

Značaj laboratorijske dijagnostike u bolesnika s Hashimotovom bolesti

Malenica, Iva

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split / Sveučilište u Splitu**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:176:136851>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-13**

Repository / Repozitorij:



Sveučilišni odjel zdravstvenih studija
SVEUČILIŠTE U SPLITU

[Repository of the University Department for Health Studies, University of Split](#)



UNIVERSITY OF SPLIT



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U SPLITU

Podružnica

SVEUČILIŠNI ODJEL ZDRAVSTVENIH STUDIJA
MEDICINSKO LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

Iva Malenica

**ZNAČAJ LABORATORIJSKE DIJAGNOSTIKE U
BOLESNIKA S HASHIMOTOVOM BOLESTI**

Završni rad

Split, 2023.

SVEUČILIŠTE U SPLITU

Podružnica

SVEUČILIŠNI ODJEL ZDRAVSTVENIH STUDIJA

PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ

MEDICINSKO LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

Iva Malenica

**ZNAČAJ LABORATORIJSKE DIJAGNOSTIKE U
BOLESNIKA S HASHIMOTOVOM BOLESTI
SIGNIFICANCE OF LABORATORY DIAGNOSTICS IN
PATIENTS WITH HASHIMOTO'S DISEASE**

Završni rad/Bachelor's Thesis

Mentor:

Doc. dr. sc. Daniela Šupe-Domić

Split, 2023.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

ZAVRŠNI RAD

Sveučilište u Splitu
Sveučilišni odjel zdravstvenih studija
Medicinsko laboratorijska dijagnostika

Znanstveno područje: Biomedicina i zdravstvo
Znanstveno polje: Kliničke medicinske znanosti

Mentor: doc.dr.sc. Daniela Šupe-Domić

ZNAČAJ LABORATORIJSKE DIJAGNOSTIKE U BOLESNIKA S HASHIMOTOVOM BOLESTI

Iva Malenica

Sažetak: Cilj ovog rada je prikazati ulogu i važnost laboratorijske dijagnostike u pacijenata koji boluju od autoimune bolesti Hashimotovog tireoiditisa. Ova dijagnostika je temelj kako za postavljanje dijagnoze, tako i za praćenje i prognozu ove bolesti, a uz neke druge metode poput ultrazvuka omogućuje također sigurne i pouzdane rezultate. Rad se prvo bavi opisivanjem organa štitne žlijezde i objašnjava kakva je to bolest Hashimotov tireoiditis te time uvodi u važnost same tematike rada. Za dijagnostiku su napravljeni biokemijski testovi na koncentracije najvažnijih hormona štitne žlijezde, hormona TSH, T₄, fT₄, T₃ i fT₃. Mjerene su na uređaju Roche cobas e 800 metodom elektrokemiluminiscentnim imunoesejem „ECLIA”. Količina antitijela protiv tireoglobulina (anti-Tg) i antitijela protiv tireoidne peroksidaze (TPO) mjerene su na uređaju Abbott-Alinity kemiluminiscentnom imunokemijskom metodom „CMIA”. Također je provedeno određivanje alela lokusa HLA-B i HLA-DRB1 molekularnom metodom PCR-SSO (Polymerase chain reaction sequence-specific oligonucleotide) na Luminex® aparatu. U svrhu tipizacije pacijenta kako bi se odredila potencijalna genetska podloga bolesti. Rezultati su pokazali izrazito visoke koncentracije antitijela protiv tireoglobulina (anti-Tg) i antitijela protiv tireoidne peroksidaze (TPO), ali rezultati tipizacije nisu ukazali na genetsku predispoziciju bolesti kod ovog pacijenta.

Ključne riječi: štitna žlijezda, hormoni štitnjače, Hashimotova bolest, laboratorijska dijagnostika
Rad sadrži: 44 stranice, 7 slika, 1 tablicu, 17 literaturnih referenci
Jezik izvornika: hrvatski

BASIC DOCUMENTATION CARD

BACHELOR'S THESIS

**University of Split
University Department for Health Studies**

**Scientific area: Biomedicine and health
Scientific field: Clinical medical sciences**

Significance of laboratory diagnosis in patients with Hashimoto's disease

Iva Malenica

Summary: The aim of this paper is to show the role and importance of laboratory diagnostics in patients suffering from the autoimmune disease Hashimoto's thyroiditis. This diagnostic is the basis for establishing a diagnosis, as well as for monitoring and prognosis of this disease, and along with some other methods such as ultrasound, it also provides safe and reliable results. The paper first deals with describing the organs of the thyroid gland and explains what kind of disease Hashimoto's thyroiditis is, thereby introducing the importance of the topic of the paper itself. For diagnosis, biochemical tests were performed on the concentrations of the most important thyroid hormones, TSH, T4, fT4, T3 and fT3. They were measured on a Roche cobas e 800 device using the "ECLIA" electrochemiluminescent immunoassay method. The amount of antibodies against thyroglobulin (anti-Tg) and antibodies against thyroid peroxidase (TPO) were measured on an Abbott-Alinity device using the chemiluminescent immunochemical method "CMIA". The alleles of the HLA-B and HLA-DRB1 loci were also determined by the molecular method PCR-SSO (Polymerase chain reaction sequence-specific oligonucleotide) on a Luminex® device. For the purpose of typing the patient in order to determine the potential genetic basis of the disease. The results showed extremely high concentrations of antibodies against thyroglobulin (anti-Tg) and antibodies against thyroid peroxidase (TPO), but the typing results did not indicate a genetic predisposition to the disease in this patient.

Key words: thyroid gland, thyroid hormones, Hashimoto's disease, laboratory diagnostics
Thesis contains: 44 pages, 7 pictures, 1 table, 17 literature references
Original in: Croatian

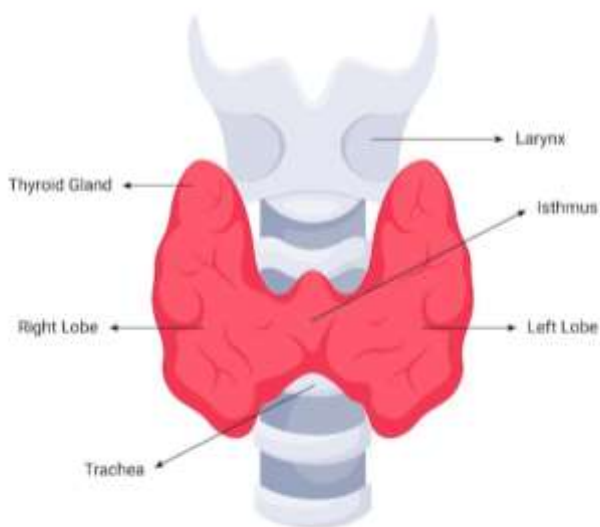
SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. ANATOMIJA ŠTITNE ŽLIJEZDE.....	1
1.2. HISTOLOGIJA ŠTITNE ŽLIJEZDE.....	4
1.2.2. Sinteza i nakupljanje hormona djelovanjem folikularnih stanica.....	6
1.2.3. Otpuštanje T ₃ i T ₄	6
1.3. HASHIMOTOV TIREOIDITIS	7
1.3.1. Otkriće Hashimotovog tireoiditisa	8
1.3.2. Testovi	10
1.3.3. Algoritam biokemijskih testova	12
1.3.4. Praćenje i liječenje Hashimota	17
1.4. KARAKTERISTIKE HLA SUSTAVA	18
1.4.1. Genska karta HLA regije.....	18
1.4.2. Nasljeđivanje HLA.....	21
1.4.3. Geni HLA i bolesti	22
2. CILJ RADA	24
3. MATERIJALI I METODE.....	25
3.1. PREDANALITIČKI ČIMBENICI.....	25
3.2. ODREĐIVANJE ALELA HLA-LOKUSA METODOM PCR-SSO.....	28
4. REZULTATI.....	32
5. RASPRAVA.....	35
6. ZAKLJUČAK	36
7. LITERATURA	37
8. ŽIVOTOPIS	39

1. UVOD

1.1. ANATOMIJA ŠTITNE ŽLIJEZDE

Štitnjača leži na prednjoj strani vrata uz dušnik i grkljan. Njezini bočni dijelovi jače su razvijeni i označeni kao desni i lijevi režanj, *lobus dexter* i *sinister*, a spaja ih srednji, uski dio žlijezde koji se naziva istmus. ¹



Slika 1. Anatomija štitnjače

Izvor: https://www.freepik.com/premium-vector/anatomy-thyroid-human-organ-illustration-organ-details-concept_34553224.htm

