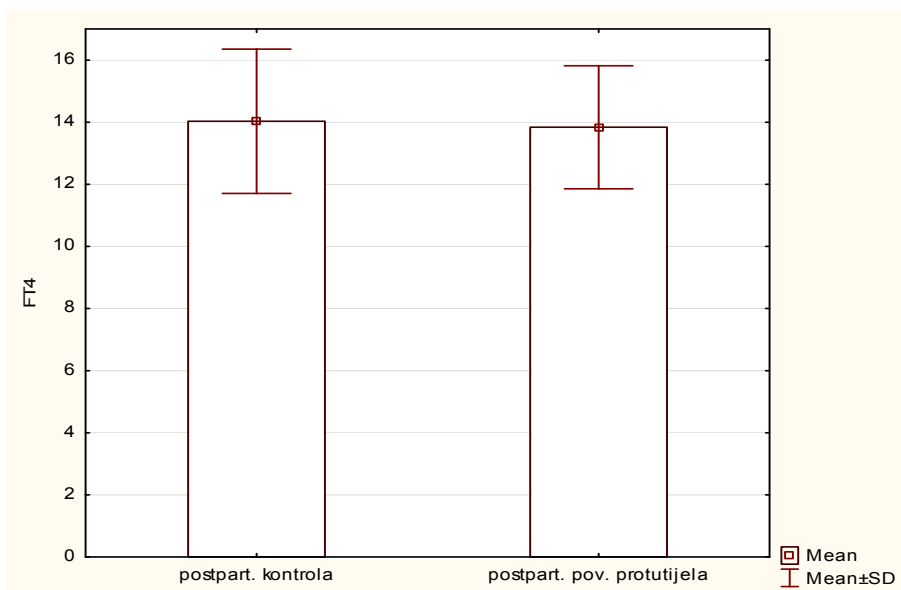
4.1.3.2. Usporedba srednjih vrijednosti hormona postporođajno u eutireoidnih ispitanica s povišenim titrom tireoidnih autoprotutijela i ispitanica iz kontrolne skupine

Na slikama 31, 32 i 33 se vidi da se u postpartalnom razdoblju srednje vrijednosti TSH, FT4 i FT3 između skupina ispitanica kontrolne skupine i ispitanica s povišenim titrom protutijela također statistički značajno ne razlikuju.

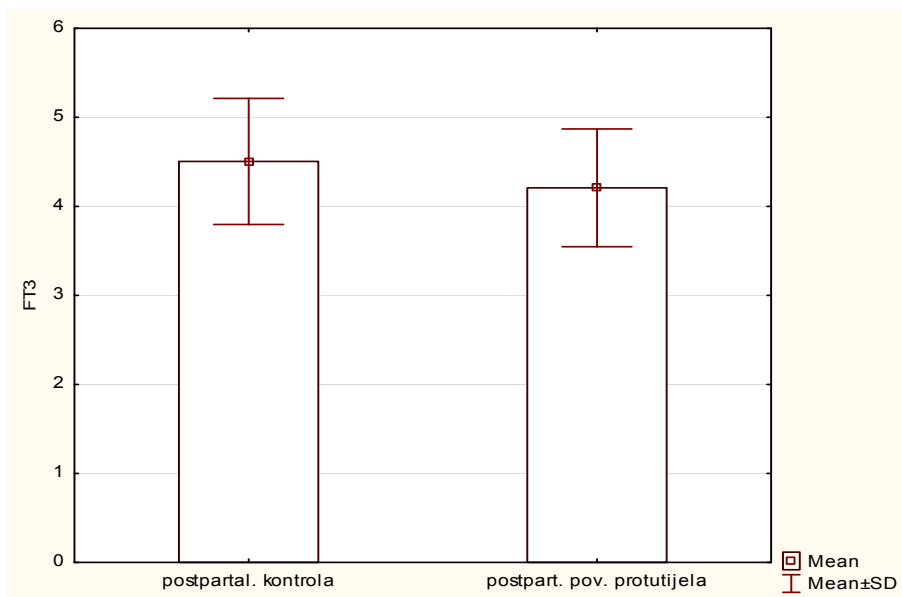
Vrijednost srednjeg TSH je postpartalno nešto niža u kontrola nego u trudnica s povišenim protutijelima, ali ne statistički značajno (slika 31).



Slika 31. Usporedba srednjih vrijednosti TSH između kontrolne skupine ispitanica i ispitanica s povišenim titrom tireoidnih autoprotutijela poslije poroda



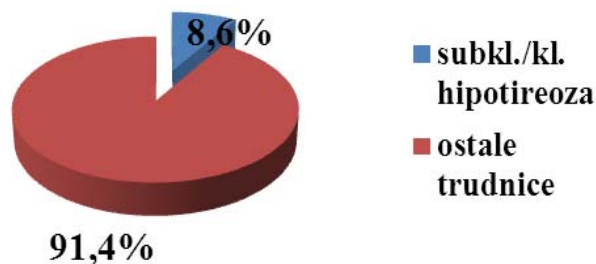
Slika 32. Usporedba srednjih vrijednosti FT4 između kontrolne skupine ispitanica i ispitanica s povišenim titrom tireoidnih autoprotutijela poslije poroda



Slika 33. Usporedba srednjih vrijednosti FT3 između kontrolne skupine ispitanica i ispitanica s povišenim titrom tireoidnih autoprotutijela poslije poroda

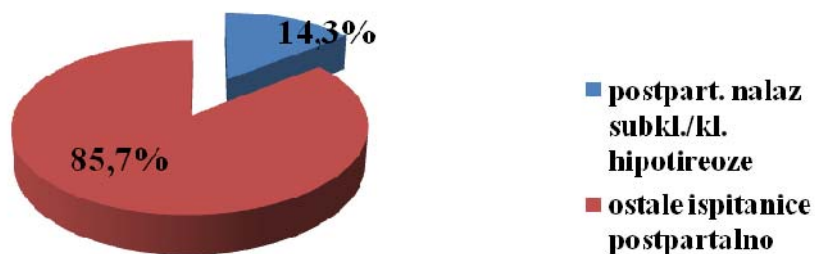
4.1.4. Ispitanice u trudnoći i poslije poroda u autoimunoj hipotireozu

Na slici 34 vidi se da je 16 od ukupno 185 trudnica, 8,6 % bilo u subkliničkoj ili kliničkoj hipotireozu.



Slika 34. Udio trudnica u subkl./kl. hipotireozu, u odnosu na sve trudnice

Slika 35 prikazuje da je u 11 od 77 ispitanica u postpartalnom razdoblju, 14,3 % utvrđena subkl./kl. hipotireoza.



Slika 35. Udio ispitanica postpartalno u subkl. /kl. hipotireozi u odnosu na ukupan broj ispitanica postpartalno

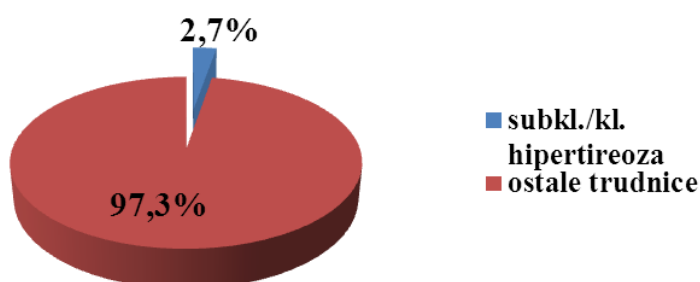
Tablica 2 prikazuje srednje vrijednosti TSH i hormona štitnjače u trudnica i ispitanica postpartalno u subkliničkoj ili kliničkoj hipotireozi.

Tablica 2. Srednje vrijednosti TSH, FT4 i FT3 u ispitanica u trudnoći i postpartalno u subkl. /kl. hipotireozi

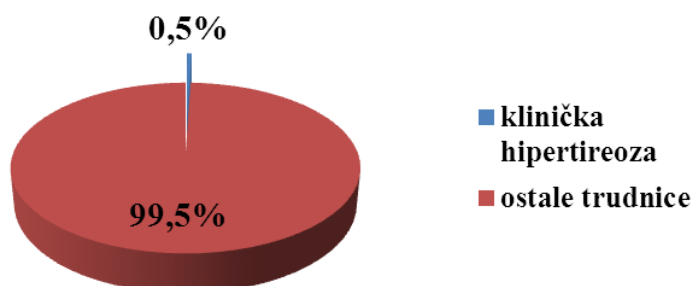
Skupine	Broj ispitanica	TSH (mIJ/L)	FT4 (pmol/L)	FT3 (pmol/l)
Trudnice u subkl./kl. hipotireozi (1.+2. pol.)	16	7,84	10,8	4,9
Postpartalno u subkl./kl. hipotireozi	11	14,76	11,15	3,8

4.1.5. Ispitanice u trudnoći i poslije poroda u autoimunoj hipertireozii

Slika 36 prikazuje da je 5 od ukupno 185 trudnica, odnosno 2,7 % bilo u subkliničkoj ili kliničkoj hipertireozii. Samo jedna od ovih trudnica bila je u manifestnoj hipertireozii što iznosi 0,5 %, a prikazano je na slici 37.

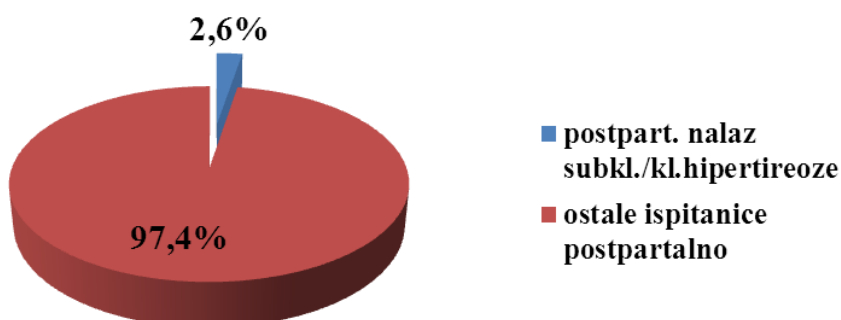


Slika 36. Udio trudnica u subkl./kl. hipertireozii u odnosu na ukupan broj trudnica



Slika 37. Udio trudnica u kliničkoj hipertireozii u odnosu na sve trudnice

Slika 38 prikazuje da su 2 ispitanice od 77 (2,6 %) poslije poroda imale nalaz hormona u subkliničkoj hipertireozu.



Slika 38. Udio ispitanica postpartalno u subkl./kl. hipertireozu u odnosu na sve ispitanice u postpartalnom razdoblju

Srednje vrijednosti TSH i hormona štitnjače u ispitanica u 1. i 2. polovici trudnoće te postpartalno u subkliničkoj ili kliničkoj hipertireozu prikazane su u tablici 3.

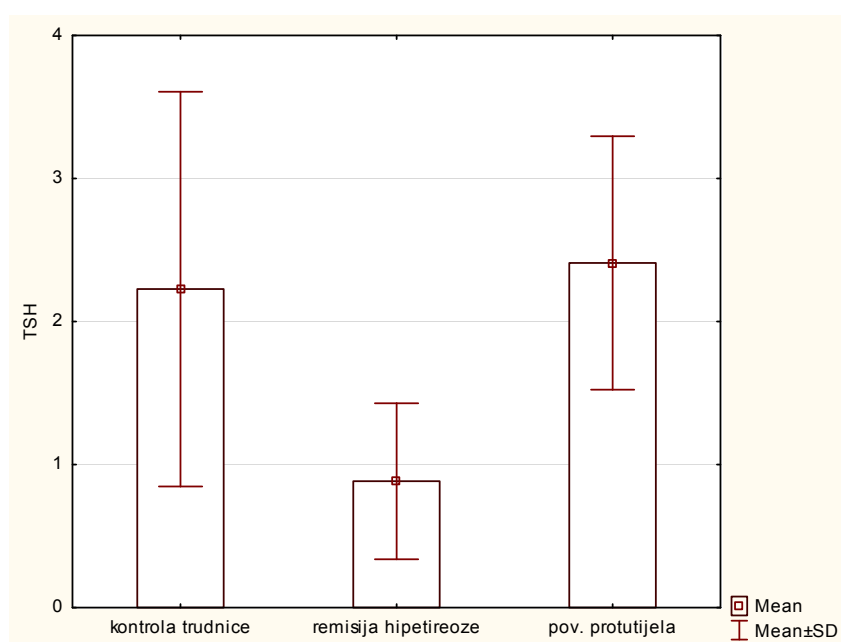
Tablica 3. Srednje vrijednosti TSH, FT4 i FT3 u skupini ispitanica u trudnoći te postpartalno sa subkl./kl. hipertireozom

Skupine	Broj ispitanica	TSH (mIJ/L)	FT4 (pmol/L)	FT3 (pmol/L)
Subkl./kl. hipertireoza u trudnoći (1. + 2. polovica)	5	0,004	20,25	6,41
Postpartalno subkl./kl. hipertireoza	2	0,018	20,21	7,03

4.1.6. Ispitanice u remisiji hipertireoze

U studiju su uključene četiri ispitanice u prvoj i četiri ispitanice u drugoj polovici trudnoće s AITD koje su u remisiji autoimune hipertireoze.

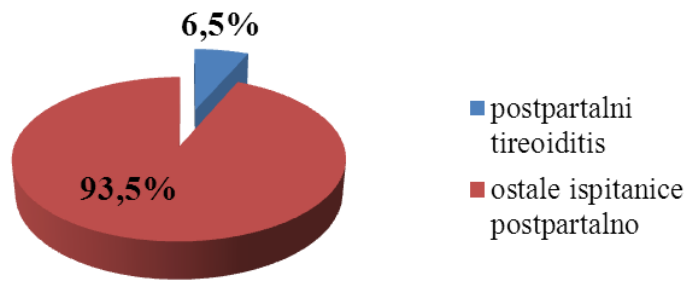
Na slici 39 prikazano je da je srednji TSH trudnica u remisiji hipertireoze statistički značajno niži ($p < 0,05$) u odnosu na trudnice iz kontrolne skupine i trudnice s urednim nalazom hormona, a povišenim titrom tireoidnih autoprotutijela ($p < 0,05$).



Slika 39. Usporedba srednjih vrijednosti TSH između kontrolnih trudnica, trudnica u remisiji hipertireoze i eutireoidnih trudnica s povišenim titrom autoprotutijela

4.1.7. Postpartalni tireoiditis

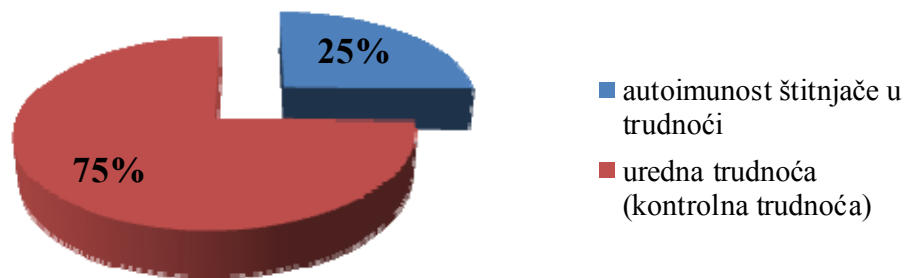
Na slici 40 vidi se da je 5 ispitanica od ukupnog broja žena poslije poroda (6,5 %) preboljelo postpartalni tireoiditis. Povišen titar TPO i/ili TgAt protutijela imale su 3 ispitanice, a 2 su imale normalan titar autoprotutijela (nije grafički prikazano).



Slika 40. Udio ispitanica od ukupnog broja žena postpartalno s postpartalnim tireoiditisom

4.1.8. Autoimunost štitnjače u trudnoći

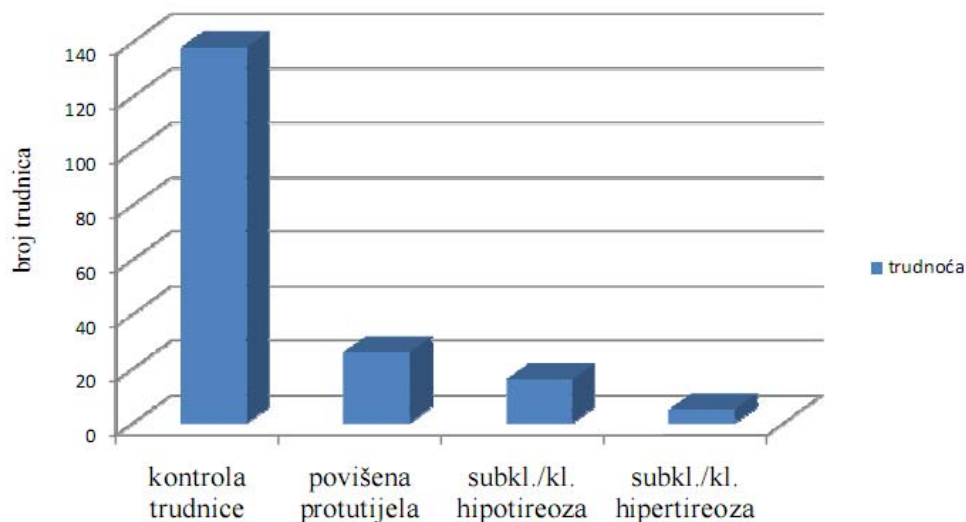
Na slici 41 vidi se da je 47 od 185 trudnica (25 %) imalo povišeni titar tireoidnih autoprotutijela i/ili autoimunu subkl. /kl. hipotireozu ili subkl./kl. hipertireozu.



Slika 41. Udio svih trudnica s pozitivnom tireoidnom autoimunošću u odnosu na kontrolne trudnice

Slika 42 prikazuje raspodjelu trudnica, prema nalazima hormona i titra autoprotutijela. Od 185 ispitanica u trudnoći, 138 (75 %) je imalo uredan status hormona i negativna tireoidna autoprotutijela, a 26 trudnica (14 %) je imalo uredan status hormona i povišen titar tireoidnih

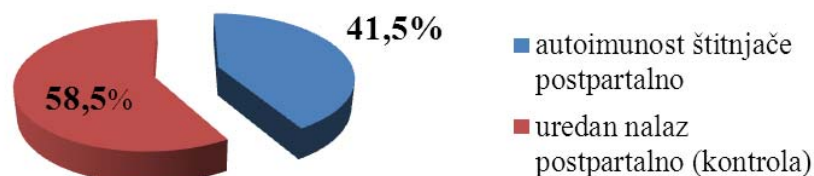
autoprotutijela, dok je 16 trudnica (8,6 %) bilo u subkl./kl hipotireozi. U subkl./kl. hipertireozi bilo je 5 trudnica (2,7 %). Sve trudnice, osim kontrolne skupine imale su povišen titar tireoidnih autoprotutijela (slika 42).



Slika 42. Raspodjela ispitanica u trudnoći s obzirom na hormonski status te titar tireoidnih autoprotutijela

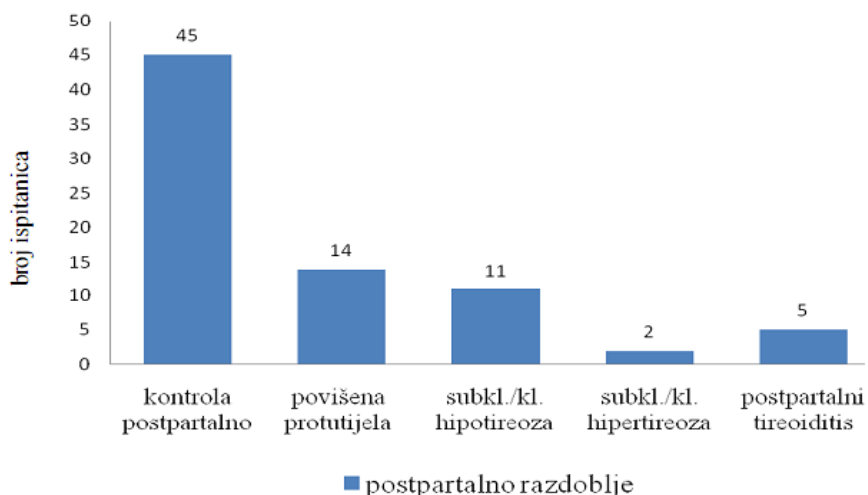
4.1.9. Autoimunost štitnjače u postporođajnom razdoblju

Slika 43 prikazuje udio ispitanica u postpartalnom razdoblju s pozitivnom tireoidnom autoimunošću. Od 77 ispitanica, 32 (41,5%) imale su povišeni titar autoprotutijela ili subkl./kl. hipotireozu ili hipertireozu.



Slika 43. Udio ispitanica postpartalno s pozitivnom tireoidnom autoimunošću u odnosu na kontrolne ispitanice u postpartalnom razdoblju

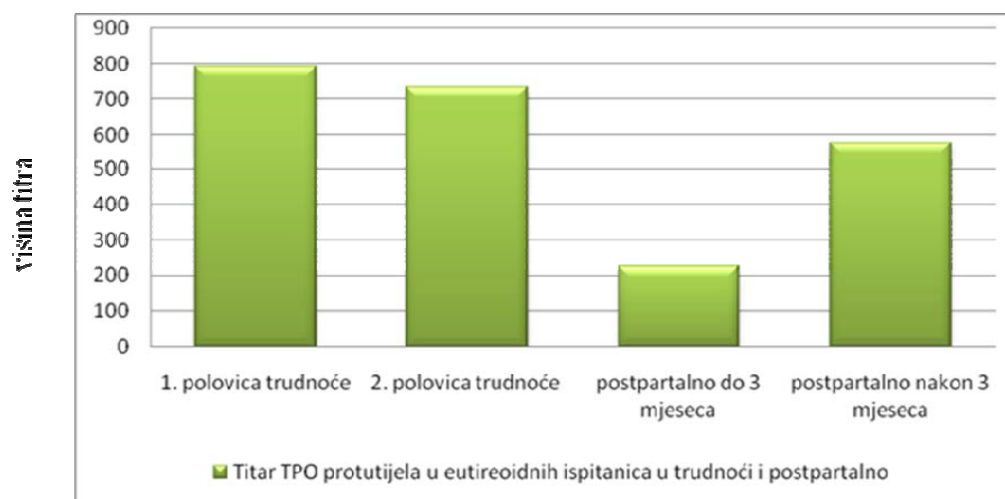
Slika 44 prikazuje raspodjelu ispitanica postpartalno prema nalazima hormona te titra autoprotutijela. Vidi se da je 45 od 77 ispitanica poslije poroda (58,5 %) imalo uredan status hormona i negativan titar tireoidnih autoprotutijela, a 14 ispitanica (18,2 %) imalo je uredan status hormona i povišen titar tireoidnih autoprotutijela, dok je 11 ispitanica (14,3 %) imalo status hormona i povišen titar tireoidnih autoprotutijela, dok je 11 ispitanica (14,3 %) imalo subkl./kl. hipotireozu uz povišen titar autoprotutijela (slika 42). U subkl./kl. hipertireozu bile su 2 ispitanice (2,6 %). Postpartalni tireoiditis imalo je 5 ispitanica (6,5 %) (slika 44).



Slika 44. Raspodjela ispitanica postpartalno s obzirom na hormonski status te titar tireoidnih autoprotutijela

4.1.10. Promjene titra TPO autoprotutijela tijekom trudnoće i poslije poroda

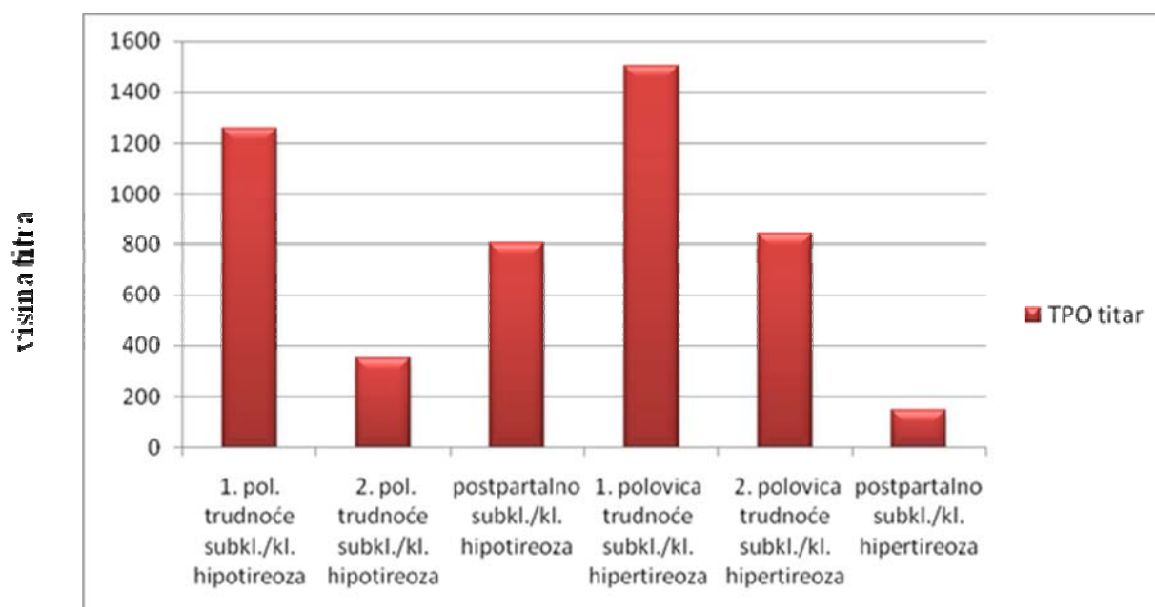
Slika 45 prikazuje promjene visine titra TPO autoprotutijela u eutireoidnih ispitanica u 1. i 2. polovici trudnoće te poslije poroda, do 3 mjeseca i nakon 3 mjeseca postpartalno. Uočava se nešto niža razina TPO autoprotutijela u 2. polovici trudnoće u odnosu na prvu. Pad titra autoprotutijela vidi se u ovih ispitanica do tri mjeseca poslije poroda u odnosu na trudnoću i u odnosu na razdoblje nakon 3 mjeseca poslije poroda. Razlike između ovih skupina nisu statistički značajne zbog velikog rasapa vrijednosti.



Slika 45. Promjene titra TPO autoprotutijela u eutireoidnih ispitanica s povišenim titrom autoprotutijela u 1. i 2. polovici trudnoće te do 3 mjeseca i nakon 3 mjeseca postpartalno

Slika 46 prikazuje promjene visine titra TPO autoprotutijela u trudnoći i poslije poroda u ispitanica sa subkl./kl. hipotireozom i hipertireozom. Vidi se sniženje titra u 2. polovici trudnoće sa subkl./kl. hipotireozom i hipertireozom u odnosu na 1. polovicu trudnoće u obje skupine ispitanica, iako ne na razini statističke značajnosti zbog velikog rasapa vrijednosti. Poslije poroda se uočava porast titra TPO autoprotutijela u ispitanica sa subkl./kl.

hipotireozom u odnosu na 2. polovicu trudnoće, ali niža vrijednost u odnosu na 1. polovicu trudnoće. Postpartalno je titar TPO autoprotutijela u ispitanica sa subkl./kl. hipertireozom niži nego u trudnoći. Razlike između svih ovih skupina nisu na razini statističke značajnosti. Nema statistički značajne razlike u visini titra TPO protutijela između subkl./kl. hipotireoze i hipertireoze u trudnoći, niti postpartalno.



Slika 46. Promjene titra TPO autoprotutijela u ispitanica u subkl./kl. hipotireozi i hipertireozi u 1. i 2. polovici trudnoće te u postpartalnom razdoblju

4.1.11. Određivanje titra autoprotutijela specifičnih za TSH receptor (TSHR)

U svih ispitanica u trudnoći i poslije poroda određivan je titar stimulirajućih protutijela na TSH receptor, TSAbs koja su pozitivna prvenstveno u autoimunoj hipertireozi.

Samo su dvije trudnice imale pozitivan titar ovih protutijela. Jedna trudnica spadala je u skupinu eutireoidnih trudnica s povišenim titrom TPO i TGAt protutijela. Imala je tek blago

povišen titar TSAbs (3,45 IJ/L). Druga trudnica je u remisiji hipertireoze, postpartalno je imala negativan titar ovih protutijela.

Postpartalno je povišen titar TSAbs protutijela imala jedino ispitanica kod koje je poslije poroda došlo do pogoršanja hipertireoze. Radi se o ispitanici koja je u trudnoći bila u subkl.kl. hipertireozi, a pospartalno je došlo do pogoršanja bolesti. Njen je titar TSAbs tada bio značajno povišen (>40 IJ/L).

Zbog malog broja pozitivnih ispitanica dobivene rezultate nismo grafički prikazali, ni statistički obradili.

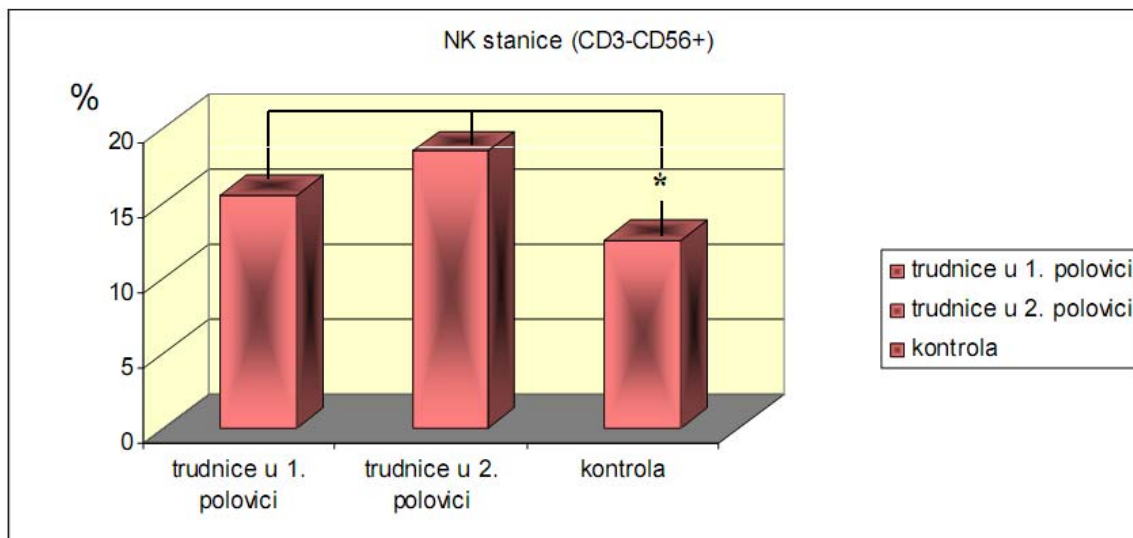
4.2. IMUNOLOŠKE PROMJENE

Svim ispitanicama smo imunofenotipizacijom analizirali limfocite periferne krvi.

4.2.1. Promjene urođenog imunološkog odgovora

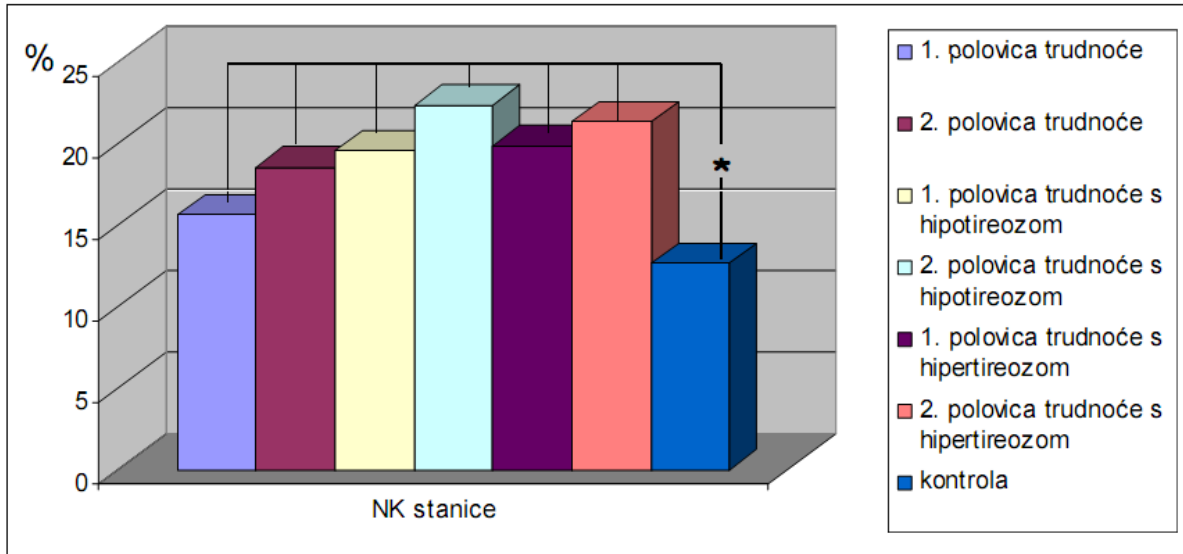
4.2.1.1. Promjene NK stanica

Na slici 47 vidi se da je u perifernoj krvi statistički značajno veći udio NK stanica (CD3-CD56+) u 1. i 2. polovici uredne trudnoće ($p < 0,05$) u usporedbi s kontrolnom grupom žena fertile dobi.



Slika 47. Promjene postotka NK (CD3-CD56+) stanica u euthireoidnih trudnica u 1. i 2. polovici trudnoće u odnosu na kontrolu (*= $p<0,05$, **= $p<0,01$, *= $p<0,001$)**

Slika 48 prikazuje značajno sniženje postotka NK (CD3-CD56+) stanica u perifernoj krvi kontrola u odnosu na sve ispitivane skupine trudnica u 1. i 2. polovici trudnoće na razini značajnosti ($p<0,05$). Međutim, između 1. i 2. polovice uredne trudnoće te 1. i 2. polovice trudnoće sa subkl./kl. autoimunom hipotireozom i hipertireozom vide se varijacije u postotku NK stanica unutar normalnog raspona, no zbog širokog rasapa rezultata između ovih skupina nema statistički značajne razlike.

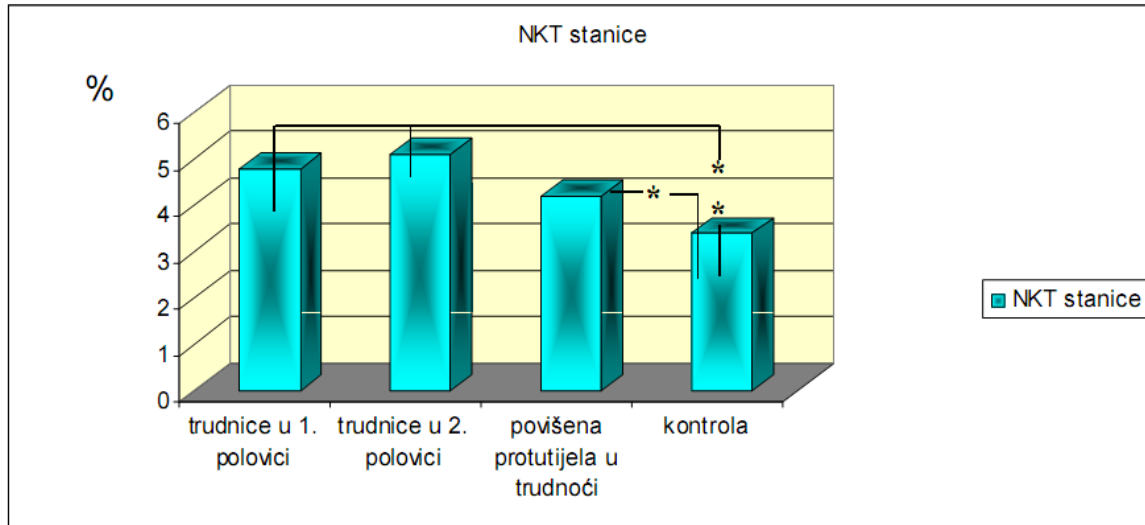


Slika 48. Promjene postotka NK (CD3-CD56+) stanica u skupinama 1. i 2. polovice uredne trudnoće te trudnoće s autoimunom subkl./kl. hipotireozom i hipertireozom

(*= $p<0,05$, **= $p<0,01$, ***= $p<0,001$)

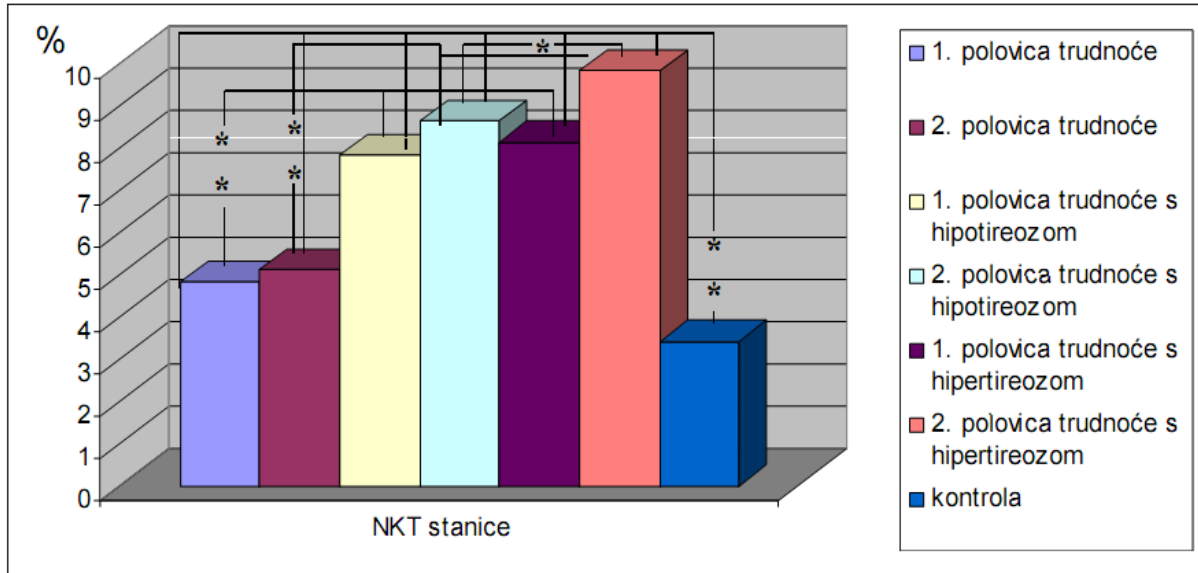
4.2.1.2. Promjene NKT stanica

Na slici 49 se vidi da je udio NKT (CD3+CD16+CD56+) stanica statistički značajno veći u 1. i 2. polovici uredne trudnoće ($p<0,01$) te u trudnica s povišenim titrom autoprotutijela ($p<0,05$) u usporedbi s kontrolnom skupinom.



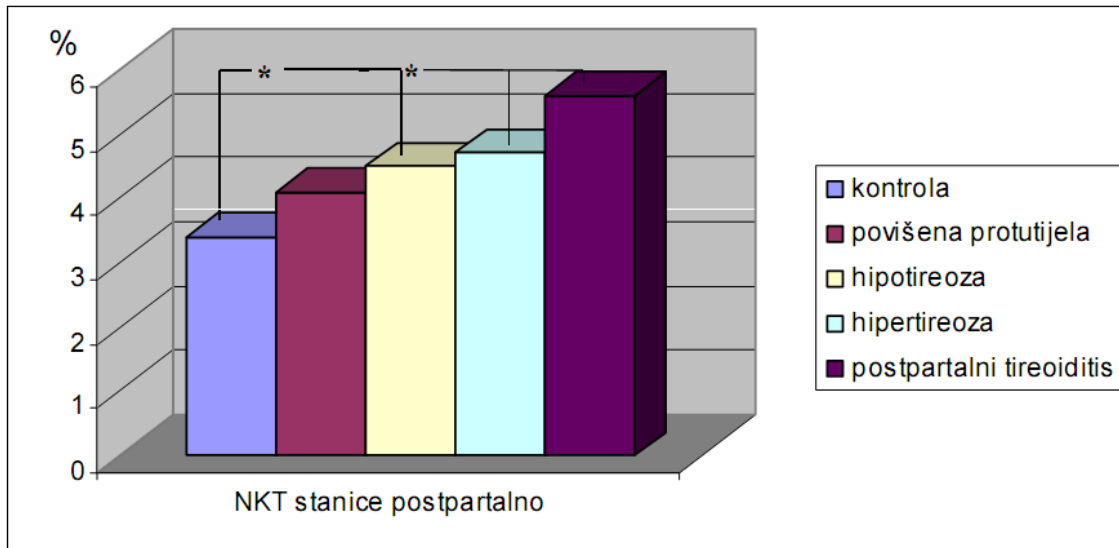
Slika 49. Promjene postotka NKT (CD3+CD16+CD56+) stanica u 1. i 2. polovici uredne trudnoće te u trudnoći s povišenim titrom autoprotutijela (*= $p<0,05$, ** = $p<0,01$, *= $p<0,001$)**

Slika 50 prikazuje da su NKT (CD3+CD16+CD56+) stanice značajno povišene u perifernoj krvi u svim skupinama trudnica u 1. i 2. polovici trudnoće u usporedbi s kontrolnom skupinom ($p<0,01$). Osim toga, u 1. i 2. polovici trudnoće sa subkl./kl. autoimunom hipertireozom i hipotireozom NKT stanice su značajno povišene u odnosu na 1. i 2. polovicu uredne trudnoće ($p<0,01$). Dodatno se uočava veći udio NKT stanica u 2. polovici trudnoće s autoimunom hipertireozom u odnosu na drugu polovicu trudnoće s hipotireozom ($p<0,05$). Nema značajne razlike u postotku NKT stanica između prvih polovica trudnoće s hipertireozom i hipotireozom.



Slika 50. Promjene postotka NKT stanica (CD3+CD16+CD56+) u 1. i 2. polovici uredne trudnoće te u trudnoći s autoimunom subkl./kl. hipertireozom i i hipotireozom (*= $p<0,05$, **= $p<0,01$, *= $p<0,001$)**

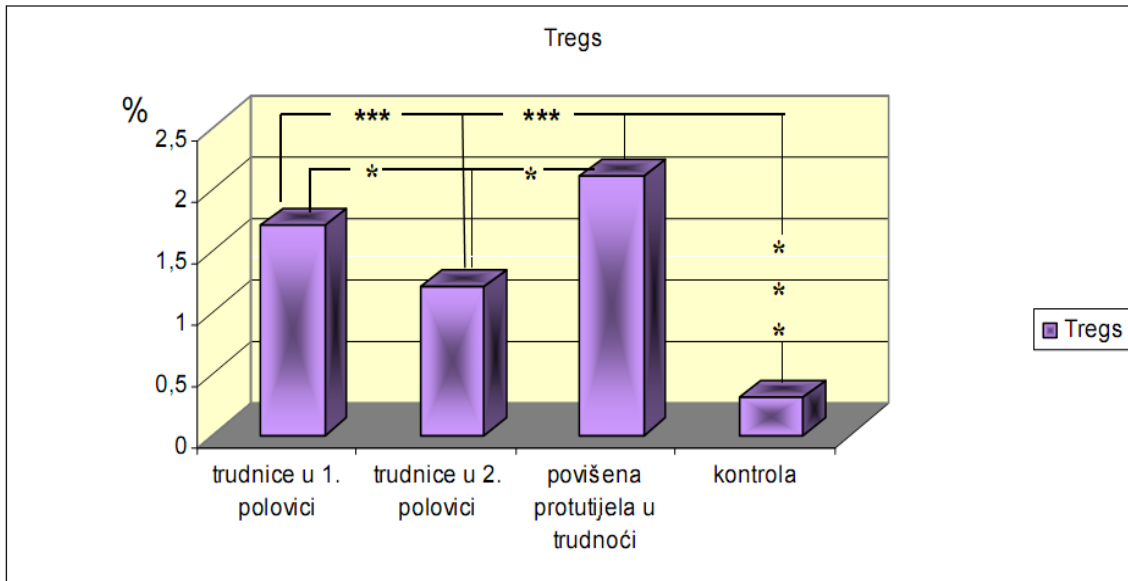
Slika 51 prikazuje da je udio NKT stanica postpartalno značajno viši u ispitanica s autoimunom subkl./kl. hipotireozom i hipertireozom te s postpartalnim tireoiditisom u odnosu na kontrolnu skupinu žena poslije poroda ($p<0,05$). I u skupini eutireoidnih ispitanica s povišenim protutijelima je udio NKT stanica nešto viši u odnosu na kontrolu postpartalno, ali ne statistički značajno.



Slika 51. Promjene postotka NKT (CD3+CD16+CD56+) stanica postpartalno u ispitanica s povišenim autoprotutijelima, u autoimunoj subkl./kl. hipotireozi i hipertireozi te s postpartalnim tireoidisom (*= $p<0,05$, **= $p<0,01$, *= $p<0,001$)**

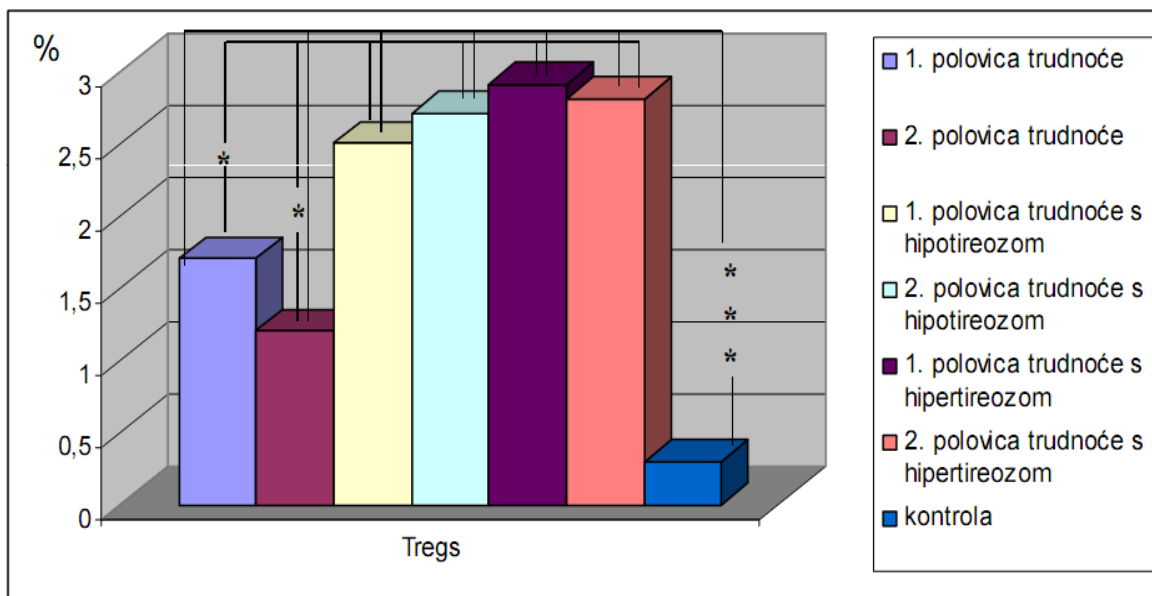
4.2.1.3. Promjene T regulacijskih stanica (Tregs)

Slika 52 prikazuje statistički značajno povišenje postotka stanica urođene imunosti CD4+CD25+FoxP3+ (T regs) u 1. i 2. polovici uredne trudnoće te u trudnica s povišenim autoprotutijelima u odnosu na kontrole ($p<0,001$). Osim toga, udio ovih stanica je statistički značajno veći u trudnica s povišenim protutijelima u odnosu na 1. i 2. polovicu uredne trudnoće ($p<0,05$).



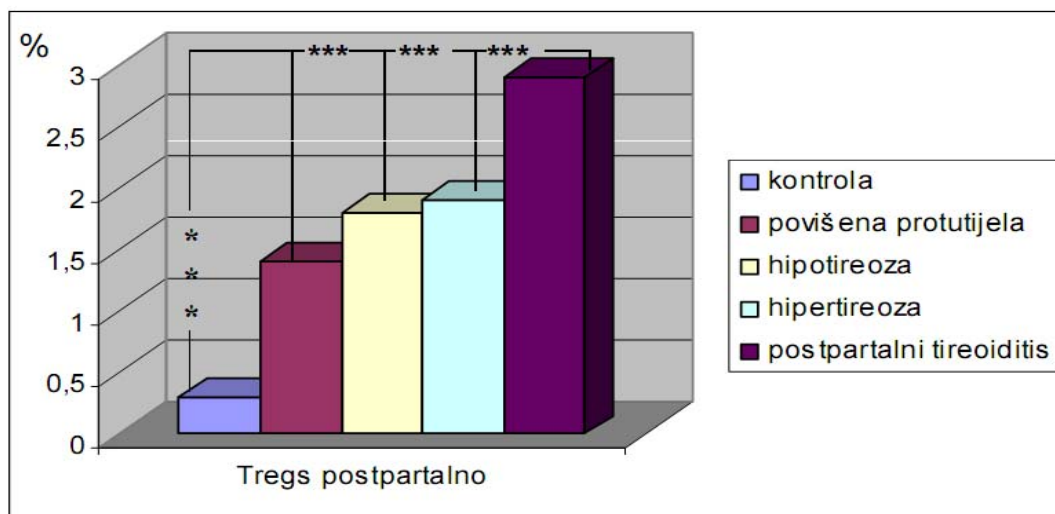
Slika 52. Promjene postotka T regulacijskih stanica (T regs:CD4+CD25+FoxP3+) u 1. i 2. polovici uredne trudnoće te u trudnica s povišenim autoprotutijelima (*= $p < 0,05$, **= $p < 0,01$, *= $p < 0,001$)**

Na slici 53 se vidi da je statistički značajno povećan udio T reg stanica u svim skupinama trudnica u odnosu na kontrolu na razini značajnosti $p < 0,001$. Osim toga, značajno je povećan udio ovih stanica u 1. i 2. polovici trudnoće ispitanica u subkl./kl. hipertireozi i hipotireozi u odnosu na 1. i 2. polovicu uredne trudnoće ($p < 0,05$). Nema statistički značajne razlike u vrijednostima između skupina autoimune hipertireoze i hipotireoze.



Slika 53. Promjene postotka regulacijskih T stanica (T regs:CD4+CD25+FoxP3) u 1. i 2. polovici uredne trudnoće te trudnoće s autoimunom subkl./kl. hipertireozom i hipotireozom (*= $p<0,05$, **= $p<0,01$, *= $p<0,001$)**

Slika 54 pokazuje značajno povišenje postotka stanica CD4+CD25+FoxP3 fenotipa (T regs) postpartalno u eutireoidnih ispitanica s povišenim autoprotutijelima te u autoimunoj subkl./kl. hipotireozu i hipertireozu ($p<0,001$) u odnosu na kontrolu, dok se najveći udio ovih stanica vidi u ispitanica s postpartalnim tireoiditisom ($p<0,001$) u usporedbi s kontrolom.



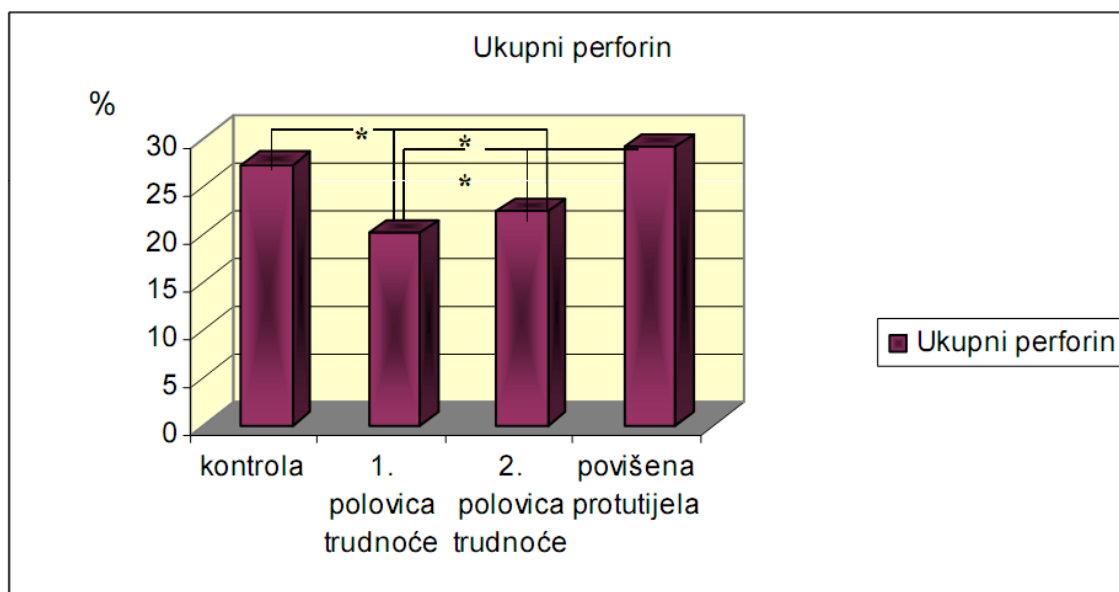
Slika 54. Promjene postotka regulacijskih T stanica (T regs:CD4+CD25+FoxP3) postpartalno u ispitanica s povišenim autoprotutijelima, u autoimunoj subkl./kl. hipotireozi i hipertireozi te s postpartalnim tireoiditisom (*= $p < 0,05$, ** = $p < 0,01$, *= $p < 0,001$)**

4.2.2. Izražaj citolitičke molekule perforina u ispitanica u trudnoći i poslije poroda

U perifernoj krvi ispitanica u trudnoći i postpartalno ispitivali smo sadržaj unutar stanične citolitičke molekule perforina (P). Istovremenim površinskim i intracelularnim bojanjem određivali smo udio perforina unutar stanice, a površinskim bojanjem određivali smo standardne limfocitne biljege. Rezultati su prikazani kao udio ukupnog perforina i broj dvostruko pozitivnih stanica (perforin+stanice i površinski biljeg+stanice).

4.2.2.1. Izražaj citolitičke molekule perforina u eutireoidnih trudnica, u trudnica s hipotireozom i hipertireozom

Na slici 55 se primjećuje statistički značajan pad ukupnog perforina u 1. i 2. polovici uredne trudnoće u odnosu na kontrolu ($p < 0,05$) te u usporedbi s trudnicama s povišenim protutijelima ($p < 0,01$).

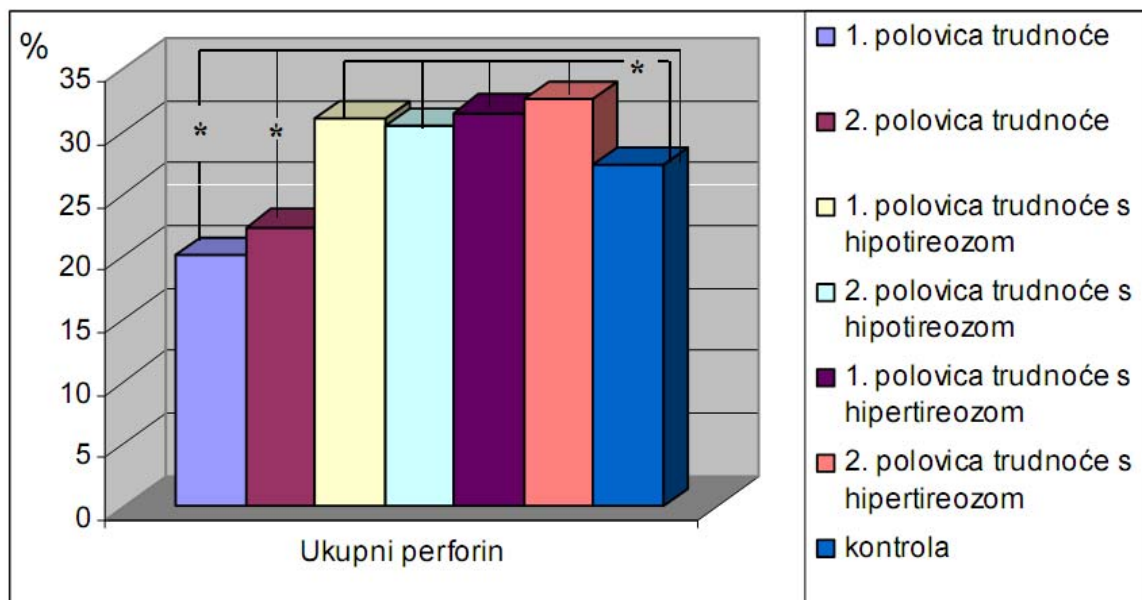


Slika 55. Promjene postotka ukupnog perforina u perifernoj krvi eutireoidnih trudnica s povišenim titrom autoprotutijela te prvoj i drugoj polovici uredne trudnoće

(*= $p < 0,05$, **= $p < 0,01$, ***= $p < 0,001$)

Slika 56 prikazuje statistički značajan pad ukupnog perforina u 1. i 2. polovici uredne trudnoće u usporedbi s kontrolom ($p < 0,05$). Međutim, značajno povećanje ukupnog perforina vidi se u 1. i 2. polovici trudnoće s autoimunom subkl./kl. hipotireozom i hipertireozom u

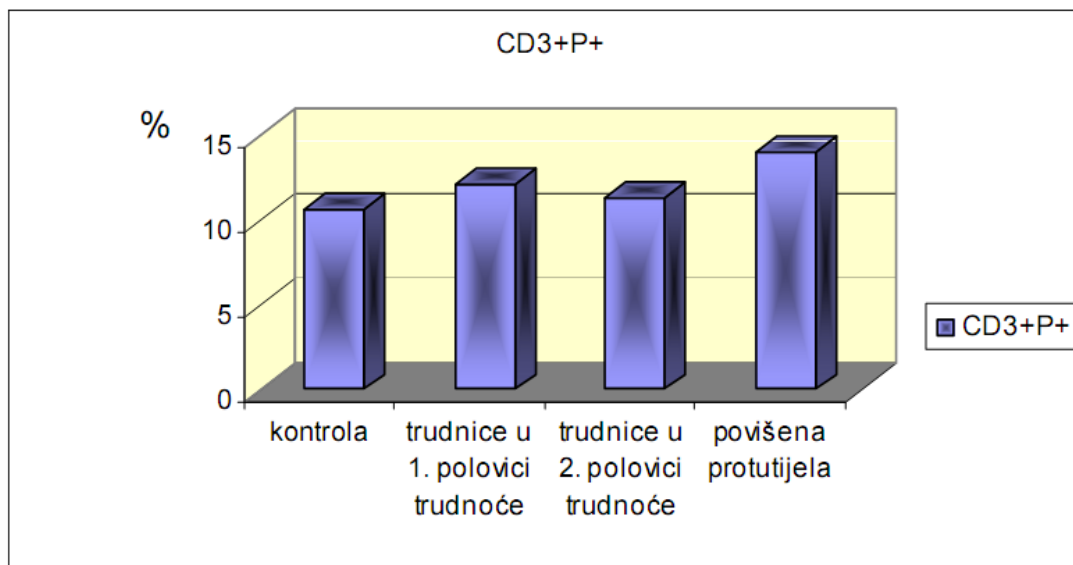
usporedbi s kontrolnom grupom žena ($p < 0,05$). Međusobno nema statistički značajne razlike između skupina hipotireoze i hipertireoze.