Režnjevi su izduženi u vertikalnom smjeru. Naslanjaju se na bočne strane gornje trećine dušnika i susjednoga dijela grkljana. Istmus je poprečni, spojni dio žlijezde, koji leži bliže donjim krajevima režnjeva. Može biti razvijen veoma različito, a nekada potpuno manjka. Gledana od sprijeda, štitna žlijezda ima oblik slova H, a na vodoravnom presjeku u

visini istmusa donekle je slična potkovi. Njezina je površina neravna. Štitnjača je jedan od najbolje opskrbljenih organa krvnim žilama. Ona je mekana i ima smeđe crvenu boju. U žena je neznatno veća nego kod muškaraca, a prosječna joj masa iznosi 30 g. Štitna žlijezda ima dvije ovojnice. Među njima je tijesan prostor, odnosno procijep koji olakšava izoliranje žlijezde pri operativnim zahvatima. U tom se procijepu nalaze ogranci žila koje opskrbljuju štitnu žlijezdu, a na stražnjoj su strani tu smještene i epitelna tjelešca. Posredstvom vanjske ovojnice štitna žlijezda se čvrsto drži dušnika i grkljana te prati kretanje tih organa, npr. dizanje i spuštanje kod gutanja. Unutarnja ovojnica je tanka vezivna čahura koja je prirasla izravno uz parenhim žlijezde.¹ Ona u dubinu stvara pregrade koje parenhim dijele u režnjiće. Štitna žlijezda ima dakle lobularni sastav. Među folikulima se nalazi vezivno tkivo, a svaki za sebe je okružen gustom mrežom krvnih kapilara. Stijenku folikula čini jedan sloj kubičnih stanica, a unutrašnjost im je ispunjena prozračnom bjelanjčevinastom izlučevinom tih stanica koja se naziva koloid. U koloidu su deponirani hormoni štitne žlijezde, **tiroksin** i **trijod-tironin**. Prema potrebama organizma, pod utjecajem tireotropnog hormona hipofize, epitel folikula resorbira koloid i hormone predaje krvi u okolnim kapilarama. Funkcija štitne žlijezde ima veliko značenje ne samo u toku razvoja nego i u odraslih individua. Poremećaje funkcije prati povećanje štitne žlijezde ili struma (guša).

Štitna se žlijezda počinje razvijati na dnu usne šupljine urastanjem površnog epitela u dubinu. To mjesto trajno označava *foramen caecum* na sluznici jezika. Nastaje dugački tračak stanica, *ductus thyreoglossus*, koji je usmjeren kaudalno. Iz pojedinih dijelova duktusa tireoglossusa mogu nastati i dodatne štitne žlijezde u području između korijena jezika i istmusa. Ocijepljeni dijelovi osnove izuzetno se spuštaju i niže, pa se dodatne žlijezde nalaze i kaudalno od normalne, sve do luka aorte. Praktična važnost dodatnih žlijezda je u tome što iz njih mogu nastati strume i ciste.²

S obzirom na čestu pojavu strume, tj. bolesnog povećanja štitne žlijezde, od velikog je značenja poznavati njezine sintopske odnose. Istmus leži na prednjoj strani dušnika u visini 2. do 4. trahealne hrskavice. Anterolateralna površina režnjeva naslanja se na infrahioidne mišiće. Svojom medijalnom površinom režnjevi su u odnosu s gornjom trećinom dušnika i donjim dijelom grkljana, a više dorzalno sa ždrijelom i jednjakom. U brazdi između dušnika

i jednaka penje se obostrano *n. laryngeus recurrens* do grkljana, ukrštajući se pri tome s donjom tireoidnom arterijom bilo sa stražnje strane, bilo sprijeda, ili pak prolazi između njezinih grana. Taj se živac također nalazi u blizini medijalne površine reznjeva štitne žlijezde. Uz njihovu posterolateralnu površinu stoji neurovaskularni snop vrata, koji tvore *a. carotis communis*, *v. jugularis interna* i *n. vagus*. Posterolateralna površina prelazi u medijalnu preko stražnjega ruba reznja koji se nalazi u blizini kralješnice i trunkusa simpatikusa. Na tom rubu leže gornja i donja epitelna tjelešca u području odgovarajućih polova desnog i lijevog reznja. Epitelna su tjelešca smještena između vanjske i unutarnje ovojnice štitne žlijezde.²

Pri povećanju štitnjače infrahioidni se mišići isprva opiru njezinu izbočivanju prema naprijed. Zato ona raste više u stražnjem dijelu i prema dolje, ulazeći katkad i u grudnu šupljinu. Povećana štitna žlijezda stisne dušnik i jednjak, disanje postaje otežano, dolazi do opasnosti od ugušenja, a javljaju se i smetnje pri gutanju. Neurovaskularni snop vrata bude potisnut lateralno. Velike se strume izbočuju prema naprijed, zbog čega se infrahioidni mišići razvuku i jako stanje. Kod operacije štitne žlijezde prijeko je potrebno, zbog velike funkcionalne važnosti, sačuvati epitelna tjelešca i *n. laryngeus recurrens*.²

1.2. HISTOLOGIJA ŠTITNE ŽLIJEZDE

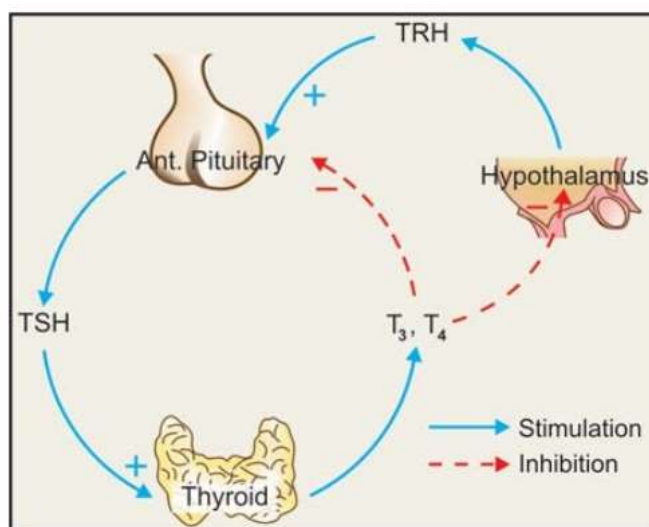
Štitna žlijezda (lat. *glandula thyroidea*) nastaje tijekom ranog embrionalnog razvoja od endoderma kranijalnog dijela probavne cijevi. Njezina je funkcija sinteza hormona tiroksina (T_4) i trijodtironina (T_3), koji pospješuju metabolizam.³

Tkivo štitne žlijezde izgrađuju folikuli, okrugli mjehurići koje oblaže jednoslojni epitel, a u lumenu sadržavaju želatinoznu tvar koloid. Folikuli su različito veliki, a folikularne stanice mogu biti pločaste, kubične ili niske cilindrične. Pregrade koje sežu u unutrašnjost parenhima postepeno se stanjuju i dosežu do svih folikula, obavijajući ih nježnim, neformiranim vezivnim tkivom, izgrađenim pretežno od retikulinskih vlakana. Gusta mreža krvnih i limfnih kapilara okružuje svaki folikul. Kao i u drugim endokrinim žlijezdama, endotelne stanice kapilara su fenestrirane, što olakšava prelaženje hormona u krvni optok. Glavni regulator anatomskog i funkcionalnog stanja štitne žlijezde je hormon koji stimulira štitnu žlijezdu (**TSH** ili **tireotropin**), a izlučuje se u prednjem režnju hipofize. Tireotropin potiče sintezu hormona štitne žlijezde i izaziva značajan porast visine folikularnog epitela te smanjenje folikula i količine koloida u njima. Stanična membrana bazalnih dijelova folikularnih stanica bogata je receptorima za tireotropin. Po svojoj ultrastrukturi stanice folikularnog epitela pokazuju sve značajke stanica koje istodobno sintetiziraju, izlučuju, apsorbiraju i razgrađuju bjelančevine. Posebna vrsta stanica u štitnoj žlijezdi jesu parafolikularne ili C-stanice, koje mogu biti uključene u folikularni epitel ili čine odvojene nakupine između folikula. Parafolikularne stanice su nešto veće i slabije obojene od folikularnih stanica. Najizrazitija značajka tih stanica su brojna malena (100-180 nm) zrnca koja izlučuju kalcitonin, hormon čiji je glavni učinak sniženje razine kalcija u krvi zbog inhibicije resorpcije kosti. Poticaj za izlučivanje kalcitonina je povišenje koncentracije kalcija u krvi.^{4,5}

1.2.1. Sinteza i sekrecija hormona štitnjače

Štitna žlijezda jedina je endokrina žlijezda u kojoj se pohranjuje velika količina proizvoda sekrecije. To nakupljanje je neobično i po tome što se obavlja u izvanstaničnom koloidu. U folikulima čovjeka ima dovoljno hormona za opskrbu organizma do tri mjeseca. Koloid štitne žlijezde sastoji se od glikoproteina (tireoglobulina) velike molekularne mase (660 kDa).