Slika 56. Promjene postotka ukupnog perforina u perifernoj krvi 1. i 2. polovice uredne trudnoće te 1. i 2. polovice trudnoće sa subkl./kl. hipotireozom i hipertireozom (*= $p < 0,05$, **= $p < 0,01$, *= $p < 0,001$)**

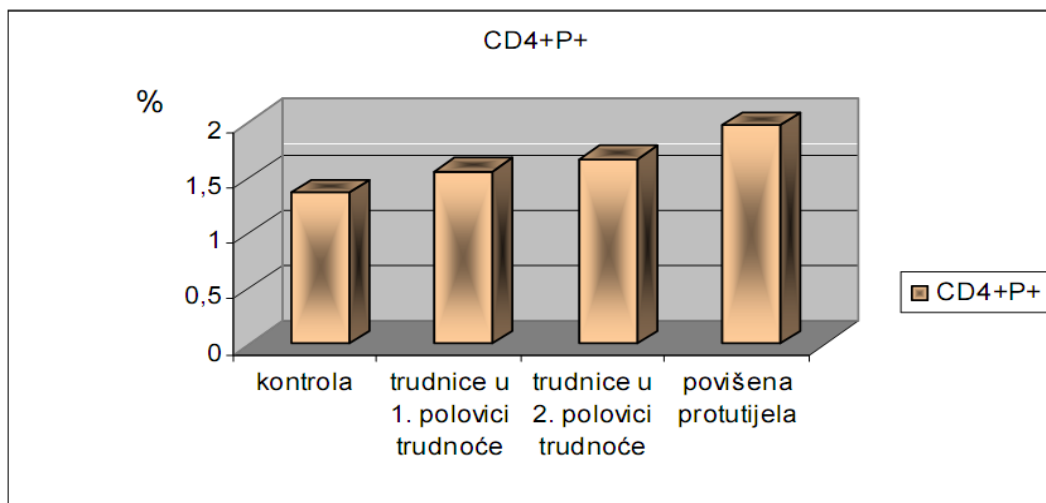
Analizirali smo rezultate s obzirom na razlike u broju dvostruko pozitivnih stanica unutar CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD56+ subpopulacije limfocita.

Na slici 57 prikazane su promjene postotka dvostruko pozitivnih (CD3+P+) stanica u trudnica u 1. i 2. polovici eutireoidne trudnoće te u eutireoidnih ispitanica s povišenim protutijelima. Unutar ove subpopulacije nema statistički značajnih promjena, iako su vrijednosti u urednoj trudnoći nešto niže u odnosu na trudnoću s povišenim autoprotutijelima.



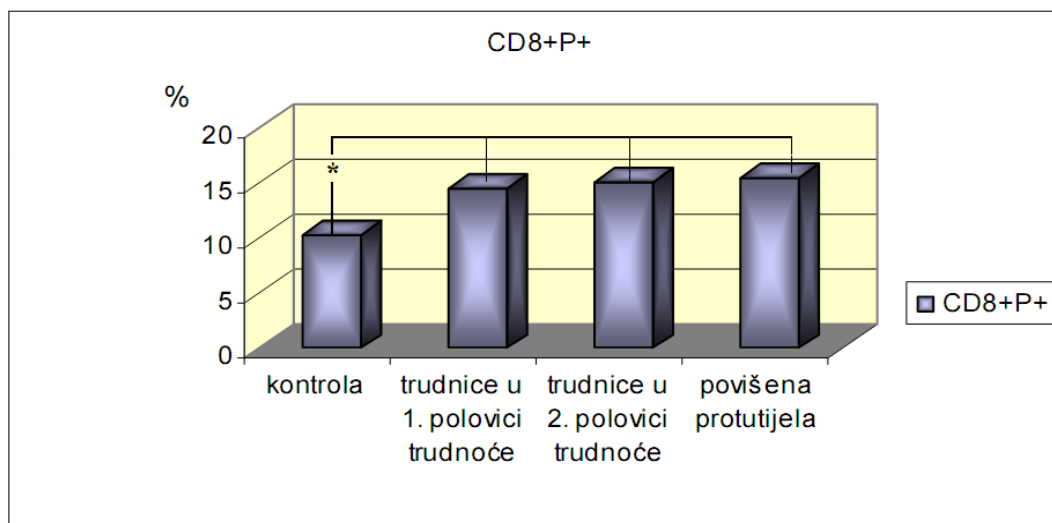
Slika 57. Promjene postotka dvostruko pozitivnih (CD3+P+) stanica u 1. i 2. polovici uredne trudnoće te u eutireoidnih trudnica s povišenim protutijelima

Na slici 58 prikazane su promjene postotka dvostruko pozitivnih CD4+P+ stanica u trudnica u 1. i 2. polovici eutireoidne trudnoće te u eutireoidnih trudnica s povišenim protutijelima. Najveći postotak CD4+P+ stanica uočava se u eutireoidnih trudnica s povišenim protutijelima, iako su u svim ispitnim grupama ove vrijednosti niže i nema statističke značajnosti.



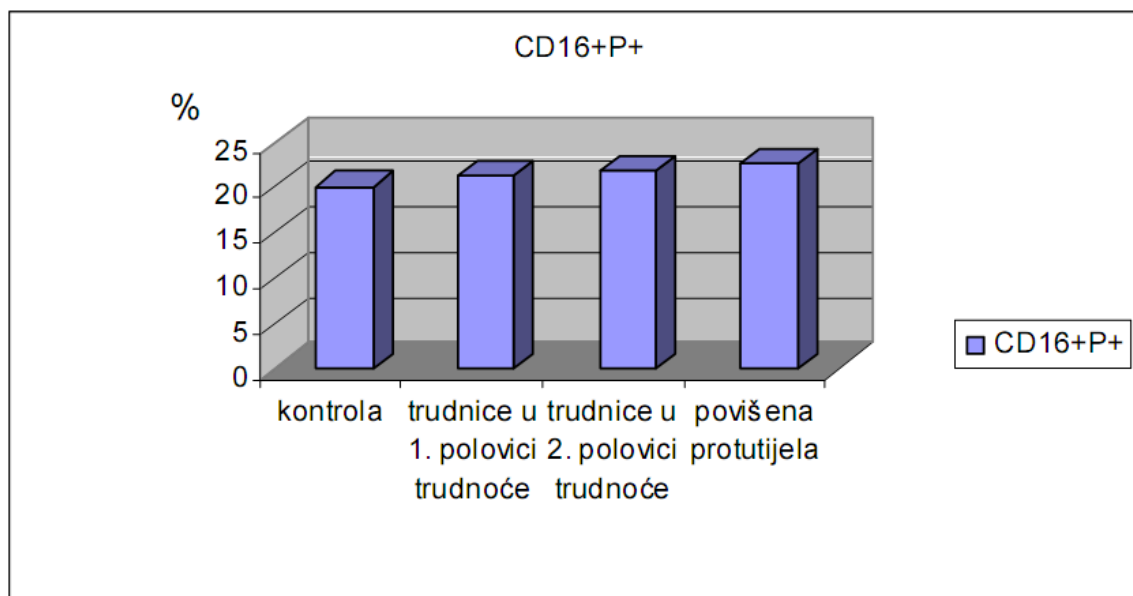
Slika 58. Promjene postotka dvostruko pozitivnih (CD4+P+) stanica u 1. i 2. polovici uredne trudnoće te u eutireoidnih trudnica s povišenim protutijelima

Slika 59 prikazuje značajno sniženje broja dvostruko pozitivnih CD8+P+ stanica u kontrolnoj skupini žena u odnosu na ispitne skupine u trudnoći, odnosno 1. i 2. polovici kontrolne trudnoće te u trudnica s povišenim protutijelima



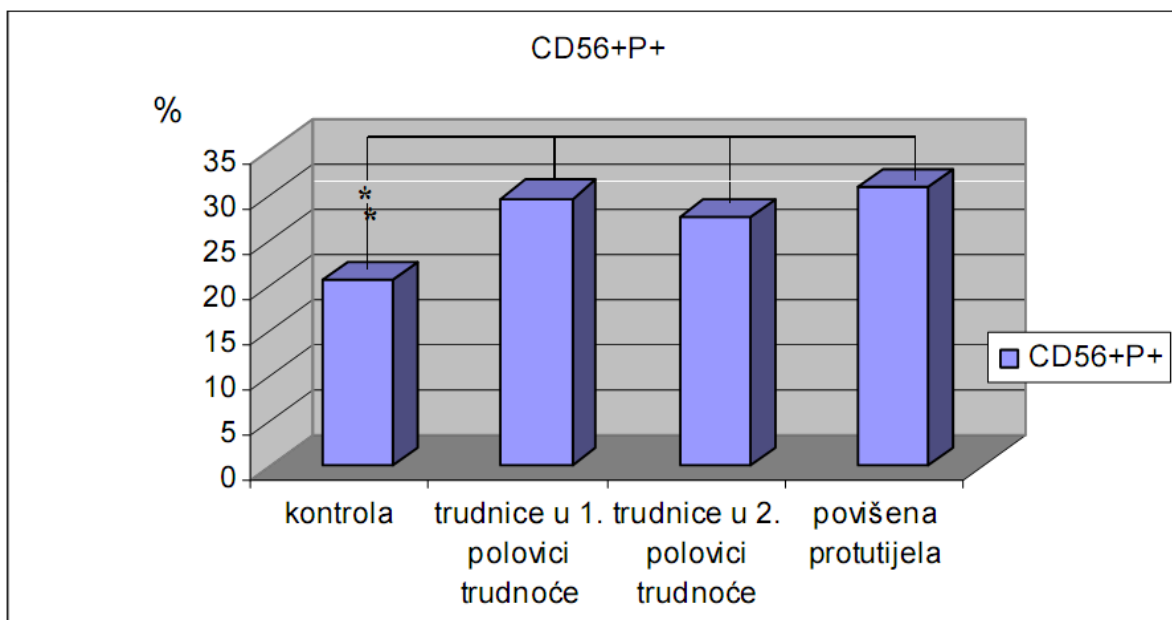
Slika 59. Promjene postotka dvostruko pozitivnih (CD8+P+) stanica u 1. i 2. polovici uredne trudnoće te u eutireoidnih trudnica s povišenim protutijelima (*= $p < 0,05$, **= $p < 0,01$, *= $p < 0,001$)**

Na slici 60 vide se promjene dvostruko pozitivnih CD16+P+ stanica u trudnica u 1. i 2. polovici kontrolne trudnoće te u eutireoidnih trudnica s povišenim autoprotutijelima. Unutar ove subpopulacije u trudnoći nema statistički značajnih promjena.



Slika 60. Promjene postotka dvostruko pozitivnih (CD16+P+) stanica u 1. i 2. polovici uredne trudnoće te u eutireoidnih trudnica s povišenim protutijelima

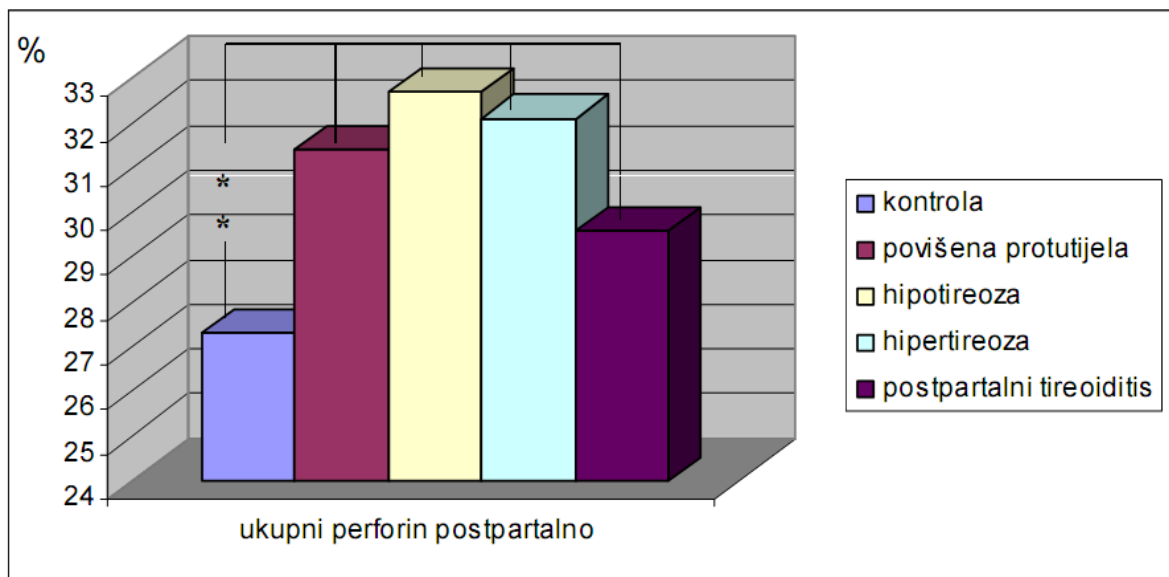
Na slici 61 vide se promjene postotka dvostruko pozitivnih CD56+P+ stanica. Uočava se značajno niži udio CD56+P+ stanica u kontrolnoj skupini žena u usporedbi s 1. i 2. polovicom uredne trudnoće te sa skupinom eutireoidnih trudnica s povišenim titrom autoprotutijela ($p < 0,01$).



Slika 61. Promjene postotka dvostruko pozitivnih (CD56+P+) stanica u 1. i 2. polovici uredne trudnoće te u eutireoidnih trudnica s povišenim protutijelima (*= $p < 0,05$, **= $p < 0,01$, *= $p < 0,001$)**

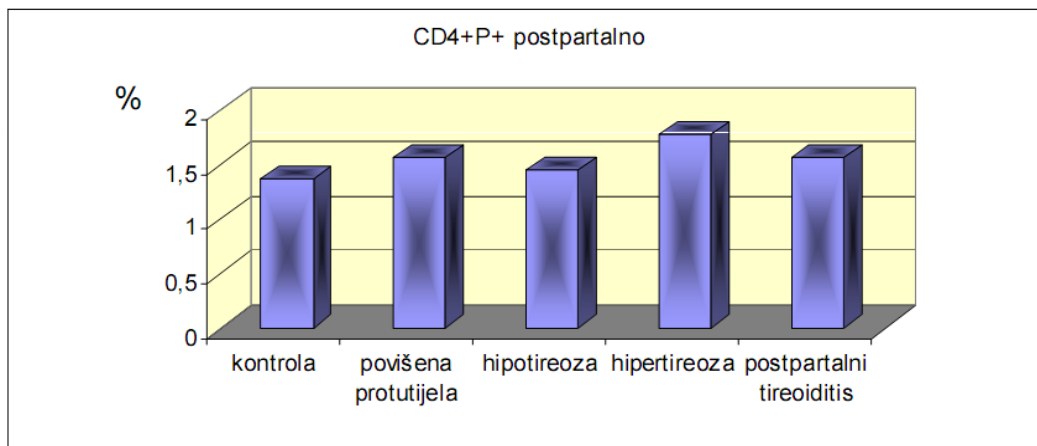
4.2.2.2. Izražaj citolitičke molekule perforina u ispitanica poslije poroda

Slika 62 prikazuje statistički značajno manji postotak perforina postpartalno u kontrolnih ispitanica u odnosu na vrijednosti u eutireoidnih ispitanica s povišenim protutijelima te u autoimunoj subkl./kl. hipotireozu i hipertireozu te u ispitanica s postpartalnim tireoiditisom ($p < 0,01$).



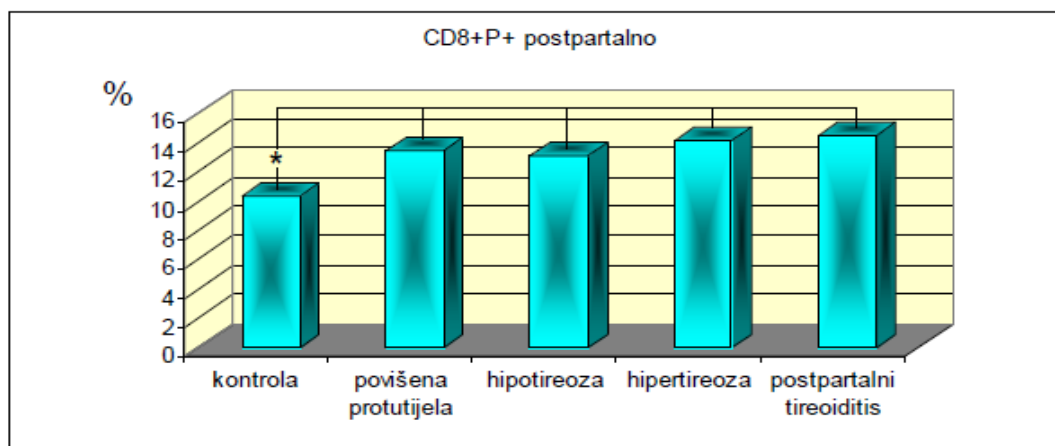
Slika 62. Promjene postotka ukupnog perforina postpartalno u eutireoidnih ispitanica s povišenim protutijelima, u subkl./kl. hipotireozi i hipertireozi te s postpartalnim tireoiditisom (*= $p < 0,05$, **= $p < 0,01$, *= $p < 0,001$)**

Slika 63 pokazuje promjene u subpopulaciji CD4+P+ stanica postpartalno u ispitanica s povišenim protutijelima, u autoimunoj subkl./kl. hipotireozi i hipertireozi te u ispitanica s postpartalnim tireoiditisom. Nema statističke značajnosti, iako su vrijednosti nešto niže.



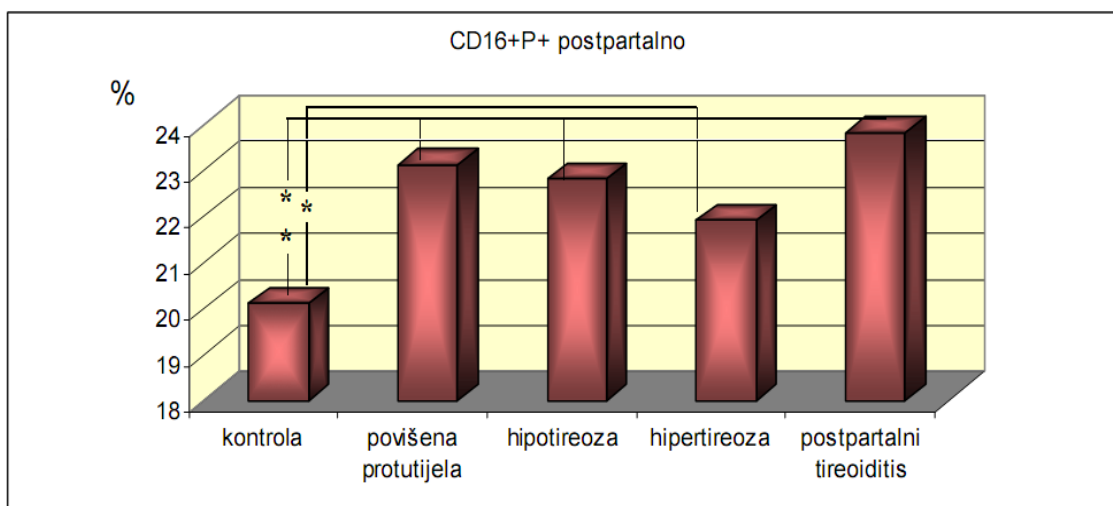
Slika 63. Promjene postotka dvostruko pozitivnih (CD4+P+) stanica postpartalno u ispitanica s povišenim protutijelima, subkl./kl. hipotireozom i hipertireozom, te s postpartalnim tireoiditisom

Slika 64 prikazuje sniženje udjela dvostruko pozitivnih CD8+P+ stanica u kontrolnih ispitanica postpartalno u odnosu na eutireoidne ispitanice s povišenim autoprotutijelima, ispitanice s autoimunom subkl./kl. hipotireozom i hipertireozom postpartalno te ispitanice s postpartalnim tireoiditisom ($p < 0,05$).



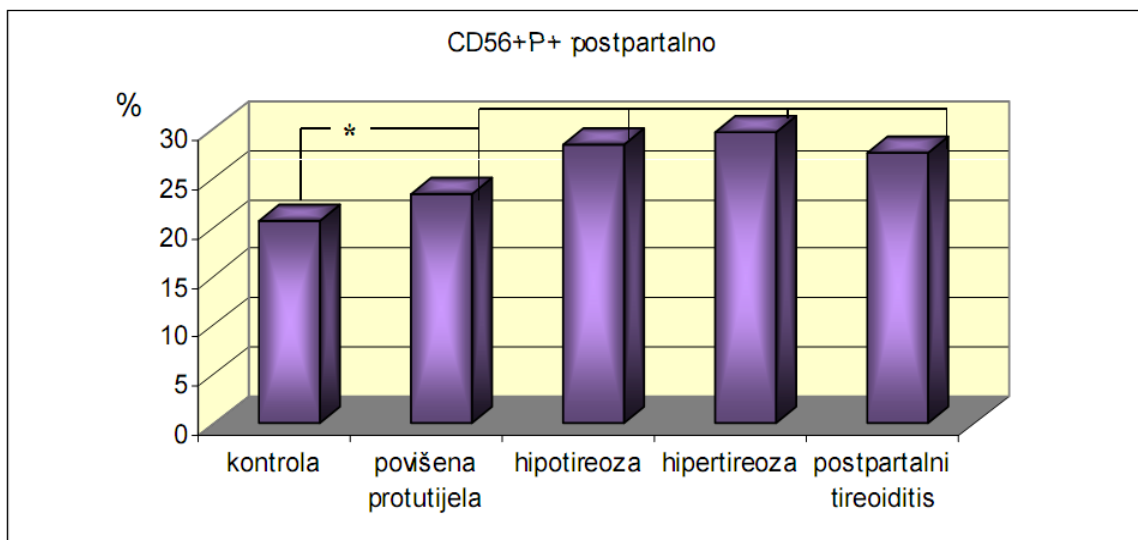
Slika 64. Promjene postotka dvostruko pozitivnih (CD8+P+) stanica postpartalno u ispitanica s povišenim protutijelima, subkl./kl. hipotireozom i hipertireozom, te s postpartalnim tireoiditisom (*= $p < 0,05$, **= $p < 0,01$, *= $p < 0,001$)**

Na slici 65 vidi se značajan pad postotka CD16+P+ stanica u kontrola postpartalno u usporedbi s eutireoidnim ispitanicama s povišenim protutijelima, u autoimunoj subkl./kl. hipotireozu te s postpartalnim tireoiditisom na razini značajnosti $p < 0,01$, a u usporedbi s ispitanicama s autoimunom subkl./kl. hipertireozom na razini značajnosti $p < 0,05$.



Slika 65. Promjene postotka dvostruko pozitivnih (CD16+P+) stanica postpartalno u ispitanica s povišenim protutijelima, subkl./kl hipotireozom i hipertireozom, te s postpartalnim tireoiditisom (*= $p < 0,05$, **= $p < 0,01$, *= $p < 0,001$)**

Na slici 66 vidi se značajno niži udio dvostruko pozitivnih CD56+P+ stanica u kontrolnih ispitanica poslije poroda u usporedbi s eutireoidnim ispitanicama s povišenim autoprotutijelima, u autoimunoj subkl./kl. hipertireozu i hipotireozu te s postpartalnim tireoiditisom ($p < 0,05$).

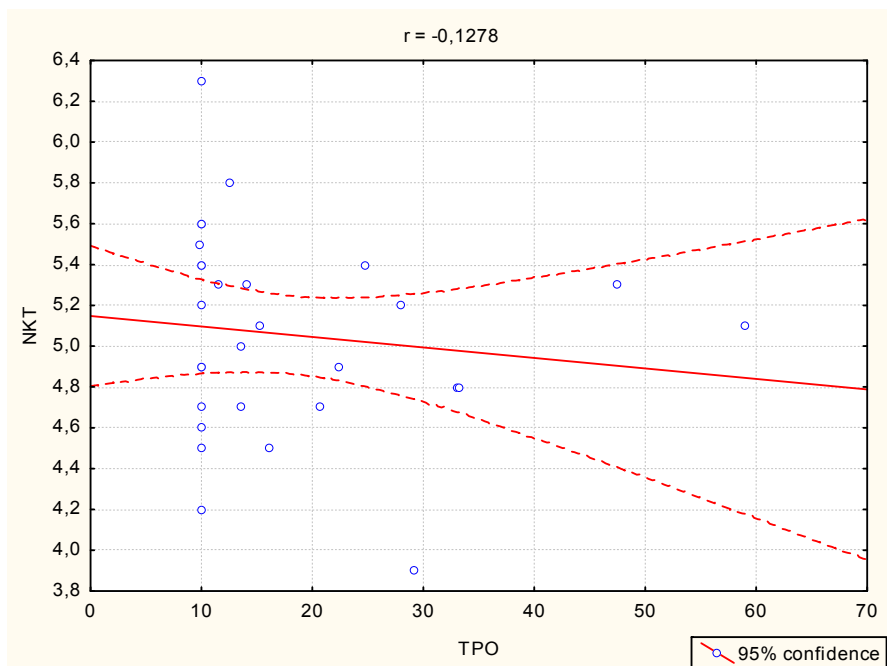


Slika 66. Promjene postotka dvostruko pozitivnih (CD56+P+) stanica postpartalno u ispitanica s povišenim protutijelima, subkl./kl. hipotireozom i hipertireozom, te s postpartalnim tireoiditisom (*= $p < 0,05$, **= $p < 0,01$, *= $p < 0,001$)**

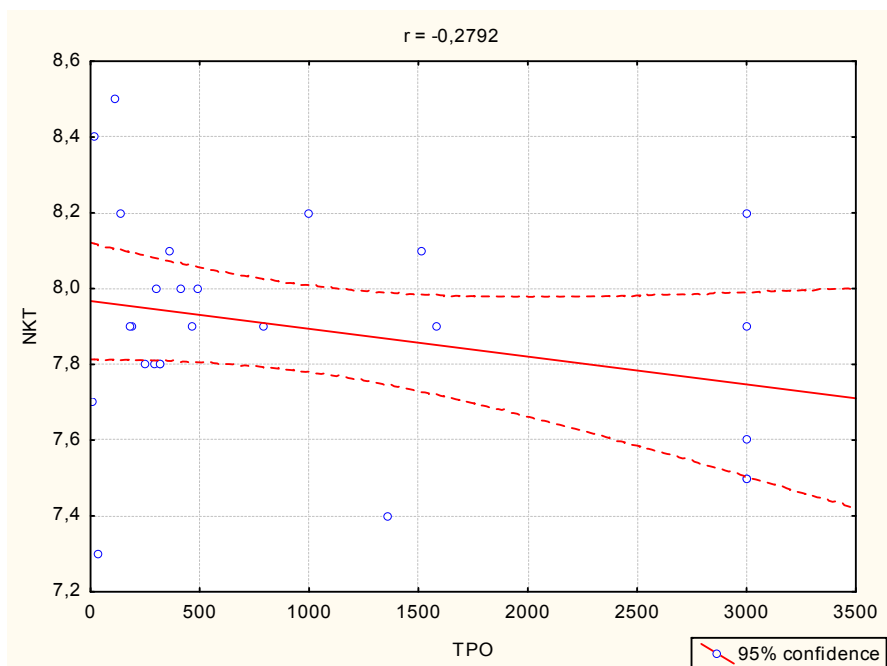
4.2.3. Korelacije između postotka NKT stanica i razine TPO protutijela

4.2.3.1. Korelacije između postotka NKT stanica i razine TPO protutijela tijekom trudnoće

Na slici 67 primijećujemo pad razine TPO protutijela u eutireoidnoj trudnoći koji je u korelaciji s brojem NKT stanica, međutim ova korelacija nije na razini statističke značajnosti.



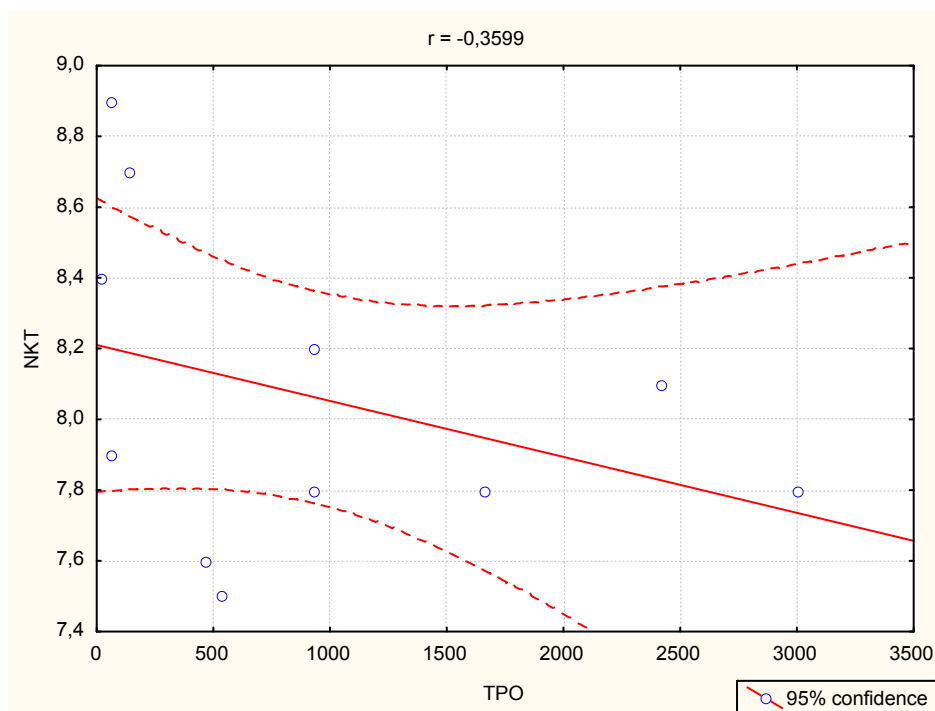
Slika 67. Korelacija između postotka NKT stanica i titra TPO protutijela u zdravoj trudnoći



Slika 68. Korelacija između postotka NKT stanica i titra TPO protutijela u trudnoći s hipotireozom

Uspoređujemo li titar TPO protutijela i broj NKT stanica u trudnoći praćenju hipotireozom, također primjećujemo kako je pad titra TPO protutijela praćen padom postotka NKT stanica, ali bez statističke značajnosti što je prikazano na slici 68.

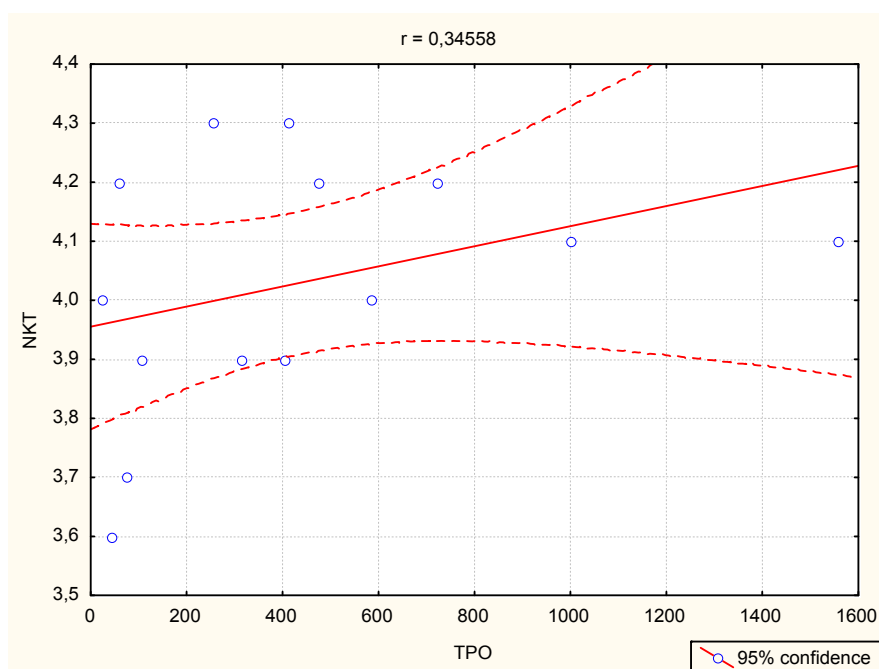
Postotak NKT stanica u trudnoći u kojoj se pojavljuje hipertireoza također je praćen padom titra TPO protutijela, bez statističke značajnosti što se vidi na slici 69.



Slika 69. Korelacija između postotka NKT stanica i titra TPO protutijela u trudnoći s hipertireozom

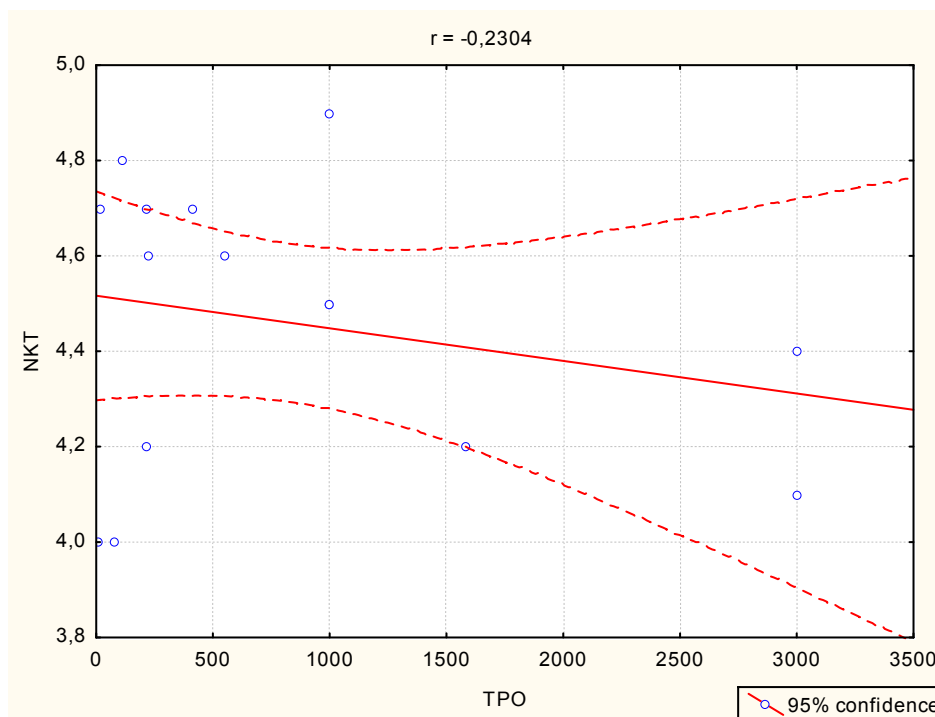
4.2.3.2. Korelacije između postotka NKT stanica i razine TPO protutijela u postporođajnom razdoblju

Na slici 70 prikazana je korelacija postotka NKT stanica i TPO protutijela poslije poroda u eutireoidnih ispitanica s povišenom razinom protutijela, a bez simptoma bolesti. Primijećeno je da je porast NKT stanica praćen i porastom TPO protutijela, ali bez statističke značajnosti.



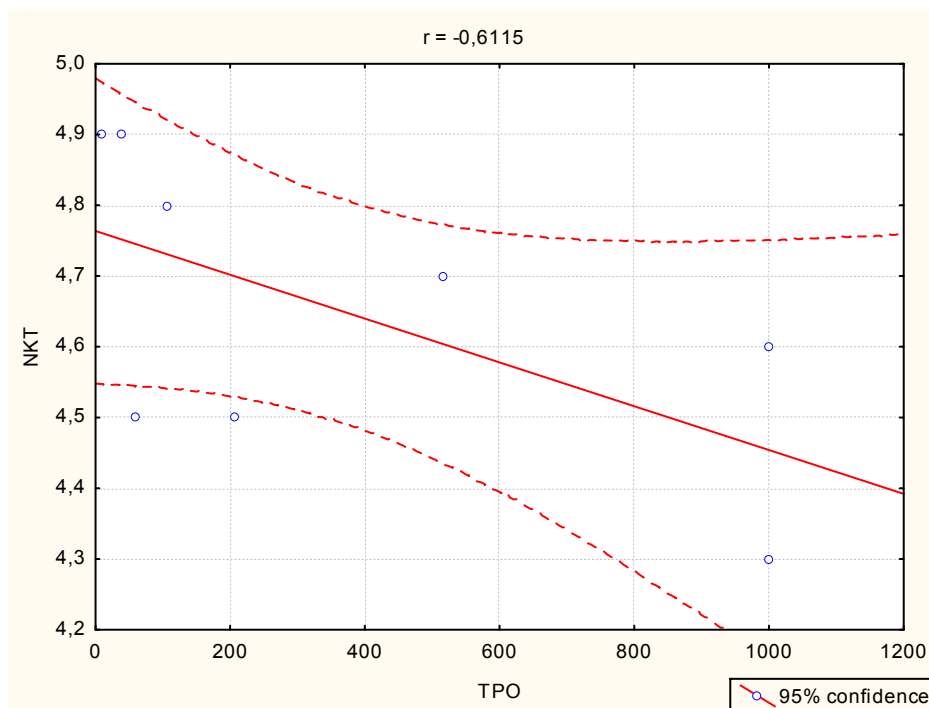
Slika 70. Korelacija između postotka NKT stanica i titra TPO protutijela poslije poroda u eutireoidnih ispitanica s povišenim protutijelima

Slika 71 prikazuje da ispitanice s razvijenom hipotireozom poslije poroda pokazuju blagu obrnutu korelaciju bez statističke značajnosti; porast NKT stanica je praćen padom razine TPO protutijela.



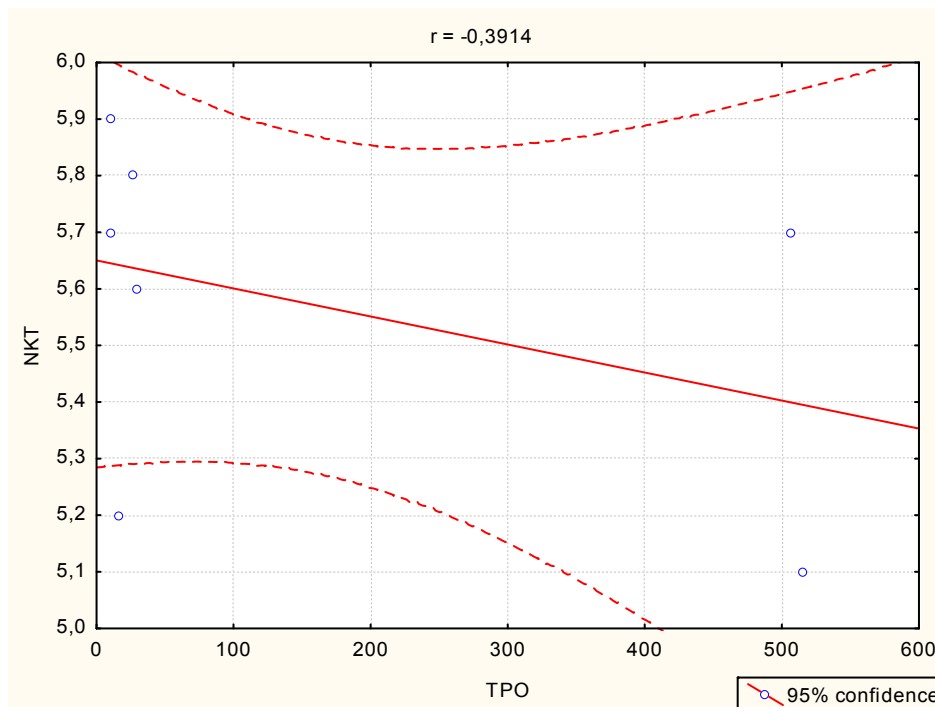
Slika 71. Korelacija između postotka NKT stanica i titra TPO protutijela poslije poroda u ispitanica s hipotireozom

Slika 72 prikazuje da ispitanice s hipertireozom poslije poroda pokazuju korelaciju kojom je porast NKT stanica praćen padom razine TPO protutijela, bez statističke značajnosti.



Slika 72. Korelacija između postotka NKT stanica i titra TPO protutijela poslije poroda u ispitanica s hipertireozom

Na slici 73 primijećujemo da je poslije poroda u ispitanica s postpartalnim tireoiditisom porast NKT stanica u korelaciji s padom titra TPO protutijela, ali bez statističke značajnosti.



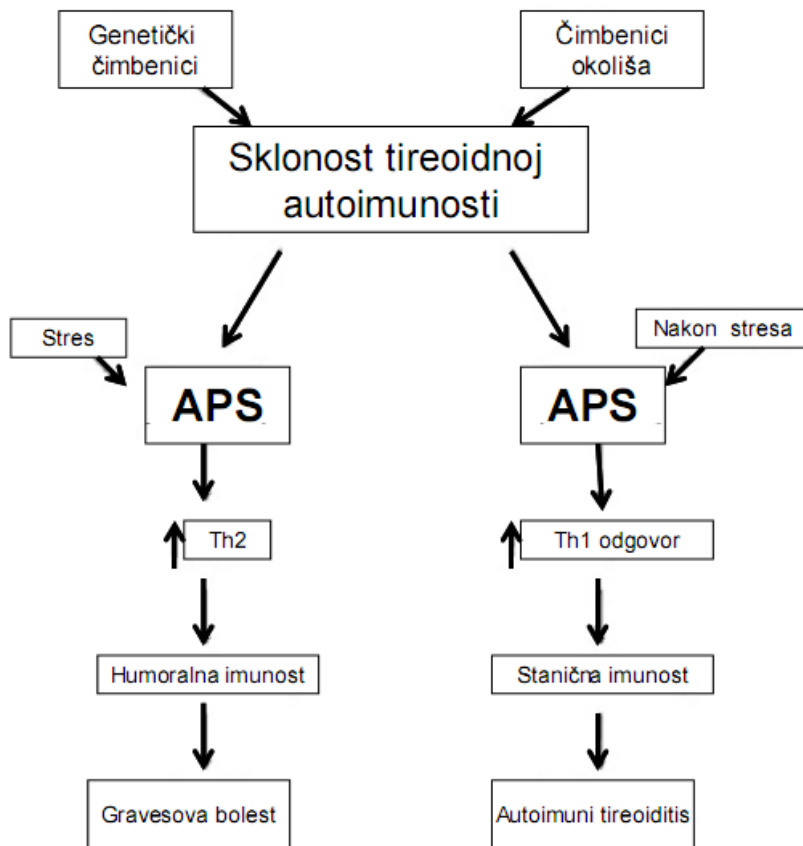
Slika 73. Korelacija između postotka NKT stanica i titra TPO protutijela poslije poroda u ispitanica s postpartalnim tireoiditisom

U navedenim slikama korelacija treba uračunati da su se ispitanice javljale na kontrolu ponekad u drugačijim terminima poslije poroda, pa se time može objasniti blagi rasap rezultata.

5. RASPRAVA

Bolesti štitne žlijezde autoimunog podrijetla česte su u žena generativne dobi, te tako i u trudnica. Trudnoća i postporođajno razdoblje imaju veliki utjecaj na autoimunu bolest štitnjače. Gravesova bolest se poboljšava tijekom trudnoće sve do relapsa postpartalno, dok je postpartalni tireoiditis uzrokovan destruktivnim tireoiditisom tijekom prvih nekoliko mjeseci nakon poroda. Imunologija trudnoće objedinjuje nekoliko osobitosti: majka mora održati toleranciju prema fetusu kao semi-alograftu, dok se ne suprimira njen vlastiti imunološki sustav i izloži sebe i fetus infekciji. Smatra se da cijela paleta nespecifičnih čimbenika, uključujući hormonske promjene, izražaj ključnih imunomodulacijskih molekula na trofoblastu i prijelaz na dominantni Th 2 citokinski odgovor, igra važnu ulogu u prijelaznoj toleranciji na očeve antigene u trudnoći (164).

Pretpostavlja se da, u uvjetima stresa u osoba sklonih tireoidnoj autoimunosti, aktivacija Th2 imunog odgovora može inducirati antigen specifične B limfocite da proizvode TSHR autoprotutijela što može dovesti do razvoja Gravesove bolesti (274). Trudnoća stoga, kao Th2 fenomen, podržavajući humoralnu imunost može utjecati na razvoj autoimunosti. Nakon stresa dominacija Th1 imunosti može poticati apoptotičke putove u tireoidnim folikularnim stanicama rezultirajući destrukcijom tireoidnih stanica i Hašimotovim tireoiditisom (274). Ovom pretpostavkom može se djelomično objasniti postpartalno pogoršanje autoimunosti nakon promjene Th1/Th2 odnosa u korist Th1 imunološkog odgovora, ali ne i poboljšanje autoimunosti u trudnoći koja kao Th2 fenomen podržavajući humoralnu imunost može utjecati i na razvoj autoimmune bolesti. Očito su uključeni i drugi imunološki regulacijski mehanizmi.



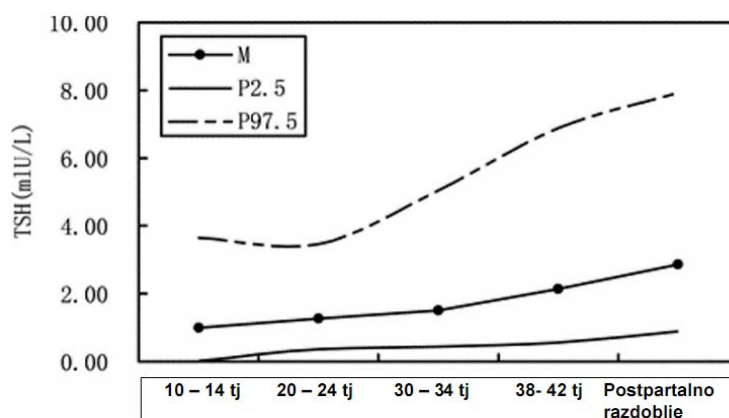
Slika 74. Uloga stresa u kliničkom izražaju AITD (prilagođeno iz reference broj 274)

Trudnoća utječe na štitnu žlijezdu i njenu funkciju. Štitnjača se u trudnoći volumski može povećati do 10% u zemljama sa zadovoljavajućim unosom joda, a čak 20-40% u područjima s jodnim deficitom. Proizvodnja tiroksina (T4) i trijodtironina (T3) raste za oko 50% zajedno s povećanjem dnevnih potreba za jodom. Ove fiziološke promjene mogu posljedično dovesti do hipotireoze u kasnijim stadijima trudnoće u jodno deficitarnih žena koje su eutireoidne u prvom tromjesečju trudnoće (65). Također, može rezultirati hipofunkcijom u žena s ograničenom tireoidnom rezervom te postpartalnim tireoiditisom u žena s latentnom Hashimotovom bolešću koje su bile eutireoidne prije začeća (65). S obzirom na ova saznanja, vrlo brzo se spoznalo da bi se referentne vrijednosti testova funkcije štitnjače u trudnoći

trebale donekle razlikovati od vrijednosti u žena koje nisu trudne i u kojih je uobičajen raspon TSH 0.4-4 mIJ/L (65).

Zbog toga je nedavno donešena odluka o postavljanju nešto drugačijih referentnih intervala koji su specifični samo za trudnoću (65). Tako je vrijednost TSH od 2,5 mIJ/L prihvaćena kao gornja granica za normalnu vrijednost u 1. tromjesečju, a 3 mIJ/L kao gornja granica za 2. i 3. tromjesečje. Iako je poznato da klinička hipertireoza i hipotireoza imaju štetne učinke na trudnoću, novije su studije usmjerene na potencijalni učinak subkliničke hipotireoze i hipertireoze na zdravlje majke i fetusa, na povezanost između pobačaja i prijevremenog poroda u eutireoidnih žena s pozitivnim titrom TPO i TgAt protutijela te na prevalenciju i dugotrajni učinak na postpartalni tireoiditis. U skladu s ovim novim spoznajama American Thyroid Association (ATA) zajedno s mnogim istaknutim tireolozima i ginekolozima iz drugih zemalja su objavili nove smjernice za trudnoću i postpartalno razdoblje (65). Završni su dokument prihvatila brojna druga svjetska tireološka društva. Dobiveni rezultati u ovoj studiji u skladu su s navedenim podacima. Da bi zadovoljila povećane metaboličke potrebe u trudnoći, štitnjača se prilagođava promjenom ekonomije hormona i uz pomoć hipotalamo-hipofizne osi (47, 54, 65). Nakon začeća, cirkulirajući ukupni T4 i globulin koji veže T4 (TBG) rastu unutar 6-8 tjedana i ostaju visoki do poroda. Razina tireotropina koja je pod utjecajem placentarnog hCG pada tijekom trudnoće, s najnižom vrijednošću u 1. tromjesečju (47). Potom, TSH u serumu postepeno raste tijekom 2. i 3. tromjesečja sve do poroda (53). U literaturi su opisani različiti medijani TSH; u 1. tromjesečju u prosjeku su u rasponu od 0,80 do 2,1 mIJ/L, u 2. tromjesečju u rasponu od 1,02 do 2,40 mIJ/L i u 3. tromjesečju od 1,14 do 2,10 mIJ/L (65, 275). Prema dosadašnjim rezultatima serumski TSH postepeno raste u 2. i 3. tromjesečju, ali referentni intervali ostaju niži nego žena koje nisu trudne. Zamijećene su i određene etničke razlike u razini serumskog TSH. Naime, žene crne i azijske rase imaju vrijednosti TSH za oko 0,4 mIJ/L niže nego žene bijele rase i ove razlike se prate tijekom

trudnoće (276). Trudnice Marokanskog, Turskog ili Surinamskog podrijetla koje žive u Nizozemskoj imaju TSH vrijednost 0,2 -do 0,3 mIJ/L niže nego Nizozemke u trudnoći (277). Naši rezultati pokazuju, u skladu s rezultatima u literaturi, da TSH tijekom trudnoće raste, a vrijednosti su slične rezultatima Marwahe i sur. (slika 11) (278). U njihovoj studiji TSH medijan u 1. tromjesečju je 2,10 mIJ/L, u 2. tromjesečju je 2,40 mIJ/L, dok je u 3. tromjesečju 2,10 mIJ/L (278). Srednji TSH u naših ispitanica s negativnim protutijelima u trudnoći je 2,23 mIJ/L, a viši je u 2. polovici trudnoće (2,36 mIJ/L) u odnosu na 1. polovicu (2,15 mIJ/L), također bez statističke značajnosti (slike 11 i 14). Međutim, srednji TSH u naših trudnica je nešto veći nego u kontrola (dobrovoljne davateljice krvi) što se razlikuje u odnosu na navedene podatke u literaturi, iako ne statistički značajno što je i očekivano. Nešto veće srednje vrijednosti TSH u 1. polovici uredne trudnoće u naših ispitanica u odnosu na opisane vrijednosti u drugim studijama vjerojatno su posljedica toga da je k nama većina ispitanica upućena iza 11-12 tjedna trudnoće, odnosno početkom 2. tromjesečja kada je razina TSH i veća u odnosu na ranu trudnoću. I prema našim rezultatima, uslijed povećanih metaboličkih potreba u trudnoći, testovi funkcije štitnjače se mijenjaju u odnosu na kontrolnu supinu žena, s tendencijom blagog porasta TSH, ali ne značajno. Naši rezultati stoga također ukazuju na izvjesnu dinamiku kretanja TSH u trudnoći.



Slika 75. Fluktuacije TSH u normalnoj trudnoći (prilagođeno iz reference broj 277)

Kod procjene vrijednosti TSH u populaciji žena fertile dobi u različitim studijama treba uzeti u obzir i druge čimbenike kao što su dob, pozitivan titar tireoidnih autoprotutijela i prisutnost drugih autoimunih bolesti. Mogući razlog određenih varijacija u vrijednostima TSH u trudnoći vjerojatno su i različite metode analize u različitim istraživanjima.

Povećane potrebe za hormonima štitnjače u trudnoći vjerojatno su povezane s njihovom povećanom potrošnjom zbog bržeg metabolizma što dovodi do blagog porasta TSH i rezultira s povećanom proizvodnjom hormona štitnjače, potom se u zdravih žena s očuvanom funkcijom štitnjače vrijednost TSH stabilizira i dodatno ne raste značajnije do kraja trudnoće.

Naime, srednja vrijednost FT4 prema našim rezultatima, a sukladno podacima u literaturi, pada postepeno s napredovanjem trudnoće (54). Mjerenje serumskog FT4 u trudnoći otežava povećana razina TBG i smanjenje koncentracije albumina zbog čega imuno analiza može biti nepouzdana. Međutim, čak i u područjima sa zadovoljavajućom zasićenosti jodom utvrđene su niže vrijednosti FT4 nego u kontrolnoj skupini žena, a u zadnjim mjesecima trudnoće mogu biti i ispod referentnih intervala (54).

Naši rezultati su sukladni i također pokazuju statistički značajno niži srednji FT4 nego u kontrolnih ispitanica, koji je i dodatno niži u drugoj polovici trudnoće u odnosu na prvu (slike 12 i 15). Ova snižena vrijednost se vjerojatno može povezati s time što se FT4 na periferiji pretvara u djelatni FT3, te FT4 čini rezervu hormona štitnjače, pomažući tako u održavanju uredne razine FT3. Ovako promijenjen periferni metabolizam majčinih hormona povezuje se i s porastom jodtironinskih dejodinacijskih procesa, prvenstveno dejodinaze tip II i III u posteljici. Dejodinaza tip II intracelularno aktivira T4 u T3, a dejodinaza tip III inaktivira T4 i T3 i koncentracija joj se povećava s napredovanjem gestacije, te se tako omogućava veći transplacentarni prijenos joda fetusu koji postepeno započinje vlastitu proizvodnju hormona (47, 55). Zbog svega navedenog razina FT3 u serumu ima manji raspon srednjih vrijednosti u

trudnoći, bez značajne razlike u odnosu na kontrolu što ukazuje na njegovu efikasnu regulaciju, iako su, zanimljivo srednje vrijednosti prosječno nešto veće u trudnoći (slike 13 i 16). Poslije poroda se, međutim, uočavaju promjene. Naime, srednji TSH u naših kontrolnih ispitanica postpartalno pada, sa srednjom vrijednošću oko 1,84 mIJ/L, što je niže u odnosu na ukupnu trudnoću, no ne i na razini statističke značajnosti (slika 11). Međutim, usporedbom postpartalnog srednjeg TSH sa srednjim TSH u drugoj polovici uredne trudnoće uočili smo i statistički značajno niži TSH u trudnoći, ali bez značajne razlike u odnosu na prvu polovicu trudnoće (slika 14). Ovi rezultati potvrđuju da trudnoća predstavlja endokrinološki i metabolički stresni događaj za štitnjaču koji inducira adaptivne promjene u samoj ekonomiji hormona, a postpartalno, tj. prestankom trudnoće vrlo brzo dolazi do porasta vrijednosti odnosno povrata na razinu prije trudnoće. Tome govori u prilog i porast FT4 poslije poroda (slika 12) na razini statističke značajnosti ($p < 0,001$) u odnosu na trudnoću slično srednjoj vrijednosti dobivenoj u ne trudnih kontrola. Usporedno, postpartalno srednji FT3 blago pada, potvrđujući brzu hormonalnu prilagodbu u zdravih ispitanica i povrat na vrijednosti prije trudnoće (slike 13 i 16). Analizom ranijeg (do 4 mjeseca) i kasnijeg postporođajnog razdoblja (nakon 4 mjeseca) uočili smo razlike. Naime, srednji TSH je do 4 mjeseca postpartalno značajno niži u odnosu na razdoblje više od 4 mjeseca po porodu (slika 17) što dodatno potvrđuje da prestanak trudnoće, odnosno porod inducira vrlo brzo novu adaptaciju štitnjače zbog naglog smanjenja metaboličkih potreba uvjetovanih trudnoćom. Slično tome, razina srednjeg FT4 poslije poroda postepeno raste tako da je nakon 4 mjeseca poslije poroda značajno viša u odnosu na ranije postporođajno razdoblje (slika 18). Promjene FT3 između ranijeg i kasnijeg postpartalnog razdoblja su minimalne i nisu statistički značajne (slika 19). Uvidom u literaturu ustanovili smo da, unatoč brojnim istraživanjima referentnih hormonalnih vrijednosti u trudnoći, nema puno podataka o dinamici promjena postpartalnih vrijednosti hormona u ispitanica sa zdravom štitnjačom, odnosno nema puno studija koje su pratile

vrijednosti hormona štitnjače nakon poroda u zdravih žena. Uočili smo i da ispitanice koje imaju ranije ili u trudnoći dijagnosticiranu AITD, točnije Hashimotovu bolest te uzimaju redovito terapiju, u ranom postpartalnom razdoblju vrlo često imaju suprimiranu vrijednosti TSH, te im je potrebno snižavati dozu supstitucije, dok bi u kasnijem postpartalnom razdoblju razina TSH ponovo rasla. Stoga smo našim ispitanicama kojima smo uveli supstitucijsku terapiju u trudnoći zbog nalaza u području subkliničke ili kliničke hipotireoze, po porodu preporučili prekidanje terapije do kontrole te naknadno ponovo uvođenje terapije onim ispitanicama kojima je bilo potrebno (ovi rezultati nisu grafički prikazani). Zanimljivo je da je srednji TSH značajno niži u prva 4 mjeseca postpartalno u odnosu na 1. i 2. polovicu trudnoće, te potom diskretno raste, odnosno nakon 4 mjeseca poslije poroda približava se srednjoj vrijednosti u kontrolnih ispitanica te razlika u odnosu na trudnoću nije više značajna (slika 20). Niža srednja vrijednost FT4 u trudnoći raste poslije poroda, a razlika postaje statistički značajna u odnosu na 1. i 2. polovicu trudnoće nakon 4 mjeseca postpartalno (slika 21). Promjene FT3 su, kao što smo naveli diskretne, no u kasnijem postpartalnom razdoblju FT3 je i statistički značajno niži u odnosu na trudnoću (slika 22). Svi ovi rezultati govore u prilog da sama zdrava trudnoća kao poznati pokretač brojnih imunomodulacijskih promjena zapravo dovodi do promjena i u funkciji zdrave štitnjače, prilagođavajući se, veoma djelotvorno, povećanim potrebama majke i fetusa u trudnoći. Ove promjene su blage, uskog raspona vrijednosti, no uočljive, stabiliziraju se napredovanjem gestacije te se potom vrlo brzo poslije poroda mijenjaju, a na razinu prije trudnoće se vraćaju nakon 4 mjeseca poslije poroda.

Tireoidna autoimunost je najčešći autoimuni poremećaj današnjice. Nekoliko studija je pokazalo dominaciju žena u tireoidnoj autoimunosti, budući da je u njih i veća učestalost tireoidnih autoprotutijela (62), U generativnoj dobi 5-20% žena ima povišen titar TPO i TgAt autoprotutijela, uz uredan hormonski status (62). Procjenjuje se da je u 17% žena povišen titar

TPO autoprotutijela, dok 15,2% žena ima povišen titar TgAt autoprotutijela (62). Još jedna velika studija pokazala je povišen titar tireoidnih protutijela u 18% žena u područjima sa zadovoljavajućim unosom joda (63). Naši rezultati su u skladu s opisanim podacima, budući da 11% zdravih, ne trudnih ispitanica ima povišen titar TPO i/ili TgAt autoprotutijela (slika 23). Postotak eutireoidnih trudnica s povišenim autoprotutijelima (TPO i/ili TgAt), prema našim rezultatima je 16% što također odgovara podacima u literaturi (slika 24). Samo jedna trudnica iz ove skupine eutireoidnih ispitanica s pozitivnim protutijelima imala je osim, TPO i TgAt, i blago povišen titar TSAbs, stimulirajućih protutijela na TSH receptor koja se smatraju specifičnim za autoimunu hipertireozu. Ova ispitanica je imala uredne hormone tijekom trudnoće, a poslije poroda imala je nalaz u području subkliničke hipotireoze (TSH 8 mIJ/L). Blago povišen titar TSAbs mogao bi upućivati da, osim TPO i TgAt protutijela i ova TSHR specifična protutijela se ponekad mogu detektirati kao biljeg autoimunosti. Postpartalno je udio ispitanica s povišenim titrom autoprotutijela, a urednim hormonskim statusom u našoj studiji nešto veći i iznosi 24% (slika 25). Razlog tome može biti veći odaziv žena s tireoidnom autoimunošću postpartalno na kontrolu kojima smo to i preporučili u odnosu na kontrolnu skupinu. Razlog je također i vrlo vjerojatno postpartalni odgovor na imunosupresiju tijekom trudnoće, što dokazuje da trudnoća utječe na tijek autoimune bolesti. Naime, poznato je da je u trudnoći zbog imunomodulacije titar autoprotutijela općenito snižen, odnosno u postepenom padu, autoimunološki odgovor je suprimiran što potvrđuju i naši rezultati koji pokazuju sniženje titra TPO autoprotutijela tijekom trudnoće u ispitanica s AITD, odnosno s autoimunom subkl./kl. hipotireozom i hipertireozom, a manje izraženo i u eutireoidnih trudnica s povišenim autoprotutijelima, iako ne i na razini statističke značajnosti (slike 45 i 46) (80, 81). Prema podacima u literaturi, približno 6 tjedana poslije poroda prestankom imunosupresije titar autoprotutijela počinje postepeno rasti i kasnije tijekom postpartalnog razdoblja poprima prije trudničku razinu (80,81). Stoga je moguće da u izvjesnog broja

ispitanica koje su bile negativne u trudnoći, poslije poroda dolazi do porasta titra protutijela. Idealno bi bilo imati razinu ovih protutijela poznatu prije trudnoće. Prema našim rezultatima visina titra TPO autoprotutijela u eutireoidnih ispitanica, najniža je u ranom (do 3 mjeseca) postporođajnom razdoblju, dok je u kasnijem poslije porođajnom razdoblju (nakon 3 mjeseca) visina titra u porastu. Titar TPO protutijela poslije poroda u ispitanica sa subkl./kl. hipotireozom je također viši nego u drugoj polovici trudnoće (slika 46). U ispitanica sa subkl./kl. hipertireozom, titar je međutim, niži nego u trudnoći. To je iz razloga što su ove ispitanice došle na kontrolu vrlo rano nakon poroda (od 3 dana do 3 tjedna), kada je titar protutijela još nizak, a porast se i prema rezultatima istraživanja očekuje kasnije postpartalno. Jedna od ovih ispitanica u hipertireozu postpartalno imala je značajno povišen titar TRAbs protutijela koji je korelirao s pogoršanjem hipertireoze. Upravo zahvaljujući nejednolikim dolascima na kontrolne preglede, kako tijekom trudnoće tako i postpartalno, možemo objasniti i korelacije postotka NKT stanica i titra TPO protutijela bez razine statističke značajnosti (slike 67-73).