U organizmu se mehanizmom kontrole aktivnosti folikularnih stanica štitne žlijezde održava potrebna količina tiroksina (T_3) i trijod-tironina (T_4). Izlučivanje TSH povećava se izlaganjem hladnoći, a smanjuje toplinom i stresnim poticajima.^{4,5}



Slika 2. Regulacija štitnjače uključuje složeni mehanizam povratne sprege između hipotalamusa, hipofize i same štitnjače. Prvo, **hipotalamus** osjeća nivo hormona T_3 i T_4 u krvi. Ako su nivoi ovih hormona preniski, hipotalamus oslobađa hormon koji se naziva "liberirajući hormon tireotropina" (TRH). Drugo, TRH prenosi do **hipofize**. Pod utjecajem TRH-a, hipofiza otpušta hormon tireotropin (TSH) u krvotok. I treće, TSH prenosi do **štitnjače** i potiče je da proizvede više hormona T_3 i T_4 . Kada su nivoi T_3 i T_4 dovoljno visoki,

oni negativno utječu na hipotalamus i hipofizu, smanjujući lučenje TRH-a i TSH-a. Ovo je mehanizam povratne sprege koji pomaže održavanju stabilnih nivoa hormona štitnjače.

Izvor: <https://www.pharmacy180.com/article/regulation-of-secretion-of-thyroid-hormone-1034/>

1.2.2. Sinteza i nakupljanje hormona djelovanjem folikularnih stanica

Proces sinteze obavlja se u četiri faze: sinteza tireoglobulina, unošenje jodida iz krvi, aktiviranje jodida i jodiranje tirozinskih ostataka tireoglobulina.

1. Sinteza tireoglobulina zbiva se kao i u drugim stanicama koje izlučuju bjelančevine. Ukratko, sekrecijski ciklus sastoji se od sinteze bjelančevina u hrapavoj endoplazmatskoj mrežici, dodavanja ugljikohidrata u endoplazmatskoj mrežici i Golgijevu kompleksu i oslobađanja gotovog proizvoda iz sekretnih mjehurića u lumen folikula na apikalnoj površini stanice.
2. Unošenje jodida iz krvi vrše folikularne stanice s pomoću membranskoga proteinskog nosača. Taj protein istodobno prenosi dvije molekule - natrij jodid, pa je nazvan natrij-jodni sunosač (engl. *symporter*). Smješten je na bazolateralnom dijelu stanične membrane folikularnih stanica. Jod ima važnu ulogu u kontroli funkcije štitne žlijezde. Zbog niske razine joda povećava se količina natrij-jodnog sunosača koji povećanim unosom joda nadoknađuje njegovu nisku serumsku koncentraciju.
3. Jodid se oksidira djelovanjem peroksidaze i prenosi u šupljinu folikula ionskim nosačem nazvanim pendrin.
4. U koloidu se jodiraju tirozinski ostaci vezani na tireoglobulin, što katalizira peroksidaza. Tako nastali T_3 i T_4 postaju dio velike molekule tireoglobulina.⁶

1.2.3. Otpuštanje T_3 i T_4

Na poticaj tireotropina (TSH) folikularne stanice štitne žlijezde endocitozom unose u sebe koloid, koji se unutar endocitotskih mjehurića razgrađuje lizosomskim enzimima. Peptidne veze između jodiranih ostataka i tireoglobulinskih molekula prekinu se djelovanjem proteaza u lizosomima, a dijod-tirozin (DIT) i monojod-tirozin (MIT) oslobađaju se u

citoplazmu. Slobodni tada prolaze kroz bazolateralni dio stanične membrane i otpuštaju se u kapilare. MIT i DIT se ne izlučuju u krv jer se njihov jod u stanici uklanja djelovanjem jodotirozin dehalogenaze. Proizvodi te enzimske reakcije, jod i tirozin, ponovno se upotrebljavaju u folikularnim stanicama. Po količinskom udjelu T₄ prevladava i čini 90% hormona štitne žlijezde u krvi, ali T₃ djeluje brže i snažnije nego T₄. Tiroksin stimulira disanje i oksidativnu fosforilaciju u mitohondrijima, što znači da ovisi o sintezi mRNA. T₃ i T₄ povećavaju broj mitohondrija i njihovih grebena. Sinteza mitohondrijskih bjelančevina se povećava, a razgradnja im se smanjuje. Većina učinaka hormona štitne žlijezde posljedica je njihova djelovanja na bazalni metabolizam: oni povećavaju apsorpciju ugljikohidrata iz crijeva i reguliraju metabolizam lipida. Hormoni štitne žlijezde utječu i na rast tijela i razvoj živčanog sustava tijekom fetalnog života.⁷

1.3. HASHIMOTOV TIREOIDITIS

Hashimotov tireoiditis, poznat i kao kronični limfocitni tireoiditis, autoimuni je poremećaj koji zahvaća štitnjaču. To je najčešći uzrok hipotireoze, odnosno kada štitnjača ne radi dovoljno i ne proizvodi dovoljno hormona. Hashimotov tireoiditis nastaje kada imunološki sustav tijela pogrešno napadne štitnjaču, što uzrokuje upalu i oštećenja tijekom vremena. U većem broju slučajeva događa se kod žena nego kod muškaraca te se često razvija kod osoba srednje životne dobi. Simptomi Hashimotovog tireoiditisa mogu biti vrlo različiti i mogu uključivati umor, debljanje, netoleranciju na hladnoću, gubitak kose i depresiju. Iako ne postoji lijek za Hashimotov tireoiditis, liječenje obično uključuje hormonsku nadomjesnu terapiju za kontrolu simptoma i sprječavanje komplikacija.

Laboratorijska pretraga važna je komponenta u dijagnosticiranju Hashimotovog tireoiditisa. Test krvi može mjeriti razine hormona štitnjače, uključujući TSH (hormon koji stimulira štitnjaču), T₄ (tiroksin) i T₃ (trijodtironin). U Hashimotovom tireoiditisu, razine TSH su obično visoke, dok razine T₄ i T₃ mogu biti normalne ili niske. Osim toga, test krvi može mjeriti prisutnost protutijela koja napadaju štitnjaču, uključujući protutijela na

peroksidazu štitnjače (TPOAb) i protutijela na tireoglobulin (TgAb). Povišene razine ovih protutijela česte su kod Hashimotova tireoiditisa, što ukazuje na autoimuni proces. Ultrazvučni prikaz štitnjače također se može koristiti za procjenu veličine i izgleda žlijezde, kao i prisutnost čvorova ili drugih abnormalnosti. Zajedno, laboratorijsko testiranje i slikovne studije mogu pomoći u dijagnosticiranju Hashimotovog tireoiditisa i praćenju stanja tijekom vremena. Važno je surađivati s pružateljem zdravstvenih usluga kako bi se protumačili rezultati ispitivanja i izradio odgovarajući plan liječenja.

Učestalost Hashimotovog tireoiditisa može varirati ovisno o zemljopisnom položaju i drugim čimbenicima. Na primjer, stanje je češće u regijama s visokim unosom joda, poput Japana, nego u regijama s nižim unosom joda, poput Sjedinjenih Država. Rana dijagnoza i liječenje mogu pomoći u upravljanju stanjem i spriječiti komplikacije.

1.3.1. Otkriće Hashimotovog tireoiditisa

Dr. Hakaru Hashimoto (Slika 3), rođen 5. svibnja 1881., bio je sin ugledne obitelji koja se generacijama bavila medicinom u Iga Ueno, Japan. Bio je jedan od prvih diplomanata koji je stekao diplomu prvostupnika na Medicinskom koledžu Fukuoka Carskog sveučilišta u Kyotu 1907. godine. Hakaru Hashimoto je dobio tutorstvo i obuku od profesora Miyakea s Odsjeka za kirurgiju Medicinskog koledža Fukuoka. Profesor Miyake također je uputio dr. Hashimoto u tehniku mikroskopske procjene izrezane štitnjače. Godine 1912., u dobi od 30 godina, Hakaru Hashimoto izvijestio je o jasnoj novoj bolesti u 'Archiv für Klinische Chirurgie', njemačkom časopisu kliničke kirurgije. Njegov rad usredotočen na histološke promjene u tkivu štitnjače, raspravljao je o rezultatima njegovog ispitivanja uzoraka tkiva štitnjače uzetih od četiri žene. Hakaru Hashimoto dalje je u svom izvješću objasnio da su nove patološke karakteristike koje je identificirao zapravo infiltracija limfoidnih i plazma stanica, stvaranje limfoidnih folikula sa germinativnim centrima, fibroza, degenerirane epitelne stanice štitnjače i leukociti u lumenu, bile histološki slične onima kod Mikuliczove bolesti. Izrazio je uvjerenje da je otkrio novu bolest koju je nazvao "struma lymphomatosa", ističući infiltraciju limfnih stanica i stvaranje limfoidnih folikula s germinativnim centrima, o čemu dosad nije bilo riječi.⁸



Slika 3. Portret dr. Hakarua Hashimota u 31. godini.