Srednja vrijednost TSH u trudnica s pozitivnim titrom TPO i TgAt autoprotutijela je 2,49 mIJ/L u prvoj i 2,3 mIJ/L u drugoj polovici trudnoće što je nešto veća vrijednost u odnosu na srednji TSH trudnica s negativnim protutijelima, iako ne i statistički značajni porast (slike 26 i 28). To je u skladu s rezultatima u literaturi koji pokazuju da je u žena s pozitivnim nalazom TPOAt tijekom rane trudnoće češće prisutan porast vrijednosti TSH (86). Ustanovljeno je da u 16 % trudnica koje su eutireoidne i pozitivnog TPO i TgAt titra u 1. tromjesečju trudnoće, do kraja trudnoće dolazi do porasta TSH jednako ili više od 4 mIJ/L, a 33-50% žena koje imaju pozitivan titar ovih protutijela razviju postpartalni tireoiditis (65). Ovi rezultati govore u prilog tome da trudnoća može inducirati progresiju u hipotireozu, jer žene s tireoidnom autoimunosti mogu imati smanjenu funkcionalnu rezervu hormona te ponekad ne mogu odgovoriti na povećane potrebe povećanom proizvodnjom hormona (86).

Negro i sur. (64) uočili su u TPO pozitivnih žena u trudnoći porast TSH>2,5 mIJ/L. Naši rezultati, sukladno podacima iz literature, potvrđuju da i autoimuna bolest štitne žlijezde može utjecati na trudnoću, ukoliko uzrokuje hipotireozu. Ovi rezultati nameću pitanje kako tretirati trudnice s povišenim titrom tireoidnih autoprotutijela i urednim nalazom hormona. Jesu li one ugrožene ili su u većoj opasnosti od komplikacija tijekom trudnoće i porođaja od žena s negativnim titrom tireoidnih autoprotutijela? Istraživanja su pokazala povezanost ovih protutijela s opstetričkim komplikacijama, prvenstveno pobačajem i prijevremenim porodom, preeklampsijom, abrupcijom posteljice (92,93,95,96). Negro i sur. utvrdili su i smanjenu učestalost pobačaja u eutireoidnih trudnica koje su uzimale L-tiroksin u terapiji (97). Aleksander EK i sur. navode dvije mogućnosti objašnjavanja značaja ovih protutijela. Prvo, prisutnost TPO protutijela detektira autoimunost, te u trudnoći zbog povećanih potreba za hormonima štitnjače sugeriraju mogućnost da majka može postati hipotireoidna u gestaciji. Majčina hipotireoza, stoga može biti odgovorna za navedene štetne učinke (100). Drugo, jednako dobro objašnjenje bi bilo da povišena tireoidna autoprotutijela u trudnica predstavljaju signal za prisutnost šire imunološke aktivacije, odnosno dijateze. Prema ovoj hipotezi, TPO protutijela označuju postojanje izvjesne aktivacije autoimunosti u majke i prisutnost odvojenog, ali nedetektiranog imunološkog procesa koji može djelovati patološki na trudnoću (100). Budući da je srednji TSH nešto veći u odnosu na srednju vrijednost u kontrolnih trudnica, iako ne statistički značajno, već u prvoj polovici trudnoće, izgleda da se metabolička promjena dešava ranije u trudnoći (slike 26 i 28). Ukoliko je tireoidna rezerva zadovoljavajuća, odnosno ukoliko se dovoljno poveća proizvodnja hormona štitnjače, TSH više ne raste do kraja trudnoće i trudnica ostaje eutireoidna. U drugoj polovici trudnoće kod većine trudnica u našoj studiji s povišenim protutijelima, TSH ostaje stabilan, tj. unutar referentnih vrijednosti. U tri trudnice s napredovanjem gestacije došlo je do razvoja subkliničke hipotireoze i uvedena je supstitucijska terapija (nije grafički prikazano).

Slično kontrolnoj trudnoći i u ovih trudnica je FT4 niži u trudnoći nego postpartalno i to statistički značajno u drugoj polovici trudnoće (slika 27), a ne razlikuje se značajno u odnosu na srednji FT4 u kontrolnih trudnica (slika 29). FT3 se također ne razlikuje značajno između skupina eutireoidnih trudnih ispitanica s povišenim ili negativnim protutijelima (slika 30). U postpartalnom razdoblju srednji TSH u trudnica s povišenim autoprotutijelima, pada kao i u kontrolnih trudnica (slika 26), a usporedbom srednjeg TSH u ove dvije skupine postpartalno nema statistički značajne razlike (slika 31) što također još jednom potvrđuje učinak trudnoće i poroda na promjene metabolizma štitnjače te da usprkos tireoidnoj autoimunosti ispitanice ostaju eutireoidne zbog očuvane funkcijske rezerve.

Prema podacima u literaturi klinička hipotireoza opisuje se u otprilike 0,3-0,5% trudnoća, a subklinička hipotireoza se javlja u 2-3% svih trudnica i prevalencija raste s dobi (65). U naših ispitanica uočili smo da je udio ispitanica u subkl./kl. hipotireozi 8,6% (slika 34). Kod samo jedne ispitanice utvrdili smo kliničku hipotireozu. Radi se o trudnicama koje nemaju prije trudnoće dijagnosticiranu AITD, odnosno nisu nikada uzimale supstitucijsku terapiju. Ovi rezultati su važni s obzirom da hipotireoza može utjecati na rast i razvoj fetusa, te na komplikacije tijekom trudnoće i porođaja (84, 89, 97). Također, ovi rezultati upućuju na značajnu prisutnost AITD u našoj populaciji žena generativne dobi. Dijelom može biti razlog što su se na pregled odazvale i trudnice s rizičnim čimbenicima kao pozitivna obiteljska anamneza, prethodni sponatni pobačaj i sl. Subklinička hipotireoza u trudnoći se definira stanjem s razinom TSH između 2,5 -10 mIJ/L uz urednu koncentraciju slobodnih hormona. Klinička hipotireoza, prema smjernicama, je stanje s TSH>2,5 mIJ/L uz snižen FT4 ili TSH>10 mIJ/L, bez obzira na razinu FT4 (65). Postpartalno je udio ispitanica s nalazom u području subkl./kl. hipotireoze veći i iznosi 14 % (slika 35). Razlog tome je dijelom uvjetovan manjim brojem ispitanica iz kontrolne skupine postporođajno. Naime, veći broj ispitanica s pozitivnom tireoidnom autoimunosti odazvao se na kontrolu poslije poroda, s obzirom da su

dobile preporuku za intenzivnije praćenje. Osim toga, važno je naglasiti da smo daljnjim praćenjem, odnosno kontrolama utvrdili spontanu normalizaciju TSH, odnosno hormona u dijelu ispitanica što govori u prilog pretpostavke da su povećane metaboličke potrebe u trudnoći inducirale hipofunkciju. Od 11 ispitanica, 8 ih je bilo u subkliničkoj hipotireozi u trudnoći i uvedena im je supstitucijska terapija koja je po porodu prema dogovoru prekinuta. Tri ispitanice imale su uredan hormonski status u trudnoći, od toga su 2 imale povišeni titar autoprotutijela ili UZV znakove tireoidne autoimunosti. Srednje vrijednosti hormona ovih ispitanica prikazane su u tablici 2. Ne može se isključiti da se u dijelu ispitanica radilo i o blagom obliku postpartalnog tireoiditisa, obzirom i na pozitivni titar autoprotutijela. Ovi rezultati su važni jer dokazuju da, osim što trudnoća utječe na štitnu žlijezdu, na nju utječe i autoimuna bolest štitnjače. Iako su autoimuni procesi u trudnoći suprimirani, odnosno manje izraženi pod utjecajem prevlasti Th2 imunološkog odgovora i regulacijskih T stanica te titar tireoidnih autoprotutijela postepeno pada, ukoliko je štitna žlijezda slabije funkcionalne rezerve može doći do manifestacije hipofunkcije u trudnoći. Bitno je do koje razine je štitna žlijezda zahvaćena autoimunim procesom prije trudnoće. Prema američkim podacima 2-3% trudnih žena imat će povišeni TSH na rutinskom pregledu, a prevalencija raste s dobi ispitanica (65). Postpartalno, međutim zbog promjene imunološke ravnoteže i jačanja Th1 imunosti u ne trudnom stanju može se intenzivirati limfocitna infiltracija štitnjače, povisiti razina TSH receptor stimulirajućih ili inhibirajućih protutijela, te TPO i TgAt titra što može rezultirati tek poslije poroda manifestnim poremećajem, odnosno hipofunkcijom ili hiperfunkcijom štitne žlijezde. Stoga je mogući rezultat kao što smo i dokazali: veći udio trudnica s pozitivnim titrom protutijela i hipofunkcijom štitne žlijezde postpartalno.

Što se tiče hipertireoze, među trudnim ženama, prema podacima u literaturi manifestna hipertireoza se procjenjuje na oko 0,2% (62). U naših ispitanica udio žena u subkliničkoj hipertireozi od ukupnog broja trudnica je 2,7% (slika 36). U manifestnoj hipertireozi bila je

samo jedna trudnica što čini 0,5% od ukupnog broja ispitanica što je sukladno rezultatima u literaturi (slika 37). Kad se analiziraju hormoni trudnica u prvom tromjesečju uvijek treba uzeti u obzir da je suprimirani TSH često posljedica tireotropnog učinka hCG, odnosno gestacijske prolazne hipertireoze koja se javlja u 2-3 % trudnica, što objašnjava i ovakav udio naših trudnica u subkliničkoj hipertireozii. Ovo prolazno stanje ne smatra se bolešću. Postpartalno smo uočili sličan udio ispitanica u subkl./kl. hipertireozii, kao i u trudnoći, odnosno 2,6%, a radi se o dvije ispitanice od kojih su obje bile u subkl./kl. hipertireozii u gestaciji (slika 38).

Zanimljivo je da je 5 ispitanica od ukupnog broja ispitanica poslije poroda, odnosno 6,5 % (slika 40) preboljelo postpartalni tireoiditis. Prevalencija postpartalnog tireoiditisa je, prema podacima u literaturi, oko 8,1 %, ali varira značajno u različitim studijama, između 1,1 i 16,7% (26, 65, 101, 102). Tri naše ispitanice imale su povišeni titar TPO i/ili TgAt autoprotutijela. Postotak od 6,5 % i u našoj studiji upućuje na značajnost ovog sindroma poslije poroda, a s obzirom da simptomatologija može biti blaga, vjerojatno veći dio žena preboli postpartalni tireoidis, ne dijagnosticiran. Žene s pozitivnim titrom autoprotutijela razviju PPT u 40-60 % slučajeva, no i žene s negativnim tireoidnim autoprotutijelima mogu razviti ovaj poremećaj. Postpartalni tireoiditis je tek zadnjih nekoliko godina počeo biti tema brojnih studija, a na području Hrvatske o ovom entitetu nema puno radova što ukazuje na važnost dobivenih podataka. Naši rezultati sukladni su rezultatima iznesenim u obliku sažetaka na Evropskom kongresu nuklearne medicine u Minhenu 2008. godine te na Evropskom ultrazvučnom kongresu 1994. godine (Grbac-Ivankovic S. i sur., European Journal of Nuclear Medicine and Molecular imaging 2008;35(10) Suppl 2; European Journal of Ultrasound 1994;4 Suppl 1). Značaj ovog sindroma naglašava i podatak da u žena s PPT postoji 50% vjerojatnosti da će razviti trajnu hipotireozu u narednih 7 godina.

Posebno smo izdvojili ispitanice koje su u trudnoću ušle kao remisija hipertireoze. Radi se o trudnicama koje su imale autoimunu hipertireozu jednu do tri godine prije trudnoće. Uočili smo da je njihov srednji TSH značajno niži u odnosu na trudnice iz kontrolne skupine te skupine eutireodinih trudnica samo s povišenim titrom tireoidnih autoprotutijela (slika 39). Ovi rezultati ukazuju da iako eutireoidne, postoji razlika u regulaciji njihove razine TSH u odnosu na zdrave ispitanice. Sama trudnoća dovodi do imunoregulacije i Th2 dominacije, što dovodi do poboljšanja tj. remisije hipertireoze, a time i do zaštite ploda. Postpartalno međutim titar autoprotutijela raste, mijenja se Th1/Th2 ravnoteža, odnosno gubi prevlast Th2 odgovora i dolazi do pogoršanja autoimunih stanja te mogućeg recidiva hipertireoze. Poslije poroda dvije ispitanice su recidivirale i uvedena ima je tireostatska terapija, a jedna je ušla u subkl./kl. hipotireozu. Ovi rezultati potvrđuju da su trudnoća i porod stresni događaj za trudnice s autoimunom bolešću štitnjače te u slučaju hipertireoze i hipotireoze mogu biti izvjestan pokretač za pogoršanje bolesti.

Zanimljiv je podatak dobiven u našoj studiji: prisutnost 25 % ispitanica u trudnoći s pozitivnom tireoidnom autoimunošću u odnosu na sve ispitanice (slika 41). U skupinu trudnica s tireoidnom autoimunošću uključili smo sve eutireoidne trudnice s povišenim titrom tireoidnih autoprotutijela, kao i trudnice u subkl./kl. hipotireozu ili hipertireozu. Ovi rezultati ukazuju na značajnu prisutnost tireoidne autoimunosti u našoj populaciji žena generativne dobi. Njihova raspodjela prikazana je na slici 42. S obzirom na moguće štetne učinke na fetus i komplikacije u trudnoći, ovi rezultati govore u prilog neophodnog strožeg probira (screening) trudnica u ranoj trudnoći da bi se na vrijeme otkrile trudnice kojima je potrebna terapija.

Poslije poroda je udio žena s tireoidnom autoimunošću veći (41%) što smo dijelom objasnili većim odazivom ovih ispitanica poslije poroda u odnosu na kontrole (slika 43). Međutim, veći udio može biti i zbog samog postpartalnog pogoršanja autoimunosti.

Raspodjela je prikazana na slici 44. Posebno smo izdvojili ispitanice s postpartalnim tireoiditisom, a detekcija ovih ispitanica je važna jer postoji veća vjerojatnost da će se u njih razviti hipotireoza u narednim godinama ili idućoj trudnoći (94). Mali broj ispitanica s povišenim titrom TSAbs protutijela, odnosno stimulirajućih autoprotutijela na TSH receptor, može se objasniti činjenicom da su ova protutijela povišena uglavnom u hipertireozi, a u trudnoći su suprimirana i nisu detektabilna zbog imunosupresije. Pozitivan titar bio je u jedne ispitanice u našoj studiji postpartalno koja je razvila hipertireozu u trudnoći s poboljšanjem do poroda te ponovnim pogoršanjem poslije poroda. Njen titar TSAbs u trudnoći je bio negativan vjerojatno zbog imunosupresije u gestaciji te tireostatske terapije. Zbog malog broja pozitivnih ispitanica ove rezultate nismo grafički prikazali. Na temelju dobivenih podataka zaključili smo da je pri rutinskom pregledu ili praćenju trudnica dovoljno utvrditi titar TPO i TgAt autoprotutijela. Stimulirajuća protutijela na TSH receptor potrebno je mjeriti u trudnica s kliničkom hipertireozom pred kraj trudnoće zbog mogućeg transplacentarnog prijelaza i štetnog djelovanja na fetalnu štitnjaču.

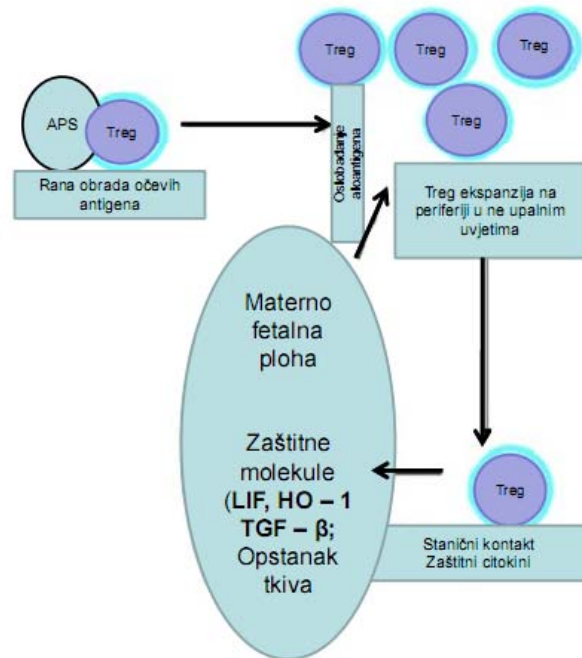
Autoimuna bolest štitne žlijezde je pod utjecajem, ne samo funkcijskih promjena u štitnjači koje se dešavaju u normalnoj trudnoći, a mi smo ih potvrdili i u našim rezultatima, već su i pod utjecajem specifične imunološke privilegiranosti koja je prisutna u gestaciji sa ciljem očuvanja trudnoće. Promjene stanica urođene imunosti, kako u trudnoći, tako i u prisutnoj autoimunoj bolesti štitne žlijezde tijekom trudnoće, te postpartalno, ukazuju na važnost imunoendokrinološke modulacije. Stanice NK (slika 47) su povišene tijekom trudnoće u odnosu na kontrolnu skupinu ispitanica (dobrovoljne davateljice krvi), iako ne odstupaju od referentnih vrijednosti.

Naši rezultati idu u prilog značajnoj povezanosti NKT i Treg stanica tijekom trudnoće eutireoidnih trudnica, trudnica s povišenim protutijelima, kao i u trudnica s hipotireozom ili hipertireozom. Na slici 49 je prikazan rezultat kako su NKT stanice, kao pripadnice urođene

imunosti značajno povišene tijekom trudnoće u odnosu na kontrolu, što je u skladu s do sada objavljenim rezultatima o njihovom djelovanju tijekom trudnoće. Međutim, do sada još nisu opisani rezultati o povišenom postotku ovih stanica u trudnica s povišenim protutijelima u odnosu na kontrolnu skupinu tj. žene koje nisu trudne, ali sa sniženim brojem u odnosu na eutireoidne, kontrolne trudnice. Ovakav rezultat ide u prilog pretpostavci da protutijela smanjuju protektivnu ulogu NKT stanica u trudnoći. S druge strane, prisustvo autoimune bolesti štitnjače tijekom trudnoće je dovelo do još većeg povećanja broja NKT stanica (slika 50), što možemo objasniti poštivajući osnovnu postavku o djelovanju NKT stanica: organizam povećava ulogu urođene imunosti s ciljem održanja trudnoće usprkos prisutne autoimune bolesti, jer je dokazano da smanjen broj NKT stanica korelira s povećanom incidencijom razvoja autoimunih bolesti (autoimuni diabetes mellitus, reumatoidni artritis, SLE, multipla skleroza). NKT stanice u odgovoru na stimulaciju proizvode veliku količinu citokina, potičući tako imunološki odgovor. Aktiviraju se interakcijom svojih T staničnih receptora s glikolipidima, predodčena pomoću CD1d molekule na antigen predodčnim stanicama. Moramo naglasiti da glikolipidi imaju imunomodulacijski učinak u mnogim autoimunim bolestima. Cijeli niz istraživača je naglašavao kako majčin imunološki sustav mora biti suprimiran da ne dovede do odbacivanja fetusa. Međutim, u novije vrijeme, sve se veća pažnja pridaje činjenici da usprkos zaista suprimiranoj majčinoj stečenoj imunosti posredovanoj limfocitima T, sustav prirodene imunosti (monociti/makrofagi, stanice NK) mora biti aktiviran da bi implantacija bila uspješna. Autori Ito K. i sur. (279) su pretpostavili da $V\alpha 14$ NKT stanice u decidui imaju ulogu u sprječavanju odbacivanja fetusa pod fiziološkim uvjetima, jer se pokazalo da ove stanice nishodno-reguliraju Th1-tip imunog odgovora pod određenim uvjetima, bez obzira na njihovu sposobnost da proizvode i Th1 i Th2 citokine. Također je naglašena važna uloga decidualnih $V\alpha 14$ NKT stanica u zaštiti majke od teških infekcija. Slika 51 pokazuje statistički značajno povećanje ovih stanica u

razdoblju nakon poroda s najvišom koncentracijom u žena s postpartalnim tireoiditisom. Ovdje treba naglasiti da razlikujemo dvije osnovne podvrste NKT stanica: NKT stanice s prisutnom Th1 citokinskom sekrecijom (IFN- γ , IL-2), koje smanjuju toleranciju, te povećavaju sklonost ka razvoju autoimunih bolesti, ali povećavaju i antitumorsku i antimikrobnu imunost, te NKT stanice s Th2/Th3 citokinskom sekrecijom (IL-4, IL-10, IL-13) koje povećavaju toleranciju, te time djeluju na smanjenje autoimunih procesa, ali i na smanjenje antitumorskog i antimikrobnog imunološkog odgovora. Uvidamo da je veoma važno o kojem se tipu NKT stanica radi.

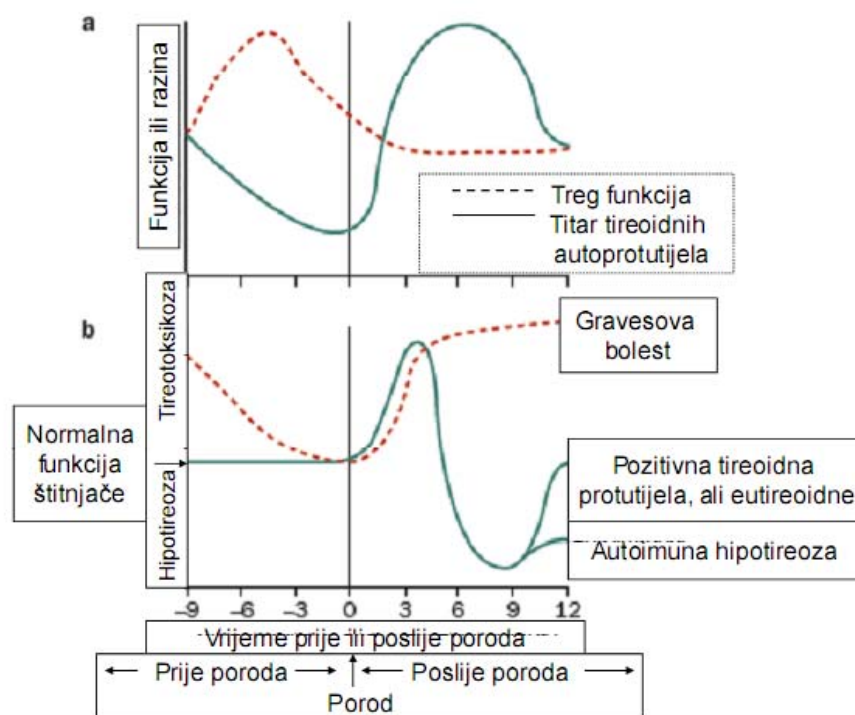
Druga vrsta veoma važnih stanica urođene imunosti su Treg stanice. Slika 52 prikazuje statistički značajan porast Tregs u trudnoći, s većim porastom u prvoj polovici trudnoće u odnosu na drugu polovicu. Naši rezultati su u skladu s literaturnim podacima Zenclussen AC i sur. koji su među prvima opisali ulogu Tregs u imunotoleranciji tijekom trudnoće (259). Tregs se stvaraju na periferiji nakon doticaja sa stranim antigenom. Ova subpopulacija stanica raste zbog kontinuiranog oslobađanja antigena u ne upalnim uvjetima. Tregs potom migriraju na materno-fetalnu plohu i potiču tolerogeni mikrookoliš karakteriziran oslobađanjem visokih razina zaštitnih molekula (TGF- β i dr.) čime se postiže stečena lokalna imunoprivilegiranaost (259).



Slika 76. Pretpostavljena uloga Tregs u imunotoleranciji tijekom trudnoće (prilagođeno iz reference broj 259)

Povećanjem Tregs održava se tolerancija tijekom trudnoće jer ove stanice imaju supresivnu ulogu. Trudnice s povišenim autoprotutijelima su imale statistički značajno povišenu koncentraciju Tregs, što možemo također objasniti njihovom supresivskom osobinom jer znamo da manjak Treg stanica rezultira razvojem autoimunih sindroma: inzulin-ovisnom šećernom bolešću, tireoiditisom, kolitisom, artritisom, gastritisom, te alergijskim bolestima, dok njihova aktivacija sprječava poticanje imunološkog odgovora protiv tumora i unutarstaničnih patogena. Naš dobiveni rezultat povišenih Treg stanica u trudnica s povišenim protutijelima je djelovao protektivno protiv razvoja autoimune bolesti (slika 52). Slika 53 prikazuje dinamiku promjene broja Tregs tijekom trudnoće u eutireoidnih trudnica, te u trudnica s autoimunom subkl./kl. hipotireozom i hipertireozom. Naši rezultati su pokazali da se broj Tregs smanjuje u drugoj polovici trudnoće u odnosu na prvu, ali je statistički značajno

povišen u autoimunoj hipofunkciji i hiperfunkciji štitnjače tijekom trudnoće. S obzirom da Tregs igraju odlučujuću ulogu u perifernoj T-staničnoj toleranciji, smatramo da se njihovo povišenje može objasniti u prevladavanju njihove supresijske uloge s ciljem održanja trudnoće. Razlikujemo urođene i stečene T regulacijske stanice, dok u grupi stečenih Tregs razlikujemo Tr1 stanice koje luče IL-10 i Th3 koje luče TGF- β (245). Najpoznatiji biljeg kojim razlikujemo klasične od regulacijskih T stanica je forkhead box transcription factor (Foxp 3) i on je karakterističan izražaj za CD4+CD25+ stanice. Subpopulacija T stanica koja je Foxp 3- negativna je karakterizirana gubitkom regulacijske funkcije. Prirodene T regulacijske stanice imaju sposobnost kočenja mnogih stanica uključenih u imunološki odgovor, kao i odgovor na infekciju inhibicijom proliferacije, produkcije imunoglobulina, kočenjem NK i NKT citotoksičnosti, kao i mijenjanjem funkcije i sazrijevanja dendritičnih stanica. Najčešća upotreba Tregs je opisana u sprječavanju autoimunosti, u mogućnosti modeliranja transplantacijske tolerancije, te u alergijskim oboljenjima. Slika 54 prikazuje porast Tregs postpartalno.



Slika 77. Promjene u a) razini titra tireoidnih autoprotutijela i funkciji Treg stanica; b) funkciji štitnjače u žena s autoimunom bolešću štitne žlijezde za vrijeme i nakon trudnoće (prilagođeno iz reference broj 164)

Dobivene rezultate možemo objasniti teorijom da je nakon poroda došlo do pada tolerancije, da su prevladale Treg stanice koje su izgubile supresijsku ulogu, te zbog toga su upravo te stanice se značajno povisile u postpartalnom tireoiditisu.

Indukcija ili ekspanzija NKT i Treg stanica je veoma atraktivna i realna terapijska mogućnost u alergijskim i autoimunim bolestima. Međutim, da bi iskoristili sve prednosti koje ovo liječenje pruža moramo poznavati puteve razvoja i diferencijacije ovih stanica, načine djelovanja i različite uloge urođenih Tregs od stečenih tj. induciranih Tregs u različitim oboljenjima, te u stanjima urođenih ili stečenih imunodeficijencija o čemu još uvijek ima veoma malo podataka. Ovi rezultati pružaju novi dokaz o međudjelovanju NKT stanica, koje

prepoznaju glikolipidne antigene i imunosupresivnih Treg stanica ukazujući na važnost koje one imaju u aktivaciji tolerogenih mehanizama tijekom trudnoće.