Izvor: https://www.researchgate.net/figure/Hakaru-Hashimoto-in-1912-Courtesy-of-Dr-Hiroshi-Sato-Kyushu-University_fig1_261613484

Nakon objavljivanja svog rada, dr. Hashimoto je studirao patologiju na Sveučilištu Göttingen, gdje je dvije godine istraživao bubrežnu tuberkulozu. U Japan se vratio po izbijanju Prvog svjetskog rata 1914. Godine 1916. preuzeo je obiteljsku praksu u svom rodnom gradu. Budući da je diplomirao na Carskom sveučilištu i usavršavao se u inozemstvu, njegov se ugled brzo proširio zemljom. Umro je od trbušnog tifusa 9. siječnja 1934. u dobi od 52 godine, nažalost ne dobivši zasluženo priznanje za svoje otkriće koje će kasnije biti nazvano **Hashimotova bolest**.⁸

Usprkos različitim kliničkim manifestacijama, Hashimotov limfomatozni tireoiditis nije bio prepoznat kao različit od Riedelovog tireoiditisa, u to vrijeme uobičajene bolesti u Europi. Iako su znanstvenici objavili slučajeve slične Hashimotovom opisu, njemačka je škola ustvrdila da je Hashimotova *struma lymphomatosa* bila rana faza Riedelovog tireoiditisa. Hashimotova *struma lymphomatosa* tada je zanemarena i zaboravljena sve do 1931., kada je Allen Graham, dr. iz Clevelanda, izvijestio da je *struma lymphomatosa* upravo

kako je detaljno opisao Hakaru Hashimoto i podržao Hashimotov zaključak da je to samo po sebi bolest. Od tada se ova bolest naziva eponimom Hashimotov tireoiditis.⁹

Godine 1956. pokazalo se da je imunizacija kunića ekstraktima zečje štitnjače proizvela histološke promjene u štitnjačama koje nalikuju onima viđenim kod HT-a. Također su pronašli antitijela protiv tireoglobulina u serumima ovih životinja. Iste godine pročišćeno je antitijelo protiv tireoglobulina iz seruma pacijenata s HT-om i ustvrđeno je da pacijenti s HT-om imaju imunološku reakciju na ljudski tireoglobulin. Predloženo je i da je Hashimotova struma autoimuna bolest štitnjače. Nakon ovih otkrića uspostavljen je koncept organ-specifične autoimune bolesti i HT je prepoznat kao jedna od takvih bolesti. Od otkrića da je Hashimotova bolest autoimuni poremećaj, autoimune abnormalnosti pronađene su u mnogim drugim bolestima. Danas je otkriveno da su veliki broj bolesti autoimuni poremećaji i identificirano je nekoliko autoantitijela specifičnih za štitnjaču. Protutijela protiv tiroidne peroksidaze (TPOAb) prisutna su u 10% žena u općoj populaciji. Bezbolni tireoiditis i postpartalni tireoiditis često se razvijaju u bolesnika s HT.⁸

1.3.2. Testovi

Laboratorijska dijagnostika Hashimotovog tireoiditisa (Hashimotova bolest) obuhvaća različite testove koji se koriste za potvrdu ili isključenje ove autoimune bolesti štitnjače. Hashimotova bolest je stanje u kojem imunološki sustav tijela napada štitnjaču, što može dovesti do smanjenja proizvodnje hormona štitnjače (hipotireoza). Evo nekoliko laboratorijskih testova koji se koriste za dijagnostiku Hashimotove bolesti:¹⁰

1. Testovi štitnjače:

TSH (tiroidno stimulirajući hormon): Visoke razine TSH ukazuju na nedovoljno funkcioniranje štitnjače i mogu sugerirati Hashimotovu bolest. Obzirom da TSH stimulira štitnjaču da proizvodi hormone T₃ i T₄, upravo visoka razina TSH ukazuje na to da štitnjača ne proizvodi dovoljno hormona.

T₄ (tiroksin) i T₃ (trijodtironin): Ti hormoni su proizvedeni od strane štitnjače i njihove razine u krvi mogu pomoći u procjeni funkcije štitnjače. Niske razine T₃ i T₄ mogu ukazivati na hipotireozu povezanu s Hashimotovom bolešću.

Kako bi se dijagnoza postavila, određuju se koncentracije TSH i T₄ u uzorku seruma pacijenta. U početnim fazama razvoja bolesti TSH je većinski blago povišen, dok je fT₄ unutar referentnih intervala ili blago snižen. Progresijom bolesti koncentracija TSH raste, a fT₄ opada.

2. Testovi antitijela:

Anti-TPO antitijela (antitijela protiv peroksidaze štitnjače): Visoke razine ovih antitijela ukazuju na autoimuni napad na štitnjaču i često se povezuju s Hashimotovom bolešću. Anti-TPO antitijela ciljaju enzim peroksidazu štitnjače, koji je ključan u proizvodnji hormona štitnjače.

Anti-Tg antitijela (antitijela protiv tireoglobulina): Također su povezana s autoimunim napadom na štitnjaču i mogu biti prisutna kod Hashimotove bolesti.

Važno je napomenuti da samo prisutnost antitijela (Anti-TPO i Anti-Tg) ne znači uvijek da osoba ima simptome ili hipotireozu. Neki ljudi s pozitivnim antitijelima mogu imati normalne razine hormona štitnjače i ne osjećaju simptome. U takvim slučajevima, liječnik će pratiti pacijenta kroz redovite preglede kako bi pravilno dijagnosticirao i upravljao stanjem. Određivanje ovih antitijela služi kao potvrda dijagnoze HT-a.

3. Ultrazvuk štitnjače:

Ultrazvučni pregled štitnjače može pružiti slike same štitnjače te ukazati na prisutnost karakterističnih promjena, kao što su povećana veličina štitnjače (gušavost) i strukturne promjene koje su česte kod Hashimotove bolesti. Ova metoda je vrlo korisna u početnim stadijima bolesti kada su antitijela štitnjače (TgAt i TPOAt) još uvijek negativna.

Konačna dijagnoza temelji se na kombinaciji kliničke slike, laboratorijskih testova i potrebnih pretraga. Samo licencirani zdravstveni stručnjak može pravilno tumačiti rezultate testova i postaviti dijagnozu.

1.3.3. Algoritam biokemijskih testova

Postoje dvije vrste testova za procjenu ovih hormona: testiranje ukupnih T₃ i T₄ te testiranje slobodnih T₃ i T₄.

1. Ukupni T₃ (TT₃) i ukupni T₄ (TT₄): Ovi testovi mjere ukupne razine T₃ i T₄ u krvi, uključujući i hormone koji su vezani za proteine u krvi. Većina hormona T₃ i T₄ u krvi vezana je za proteine, dok je samo mali dio hormona "slobodan" i biološki aktivan. Testiranje ukupnih T₃ i T₄ korisno je kao početni pregled funkcije štitnjače, ali ne odražava uvijek precizno biološku aktivnost tih hormona.
2. Slobodni T₃ (fT₃) i slobodni T₄ (fT₄): Ovi testovi mjere koncentraciju slobodnih, nevezanih oblika hormona T₃ i T₄ u krvi. Slobodni hormoni su oni koji su dostupni za vezivanje na receptore na stanicama tijela i imaju biološki učinak. Testiranje slobodnih T₃ i T₄ često se smatra preciznijim pokazateljima stvarne funkcije štitnjače jer mjeri aktivne hormone.

Interpretacija rezultata ovih testova ovisi o mnogim čimbenicima, uključujući pacijentove simptome, referentni raspon vrijednosti laboratorija i eventualne druge dijagnostičke informacije. Povišene razine T₃ i T₄ mogu ukazivati na hipertireozu, dok smanjene razine mogu ukazivati na hipotireozu. Međutim, važno je uzeti u obzir cijelu kliničku sliku pri interpretaciji rezultata.

Testiranje TSH (tiroidni stimulirajući hormon) često je prvi korak u procjeni funkcije štitnjače iz nekoliko razloga:

1. Osjetljivost na poremećaje funkcije štitnjače: TSH je hormon kojeg luči hipofiza, a njegova glavna funkcija je stimulirati štitnjaču da proizvodi hormone T₃ i T₄. Kada štitnjača ne proizvodi dovoljno hormona (hipotireoza), razina TSH-a obično raste jer hipofiza pokušava kompenzirati nedostatak hormona štitnjače. S druge strane, ako štitnjača proizvodi previše hormona (hipertireoza), razina TSH-a obično se smanjuje jer hipofiza smanjuje svoju proizvodnju kako bi usporila proizvodnju hormona štitnjače.

2. Jednostavnost testiranja: TSH je relativno jednostavan test koji se može brzo izvesti u laboratoriju. Rezultati TSH testa mogu brzo pružiti inicijalne informacije o funkciji štitnjače.
3. Orijehtacija daljnjih testiranja: Rezultati TSH testa mogu pomoći liječnicima da se orijentiraju prema drugim potrebnim testovima. Na primjer, ako je TSH povišen, to može ukazivati na hipotireozu, što će dalje potaknuti potrebu za testiranjem hormona T_3 i T_4 te provođenjem drugih dijagnostičkih koraka.
4. Praktičnost praćenja liječenja: Ako pacijent već prima liječenje za poremećaje štitnjače (npr. hipotireoza), praćenje razine TSH-a može pomoći u procjeni učinkovitosti terapije. Promjene u razini TSH-a mogu ukazivati na potrebu za prilagodbom doze lijekova.

U suštini, TSH test je važan početni korak u dijagnosticiranju poremećaja funkcije štitnjače i donošenju odluka o daljnjem testiranju i liječenju.

Testiranje slobodnog T_4 (fT_4) često slijedi testiranje TSH-a pri procjeni funkcije štitnjače iz nekoliko razloga:

1. Razina hormona T_4 u krvi: Hormon T_4 proizvodi se u većoj količini od hormona T_3 i štitnjača ga oslobađa u većim količinama. Stoga je fT_4 često koristan pokazatelj općeg stanja štitnjače, a njegova razina može pružiti korisne informacije o aktivnosti štitnjače.
2. Konverzija hormona: Većina hormona T_3 nastaje konverzijom hormona T_4 u perifernim tkivima. Budući da većina tkiva u tijelu zahtijeva hormon T_3 kako bi obavljala svoje funkcije, razina fT_4 može indirektno odražavati opskrbu tijela hormonom T_3 .
3. Relativna stabilnost: Razina fT_4 obično je stabilnija od razine fT_3 u krvi, što znači da se manje fluktuiraju tijekom kratkog vremenskog razdoblja. To olakšava praćenje funkcije štitnjače tijekom vremena i praćenje terapije, ako je primjenjivo.

4. Odnos između fT_4 i fT_3 : Iako je hormon T_3 biološki aktivniji, razina fT_4 može dati uvid u opću proizvodnju hormona štitnjače. Osim toga, promjene u razini fT_4 mogu ukazivati na određene poremećaje, uključujući subkliničku hipotireozu ili hipertireozu.

Iako je testiranje slobodnog T_3 (fT_3) također važno za potpunu procjenu funkcije štitnjače, fT_4 se često koristi kao inicijalni pokazatelj jer daje bolji uvid u ukupnu proizvodnju hormona štitnjače i konverziju u hormon T_3 .

Postoji nekoliko razloga zašto razina slobodnog T_3 (fT_3) može ostati unutar normalnih vrijednosti usprkos prisutnosti bolesti štitnjače ili drugih stanja:

1. Kompenzacijski mehanizmi: Tijelo ima sposobnost kompenzirati poremećaje u funkciji štitnjače kako bi održalo osnovne metaboličke funkcije. Kada je razina fT_4 niska (što se često događa u hipotireozu), tijelo može povećati konverziju fT_4 u fT_3 kako bi održalo osnovne metaboličke funkcije. To može rezultirati normalnim ili blago sniženim razinama fT_3 , iako postoji disfunkcija štitnjače.
2. Individualne razlike: Svaka osoba može imati različite osjetljivosti na promjene u hormonima štitnjače. Normalne rasponi fT_3 mogu varirati među pojedincima, tako da osoba može imati funkcionalni poremećaj štitnjače dok još uvijek održava normalne razine fT_3 .
3. Subklinički poremećaji: Subklinički hipotireoza ili hipertireoza su stanja u kojima razina TSH-a može biti izvan normalnog raspona, ali razina fT_4 i fT_3 ostaje unutar referentnih vrijednosti. Ovo stanje može ukazivati na rani stadij poremećaja štitnjače i može se pratiti kako bi se spriječilo pogoršanje.
4. Variranje tijekom dana: Razine hormona štitnjače mogu varirati tijekom dana, pa se uzimanje uzoraka krvi u različito vrijeme može rezultirati različitim vrijednostima.

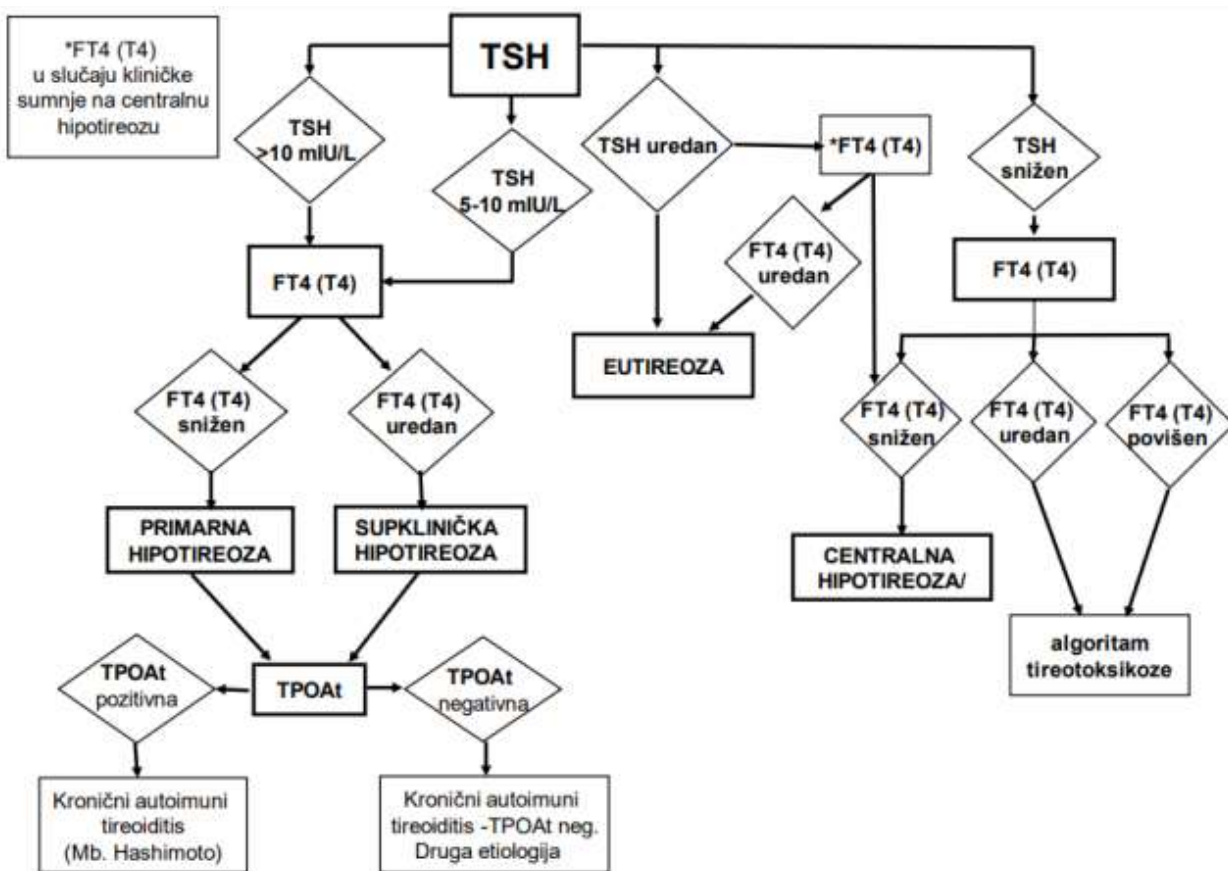
Testiranje na anti-TPO antitijela provodi se kako bi se otkrila prisutnost antitijela usmjerenih protiv enzima štitnjače peroksidaze (TPO) u krvi. Uobičajeni slučajevi kada se radi test na anti-TPO antitijela uključuju:

1. Sumnja na autoimuni tireoiditis: Ako osoba ima simptome hipotireoze (umor, debljanje, suha koža, usporen rad srca itd.) ili ako ima povećanu štitnjaču (gušavost), testiranje na anti-TPO antitijela može pomoći u potvrđivanju prisutnosti autoimunog tireoiditisa kao uzroka.
2. Praćenje tijeka bolesti: Kod osoba koje su već dijagnosticirane s autoimunim bolestima štitnjače, poput Hashimotovog tireoiditisa, redovito praćenje razine anti-TPO antitijela može pomoći u praćenju aktivnosti bolesti i prilagodbi terapije.
3. Procjena rizika: Osobe s povećanim rizikom od razvoja autoimunih bolesti štitnjače, na primjer, ako imaju obiteljsku anamnezu takvih bolesti, također mogu biti podvrgnute testiranju na anti-TPO antitijela kako bi se procijenio njihov rizik.
4. Problemi sa začećem: Neki parovi koji imaju poteškoća sa začećem ili koji imaju pobačaje mogu biti podvrgnuti testiranju na anti-TPO antitijela kako bi se isključili mogući autoimuni uzroci.