U našem istraživanju ispitali smo i oslobađanje citolitičke molekula perforina iz periferne krvi eutireoidnih trudnica u prvoj i drugoj polovici trudnoće, eutireoidnih trudnica s povišenim protutijelima, te trudnica s autoimunom hipofunkcijom i hiperfunkcijom štitnjače, kao i postpartalno. Perforin je citotoksična molekula koja se oslobađa iz aktiviranih limfocita i ima važnu ulogu u odstranjenju tumorskih stanica i virusom inficiranih stanica, obično tijekom efektorske faze imunološkog odgovora. Eutireoidne trudnice u prvoj i drugoj polovici trudnoće su imale snižene vrijednosti ukupnog perforina u odnosu na kontrolne vrijednosti (dobrovoljne davateljice krvi) (slika 55). Međutim, eutireoidne trudnice s povišenim protutijelima su imale statistički značajno povišen ukupni perforin u odnosu na kontrolnu skupinu trudnica, kao i u odnosu na kontrolnu skupinu ispitanica koje nisu trudne ukazujući na povećan citolitički potencijal ovih stanica (slika 55). Slika 62 prikazuje vrijednosti ukupnog perforina postpartalno. Sve ispitane skupine: eutireoidne žene s povišenim protutijelima, hipotireoidne i hipertireoidne osobe, te žene s postpartalnim tireoiditisom su pokazale povišenu vrijednost perforina. Postotak dvostruko pozitivnih stanica: CD3+P+, CD4+P+ nije se statistički značajno razlikovao u ispitivanim skupinama niti tijekom trudnoće, niti postpartalno. Dvostruko pozitivne CD8+P+ stanice su povišene u eutireoidnih trudnica s pozitivnim i negativnim titrom autoprotutijela u odnosu na kontrolnu skupinu. Također su povišene postpartalno u ispitanica s povišenim protutijelima, subkl./kl. hipotireozom i hipertireozom te s postpartalnim tireoiditisom (slike 59 i 64). Dvostruko pozitivne CD16+P+ se statistički značajno razlikuju samo postpartalno, kada u odnosu na kontrolu, sve ispitivane skupine imaju povišen titar ovih dvostruko pozitivnih stanica (slika 65). Dvostruko pozitivne CD56+P+ su statistički značajno povišene u trudnoći i u svim ispitivanim skupinama i postpartalno (slike 61 i 66).

Tregs u svojoj aktivnosti koriste perforinski/granzimski put. Stanice ubice se mogu spojiti s ciljnom stanicom, te isprazniti citolitička zrnca, među kojima je i molekula perforina u međustanični prostor. Ovo je Ca^{2+} ovisan proces. Perforinski monomeri se tada povezuju i polimeriziraju u membrani ciljne stanice, oko središnjeg otvora ili pore. Tako nastaje poremećena propusnost membrane ciljne stanice, čime se dovodi do poremećene homeostaze unutar stanice, potakne se endocitoza i osmotska liza ciljne stanice. Zbog oštećenja ciljne stanice perforinskim porama (jer je perforin nužan za citotoksičnost posredovanu granulama), omogućena je komunikacija ciljne stanice s posrednicima citotoksičnih limfocita, čime perforin djeluje na lizu posredovanu citotoksičnim limfocitima. Povišen ukupni perforin u trudnica s pozitivnim protutijelima, autoimunom hipotireozom i hipertireozom, te postpartalno ukazuje na povećani citolitički potencijal ovih stanica pokrenut autoimunim procesom, jer je veoma dobro poznato da su granzim i perforin efektori tkivne destrukcije. Moguća imunoterapija bi trebala biti usmjerena na poticanje protektivne uloge regulacijskih stanica. Naša istraživanja su pokušala rasvijetliti saznanja o imunoregulacijskoj ulozi NK, NKT i T regulacijskih stanica, te o citolitičkom potencijalu limfatičkih stanica tijekom razvijenog autoimunog procesa u trudnoći koja je prvenstveno Th2 fenomen.

6. ZAKLJUČCI

Autoimuna bolest štitne žlijezde (AITD) česta je u žena reproduktivne dobi, time i u trudnoći. Autoimuni poremećaji funkcije štitne žlijezde utječu na tijek trudnoće, komplikacije tijekom poroda i razvoj fetusa, ali i sam tijek i napredovanje autoimune bolesti se mijenjaju tijekom trudnoće i porođaja. Neliječena hipotireoza i hipertireoza povezuju se s brojnim opstetričkim komplikacijama, prijevremenim porodom i pobačajem, te poremećajem u neurološkom razvoju djeteta. U trudnoći dolazi do promjena u imunološkom statusu majke što se opisuje kao imunoprivilegiranost s predominacijom Th2 imunološkog odgovora. Ova imunološka tolerancija sprječava odbacivanje fetusa koji na svojim stanicama izražava i antigene očeva podrijetla. U ovom istraživanju ispitali smo tijek autoimune bolesti štitne žlijezde u trudnica i u ispitanica u postpartalnom razdoblju.

Dobiveni su slijedeći rezultati:

Hormonske promjene

1. Srednja vrijednost TSH u zdravoj trudnoći postepeno raste i u drugoj polovici trudnoće je viša u odnosu na prvu polovicu, ali bez statističke značajnosti. U postpartalnom razdoblju ova vrijednost je statistički značajno niža u odnosu na drugu polovicu trudnoće. Nema značajne razlike u srednjem TSH između eutireoidnih ispitanica s povišenim i negativnim protutijelima u trudnoći i postpartalno.
2. Prosječna vrijednost FT4 je u prvoj i drugoj polovici trudnoće značajno niža u usporedbi s kontrolnom skupinom ispitanica, kao i u drugoj polovici u odnosu na prvu polovicu trudnoće. Postpartalno srednji FT4 raste i statistički je značajno viši nego u trudnoći. Srednji FT3 se u normalnoj trudnoći ne razlikuje značajno u odnosu na kontrolnu skupinu. Postpartalno je značajno niži u odnosu na drugu polovicu trudnoće, što znači da koncentracija djelatnog FT3 u trudnoći raste. Srednji FT4 i FT3 se u trudnoći i postpartalno u ispitanica s povišenim titrom

autoprotutijela značajno ne razlikuju u odnosu na srednji FT4 i FT3 u zdravoj trudnoći i postpartalnom razdoblju.

3. Srednji TSH do 4 mjeseca postpartalno je značajno niži nego nakon 4 mjeseca postpartalno. U prvoj i drugoj polovici trudnoće je srednji TSH značajno viši nego u prva 4 mjeseca poslije poroda, a ne razlikuje se značajno u odnosu na kasnije postpartalno razdoblje.

4. Srednji FT4 poslije poroda raste, naročito nakon 4 mjeseca postpartalno te je tada statistički značajno viši u odnosu na prva 4 mjeseca postpartalno, kao i u odnosu na prvu i drugu polovicu trudnoće. Srednji FT3 se ne razlikuje značajno između ranijeg i kasnijeg postpartalnog razdoblja, ali u prvoj i u drugoj polovici trudnoće je značajno viši nego nakon 4 mjeseca postpartalno.

5. Od ukupnog broja ispitanica u trudnoći, u 16 % smo utvrdili eutireoidan status i povišen titar autoprotutijela, u 8,6 % smo ustanovili subkl./kl. hipotireozu, a u 2,7 % subkl./kl. hiperiteozu. Od ukupnog broja ispitanica postpartalno, 24 % ispitanica je imalo eutireoidan status i povišen titar autoprotutijela, 14 % ispitanica bilo je u subkl./kl. hipotireozu, a 2,6 % ispitanica u subkliničkoj ili kliničkoj hipertireozu.

6. Ispitanice u remisiji hipertireoze tijekom trudnoće imale su statistički nižu srednju vrijednost TSH u odnosu na kontrolnu trudnoću te trudnoću s urednim hormonskim statusom, ali s povišenim titrom tireoidnih autoprotutijela.

7. Od ukupnog broja ispitanica u trudnoći, u 25 % smo dokazali prisustvo tireoidne autoimunosti. Pod tireoidnom autoimunosti podrazumijevamo povišen titar tireoidnih autoprotutijela i uredan hormonski status ili subkl./kl. hipotireozu ili hipertireozu. U 41,5 % ispitanica, od ukupnog broja ispitanica postpartalno, dokazali smo prisustvo tireoidne autoimunosti. Od ukupnog broja ispitanica postpartalno, kod 6,5 % se razvio postpartalni tireoiditis.

9. Titar TPO autoprotutijela pada tijekom trudnoće u ispitanica sa subkl./kl. hipotireozom i hipertireozom, ali bez statističke značajnosti. Također, nema značajne razlike titra TPO autoprotutijela između subkl./kl. hipotireoze i hipertireoze u trudnoći. Titar autoprotutijela raste nakon 3 mjeseca postpartalno, bez statistički značajne razlike u odnosu na trudnoću, te ukazuje na postepeno intenziviranje autoimunosti poslije poroda.

Imunološke promjene

1. Stanice urođene imunosti: NKT i Treg su povišene tijekom trudnoće i u postporođajnom razdoblju. Međutim, u trudnica s pozitivnim protutijelima postotak NKT stanica je snižen bez statističke značajnosti u odnosu na zdravu trudnoću, što može upućivati na smanjenje protektivne uloge NKT stanica u trudnoći pod djelovanjem protutijela.

2. Ukupni perforin je snižen u zdravih trudnica u odnosu na kontrolu, ali povišen u trudnica s pozitivnim protutijelima, autoimunom hipotireozom i hipertireozom, te postpartalno ukazujući na povećani citolitički potencijal ovih stanica pokrenut autoimunim procesom.

3. Postotak dvostruko pozitivnih stanica: CD3+P+ i CD4+P+ nije se statistički značajno razlikovao u ispitivanim skupinama niti tijekom trudnoće, niti postpartalno.

4. Dvostruko pozitivne CD8+P+ stanice su povišene u eutireoidnih trudnica s pozitivnim i negativnim titrom autoprotutijela u odnosu na kontrolne ispitanice. Također su povišene postpartalno u ispitanica s povišenim protutijelima, subkl./kl. hipotireozom i hipertireozom te s postpartalnim tireoiditisom.

5. Dvostruko pozitivne CD16+P+ su statistički značajno povišene samo postpartalno u svim ispitivanim skupinama u odnosu na kontrolne ispitanice.

6. Dvostruko pozitivne CD56+P+ su statistički značajno povišene u trudnoći u svim ispitivanim skupinama i postpartalno.

Dobiveni rezultati ukazuju na značajno prisustvo tireoidne autoimunosti u populaciji trudnica i ispitanica postpartalno. Uspoređujući dobivene rezultate zaključili smo da se funkcija štitne žlijezde mijenja u trudnoći, ali i pod utjecajem autoimune bolesti štitne žlijezde. To znači da, osim što trudnoća utječe na razvoj autoimune bolesti i autoimuna bolest može utjecati na funkciju štitnjače u trudnoći. Poticanje sinteze NKT i Treg stanica je veoma zanimljiva i realna terapijska mogućnost u alergijskim i autoimunim bolestima, poštujući načine djelovanja i različite uloge urođenih i stečenih tj. induciranih Tregs u različitim bolestima. Ovi rezultati pružaju novi dokaz o mogućem međusobnom djelovanju NKT stanica, koje prepoznaju glikolipidne antigene, te imunosupresivnih Treg stanica upućujući na važnost koje one imaju u aktivaciji tolerogenih mehanizama tijekom trudnoće.

7. LITERATURA (referencije)

1. Klecha AJ, Barreiro Arcos ML, Frick L, Genaro AM, Cremaschi G. Immune-endocrine interactions in autoimmune thyroid diseases. *Neuroimmunomodulation* 2008;15(1):68-75.
2. Torgerson TR. Regulatory T cells in human autoimmune diseases. *Springer Semin Immunopathol* 2006;28(1):63-76.
3. Tomer Y, Huber A. The etiology of autoimmune thyroid disease: A story of genes and environment. *J Autoimmun* 2009;32:231-9.
4. Lazarus JH. Thyroid dysfunction: reproduction and postpartum thyroiditis. *Semin Reprod Med* 2002;20(4):381-8.
5. Caturegli P, Kimura H, Rocchi R, Rose NR. Autoimmune thyroid diseases. *Curr Opin Rheumatol* 2007;19(1):44-8
6. Grumet FC, Coukell A, Bodmer JG, Bodmer WF, McDevitt HO. Histocompatibility (HL-A) antigens associated with systemic lupus erythematosus. A possible genetic predisposition to disease. *N Engl J Med* 1971;285(4):193-6.
7. Fauci AS, Kasper DL, Braunwald E i sur., ur. *Harrison's Principles of Internal Medicine* (17th ed). New York:McGraw-Hill Medical Publishing Division; 2008, str. 2224-46.
8. Simmonds MJ, Howson JM, Heward JM i sur. Regression mapping of association between the human leukocyte antigen region and Graves disease. *Am J Hum Genet* 2005;76(1):157-63.
9. Kohn LD, Harii N. Thyrotropin receptor autoantibodies (TSHRAbs): epitopes, origins and clinical significance. *Autoimmunity* 2003;36(6-7):331-7.

10. Morgenthaler NG, Ho SC, Minich WB. Stimulating and blocking thyroid-stimulating hormone (TSH) receptor autoantibodies from patients with Graves' disease and autoimmune hypothyroidism have very similar concentration, TSH receptor affinity, and binding sites. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92(3):1058-65.
11. Ando T, Davies TF. Monoclonal antibodies to the thyrotropin receptor. *Clin Dev Immunol* 2005;12(2):137-43.
12. Nagayama Y, Wadsworth HL, Russo D, Chazenbalk GD, Rapoport B. Binding domains of stimulatory and inhibitory thyrotropin (TSH) receptor autoantibodies determined with chimeric TSH-lutropin/chorionic gonadotropin receptors. *J Clin Invest* 1991;88(1):336-40.
13. Sanders J, Jeffrys J, Deproetere H i sur. Thyroid- stimulating monoclonal antibodies. *Thyroid* 2002;12:1043-50.
14. Minich WB, Lenzner C. Antibodies to TSH receptor in thyroid Autoimmune disease. *Clin Exp Immunol* 2004;136:129-36.
15. Costagliola S, Bonomi M, Morgenthaler NG i sur. Delineation of the discontinuous-conformational epitope of monoclonal antibody displaying full in vitro and in vivo thyrotropin activity. *Mol Endocrinol* 2004;18(12):3020-34.
16. McLachlan SM, McGregor A, Smith BR, Hall R. Thyroid-autoantibody synthesis by Hashimoto thyroid lymphocytes. *Lancet* 1979;1:162-3.
17. Kim WB, Chung HK, Park YJ i sur. The prevalence and clinical significance of blocking thyrotropin receptor antibodies in untreated hyperthyroid Graves' disease. *Thyroid* 2000;10(7):579-86.

18. Michelangeli V, Poon C, Taft J, Newnham H, Topliss D, Colman P. The prognostic value of thyrotropin receptor antibody measurement in the early stages of treatment of Graves' disease with antithyroid drugs. *Thyroid* 1998;8(2):119-24.
19. Tonacchera M, Costagliola S, Cetani F i sur. Patient with monoclonal gammopathy, thyrotoxicosis, pretibial myxedema and thyroid-associated ophthalmopathy; demonstration of direct binding of autoantibodies to the thyrotropin receptor. *Eur J Endocrinol* 1996;134(1):97-103.
20. Michalek K, Morshed SA, Latif R, Davies TF. TSH receptor autoantibodies. *Autoimmun Rev* 2009;9(2):113-6.
21. Metcalfe R, Jordan N, Watson P i sur. Demonstration of immunoglobulin G, A, and E autoantibodies to the human thyrotropin receptor using flow cytometry. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87(4):1754-61.
22. Czarnocka B, Ruf J, Ferrand M, Carayon P, Lissitzky S. Purification of the human thyroid peroxidase and its identification as the microsomal antigen involved in autoimmune thyroid diseases. *FEBS Lett* 1985;190(1):147-52.
23. Yoshida H, Amino N, Yagawa K i sur. Association of serum antithyroid antibodies with lymphocytic infiltration of the thyroid gland: studies of seventy autopsied cases. *J Clin Endocrinol Metab* 1978;46(6):859-62.
24. McLachlan SM, Rapoport B. The molecular biology of thyroid peroxidase: cloning, expression and role as autoantigen in autoimmune thyroid disease. *Endocr Rev* 1992;13:192-206.
25. Saravanan P, Dayan CM. Thyroid autoantibodies. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2001;30:315-37.

26. Muller AF, Drexhage HA, Berghout A. Postpartum thyroiditis and autoimmune thyroiditis in women of childbearing age: recent insights and consequences for antenatal and postnatal care. *Endocr Rev* 2001;22(5):605-30.
27. Lazarus JH, Obuobie K. Thyroid disorders--an update. *Postgrad Med J* 2000;76(899):529-36.
28. Sinclair D. Clinical and laboratory aspects of thyroid autoantibodies. *Ann Clin Biochem* 2006;43(3):173-83.
29. Wartofsky L, Van Nostrand D, Burman KD. Overt and 'subclinical' hypothyroidism in women. *Obstet Gynecol Surv* 2006;61(8):535-42.
30. Amino N. Autoimmunity and hypothyroidism. *Baillieres Clin Endocrinol Metab* 1988;2(3):591-617.
31. Prummel MF, Wiersinga WM. Thyroid peroxidase autoantibodies in euthyroid subjects. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2005;19(1):1-15.
32. Roberts CG, Ladenson PW. Hypothyroidism. *Lancet* 2004;363:793–803.
33. Mariotti S, Caturegli P, Piccolo P, Barbesino G, Pinchera A. Antithyroid peroxidase autoantibodies in thyroid diseases. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;71:661–9.
34. Weetman AP, McGregor AM. Autoimmune thyroid disease: further developments in our understanding. *Endocr Rev* 1994;15(6):788-830.
35. Hawkins BR, Cheah PS, Dawkins RL i sur. Diagnostic significance of thyroid microsomal antibodies in randomly selected population. *Lancet* 1980;2(8203):1057-9.

36. Calder EA, McLeman D, Irvine WJ. Lymphocyte cytotoxicity induced by pre-incubation with serum from patients with Hashimoto thyroiditis. *Clin Exp Immunol* 1973;15(3):467-70.
37. Bogner U, Schleusener H, Wall JR. Antibody-dependent cell mediated cytotoxicity against human thyroid cells in Hashimoto's thyroiditis but not Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1984;59(4):734-8.
38. Guo J, Jaume JC, Rapoport B, McLachlan SM. Recombinant thyroid peroxidase-specific Fab converted to immunoglobulin G (IgG) molecules: evidence for thyroid cell damage by IgG1, but not IgG4, autoantibodies. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82(3):925-31.
39. Guo J, McLachlan SM, Pichurin PN i sur. Relationship between thyroid peroxidase T cell epitope restriction and antibody recognition of the autoantibody immunodominant region in human leukocyte antigen DR3 transgenic mice. *Endocrinology* 2005;146(11):4961-7.
40. Quaratino S, Badami E, Pang YY i sur. Degenerate self-reactive human T-cell receptor causes spontaneous autoimmune disease in mice. *Nat Med* 2004;10(9):920-6.
41. Gutekunst R, Hafermann W, Mansky T, Scriba PC. Ultrasonography related to clinical and laboratory findings in lymphocytic thyroiditis. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1989;121:129-35.
42. Pedersen OM, Aardal NP, Larssen TB, Varhaug JE, Myking O, Vik-Mo H. The value of ultrasonography in predicting autoimmune thyroid disease. *Thyroid* 2000;10:251-9.
43. Mazziotti G, Sorvillo F, Iorio S i sur. Grey-scale analysis allows a quantitative evaluation of thyroid echogenicity in the patients with Hashimoto's thyroiditis. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2003;59:223-9.

44. Poppe K, Velkeniers B, Glinoeer D. The role of thyroid autoimmunity in fertility and pregnancy. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2008;4(7):394-405.
45. Roberts CP, Murphy AA. Endocrinopathies associated with recurrent pregnancy loss. *Semin Reprod Med* 2000;18(4):357-62.
46. Lazarus JH, Premawardhana LD. Screening for thyroid disease in pregnancy. *J Clin Pathol* 2005;58(5):449-52.
47. Glinoeer D. The regulation of thyroid function in pregnancy: pathways of endocrine adaptation from physiology to pathology. *Endocr Rev* 1997;18(3):404-33.
48. Schussler GC. The thyroxine-binding proteins. *Thyroid* 2000;10(2):141-9.
49. Larsson A, Palm M, Hansson LO, Axelsson O. Reference values for clinical chemistry tests during normal pregnancy. *BJOG* 2008; 115 (7):874-81.
50. Zhou A, Wei Z, Read RJ, Carell RW. Structural mechanism for the carriage and release of thyroxine in the blood. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103 (36):13321-6.
51. Burrow GN, Fisher DA, Larsen PR. Maternal and fetal thyroid function. *N Engl J Med* 1994; 331 (16):1072-8.
52. Kennedy RL, Malabu UH, Jarrod G, Nigam P, Kannan K, Rane A. Thyroid function and pregnancy: before, during and beyond. *J Obstet Gynaecol* 2010; 30 (8):774-83.
53. Fister P, Gaberscek S, Zaletel K, Krhin B, Hojker S, Gersak K. Thyroid function in the third trimester of pregnancy and after delivery in an area of adequate iodine intake. *Int J Gynaecol Obstet* 2011;112 (1):52-5.

54. Sapin R, D'Herbomez M. Free thyroxine measured by equilibrium dialysis and nine immunoassays in sera with various serum thyroxine-binding capacities. *Clin Chem* 2003; 49 (9):1531-5.
55. Glinoe D. Pregnancy and iodine. *Thyroid* 2001;11(5):471-81.
56. Poppe K, Glinoe D. Thyroid autoimmunity and hypothyroidism before and during pregnancy. *Hum Reprod Update* 2003;9(2):149-61.
57. Hansen PS, Brix TH, Bennesbaek FN, Bonnema SJ, Kyvik KO, Hegedus L. Genetic and environmental causes of individual differences in thyroid size: a study of healthy Danish twins. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;85(5):2071-7.
58. Berghout A, Endert E, Ross A, Hogerzeil HV, Smits NJ, Wiersinga WM. Thyroid function and thyroid size in normal pregnant women living in an iodine replete area. *Clin Endocrinol* 1994;41(3):375-9.
59. Antonangeli L, Maccherini D, Cavaliere R i sur. Comparison of two different doses of iodide in prevention of gestational goiter in marginal iodine deficiency: a longitudinal study. *Eur J Endocrinol* 2002;147(1):29-34.
60. Fister P, Gaberšček S, Zaletel K, Krhin B, Geršak K, Hojker S. Thyroid volume changes during pregnancy and after delivery in an iodine-sufficient Republic of Slovenia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2009;45(1):45-8.
61. Fister P, Gaberšček S, Zaletel K, Krhin B, Geršak K, Hojker S. Thyroid volume and intrathyroidal blood flow increase during pregnancy. *Clin Endocrinol (Oxf.)* 2006;65(6):828-9.

62. Hollowell JG, Staehling NW, Flanders WD i sur. Serum TSH, T(4), and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87(2):489-99.
63. Kasagi K, Takahashi N, Inoue G, Honda T, Kawachi Y, Izumi Y. Thyroid function in Japanese adults as assessed by general health checkup system in relation with thyroid-related antibodies and other clinical parametres. *Thyroid* 2009;19(9):937-44.
64. Negro R, Mestman JH. Thyroid disease in pregnancy. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2011;25:927-43.
65. Stagnaro-Green A, Abalovich M, Alexander E i sur. Guidelines of the American Thyroid Association for the diagnosis and management of thyroid disease during pregnancy and postpartum. *Thyroid* 2011;21:1081-111.
66. González-Jiménez A, Fernández-Soto ML, Escobar-Jiménez F, Glinoyer D, Navarrete L. Thyroid function parameters and TSH-receptor antibodies in healthy subjects and Graves' disease patients: a sequential study before, during and after pregnancy. *Thyroidology* 1993;5(1):13-20.
67. Millar LK, Wing DA, Leung AS, Koonings PP, Montoro MN, Mestman JH. Low birth weight and preeclampsia in pregnancies complicated by hyperthyroidism. *Obstet Gynecol* 1994;84(6):946-9.
68. Mestman JH. Hyperthyroidism in pregnancy. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2004;18(2):267-88.
69. Gaberšček S, Zaletel K. Thyroid physiology and autoimmunity in pregnancy and after delivery. *Expert Rev Clin Immunol* 2011;7(5):697-706.

70. Chan GW, Mandel SJ. Therapy insight: management of Graves' disease during pregnancy. *Nat Clin Prac Endocrinol Metab* 2007;3(6):470-8.
71. Nachum Z, Rakover Y, Weiner E, Shalev E. Graves' disease in pregnancy: prospective evaluation of a selective invasive treatment protocol. *Am J Obstet Gynecol* 2003;189(1):159-65.
72. Zimmerman D. Fetal and neonatal hyperthyroidism. *Thyroid* 1999;9(7):727-33.
73. Glinoe D, Abalovich M. Unresolved questions in managing hypothyroidism during pregnancy. *BMJ* 2007;335(7614):300-2.
74. Zakarija M, McKenzie JM. Pregnancy-associated changes in the thyroid-stimulating antibody of Graves' disease and the relationship to neonatal hyperthyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 1983;57(5):1036-40.
75. Rotondi M, Cappelli C, Pirali B *et al*. The effect of pregnancy on subsequent relapse from Graves' disease after a successful course of antithyroid drug therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93(10):3985-8.
76. Mestman JH. Diagnosis and management of maternal and fetal thyroid disorders. *Curr Opin Obstet Gynecol* 1999;11(2):167-75.
77. Dosiou C, Sanders GD, Araki SS, Crapo LM. Screening pregnant women for autoimmune thyroid disease: a cost-effectiveness analysis. *Eur J Endocrinol* 2008;158(6):841-51.
78. Kung AW, Jones BM. A change from stimulatory to blocking antibody activity in Graves' disease during pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83(2):514-8.

79. Zaletel K. Determinants of thyroid autoantibody production in Hashimoto's thyroiditis. *Expert Rev Clin Immunol* 2007;3(2):217-23.
80. Smyth PP, Wijeyaratne CN, Kaluarachi WN i sur. Sequential studies on thyroid antibodies during pregnancy. *Thyroid* 2005;15(5):474-7.
81. Kuijpers JL, Pop VJ, Vader HL, Drexhage HA, Wiersinga WM. Prediction of post partum thyroid dysfunction: can it be improved? *Eur J Endocrinol* 1998;139(1):36-43.
82. Allan WC, Haddow JE, Palomaki GE i sur. Maternal thyroid deficiency and pregnancy complications: implications for population screening. *J Med Screen* 2000;7(3):127-30.
83. Negro R, Schwartz A, Gismondi R, Tinelli A, Mangieri T, Stagnaro-Green A. Increased pregnancy loss rate in thyroid antibody negative women with TSH levels between 2.5 and 5.0 in the first trimester of pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95(9):44-8.
84. Haddow JE, Palomaki GE, Allan WC i sur. Maternal thyroid deficiency during pregnancy and subsequent neuropsychological development of the child. *N Engl J Med* 1999;341(8):549-55.
85. Kim CH, Ahn JW, Kang SP, Kim SH, Chae HD, Kang BM. Effect of levothyroxine treatment on in vitro fertilization and pregnancy outcome in infertile women with subclinical hypothyroidism undergoing in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 2011;95(5):1650-4.
86. Casey BM, Dashe JS, Wells CE i sur. Subclinical hypothyroidism and pregnancy outcomes. *Obstet Gynecol* 2005;105(2):239-45.

87. Utiger RD. Maternal hypothyroidism and fetal development. *N Engl J Med* 1999;341:601-02.
88. Davis LE, Leveno KJ, Cunningham FG. Hypothyroidism complicating pregnancy. *Obstet Gynecol* 1988;72(1):108-12.
89. Pop VJ, Brouwers EP, Vader HL, Vulsma T, van Baar AL, de Vijlder JJ. Maternal hypothyroxinaemia during early pregnancy and subsequent child development: a 3-year follow-up study. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2003;59(3):282-8.
90. Vulsma T, Gons MH, de Vijlder JJ. Maternal-fetal transfer of thyroxine in congenital hypothyroidism due to a total organification defect or thyroid agenesis. *N Engl J Med* 1989;321(1):13-6.
91. Hall R. Pregnancy and autoimmune endocrine disease. *Baillieres Clin Endocrinol Metab* 1995;9(1):137-55.
92. Negro R. Thyroid autoimmunity and pre-term delivery: brief review and meta-analysis. *J Endocrinol Invest* 2011;34(2):155-8.
93. Stagnaro-Green A, Roman SH, Cobin RH, el-Harazy E, Alvarez-Marfany M, Davies TF. Detection of at-risk pregnancy by means of highly sensitive assays for thyroid autoantibodies. *JAMA* 1990;264(11):1422-5.
94. Glinoeer D, Riahi M, Grün JP, Kinthaert J. Risk of subclinical hypothyroidism in pregnant women with asymptomatic autoimmune thyroid disorders. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;79(1):197-204.
95. Nor Azlin MI, Bakin YD, Mustafa N i sur. Thyroid autoantibodies and associated complications during pregnancy. *J Obstet Gynaecol* 2010;30(7):675-8.

96. Toulis KA, Goulis DG, Venetis CA i sur. Risk of spontaneous miscarriage in euthyroid women with thyroid autoimmunity undergoing IVF: a meta-analysis. *Eur J Endocrinol* 2010;162(4):643-52.
97. Negro R, Formoso G, Mangieri T, Pezzarossa A, Dazzi D, Hassan H. Levothyroxine treatment in euthyroid pregnant women with autoimmune thyroid disease: effects on obstetrical complications. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91(7):2587-91.
98. Negro R, Mangieri T, Coppola L i sur. Levothyroxine treatment in thyroid peroxidase antibody-positive women undergoing assisted reproduction technologies: a prospective study. *Hum Reprod* 2005;20(6):1529-33.
99. Lee YL, Ng HP, Lau KS i sur. Increased fetal abortion rate in autoimmune thyroid disease is related to circulating TPO autoantibodies in an autoimmune thyroiditis animal model. *Fertil Steril* 2009;91(5):2104-9.
100. Alexander EK. Autoimmunity: thyroid autoantibodies and pregnancy risk. *Nat Rev Endocrinol* 2011;7(9):501-2.
101. Stagnaro-Green A. Approach to the patient with postpartum thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97(2):334-42.
102. Nicholson WK, Robinson KA, Smallridge RC, Ladenson PW, Powe NR. Prevalence of postpartum thyroid dysfunction: a quantitative review. *Thyroid* 2006;16(6):573-82.
103. Roti E, Uberti E. Post-partum thyroiditis--a clinical update. *Eur J Endocrinol* 2002;146(3):275-9.
104. Swelam Eel S, Bakr HG, Mansour MA. Postpartum thyroid dysfunction: a state of immunological dysregulation. *Clin Lab* 2011;57(9-10):731-9.

105. Wegmann TG, Lin H, Guilbert L, Mosmann TR. Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a TH2 phenomenon? *Immunol Today* 1993;14(7):353-6.
106. Laskarin G, Tokmadzić VS, Strbo N i sur. Progesterone induced blocking factor (PIBF) mediates progesterone induced suppression of decidual lymphocyte cytotoxicity. *Am J Reprod Immunol* 2002;48(4):201-9.
107. Belardelli F. Role of interferons and other cytokines in the regulation of the immune response. *APMIS* 1995;103(3):161-79.
108. Miyajima A, Kitamura T, Harada N, Yokota T, Arai K. Cytokine receptors and signal transduction. *Annu Rev Immunol* 1992;10:295-331.
109. Del Prete G. Human Th1 and Th2 lymphocytes: their role in the pathophysiology of atopy. *Allergy* 1992;47(5):450-5.
110. Mosmann TR, Sad S. The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more. *Immunol Today* 1996;17:138-46.
111. Chaouat G, Assal Meliani A, Martal J i sur. IL-10 prevents naturally occurring fetal loss in the CBA x DBA/2 mating combination, and local defect in IL-10 production in this abortion-prone combination is corrected by in vivo injection of IFN-tau. *J Immunol* 1995;154(9):4261-8.
112. Del Prete GF, Tiri A, De Carli M i sur. High potential to tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) production of thyroid infiltrating T lymphocytes in Hashimoto's thyroiditis: a peculiar feature of destructive thyroid autoimmunity. *Autoimmunity* 1989;4(4):267-76.

113. Guo J, Rapoport B, McLachlan SM. Balance of Th1/Th2 cytokines in thyroid autoantibody synthesis in vitro. *Autoimmunity* 1999;30(1):1-9.
114. Nagayama Y, Mizuguchi H, Hayakawa T, Niwa M, McLachlan SM, Rapoport B. Prevention of autoantibody-mediated Graves'-like hyperthyroidism in mice with IL-4, a Th2 cytokine. *J Immunol* 2003;170(7):3522-7.
115. Roncarolo MG, Bacchetta R, Bordignon C, Narula S, Levings MK. Type 1 T regulatory cells. *Immunol Rev* 2001;182:68-79.
116. Raghupathy R. Pregnancy: success and failure within the Th1/Th2/Th3 paradigm. *Semin Immunol* 2001;13(4):219-27.
117. Da Silva JA, Spector TD. The role of pregnancy in the course and aetiology of rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* 1992;11:189-94.
118. Varner MW. Autoimmune disorders and pregnancy. *Semin Perinatol* 1991;15:238-50.
119. Raghupathy R, Makhseed M, Azizieh F, Hassan N, Al-Azemi M, Al-Shamali E. Maternal Th1- and Th2-type reactivity to placental antigens in normal human pregnancy and unexplained recurrent spontaneous abortions. *Cell Immunol* 1999;196(2):122-30.
120. Saito S, Sakai M: Th1/Th2 balance in preeclampsia. *J Reprod Immunol* 2003;59:161-73.
121. Fitzgerald JS, Toth B, Jeschke U, Schleussner E, Markert UR. Knocking off the suppressors of cytokine signaling (SOCS): their roles in mammalian pregnancy. *J Reprod Immunol* 2009;83(1-2):117-23.

122. Chaouat G, Lédée-Bataille N, Zourbas S i sur. Cytokines, implantation and early abortion: re-examining the Th1/Th2 paradigm leads to question the single pathway, single therapy concept. *Am J Reprod Immunol* 2003;50(3):177-86.
123. Saito S. Cytokine network at the feto-maternal interface. *J Reprod Immunol* 2000;47(2):87-103.
124. Hill JA. Cytokines in early pregnancy success and failure. U:Hill JA,ur. Cytokines in human reproduction. Wiley-Liss: A John Wiley & Sons, Inc., Publication, 2000; str.161-9.
125. Hill JA, Hsia S, Doran DW, Bryans CI. Natural killer cell activity and antibody dependent cell-mediated cytotoxicity in preeclampsia. *J Reprod Immunol* 1986;9:205-12.
126. Saito S, Tsukaguchi N, Hasegawa T, Michimata T, Tsuda H, Narita N. Distribution of Th1, Th2, and Th0 and the Th1/Th2 cell ratios in human peripheral and endometrial cells. *Am J Reprod Immunol* 1999;42:240-45.
127. Szekeres-Bartho J, Par G, Szereday L, Smart CY, Achatz I. Progesterone and non-specific immunologic mechanisms in pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 1997;38:176-82.
128. Davies TF. The thyroid immunology of the postpartum period. *Thyroid* 1999;9(7):675-84.
129. Liu CC, Parr EL, Young JD. Granulated lymphoid cells of the pregnant uterus: morphological and functional features. *Int Rev Cytol* 1994;153:105-36.

130. Crncic TB, Laskarin G, Frankovic KJ i sur. Early pregnancy decidual lymphocytes beside perforin use Fas ligand (FasL) mediated cytotoxicity. *J Reprod Immunol* 2007;73(2):108-17.
131. Weetman AP. The immunology of pregnancy. *Thyroid* 1999;9(7):643-6.
132. Szekeres-Bartho J, Wegmann TG. A progesterone-dependent immunomodulatory protein alters the Th1/Th2 balance. *J Reprod Immunol* 1996;31(1-2):81-95.
133. Dealtry GB, O'Farrell MK, Fernandez N. The Th2 cytokine environment of the placenta. *Int Arch Allergy Immunol* 2000;123(2):107-19.
134. Kühnert M, Strohmeier R, Stegmüller M, Halberstadt E. Changes in lymphocyte subsets during normal pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1998;76(2):147-51.
135. Trinchieri G. Biology of natural killer cells. *Adv Immunol* 1989;47:187-376.
136. Cooper MA, Fehniger TA, Caligiuri MA. The biology of human natural killer-cell subsets. *Trends Immunol* 2001;22(11):633-40.
137. Perricone R, Perricone C, De Carolis C, Shoenfeld Y. NK cells in autoimmunity: a two-edg'd weapon of the immune system. *Autoimmun Rev* 2008;7(5):384-90.
138. Lanier LL. Natural killer cells: from no receptors to too many. *Immunity* 1997;6(4):371-8.
139. Westgaard IH, Berg SF, Orstavik S, Fossum S, Dissen E. Identification of a human member of the Ly-49 multigene family. *Eur J Immunol* 1998;28(6):1839-46.

140. Lanier LL, Corliss BC, Wu J, Leong C, Phillips JH. Immunoreceptor DAP12 bearing a tyrosine-based activation motif is involved in activating NK cells. *Nature* 1998;391(6668):703-7.
141. Trapani JA, Smyth MJ. Functional significance of the perforin/granzyme cell death pathway. *Nat Rev Immunol* 2002;2(10):735-47.
142. Naume B, Johnsen AC, Espevik T, Sundan A. Gene expression and secretion of cytokines and cytokine receptors from highly purified CD56+ natural killer cells stimulated with interleukin-2, interleukin-7 and interleukin-12. *Eur J Immunol* 1993;23(8):1831-8.
143. Liu CC, Walsh CM, Young JD. Perforin: structure and function. *Immunol Today* 1995;16:4-25.
144. Pipkin ME, Lieberman J. Delivering the kiss of death: progress on understanding how perforin works. *Curr Opin Immunol* 2007;19(3):301-8.
145. Metkar SS, Wang B, Aguilar-Santelises M i sur. Cytotoxic cell granule-mediated apoptosis: perforin delivers granzyme B-serglycin complexes into target cells without plasma membrane pore formation. *Immunity* 2002;16(3):417-28.
146. Browne KA, Blink E, Sutton VR, Froelich CJ, Jans DA, Trapani JA. Cytosolic delivery of granzyme B by bacterial toxins: evidence that endosomal disruption, in addition to transmembrane pore formation, is an important function of perforin. *Mol Cell Biol* 1999;19(12):8604-15.
147. Praper T, Sonnen AF, Kladnik A i sur. Perforin activity at membranes leads to invaginations and vesicle formation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011;108(52):21016-21.

148. Cullen SP, Brunet M, Martin SJ. Granzymes in cancer and immunity. *Cell Death Differ* 2010;17(4):616-23.
149. Shi FD, Van Kaer L. Reciprocal regulation between natural killer cells and autoreactive T cells. *Nat Rev Immunol* 2006;6(10):751-60.
150. Hidaka Y, Amino N, Iwatani Y i sur. Increase in peripheral natural killer cell activity in patients with autoimmune thyroid disease. *Autoimmunity* 1992;11(4):239-46.
151. Solerte SB, Precerutti S, Gazzaruso C i sur. Defect of a subpopulation of natural killer immune cells in Graves' disease and Hashimoto's thyroiditis: normalizing effect of dehydroepiandrosterone sulfate. *Eur J Endocrinol* 2005;152(5):703-12.
152. Ciampolillo A, Guastamacchia E, Amati L i sur. Modifications of the immune responsiveness in patients with autoimmune thyroiditis: evidence for a systemic immune alteration. *Curr Pharm Des* 2003;9(24):1946-50.
153. Marazuela M, Vargas JA, Alvarez-Mon M, Albarrán F, Lucas T, Durántez A. Impaired natural killer cytotoxicity in peripheral blood mononuclear cells in Graves' disease. *Eur J Endocrinol* 1995;132(2):175-80.
154. Calder EA, Irvine WJ, Davidson NM, Wu F. T, B and K cells in autoimmune thyroid disease *Clin Exp Immunol* 1976;25(1):17-22.
155. Tezuka H, Eguchi K, Fukuda T i sur. Natural killer and natural killer-like cell activity of peripheral blood and intrathyroidal mononuclear cells from patients with Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1988;66(4):702-7.
156. Pedersen BK, Feldt-Rasmussen U, Bech K, Perrild H, Klarlund K, Høier-Madsen M. Characterization of the natural killer cell activity in Hashimoto's and Graves' diseases. *Allergy* 1989;44(7):477-81.

157. Wall JR, Baur R, Schleusener H, Bandy-Dafoe P. Peripheral blood and intrathyroidal mononuclear cell populations in patients with autoimmune thyroid disorders enumerated using monoclonal antibodies. *J Clin Endocrinol Metab* 1983;56(1):164-9.
158. Iwatani Y, Amino N, Kabutomori Oi sur. Decrease of peripheral large granular lymphocytes in Graves' disease. *Clin Exp Immunol* 1984;55(1):239-44
159. Tamaru M, Matsuura B, Onji M. Increased levels of serum interleukin-12 in Graves' disease. *Eur J Endocrinol* 1999;141(2):111-6.
160. Kuijpers JL, De Hann-Meulman M, Vader HL, Pop VJ, Wiersinga WM, Drexhage HA. Cell-mediated immunity and postpartum thyroid dysfunction: a possibility for the prediction of disease? *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83(6):1959-66.
161. Corrales JJ, Orfao A, Lopez A, Ciudad J, Mories MT. Serial analysis of the effects of methimazole therapy on circulating B cell subsets in Graves' disease. *J Endocrinol* 1996;151(2):231-40.
162. Yabuhara A, Yang FC, Nakazawa T i sur. A killing defect of natural killer cells as an underlying immunologic abnormality in childhood systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 1996;23(1):171-7.
163. Takahashi K, Miyake S, Kondo T i sur. Natural killer type 2 bias in remission of multiple sclerosis. *J Clin Invest* 2001;107(5):23-9.
164. Weetman AP. Immunity, thyroid function and pregnancy: molecular mechanisms. *Nat Rev Endocrinol* 2010;6(6):311-8.
165. Al-Shammri S, Rawoot P, Azizieh F i sur. Th1/Th2 cytokine patterns and clinical profiles during and after pregnancy in women with multiple sclerosis. *J Neurol Sci*

- 2004;222(1-2):21-7.
166. Borzychowski AM, Croy BA, Chan WL, Redman CW, Sargent IL. Changes in systemic type 1 and type 2 immunity in normal pregnancy and pre-eclampsia may be mediated by natural killer cells. *Eur J Immunol* 2005;35(10):3054-63.
 167. Gregory CD, Lee H, Rees GB, Scott IV, Shah LP, Golding PR. Natural killer cells in normal pregnancy: analysis using monoclonal antibodies and single-cell cytotoxicity assays. *Clin Exp Immunol* 1985;62(1):121-7.
 168. Gregory CD, Lee H, Scott IV, Golding PR. Phenotypic heterogeneity and recycling capacity of natural killer cells in normal human pregnancy. *J Reprod Immunol* 1987;11(2):135-45.
 169. Ponte M, Cantoni C, Biassoni R i sur. Inhibitory receptors sensing HLA-G1 molecules in pregnancy: decidua-associated natural killer cells express LIR-1 and CD94/NKG2A and acquire p49, an HLA-G1-specific receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96(10):5674-9.
 170. Rukavina D, Podack ER, Rubesa G, Spanjol-Pandelo S, Randic L. Down-regulated expression of perforin-positive/CD16⁺ cells in the peripheral blood lymphocytes in the first trimester of pregnancy and up-regulation at the end of pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 1997;38(3):189-96.
 171. Rukavina D, Rubesa G, Gudelj L, Haller H, Podack ER. Characteristics of perforin expressing lymphocytes within the first trimester decidua of human pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 1995;33(5):394-404.
 172. Tokmadzić VS, Tsuji Y, Bogović T i sur. IL-18 is present at the maternal-fetal interface and enhances cytotoxic activity of decidual lymphocytes. *Am J Reprod*

- Immunol 2002;48(4):191-200.
173. Saito S, Nishikawa K, Morii T i sur. Cytokine production by CD16-CD56bright natural killer cells in the human early pregnancy decidua. *Int Immunol* 1993;5(5):559-63.
 174. Le Bouteiller P, Piccinni MP. Human NK cells in pregnant uterus: why there? *Am J Reprod Immunol* 2008;59(5):401-6.
 175. Saito S, Nakashima A, Shima T, Ito M. Th1/Th2/Th17 and regulatory T-cell paradigm in pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 2010;63(6):601-10.
 176. Martin A, Davies TF. T cells and human autoimmune thyroid disease: emerging data show lack of need to invoke suppressor T cell problems. *Thyroid* 1992;2(3):247-61.
 177. Utiger RD. The pathogenesis of autoimmune thyroid disease. *N Engl J Med* 1991;325(4):278-9.
 178. Bossowski A, Harasymczuk J, Moniuszko A, Bossowska A, Hilczer M, Ratomski K. Cytometric evaluation of intracellular IFN- γ and IL-4 levels in thyroid follicular cells from patients with autoimmune thyroid diseases. *Thyroid Res* 2011;4:13.
 179. Nanba T, Watanabe M, Inoue N, Iwatani Y. Increases of the Th1/Th2 cell ratio in severe Hashimoto's disease and in the proportion of Th17 cells in intractable Graves' disease. *Thyroid* 2009;19(5):495-501.
 180. Tang H, Mignon-Godefroy K, Meroni PL, Garotta G, Charreire J, Nicoletti F. The effects of a monoclonal antibody to interferon-gamma on experimental autoimmune thyroiditis (EAT): prevention of disease and decrease of EAT-specific T cells. *Eur J Immunol* 1993;23(1):275-8.

181. Ohashi H, Okugawa T, Itoh M. Circulating activated T cell subsets in autoimmune thyroid diseases: differences between untreated and treated patients. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1991;125(5):502-9.
182. Iwatani Y, Amino N, Hidaka Y i sur. Decreases in alpha beta T cell receptor negative T cells and CD8 cells, and an increase in CD4+ CD8+ cells in active Hashimoto's disease and subacute thyroiditis. *Clin Exp Immunol* 1992;87(3):444-9.
183. Iwatani Y, Amino N, Kaneda T i sur. Marked increase of CD5 + B cells in hyperthyroid Graves' disease. *Clin Exp Immunol* 1989;78(2):196-200.
184. Aozasa M, Amino N, Iwatani Yi sur. Intrathyroidal HLA-DR-positive lymphocytes in Hashimoto's disease: increases in CD8 and Leu7 cells. *Clin Immunol Immunopathol* 1989;52(3):516-22.
185. Lichiardopol C. The thyroid and autoimmunity. *Rom J Intern Med* 2009;47:207-15.
186. McIver B, Morris JC. The pathogenesis of Graves' disease. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1998;27(1):73-89.
187. Giordano C, Stassi G, De Maria R i sur. Potential involvement of Fas and its ligand in the pathogenesis of Hashimoto's thyroiditis. *Science* 1997;275(5302):960-3.
188. Stassi G, Todaro M, Bucchieri F i sur. Fas/Fas ligand-driven T cell apoptosis as a consequence of ineffective thyroid immunoprivilege in Hashimoto's thyroiditis. *J Immunol* 1999;162(1):263-7.
189. De Maria R, Testi R. Fas-FasL interactions: a common pathogenetic mechanism in organ-specific autoimmunity. *Immunol Today* 1998;19(3):121-5.

190. Stassi G, Zeuner A, Di Liberto D, Todaro M, Ricci-Vitiani L, De Maria R. Fas-FasL in Hashimoto's thyroiditis. *J Clin Immunol* 2001;21(1):19-23.
191. Carella C, Mazziotti G, Morisco F i sur. Long-term outcome of interferon-alpha-induced thyroid autoimmunity and prognostic influence of thyroid autoantibody pattern at the end of treatment. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86(5):1925-9.
192. Phenekos C, Vryonidou A, Gritzapis AD, Baxevanis CN, Goula M, Papamichail M. Th1 and Th2 serum cytokine profiles characterize patients with Hashimoto's thyroiditis (Th1) and Graves' disease (Th2). *Neuroimmunomodulation* 2004;11(4):209-13.
193. Alnaqdy A, Al-Maskari M. Levels of cytokines and thyroid autoantibodies in Omani patients with Graves' disease. *Br J Biomed Sci* 2007;64(4):164-7.
194. Stassi G, De Maria R. Autoimmune thyroid disease: new models of cell death in autoimmunity. *Nat Rev Immunol* 2002;2(3):195-204.
195. Ehlers M, Thiel A, Bernecker C i sur. Evidence of a Combined Cytotoxic Thyroglobulin and Thyroperoxidase Epitope-Specific Cellular Immunity in Hashimoto's Thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97(4):1347-54.
196. Santaguida MG, Nardo S, Del Duca SC i sur. Increased interleukin-4-positive lymphocytes in patients with Hashimoto's thyroiditis and concurrent non-endocrine autoimmune disorders. *Clin Exp Immunol* 2011;165(2):148-54.
197. Wu Z, Podack ER, McKenzie JM, Olsen KJ, Zakarija M. Perforin expression by thyroid-infiltrating T cells in autoimmune thyroid disease. *Clin Exp Immunol* 1994;98(3):470-7.
198. Aust G, Lehmann I, Heberling HJ. Different immunophenotype and autoantibody production by peripheral blood and thyroid-derived lymphocytes in patients with Graves' disease. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 1996;104(1):50-8.

199. Kim NY, Cho HJ, Kim HY i sur. Thyroid autoimmunity and its association with cellular and humoral immunity in women with reproductive failures. *Am J Reprod Immunol* 2011;65(1):78-87.
200. Kwak-Kim JY, Chung-Bang HS, Ng SC i sur. Increased T helper 1 cytokine responses by circulating T cells are present in women with recurrent pregnancy losses and in infertile women with multiple implantation failures after IVF. *Hum Reprod* 2003;18(4):767-73.
201. Konova E. The role of NK cells in the autoimmune thyroid disease-associated pregnancy loss. *Clin Rev Allergy Immunol* 2010;39(3):176-84.
202. Di Simone N, Meroni PL, de Papa N i sur. Antiphospholipid antibodies affect trophoblast gonadotropin secretion and invasiveness by binding directly and through adhered beta2-glycoprotein I. *Arthritis Rheum* 2000;43(1):140-50.
203. Cervera R, Balasch J. Bidirectional effects on autoimmunity and reproduction. *Hum Reprod Update* 2008;14(4):359-66.
204. Molvarec A, Shiozaki A, Ito M i sur. Increased prevalence of peripheral blood granulysin-producing cytotoxic T lymphocytes in preeclampsia. *J Reprod Immunol* 2011;91(1-2):56-63.
205. Shi X, Li C, Li Y i sur. Circulating lymphocyte subsets and regulatory T cells in patients with postpartum thyroiditis during the first postpartum year. *Clin Exp Med* 2009;9(4):263-7.
206. Swelam Eel S, Bakr HG, Mansour MA. Postpartum thyroid dysfunction: a state of immunological dysregulation. *Clin Lab* 2011;57(9-10):731-9.
207. Chan JY, Walfish PG. Activated (Ia+) T-lymphocytes and their subsets in autoimmune thyroid diseases: analysis by dual laser flow microfluorocytometry. *J Clin Endocrinol Metab* 1986;62(2):403-9.

208. Stagnaro-Green A, Roman SH, Cobin RH, el-Harazy E, Wallenstein S, Davies TF. A prospective study of lymphocyte-initiated immunosuppression in normal pregnancy: evidence of a T-cell etiology for postpartum thyroid dysfunction. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;74(3):645-53.
209. Jansson R, Tötterman TH, Sällström J, Dahlberg PA. Intrathyroidal and circulating lymphocyte subsets in different stages of autoimmune postpartum thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab* 1984;58(5):942-6.
210. Godfrey DI, Kronenberg M. Going both ways: immune regulation via CD1d-dependent NKT cells. *J Clin Invest* 2004;114(10):1379-88.
211. Kronenberg M, Gapin L. The unconventional lifestyle of NKT cells. *Nat Rev Immunol* 2002;2(8):557-68.
212. Eberl G, Lees R, Smiley ST, Taniguchi M, Grusby MJ, MacDonald HR. Tissue-specific segregation of CD1d-dependent and CD1d-independent NK T cells. *J Immunol* 1999;162(11):6410-9.
213. Kenna T, Golden-Mason L, Porcelli SA *et al.* NKT cells from normal and tumor-bearing human livers are phenotypically and functionally distinct from murine NKT cells. *J Immunol* 2003;171(4):1775-9.
214. Sidobre S, Naidenko OV, Sim BC, Gascoigne NR, Garcia KC, Kronenberg M. The V alpha 14 NKT cell TCR exhibits high-affinity binding to a glycolipid/CD1d complex. *J Immunol* 2002;169(3):1340-8.
215. Mercer JC, Ragin MJ, August A. Natural killer T cells: rapid responders controlling immunity and disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2005;37(7):1337-43.
216. Godfrey DI, Hammond KJ, Poulton LD, Smyth MJ, Baxter AG. NKT cells: facts, functions and fallacies. *Immunol Today* 2000;21(11):573-83.

217. Crowe NY, Uldrich AP, Kyparissoudis K i sur. Glycolipid antigen drives rapid expansion and sustained cytokine production by NK T cells. *J Immunol* 2003;171(8):4020-7.
218. Baxter AG, Kinder SJ, Hammond KJ, Scollay R, Godfrey DI. Association between alphabetaTCR+CD4-CD8- T-cell deficiency and IDDM in NOD/Lt mice. *Diabetes* 1997;46(4):572-82.
219. Sharma RB, Fan X, Caturegli P, Rose NR, Burek CL. Invariant NKT Cell Lines Derived from the NOD·H2 Mouse Enhance Autoimmune Thyroiditis. *J Thyroid Res* 2011;2011:895923.
220. Wu L, Van Kaer L. Natural killer T cells and autoimmune disease. *Curr Mol Med* 2009;9(1):4-14.
221. Watanabe M, Nakamura Y, Matsuzuka F, Takamura Y, Miyauchi A, Iwatani Y. Decrease of intrathyroidal CD161+Valpha24+Vbeta11+ NKT cells in Graves' disease. *Endocr J* 2008;55(1):199-203.
222. Roman-Gonzalez A, Moreno ME, Alfaro JM i sur. Frequency and function of circulating invariant NKT cells in autoimmune diabetes mellitus and thyroid diseases in Colombian patients. *Hum Immunol* 2009;70(4):262-8.
223. Boyson JE, Rybalov B, Koopman LA i sur. CD1d and invariant NKT cells at the human maternal-fetal interface. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99(21):13741-6.
224. Tsuda H, Sakai M, Michimata T, Tanebe K, Hayakawa S, Saito S. Characterization of NKT cells in human peripheral blood and decidual lymphocytes. *Am J Reprod Immunol* 2001;45(5):295-302.
225. Boyson JE, Nagarkatti N, Nizam L, Exley MA, Strominger JL. Gestation stage-dependent mechanisms of invariant natural killer T cell-mediated pregnancy loss. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;103(12):4580-5.

226. Singh N, Hong S, Scherer DC i sur. Cutting edge: activation of NK T cells by CD1d and alpha-galactosylceramide directs conventional T cells to the acquisition of a Th2 phenotype. *J Immunol* 1999;163(5):2373-7.
227. Eberl G, MacDonald HR. Selective induction of NK cell proliferation and cytotoxicity by activated NKT cells. *Eur J Immunol* 2000;30(4):985-92.
228. Southcombe J, Redman C, Sargent I. Peripheral blood invariant natural killer T cells throughout pregnancy and in preeclamptic women. *J Reprod Immunol* 2010;87(1-2):52-9.
229. Miko E, Szereday L, Barakonyi A, Jarkovich A, Varga P, Szekeres-Bartho J. The role of invariant NKT cells in pre-eclampsia. *Am J Reprod Immunol* 2008;60(2):118-26.
230. Boyson JE, Aktan I, Barkhuff DA, Chant A. NKT cells at the maternal-fetal interface. *Immunol Invest* 2008;37(5):565-82.
231. Sakaguchi S. Naturally arising CD4+ regulatory t cells for immunologic self-tolerance and negative control of immune responses. *Annu Rev Immunol* 2004;22:531-62.
232. Sakaguchi S. Regulatory T cells. *Springer Semin Immunopathol* 2006;28(1):1-2.
233. Suri-Payer E, Fritzsching B. Regulatory T cells in experimental autoimmune disease. *Springer Semin Immunopathol* 2006;28(1):3-16.
234. Miyara M, Sakaguchi S. Regulatory at cells and the Control of Auto-immunity:From day 3 Thymectomy to FoxP3+ Regulatory T cells. U: Jiang S, ur. *Regulatory T cells and Clinical Application*. New York: Springer, 2008; str. 3-17.
235. Kretschmer K, Apostolou I, Verginis P, von Boehmer H. FoxP3 and Regulatory T cells. U: Jiang S, ur. *Regulatory T cells and Clinical Application*. New York: Springer, 2008;str. 17-29.

236. Romagnoli P, Ribot J, Tellier J, van Meerwijk JPM. Thymic and peripheral generation of CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ regulatory T cells. U: Jiang S, ur. Regulatory T cells and Clinical Application. New York: Springer, 2008; str. 29-57.
237. Bayer AL, Malek TR. The role of IL-2 in the development and peripheral homeostasis of naturally occurring CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ regulatory T cells. U: Jiang S, ur. Regulatory T cells and Clinical Application. New York: Springer, 2008; str. 57-77.
238. D'Cruz LM, Klein L. IL-2 signaling and CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells. U: Jiang S, ur. Regulatory T cells and Clinical Application. New York: Springer, 2008; str. 77-91.
239. Wan YY, Flavell RA. TGF- β and regulatory T cells. U: Jiang S, ur. Regulatory T cells and Clinical Application. New York: Springer, 2008; str. 91-111.
240. Chen W. TGF- β controls reciprocal differentiation of CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ regulatory T cells and IL-17 producing Th17 cells from naïve CD4⁺CD25⁻ T cells. U: Jiang S, ur. Regulatory T cells and Clinical Application. New York: Springer, 2008; str. 111-135.
241. Locke NR, K. Crellin NK, Levings MK. Molecular signalling in regulatory T cells. U: Jiang S, ur. Regulatory T cells and Clinical Application. New York: Springer, 2008; str. 135-55.
242. Piccirillo CA. CD4⁺FoxP3⁺ regulatory T cells in immune tolerance. U: Jiang S, ur. Regulatory T cells and Clinical Application. New York: Springer, 2008; str. 155-99.
243. Hong J, Skinner S, Zhang J. Induction of adaptive CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ Regulatory T cell response for autoimmune disease. U: Jiang S, ur. Regulatory T cells and Clinical Application. New York: Springer, 2008; str. 293-307.
244. Chatila TA. Role of regulatory T cells in human diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2005;116(5):949-59.