Hormoni T₃ i T₄ su dva ključna hormona koje proizvodi štitnjača. Njihovo testiranje se vrši u sljedećim situacijama:

1. Sumnja na poremećaj funkcije štitnjače: Testiranje T₃ i T₄ može pomoći u potvrđivanju ili isključivanju te sumnje.
2. Praćenje liječenja: Osobe koje su već dijagnosticirane s poremećajem štitnjače i koje primaju terapiju hormonima štitnjače, obično će se povremeno testirati na T₃ i T₄ kako bi se osiguralo da su njihove razine u referentnom rasponu i kako bi se prilagodila doza lijekova ako je potrebno.
3. Procjena funkcije štitnjače tijekom trudnoće: Trudnice često prolaze kroz promjene u funkciji štitnjače tijekom trudnoće. Testiranje T₃ i T₄ može biti korisno kako bi se osiguralo da funkcija štitnjače ostaje unutar zdravih granica za trudnicu i njezino dijete.

4. Sumnja na bolesti štitnjače kod novorođenčadi: Testiranje T₃ i T₄ uključeno je u rutinske skrininge novorođenčadi kako bi se rano otkrile eventualne abnormalnosti u funkciji štitnjače.
5. Procjena stanja nakon operacije štitnjače: Ako je osoba podvrgnuta kirurškom zahvatu na štitnjači, testiranje T₃ i T₄ može pomoći u praćenju kako tijelo reagira na promjene u proizvodnji hormona.



Slika 4. Postupnik za racionalnu dijagnostiku hipotireoze

Izvor: Kusić i sur., 2009

1.3.4. Praćenje i liječenje Hashimota

Ultrazvuk štitnjače često se koristi u dijagnosticiranju Hashimotove bolesti i praćenju njenog napretka. On omogućuje procjenu veličine i strukture štitnjače, kao i otkrivanje čvorova ili drugih nepravilnosti u tkivu štitnjače. Ultrazvuk također može pomoći u razlikovanju Hashimotove bolesti od drugih stanja štitnjače, kao što je rak štitnjače. Redoviti ultrazvučni pregledi štitnjače mogu biti važni u praćenju napretka Hashimotove bolesti i otkrivanju eventualnih promjena u tkivu štitnjače. Međutim, ultrazvuk ne može dijagnosticirati hashimoto sam po sebi.¹¹

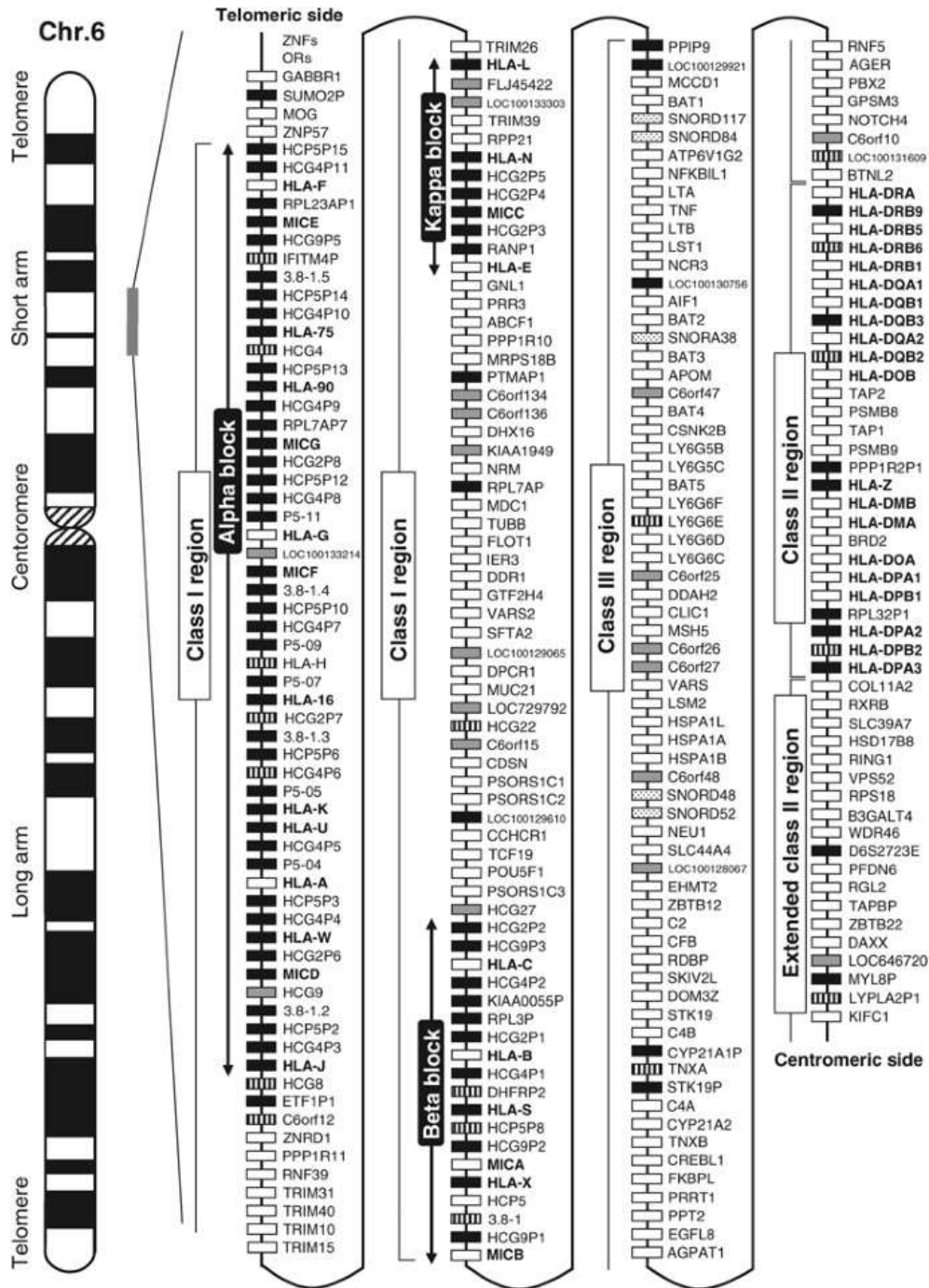
Dio bolesnika s upalom štitne žlijezde kod kojih ona ima normalnu funkciju, sposobno je živjeti bez nadomjesne terapije i bez razvijanja simptoma, uz redovite kontrole koncentracija TSH i fT₄ u serumu. Ukoliko se hipotireoza pak razvije, potrebno je započeti nadomjesnu hormonsku terapiju. Trenutno ne postoji lijek za hashimoto, ali postoje terapije koje mogu usporiti napredovanje bolesti i poboljšati kvalitetu života oboljelih. Postoje razni oblici odgovarajućih pripravaka hormona štitnjače. Najčešći hormonski pripravak koji se terapijski pripisuje za pacijente s Hashimotovom bolesti je levotiroksin (LT₄), umjetno sintetizirani pripravak hormona T₄. Također česta terapija za hashimoto su imunomodulatorni lijekovi, koji moduliraju imunološki sustav kako bi spriječili daljnje napade na živčani sustav. U upotrebi su i kortikosteroidi za smanjenje upale, a intravenozna imunoglobulinska terapija i plazmafereza mogu se koristiti u akutnim fazama bolesti. Zdrav životni stil, uključujući redovitu tjelovježbu, uravnoteženu prehranu i upravljanje stresom, također može pomoći u upravljanju simptomima Hashimotovog tireoiditisa i poboljšati cjelokupno zdravlje. U nekim slučajevima može se razmotriti operacija za uklanjanje velike guše ili čvorova koji uzrokuju kompresiju dišnih putova ili poteškoće s gutanjem. Međutim, operacija obično nije potrebna za liječenje Hashimotovog tireoiditisa.¹²

1.4. KARAKTERISTIKE HLA SUSTAVA

Ljudski glavni histokompatibilni kompleks (*MHC*) (ljudski leukocitni antigen—*HLA*), genomska regija koja se proteže oko 3,6 Mb karakterizirana je multi lokusima s velikim stupnjem polimorfizma i snažnom neravnotežom povezivanja između specifičnih alela u različitim lokusima. HLA-A, HLA-B, HLA-C (klasa I), DRB1, DQB1 i DPB1 (klasa II). Lokusi premašuju 12 000 alela i postoji velika razlika u njihovoj učestalosti među različitim etničkim skupinama. Ova velika razlika u HLA profilima u različitim etničkim skupinama pruža ogromnu količinu informacija u proučavanju molekularne evolucije HLA i također razjašnjenje mehanizma za statističku povezanost s bolestima povezanim s imunološkim sustavom. S druge strane, zbog ovoga visokog polimorfizma i etničkih razlika HLA, kliničari se suočavaju s poteškoćama u pronalaženju HLA-podudarnih donora, posebno u transplantaciji hematopoetskih matičnih stanica (HSCT).¹³

1.4.1. Genska karta HLA regije

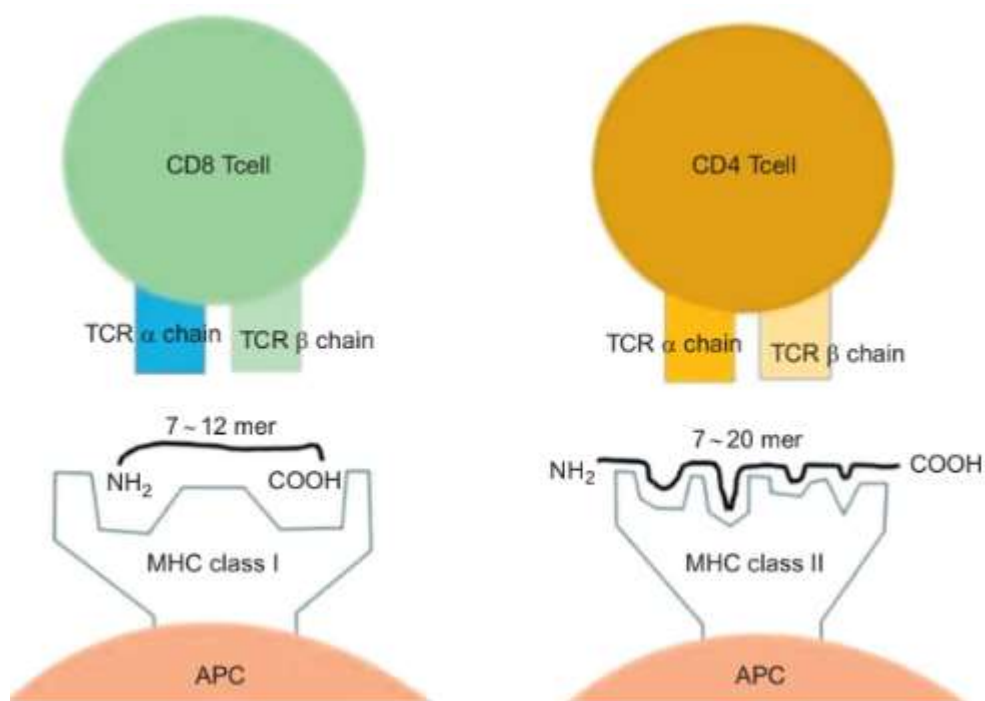
Ljudski MHC koji kodira HLA je visoko polimorfna genomska regija smještena na kraćem kraku šestog kromosoma, u kromosomskom položaju 6p21.31, a obuhvaća oko 4 milijuna baznih parova. Regija ima važnu ulogu u adaptivnom i urođenom imunitetu, kao i u nekim drugim temeljnim molekularnim i staničnim procesima. Prva potpuna i kontinuirana HLA 3,6 Mb genomska sekvenca objavljena je 1999. godine s napomenom od 224 genska lokusa, uključujući kodirajuće i nekodirajuće gene (The MHC Sequencing Consortium, 1999.).¹³



Slika 5. Genska karta regije humanog leukocitnog antigena (HLA)

Izvor: https://www.researchgate.net/figure/Gene-map-of-the-human-leukocyte-antigen-HLA-region-The-major-histocompatibility_fig3_23807397

Regija HLA sastoji se od tri različite regije označene od centromera do telomera kao regije klase II, III i I. Regija klase I obuhvaća oko 1,8 Mb u telomernom dijelu ljudske MHC regije, kodirajući klasične antigene klase I (HLA-A, -B, -C) i neklasične antigene klase I (HLA-E, -F, -G). Klasični antigeni klase I (teški lanci) su sveprisutno eksprimirani membranski vezani glikoproteini koji povezuju se s $\beta 2$ mikroglobulinima kako bi prezentirali intracelularno obrađene peptidne antigene $\alpha\beta$ T-staničnim receptorima (TCR) CD8-pozitivnih T limfocita, čime kontroliraju imunološki odgovor posredovan stanicama.¹³



Slika 6. Antigenska prezentacija peptidnog antigena T-staničnom receptoru T limfocita MHC molekula.

Izvor: https://proteinswebteam.github.io/interpro-blog/potm/2005_3/Page1.htm

Molekule MHC klase I vežu peptide koji su dugi 7-12 aminokiselina u žlijeb presavijen njegovim $\alpha 1$ i $\alpha 2$ domenama (slika 2). Regija klase II obuhvaća oko 0,7 Mb u centromernom dijelu MHC-a, kodirajući klasične antigene klase II (HLA-DR, -DQ, -DP) i neklasične antigene klase I (HLA-DM, -DO). Klasične molekule klase II, koje su također heterodimeri, ali se sastoje od dva homogena peptida, α i β lanaca (na primjer, kodiranih

genima DQA1 i DQB1 za HLA-DQ antigen, respektivno) eksprimiraju se u stanicama koje predstavljaju antigen kao što su dendritične stanice, mononuklearni fagociti, neke endotelne stanice, epitelne stanice timusa i B stanice. Ovi klasični antigeni klase II predstavljaju izvanstanično obrađene peptidne antigene $\alpha\beta$ TCR-u CD4-pozitivnih T limfocita, čime kontroliraju humoralni imunološki odgovor. Budući da je žlijeb za vezanje antigena molekula MHC klase II otvoren na oba kraja dok je odgovarajući žlijeb na molekulama klase I zatvoren na svakom kraju, antigeni predstavljeni molekulama MHC klase II su duži, općenito dugi između 7 i 20 aminokiselinskih ostataka.¹³

HLA regiju karakteriziraju tri značajne značajke. Prvo, ova regija ima izrazito visoku gustoću gena s više od 250 identificiranih genskih lokusa i s oko 40% eksprimiranih gena koji imaju funkcije imunološkog sustava. Drugo, ova regija kodira najveći broj polimorfnih proteina unutar ljudskog genoma s nekim MHC genima koji imaju preko 2000 alela. Vjeruje se da iznimno visoka razina polimorfizma i heterozigotnosti unutar MHC-a daje selektivnu prednost domaćinu preko imunološkog sustava i povećava sposobnost protiv infekcija i varijabilnost patogena. Treće, ove alelne i haplotipske razlike povezane su s više od 100 različitih bolesti, uglavnom autoimunih bolesti kao što su dijabetes, reumatoidni artritis (RA), psorijaza i astma. Četvrto, HLA regija u kojoj se jaka neravnoteža povezivanja (LD) proteže preko regija klase I i klase II dovodi do ograničenog broja specifičnih HLA haplotipova.¹³

1.4.2. Nasljeđivanje HLA

HLA geni se nasljeđuju od oba roditelja prateći Mendelove zakone nasljeđivanja. Geni se nasljeđuju kodominantno, što znači da dijete dobiva po jedan HLA haplotip (kombinacija gena na jednom kromosomu) od oba roditelja. Obzirom na moguće kombinacije HLA haplotipa među djecom moguća su tri ishoda: u slučaju da dvoje srodnika naslijede iste haplotipove od oba roditelja tada su oni haplotipski HLA identični, ukoliko dvoje srodnika naslijede samo jedan isti haplotip tada su oni HLA poluidentični, najnepovoljnija mogućnost (ukoliko nekom iz obitelji bude potrebna TKMS) je ona u kojoj se naslijede različiti geni od roditelja te tada oni ne dijele isti HLA materijal.¹⁴

Hashimotov tiroiditis nije tipičan primjer Mendelovog nasljeđivanja jer nije jednostavan monogenski poremećaj. On je kao i mnogi drugi autoimuni poremećaji rezultat

kompleksne interakcije genetskih faktora s okolišem. To znači da je sklonost razvoju Hashimotovog tiroiditisa naslijeđena, ali se ne nasljeđuje na način koji je tipičan za jednostavne Mendelove poremećaje.¹⁴

1.4.3. Geni HLA i bolesti

Regiju HLA povezuju s puno više bolesti nego bilo koju drugu regiju unutar humanog genoma. Većinom se ta povezanost odnosi na autoimunosne bolesti, ali i neke druge bolesti (tablica 1). Tako na primjer osobe koje imaju gen HLA-DR5 imaju 3,2 puta veću vjerojatnost za razvoj Hashimotovog tireoiditisa, nego što ju imaju osobe koje nemaju taj gen. Dakle, relativni rizik nosioca gena HLA-DR5 da oboli od ove bolesti iznosi 3,2. No, postojanje povezanosti između nekih gena HLA i određenih bolesti ne smije se interpretirati na način da je ekspresija dotičnog gena HLA uzrokovala nastanak bolesti. Veza između gena HLA i bolesti je složena. Prvo je mogućnost postojanja neravnoteže udruživanja između alela točno određenog lokusa odgovornog za nastanak bolesti i pojedinog gena HLA povezanog s tom bolesti. Drugo moguće objašnjenje je da molekula HLA sama po sebi ima neku ulogu u nastanku bolesti i to na način sličan jednom od predloženih modela. Prvi model pretpostavlja da molekula HLA slabo predočuje određeni virusni ili bakterijski antigen, dok drugi opisuje dotičnu molekulu HLA na staničnoj površini kao vezno mjesto za virusni ili bakterijski uzročnik bolesti. Prema trećem modelu neka molekula HLA omogućuje transport virusa u stanicu dok prema četvrtom modelu molekularna podudarnost molekule HLA s patogenom dovodi do neuspješnog prepoznavanja stranog patogena od strane domaćina. Iz svega navedenog se nameće pretpostavka da su najvjerojatnije uključeni svi predloženi mehanizmi, ali u različitim razmjerima kod različitih bolesti.¹⁵