245. Battaglia M, Gregori S, Bacchetta R, Roncarolo MG. Human type 1 T regulatory cells. U: Jiang S, ur. Regulatory T cells and Clinical Application. New York: Springer, 2008; str. 455-73.
246. Smith TRF, Kumar V. Immune suppression by a novel population of CD8 α ⁺TCR α β ⁺ regulatory T cells. U: Jiang S, ur. Regulatory T cells and Clinical Application. New York: Springer, 2008; str. 489-501.
247. Stassen M, Jonuleit H, Müller C i sur. Differential regulatory capacity of CD25⁺ T regulatory cells and preactivated CD25⁺ T regulatory cells on development, functional activation, and proliferation of Th2 cells. *J Immunol* 2004;173(1):267-74.
248. Suvas S, Kumaraguru U, Pack CD, Lee S, Rouse BT. CD4⁺CD25⁺ T cells regulate virus-specific primary and memory CD8⁺ T cell responses. *J Exp Med* 2003;198(6):889-901.
249. Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M, Toda M. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J Immunol* 1995;155(3):1151-64.
250. Mao C, Wang S, Xiao Y i sur. Impairment of regulatory capacity of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells mediated by dendritic cell polarization and hyperthyroidism in Graves' disease. *J Immunol* 2011;186(8):4734-43.
251. Morris GP, Brown NK, Kong YC. Naturally-existing CD4(+)CD25(+)Foxp3(+) regulatory T cells are required for tolerance to experimental autoimmune thyroiditis induced by either exogenous or endogenous autoantigen. *J Autoimmun* 2009;33(1):68-76.
252. Nagayama Y, Horie I, Saitoh O, Nakahara M, Abiru N. CD4⁺CD25⁺ naturally occurring regulatory T cells and not lymphopenia play a role in the pathogenesis of

- iodide-induced autoimmune thyroiditis in NOD-H2h4 mice. *J Autoimmun* 2007;29(2-3):195-202.
253. Nakano A, Watanabe M, Iida T i sur. Apoptosis-induced decrease of intrathyroidal CD4(+)CD25(+) regulatory T cells in autoimmune thyroid diseases. *Thyroid* 2007;17(1):25-31.
254. Saitoh O, Abiru N, Nakahara M, Nagayama Y. CD8+CD122+ T cells, a newly identified regulatory T subset, negatively regulate Graves' hyperthyroidism in a murine model. *Endocrinology* 2007;148(12):6040-6.
255. Viglietta V, Baecher-Allan C, Weiner HL, Hafler DA. Loss of functional suppression by CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in patients with multiple sclerosis. *J Exp Med* 2004;199:971-9.
256. Marazuela M, García-López MA, Figueroa-Vega N i sur. Regulatory T cells in human autoimmune thyroid disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91(9):3639-46.
257. Figueroa-Vega N, Alfonso-Pérez M, Benedicto I, Sánchez-Madrid F, González-Amaro R, Marazuela M. Increased circulating pro-inflammatory cytokines and Th17 lymphocytes in Hashimoto's thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95(2):953-62.
258. Zenclussen AC. CD4(+)CD25+ T regulatory cells in murine pregnancy. *J Reprod Immunol* 2005;65(2):101-10.
259. Zenclussen AC. Regulatory T cells in pregnancy. *Springer Semin Immunopathol* 2006;28(1):31-9.
260. Christiansen OB. A fresh look at the causes and treatments of recurrent miscarriage, especially its immunological aspects. *Hum Reprod Update* 1996;2(4):271-93.

261. Coulam CB, Goodman C, Roussev RG, Thomason EJ, Beaman KD. Systemic CD56+ cells can predict pregnancy outcome. *Am J Reprod Immunol* 1995;33(1):40-6.
262. Aluvihare VR, Kallikourdis M, Betz AG. Regulatory T cells mediate maternal tolerance to the fetus. *Nat Immunol* 2004;5(3):266-71.
263. Sasaki Y, Sakai M, Miyazaki S, Higuma S, Shiozaki A, Saito S. Decidual and peripheral blood CD4+CD25+ regulatory T cells in early pregnancy subjects and spontaneous abortion cases. *Mol Hum Reprod* 2004;10(5):347-53.
264. Somerset DA, Zheng Y, Kilby MD, Sansom DM, Drayson MT. Normal human pregnancy is associated with an elevation in the immune suppressive CD25+ CD4+ regulatory T-cell subset. *Immunology* 2004;112(1):38-43.
265. Tilburgs T, Roelen DL, van der Mast BJ i sur. Evidence for a selective migration of fetus-specific CD4+CD25bright regulatory T cells from the peripheral blood to the decidua in human pregnancy. *J Immunol* 2008;180(8):5737-45.
266. Shao L, Jacobs AR, Johnson VV, Mayer L. Activation of CD8+ regulatory T cells by human placental trophoblasts. *J Immunol* 2005;174(12):7539-47.
267. Polanczyk MJ, Hopke C, Huan J, Vandenbark AA, Offner H. Enhanced FoxP3 expression and Treg cell function in pregnant and estrogen-treated mice. *J Neuroimmunol* 2005;170(1-2):85-92.
268. Mbah AU, Ejim EC, Onodugo OD i sur. Two logistic models for the prediction of hypothyroidism in pregnancy. *MC Res Notes* 2011;4:205.
269. Amino N, Izumi Y, Hidaka Y i sur. No increase of blocking type anti-thyrotropin receptor antibodies during pregnancy in patients with Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88(12):5871-4.

270. Ernerudh J, Berg G, Mjösberg J. Regulatory T helper cells in pregnancy and their roles in systemic versus local immune tolerance. *Am J Reprod Immunol* 2011;66(1):31-43.
271. Mjösberg J, Svensson J, Johansson E i sur. Systemic reduction of functionally suppressive CD4dimCD25highFoxp3+ Tregs in human second trimester pregnancy is induced by progesterone and 17beta-estradiol. *J Immunol* 2009;183(1):759-69.
272. Sasaki Y, Darmochwal-Kolarz D, Suzuki D i sur. Proportion of peripheral blood and decidual CD4(+) CD25(bright) regulatory T cells in pre-eclampsia. *Clin Exp Immunol* 2007;149(1):139-45.
273. Santner-Nanan B, Peek MJ, Khanam R i sur. Systemic increase in the ratio between Foxp3+ and IL-17-producing CD4+ T cells in healthy pregnancy but not in preeclampsia. *J Immunol* 2009;183(11):7023-30.
274. Tsatsoulis A. The role of stress in the clinical expression of thyroid autoimmunity. *Ann N Y Acad Sci* 2006;1088:382-95.
275. Yu B, Wang QW, Huang RP i sur. Establishment of self-sequential longitudinal reference intervals of maternal thyroid function during pregnancy. *Exp Biol Med (Maywood)* 2010;235(10):1212-5.
276. Price A, Obel O, Cresswell J i sur. Comparison of thyroid function in pregnant and non-pregnant Asian and western Caucasian women. *AP Clin Chim Acta* 2001;308(1-2):91-8.
277. Benhadi N, Wiersinga WM, Reitsma JB, Vrijkotte TG, van der Wal MF, Bonsel GJ. Ethnic differences in TSH but not in free T4 concentrations or TPO antibodies during pregnancy. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2007;66(6):765-70.
278. Marwaha RK, Chopra S, Gopalakrishnan S i sur. Establishment of reference range for thyroid hormones in normal pregnant Indian women. *BJOG* 2008;115(5):602-6.

279. Ito K, Karasawa M, Kawano T i sur. Involvement of decidual Valpha14 NKT cells in abortion. Proc Natl Acad Sci U S A 2000;97(2): 740-4.

ŽIVOTOPIS

EUROPEAN CURRICULUM VITAE FORMAT



OSOBNI PODACI

Ime i prezime	Tatjana Bogović Crnčić
Adresa	Klinički zavod za nuklearnu medicinu Katedra za nuklearnu medicinu, Medicinski fakultet Sveučilište u Rijeci Krešimirova 42, 51 000 Rijeka (posao) Gornja vežica 43, 51000 Rijeka (kuća)
Telefon	++38551658365 (posao) ++38551624317 (kuća)
Telefaks	++38551658365
Elektronička pošta, Web adresa	tbogovic@medri.hr
Državljanstvo	Hrvatsko
Datum rođenja	23. kolovoza 1972.
Matični broj iz Upisnika znanstvenika	247552

RADNO ISKUSTVO

• Datumi (od – do)	od 2005.-
Ustanova zaposlenja	Klinički zavod za nuklearnu medicinu, KBC Rijeka
Naziv radnog mjesta	• 2005.-2010.-liječnik na specijalizaciji iz nuklearne medicine • 2010.-specijalist nuklearne medicine
Funkcija	• liječnik na specijalizaciji iz nuklearne medicine • specijalist nuklearne medicine
Područje rada	Nuklearna medicina
• Datumi (od – do)	od 2005.-
Ustanova zaposlenja	Katedra za nuklearnu medicinu, Medicinski fakultet Sveučilište u Rijeci
Naziv radnog mjesta	asistent
Funkcija	asistent
Područje rada	Istraživački rad iz područja nuklearne medicine te imunologije
• Datumi (od – do)	od 2004. do 2005.

Ustanova zaposlenja	Zavod za hitnu medicinu, KBC Rijeka
Naziv radnog mjesta	doktor medicine
Funkcija	liječnik hitne medicine
Područje rada	hitna medicina

• Datumi (od – do)	od 1999.do 2004.
Ustanova zaposlenja	Zavod za fiziologiju i imunologiju Medicinski fakultet Sveučilište u Rijeci
Naziv radnog mjesta	doktor medicine, znanstveni novak
Funkcija	znanstveni novak
Područje rada	imunologija

• Datumi (od – do)	od 1998.do 1999.
Ustanova zaposlenja	Klinički bolnički centar Rijeka
Naziv radnog mjesta	doktor medicine
Funkcija	liječnik na stažu
Područje rada	medicina

ŠKOLOVANJE

Datum	2005.-2010.
Mjesto	Rijeka
Ustanova	Klinički zavod za nuklearnu medicinu, KBC Rijeka, Klinički zavod za nuklearnu medicinu i zaštitu od zračenja, KBC Zagreb, Zagreb, Klinika za nuklearnu medicinu i onkologiju, KBC Sestre Milosrdnice, Zagreb
Zvanje	Specijalist nuklearne medicine (2010)

Datum	1997.-1999.
Mjesto	Rijeka
Ustanova	Poslijediplomski znanstveni studij "Biomedicina", Medicinski fakultet u Sveučilišta u Rijeci
Zvanje	Magistar medicinskih znanosti (19. 04. 2004.)

Datum	1991.-1997.
Mjesto	Rijeka
Ustanova	Medicinski fakultet u Rijeci
Zvanje	Doktor medicine (1. srpnja 1997.)

Datum	1987.-1991.
Mjesto	Rijeka
Ustanova	Srednja škola, Centar za kadrove u obrazovanju i kulturi

Datum	1979.-1987.
Mjesto	Rijeka
Ustanova	Osnovna škola "Vladimir Gortan"

USAVRŠAVANJE

Godina	studeni 2011.
Mjesto	Beč, Austrija
Ustanova	EANM Educational Facility (Vienna, Austria)
Područje	EANM Paediatric Course

Godina	lipanj 2011.
Mjesto	Brescia, Italija
Ustanova	Spedali Civili di Brescia, Dept. of Nuclear medicine, IAEA project
Područje	Regional Training Course on Nuclear cardiology:from theory to practice

Godina	svibanj 2011.
Mjesto	Opatija, Hrvatska
Ustanova	European School of nuclear medicine, 47. Seminar
Područje	SPECT-CT; PET-CT in oncology

Godina	ožujak 2011.
Mjesto	Beč, Austrija
Ustanova	EANM Educational Facility (Vienna, Austria)
Područje	PET/CT u onkologiji, (osnovni)

Godina	Rujan, 2009
Mjesto	Budimpešta, Mađarska
Ustanova	European School of nuclear medicine
Područje	Radionuklidi u terapiji, PET/CT

Godina	svibanj 2009.-lipanj 2009.
Mjesto	Zagreb
Ustanova	KBC "Zagreb", Zagreb
Područje	Ultrazvuk vratnih organa

Godina	veljača, 2009.
Mjesto	Beč, Austrija
Ustanova	EANM Educational Facility (Vienna, Austria)
Područje	Kardiovaskularni tečaj

Godina	rujan 2006.-listopad 2006.
Mjesto	Atena, Grčka
Ustanova	"Aretaieion", Sveučilišna bolnica u Ateni
Područje	SPECT u kardiologiji i onkologiji

**OSOBNJE VJEŠTINE I
KOMPETENCIJE**

Materinji jezik

Hrvatski

Strani jezici

Jezik	Engleski	Talijanski
Govori	Da	Da
Piše	Da	Da
Čita	Da	Da

**SOCIJALNE VJEŠTINE I
KOMPETENCIJE**

Članstva:

- Hrvatsko društvo fiziologa (od 1999-2004)
- Hrvatsko imunološko društvo (od 1999-2004)
- Hrvatski liječnički zbor (od 1999)
- Hrvatska liječnička komora (od 1999)
- Alps Adria Society for Immunology of Reproduction (AASIR) (1999-2004)

Natavna djelatnost:

- 1993.- 1994.- student-demonstrator na Zavodu za Anatomiju, Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Rijeci
- 1994. - 1997.- student-demonstrator na Zavodu za fiziologiju i imunologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Rijeci
- 1999.-2004.- aktivno sudjelovanje u izvođenju seminara i vježbi iz Fiziologije, patofiziologije, imunologije te neurofiziologije na Zavodu za fiziologiju i imunologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Rijeci.
- Od 2005. - aktivno sudjelovanje u izvođenju vježbi iz nuklearne medicine na Katedri za nuklearnu medicinu

Znanstvena djelatnost:

- "Ekspresija perforina u limfocitima periferne krvi i decidualnim limfocitima u trudnoći" (projekt broj 006201)(Kratki naslov: "Ekspresija perforina u trudnoći") glavnog istraživača Akademika Daniela Rukavine. Projekt financiran od Ministarstva znanosti i tehnologije Republike Hrvatske (1998-2002)
- "Th1 citokini i citolitičke molecule u trudnoći" (project broj 0062029), glavnog istraživača akademika Daniela Rukavine. Projekt financiran od Ministarstva znanosti i tehnologije Republike Hrvatske (2002.-2004)
- "Regulacijske T i NKT stanice u kontroli tumorskog rasta, opeklina i autoimunosti" (projekt broj 062-0620096-0094), glavni istraživač prof. dr. sc. Ines Mrakovčić Šutić. Projekt financiran od Ministarstva znanosti i tehnologije Republike Hrvatske
- "Karcinogeneza u štitnjači i gušavosti u Hrvatskoj" (projekt broj 134-1342428-2430), glavni istraživač Akademik Zvonko Kusić. Projekt financiran od Ministarstva znanosti i tehnologije Republike Hrvatske

**ORGANIZACIJSKE
VJEŠTINE I KOMPETENCIJE**

- Članica Lokalnog organizacijskog odbora za organizaciju VIII International Congress of Reproductive Immunology koji se je održao od 02. do 06. lipnja 2001. godine u Opatiji.

**TEHNIČKE VJEŠTINE I
KOMPETENCIJE**

Rad na računalu

PRIVITCI

Popis publikacija

PUBLIKACIJE

1. Kvalifikacijski radovi
2. Znanstveni radovi
 - a. Izvorni znanstveni radovi
 - b. Kratka znanstvena priopćenja
 - c. Znanstvena kongresna saopćenja *in extenso*
 - d. Ostala znanstvena kongresna saopćenja
3. Stručni radovi
 - a. Stručni radovi u časopisu s recenzijom
 - b. Stručne knjige
 - c. Stručna kongresna priopćenja *in extenso*
 - d. Sažeci i ostale stručne aktivnosti
4. Nastavni tekstovi
5. Ostalo objavljeno
6. Broj radova citiranih u CC

1. KVALIFIKACIJSKI RADOVI

1. "Istraživanje limfokinima aktivirane ubilačke (LAK) aktivnosti decidualnih limfocita".
Medicinski fakultet Sveučilište u Rijeci, 2004. (Magistarski rad)

2. ZNANSTVENI RADOVI

a) izvorni znanstveni radovi

1. Laškarin G, Tokmadžić SV, Štrbo N, **Bogović T**, Szekeres-Bartho J, Randić Lj., Podack ER, Rukavina D. Progesteron induced blocking factor (PBIF) mediates progesterone induced suppression of decidual lymphocytes cytotoxicity. *Am J Reprod Immunol* 2002;48:201-209. (CC)
2. Tokmadžić SV, Tsuji Y, **Bogović T**, Laškarin G, Čupurdija K, Štrbo N, Koyama K, Okamura H, Podack ER, Rukavina D. IL-18 is present at the maternal-fetal interface and enhances cytotoxic activity of decidual lymphocytes. *Am J Reprod Immunol* 2002;48:191-200. (CC)
3. Laskarin G, Cupurdija K, Tokmadzic VS, Dorcic D, Dupor J, Juretic K, Strbo N, **Crncic TB**, Marchezi F, Allavena P, Mantovani A, Randic L, Rukavina D. The presence of functional mannose receptor on macrophages at the maternal-fetal interface. *Hum Reprod* 2005;20:1057-1066. (CC)
4. Strbo N, Laskarin G, **Crncic TB**, Juretic Frankovic K, Bedenicki I, Tokmadzic VS, Randic L, Bouteiller PL, Tabiasco J, Podack ER, Rukavina D. Short-term Cytolytic Mediators' Expression in decidual lymphocytes is enhanced by interleukin-15. *Am J Reprod Immunol* 2006;55:217-25. (CC)
5. **Crncic TB**, Laskarin G, Juretic Frankovic K, Sotosek Tokmadzic V, Strbo N, Bedenicki I, Le Bouteiller, P, Tabiasco J, Rukavina D. Early pregnancy decidual lymphocytes beside perforin use Fas ligand (FasL) mediated cytotoxicity. *Journal of Reproductive Immunology* 2007: 2; 108-111. (CC)
6. Juretic K, Strbo N, **Crncic TB**, Laskarin G, Rukavina D. An insight into the dendritic cells at the maternal-fetal interface. *Am J Reprod Immunol* 2004;52:350-355.
7. **Crncic TB**, Laskarin G, Juretic K, Strbo N, Dupor J, Srsen S, Randic L, Le Bouteiller P, Tabiasco J, Rukavina D. Perforin and Fas/FasL cytolytic pathways at the maternal-fetal

interface. Am J Reprod Immunol 2005;54:241-248.

8. Laskarin G, Strbo N, **Crncic TB**, Juretic K, Bataille NL, Chaouat G, Rukavina D. Physiological role of IL-15 and IL-18 at the maternal-fetal interface. Immunology of pregnancy. 2005; 89 PG. 10-25.
9. Rukavina D, Laškarin G, Štrbo N, Sotošek V, **Bogović T**. Immunobiology of reproduction: role of uniquely abundant NK cells in the placenta. Clinical Immunology Newsletter 1999;19:59-61. (ostali indeksi)

b) kratka znanstvena priopćenja

c) znanstvena kongresna saopćenja *in extenso*

d) ostala znanstvena kongresna saopćenja

1. Štrbo N, Laskarin G, Sotosek V, **Bogovic T**, Vlastelic I, Randic Lj, Rukavina D, Podack ER. Natural killer activity and response to Th1 cytokines of decidual lymphocytes. European Meeting of Immunology and Reproduction Rome, October 28-29, 1999. Abstract book pp 20.
2. Laskarin G, Strbo N, Sotosek V, **Bogovic T**, Randic Lj, Rukavina D, Podack ER. The influence of progesterone in the regulation of perforin expression and cytolytic activity of decidual lymphocytes. European Meeting of Immunology and Reproduction Rome, October 28-29, 1999. Abstract book pp 15.
3. Sotosek V, Laskarin G, Strbo N, **Bogovic T**, Randic Lj, Rukavina D, Podack ER. Th1 and Th2 regulatory effects on perforin expression - the role of decidual macrophages. European Meeting of Immunology and Reproduction Rome, October 28-29, 1999. Abstract book pp 19.
4. G. Laškarin, V. Sotošek, **T. Bogović**, N. Štrbo, Lj. Randić, D. Rukavina. Interactions of progesterone and cytokines in the regulation of cytotoxicity of decidual lymphocytes.

- 6th Congress of the Alps-Adria Society of Immunology of Reproduction, Pecs - Hungary, June 27-30, 2000.
5. Rukavina D, Laskarin G, Sotosek V, Strbo N, **Bogovic T**, Cupurdija K and Randic Lj. Cytokine and Hormone Networks in the Regulation of Cytotoxicity at the Interface. Journal of the Japan Society for Immunology of Reproduction Vol 15. No.1, 2000;25-26.
 6. G. Laskarin, V. Sotosek, **T.Bogovic**, K Cupurdija, LJ. Randic, E.R.Podack and D. Rukavina. Progesterone mediated regulation of cytolytic potential of decidual lymphocytes. American Journal of Reproductive Immunology 2001;46(1):40.
 7. K. Cupurdija, G. Laskarin, **T. Bogovic**, V. Sotosek, LJ. Randic, E.R. Podack and D. Rukavina. The effect of progesterone induced blocking factor (PIBF) in regulation of cytolytic potential of decidual lymphocytes. American Journal of Reproductive Immunology 2001;46(1):49.
 8. **T. Bogovic**, V. Sotosek, G. Laskarin, K. Cupurdija, Lj. Randic, E.R.Podack and D. Rukavina. Cytolytic activity of decidual lymphocytes in response to short and long term stimulation by Th1 cytokines. American Journal of Reproductive Immunology 2001;46(1):51.
 9. V. Sotosek, G. Laskarin, **T. Bogovic**, K. Cupurdija, Lj. Randic, E.R.Podack and D. Rukavina. The effect of IL-18 on perforin mediated cytolytic activity of decidual and peripheral blood lymphocytes of first trimester normal human pregnancy. American Journal of Reproductive Immunology 2001;46(1):53.
 10. K. Juretic, K. Cupurdija, G. Laskarin, **T. Bogovic**, V. Sotosek, LJ. Randic, E.R. Podack and D. Rukavina. Involment of Fas/Fas ligand mechanism in Th1 mediated cytolytic activity of peripheral blood lymphocytes of pregnant women. American Journal of Reproductive Immunology 2001;46(1):54.
 11. Rukavina D, **Bogovic T**, Laskarin G, Sotosek V, Juretic K, Cupurdija K, Dorcic D. Th1

- cytokines and LAK activity at the maternal-fetal interface. ASRI XXIInd Annual Meeting-Abstract Issue, Chicago, June 6-9, 2002; American Journal of Reproductive Immunology 2001;47(6):351-2.
12. Laskarin G, Strbo N, Sotosek-Tokmadzic V, **Bogovic-Crncic T**, Cupurdija K, Juretic K, Dorcic D, Dupor J, Randic Lj, Rukavina D, Podack ER. Interaction of progesterone and IL-15 in the regulation of perforin expression and cytolytic activity of decidual lymphocytes at the materno-fetal interface, 8th congress of AASIR, September 7-10, Weimar, Germany, Am J Reprod Immunol 2002;48:3,160. (CC)
 13. Strbo N, Laskarin G, Sotosek-Tokmadzic V, **Bogovic-Crncic T**, Cupurdija K, Juretic K, Dorcic D, Dupor J, Randic Lj, Rukavina D, Podack ER. Characterisation of antigen presenting cells in the human first trimester decidua, 8th congress of AASIR, September 7-10, Weimar, Germany, Am J Reprod Immunol 2002;48:3,160.(CC)
 14. Rukavina D, **Bogovic-Crncic T**, Sotosek V, Laskarin G, Strbo N, Juretic K, Cupurdija K, Tsuji Y, Koyama K. Physiological roles(s) of IL-15 and IL-18 at the maternal-fetal (M-F) interface, 8th congress of AASIR, September 7-10, Weimar, Germany, Am J Reprod Immunol 2002;48:3,139. (CC)
 15. **Bogovic Crncic T**, Strbo N, Laskarin G, Cupurdija K, Dorcic D, Juretic K, Dupor J, Sotosek Tokmadzic V, Vlastelic I, Randic L.J., Rukavina D. Decidual NK cells use FAS/FASL cytolytic pathway. American Journal of Reproductive Immunology 2004;51(6):37.
 16. Srsen S, Laškarin G, Dupor J, Juretić K, Štrbo N, Dorčić D, Čupurdija K, Sotošek-Tokmadžić V, **Bogović Crnčić T**, Haller H, Rupčić S, Randić Lj, Rukavina D. Phenotypic characteristics of leukocytes in ectopic pregnancy. Efis symposium and postgraduate course. Molecular and cellular interactions in chronic inflammatory autoimmune diseases. Belgrade, Serbia and Montenegro. August 29 – September 2, 2004.

17. **Bogović Crnčić T**, Štrbo N, Laškarin G, **Sotošek Tokmadžić V**, Čupurdija K, Juretić K, Dorčić D, Dupor J, Srsen S, Vlastelić I, Randić Lj and Rukavina D. Early pregnancy decidual lymphocytes lyse NK resistant targets by perforin and FAS/FASL cytolytic mechanisms. Efis symposium and postgraduate course. Molecular and cellular interactions in chronic inflammatory autoimmune diseases. Belgrade, Serbia and Montenegro. August 29 – September 2, 2004.
18. Laskarin G, Cupurdija K, Strbo N, Sotosek Tokmadzic V, Dorcic D, Dupor J, Juretic K, **Bogovic Crncic T**, Allavena P, Mantovani A, Randic Lj, Rukavina D. Expression and natural ligands for the mannose receptor at the materno-fetal interface. American Journal of Reproductive Immunology 2004;52(1):30.
19. G. Laškarin, N. Štrbo, V. Sotošek, **T. Bogović**, LJ. Randić, D. Rukavina. Progesterone induced blocking factor (PIBF) mediates immunosuppressive activity of progesterone at the interface. 1999 Annual Meeting of the Croatian Immunological Society, Zagreb, November 25, 1999.
20. **T. Bogović**, G. Laškarin, N. Štrbo, V. Sotošek, I. Vlastelić, Lj. Randić, ER. Podack, D. Rukavina. Decidual macrophages are involved in regulation of cytolytic activity of decidual lymphocytes. 1999 Annual Meeting of the Croatian Immunological Society, Zagreb, November 25, 1999.
21. N. Štrbo, G. Laškarin, V. Sotošek, **T. Bogović**, Lj. Randić, E.R. Podack, D. Rukavina. Effect of Th1 type cytokines (IL-2, IL-12, IL-15) on cytotoxic activity of decidual NK cells. 1999 Annual Meeting of the Croatian Immunological Society, Zagreb, November 25, 1999.
22. G. Laškarin, N. Štrbo, V. Sotošek, **T. Bogović**, K. Čupurdija, LJ. Randić, D. Rukavina. Progesterone and Progesterone Induced Blocking Factor (PIBF) regulate perforin expression and cytolytic activity of decidual lymphocytes. 1th Congress of the Croatian

- Physiological Society, Osijek - Croatia, September 14-16, 2000.
23. V. Sotošek, G. Laškarin, N. Štrbo, **T. Bogović**, Lj. Randić, I. Vlastelić, D. Rukavina. Macrophages secreted cytokines regulate perforin expression in the first trimester pregnancy decidua. 1th Congress of the Croatian Physiological Society, Osijek - Croatia, September 14-16, 2000.
24. G. Laškarin, V. Sotošek, **T. Bogović**, K. Čupurdija, Lj. Randić, D. Rukavina. Utjecaj progesterona i citokina na regulaciju citolitičke aktivnosti decidualnih limfocita. 2000 godišnji sastanak Hrvatskog imunološkog društva, Zagreb, 15. prosinca 2000.
25. V. Sotosek Tokmadzic, Y. Tsuji, **T. Bogovic**, G. Laskarin, K. Cupurdija, N. Strbo, Lj. Randic and D. Rukavina. The presence and role of interleukin-18 at maternal-fetal interface. Godišnji sastanak Hrvatskog imunološkog društva, Zagreb, 6. prosinca 2001.
26. G. Laskarin, V. Sotosek Tokmadzic, **T. Bogovic**, K. Cupurdija, I. Vlastelic, Lj. Randic and D. Rukavina. The presence and regulation of IL-15 protein expression in human first trimester pregnancy decidua. Godišnji sastanak Hrvatskog imunološkog društva, Zagreb, 6. prosinca 2001.
27. **T. Bogovic**, V. Sotosek Tokmadzic, G. Laskarin, K. Cupurdija, K. Juretic, D. Dorcic, Lj. Randic and D. Rukavina. The effects of short and long term Th1 cytokine stimulation on Fas/FasL mediated cytotoxicity of first term pregnancy peripheral blood lymphocytes. Godišnji sastanak Hrvatskog imunološkog društva, Zagreb, 6. prosinca 2001.
28. Dorotea D, Laškarin G, Štrbo N, Sotošek Tokmadžić V, **Bogović-Crnčić**, Čupurdija K, Juretić K, Randić Lj, Rukavina D. "Progesterone decreases perforin release from decidual NK cells in a close contact with K562 targets". Annual Meeting 2002. Croatian Immunological Society, Trakošćan, Croatia, November 22-24, 2002. Abstract book p 36.
29. Čupurdija K, Laškarin G, Štrbo N, Juretić K, Dorčić D, Dupor J, Sotošek-Tokmadžić V, **Bogović-Crnčić T**, Allavena P, Randić Lj, Vlastelić I, Rukavina D. Antigen presenting

cells from human first trimester pregnancy decidua express functional mannose receptor. Annual Meeting 2003. Croatian Immunological Society, Brijuni, Croatia, October 17-19, 2003. Abstract book p 12.

30. **Bogović-Crnčić T**, Štrbo N, Laškarin G, Čupurdija K, Dorčić D, Juretić K, Dupor J, Sotošek-Tokmadžić V, Vlastelić I, Randić Lj and Rukavina D. Molecular mechanisms involved in short term cytolytic activity of early pregnancy decidual NK cells. Annual Meeting 2003. Croatian Immunological Society, Brijuni, Croatia, October 17-19, 2003. Abstract book p 4.

31. **T. Bogović Crnčić**, D. Kustić, T. Štimac, I. Krištofić, K. Čosić, O. Kmet Planinac, I. Mrakovčić Šutić, A. Smokvina, S. Grbac-Ivanković. Thyrotropin values during normal pregnancy. Seventh International Congress of the Croatian Society of Nuclear medicine, Opatija, Croatia, May 15-18, 2011.

32. **T. Bogović Crnčić**, D. Kustić, T. Štimac, I. Krištofić, K. Čosić, O. Kmet Planinac, I. Mrakovčić Šutić, A. Smokvina, S. Grbac-Ivanković. Normal thyrotropin and thyroid hormones values in pregnant women. Annual Congress of the European Association of Nuclear Medicine, Birmingham, October 15-19, 2011.

3. STRUČNIRADOVI

a) stručni radovi u časopisu s recenzijom

b) stručne knjige

c) stručna kongresna priopćenja *in extenso*

d) sažeci i ostale stručne aktivnosti.

4. NASTAVNI TEKSTOVI

1. "Priručnik za vježbe iz fiziologije I.dio", Katedra za fiziologiju, imunologiju i patološku fiziologiju, Medicinski fakultet Rijeka, Sveučilište u Rijeci (ožujak 1999.)

2. "Priručnik za vježbe iz Fiziologije, Neurofiziologije i Imunologije", Katedra za fiziologiju, imunologiju i patološku fiziologiju, Medicinski fakultet Rijeka, Sveučilište u Rijeci (listopad 1999.)

5. OSTALO OBJAVLJENO

6. BROJ RADOVA CITIRANIH U CC: 8