Bolest	Podložna molekula HLA	Relativni rizik
Ankilozantni spondilitis	B27	90-100
Akutni prednji uveitis	B27	10,04
Goodpastureov sindrom	DR2	15,9
Multipla skleroza	DR2	4,8
Autoimunosna hipertireoza	DR3	3,7
Miastenija gravis	DR3	2,5
Sistemni eritematozni lupus	DR3	5,8
Šećerna bolest ovisna o inzulinu	DR3,DR4,	5-25
Reumatoidni artritis	DR4	4,2
Pemphigus vulgaris	DR4	14,4
Hashimotoov tireoiditis	DR5	3,2

Tablica 1. Povezanost bolesti s antigenima sustava HLA

Izvor: Čečuk-Jeličić, E. Jaman, S. Osnove glavnog sustava tkivne snošljivosti. Skripta za studente Odsjeka medicinsko-laboratorijske dijagnostike. Kolegij Laboratorijska imunologija s imunokemijom.

2. CILJ RADA

Cilj rada je ukazati na značaj laboratorijskih pretraga u dijagnosticiranju, praćenju i liječenju Hashimotovog tireoiditisa.

Prikazati laboratorijske metode koje omogućuju ispravnu dijagnostiku Hashimotovog tireoiditisa. Nastoji se opisati princip i redoslijed provedbe testova za sigurnu dijagnozu bolesti.

Ovaj rad detaljno prikazuje obilježja štitne žlijezde s ciljem razumijevanja njene funkcije i autoimune bolesti pacijenta.

Također je cilj rada prikaz HLA sustava genske tipizacije, ali s naglaskom na njegovu ulogu u dijagnostici HT-a.

3. MATERIJALI I METODE

Rad predstavlja prikaz slučaja pacijenta u dobi od 21 godine, muškarac sa potvrđenom dijagnozom Hashimotove bolesti kojemu su u laboratoriju iz uzorka krvi mjereni ključni parametri potrebni za dijagnosticiranje Hashimotovog tireoiditisa. Koncentracije hormona TSH, T₄, fT₄, T₃ i fT₃ mjerene su na uređaju Roche cobas e 800 metodom elektrokemiluminiscentnim imunoesejem „ECLIA”. Količina antitijela protiv tireoglobulina (anti-Tg) i antitijela protiv tireoidne peroksidaze (TPO) mjerene su na uređaju Abbott-Alinity kemiluminiscentnom imunokemijskom metodom „CMIA”. Za određivanje alela lokusa HLA-B i HLA-DRB1 korištena je molekularna metoda PCR-SSO (Polymerase chain reaction sequence-specific oligonucleotide) na Luminex® aparatu.

Pacijentu je krv uzorkovana ujutro, natašte, na Zavodu za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku u KBC-u Split. Krv je uzorkovana u serumske epruvete koje sadrže gel koji služi za odvajanje seruma od krvnih stanica prilikom centrifugiranja. Nakon uzimanja uzorka, krv se ostavlja da se prirodno zgruša. Nakon koagulacije, uzorak krvi se centrifugira. Za potrebe HLA tipizacije, na Zavod za transfuzijsku medicinu je dostavljena epruveta pune krvi sa K₃EDTA antikoagulansom.

3.1. PREDANALITIČKI ČIMBENICI

Kod laboratorijske dijagnostike Hashimotove bolesti, predanalitički čimbenici igraju ključnu ulogu kako bi se osigurala točnost i pouzdanost rezultata. Posebno relevantan predanalitički čimbenik za testiranje Hashimotove bolesti je priprema pacijenta jer nekim testovima za Hashimotovu bolest može biti potrebna posebna priprema, poput posta prije uzorkovanja krvi. Testiranje se obično provodi ujutro na prazan želudac. Potrebno je ne jesti ni piti ništa osim vode najmanje 8 sati prije testiranja. Ukoliko je izrečena posebna prehrambena priprema važno je pratiti smjernice liječnika u vezi s ograničenjima prije testiranja. Nekim pacijentima može biti potrebno izbjegavati određenu hranu prije testiranja

kako bi se izbjegli lažno pozitivni ili lažno negativni rezultati. Općenito, prije testiranja, potrebno je obavijestiti svog liječnika o svim lijekovima, dodacima prehrani ili promjenama u prehranbenim navikama koje su poduzete, jer neki od njih mogu utjecati na rezultate testova.

Štitnjača ima svoj cirkadijalni ritam koji regulira njenu funkciju. Cirkadijalni ritam štitnjače je usko povezan s regulacijom razine hormona štitnjače u tijelu tijekom 24-satnog razdoblja. Glavni regulator cirkadijalnog ritma štitnjače je TSH, koji se oslobađa iz hipofize u mozgu, a njegova razina varira tijekom dana. Uobičajeni cirkadijalni ritam rada štitnjače obuhvaća sljedeće:

3. rano jutro: razina TSH obično je najviša rano ujutro, što potiče štitnjaču da otpušta veće količine hormona T_4 i T_3 u krvotok
4. popodne: razina TSH obično opada tijekom dana, a razine hormona štitnjače također se smanjuju u tom razdoblju
5. noć: tijekom noći, razina TSH i hormona štitnjače ostaje niža

Ovaj cirkadijalni ritam rada štitnjače pomaže tijelu prilagoditi se promjenama tijekom dana i noći. Na primjer, veća proizvodnja hormona štitnjače ujutro pomaže u pokretanju metaboličkih procesa tijekom dana kada smo najaktivniji. Smanjenje razine hormona štitnjače noću može pomoći tijelu da se smiri i odmori tijekom noćnih sati.

Uzorak krvi za analizu TSH, T_4 , T_3 i antitijela treba uzeti pažljivo kako bi se izbjegla hemoliza (oštećenje crvenih krvnih stanica) i osiguralo dovoljno količine uzorka za analizu. Kada se radi o laboratorijskim testovima za Hashimotovu bolest, obično se koristi uzorak krvi u obliku seruma. Testovi za hormone štitnjače (TSH, T_4 , T_3) i antitijela (Anti-TPO i Anti-Tg) mogu se pouzdano provesti koristeći serumski uzorak. Međutim, u određenim situacijama i za specifične testove, može se koristiti i plazma, no za dijagnostiku Hashimotove bolesti preferira se uzorak krvi u obliku seruma.

Uzorci krvi koji se uzimaju za testiranje Hashimotove bolesti moraju biti ispravno označeni kako bi se izbjegla zamjena uzoraka i kako bi se točno identificirao pacijent. Vrlo važan predanalitički čimbenik za neke laboratorijske testove podrazumijeva točno određene

uvjete temperature i brze obrade kako bi se osigurala stabilnost uzorka i pouzdanost rezultata. Na primjer kao što je već spomenuto, testovi za TSH, T₃ i T₄ često se preporučuju rano ujutro, jer se razine tih hormona mijenjaju tijekom dana. Uzorci krvi za analizu Hashimotove bolesti trebaju biti pravilno pohranjeni pri odgovarajućoj temperaturi i uvjetima kako bi se očuvala stabilnost antitijela i hormona štitnjače. Također je važno da liječnik ima cjelovitu medicinsku povijest pacijenta kako bi se lakše interpretirali laboratorijski rezultati i postavila točna dijagnoza. Sve ove mjere pomažu u osiguranju pouzdanih rezultata testiranja Hashimotove bolesti.

3.2. ODREĐIVANJE ALELA HLA-LOKUSA METODOM PCR-SSO

Određivanje alela lokusa HLA metodom PCR-SSO iz uzorka pune krvi korišteno je u svrhu dokazivanja lokusa HLA-DRB1* kao biljega HT-a pacijenta.

Izolacija DNA u Laboratoriju za tipizaciju tkiva odvija se pomoću komercijalnog kita (High Pure PCR Template Preparation Kit, Roche Diagnostics, (slika 7). U prvom koraku se dodaje proteinaza K koja razgrađuje proteinske molekule i na taj način oslobađa DNA koja se nalazi u jezgri stanice. Nakon denaturacije proteina oslobođenoj molekuli DNA se dodaje etanol kako bi se onemogućio prolaz molekule kroz membranu nakon čega se nizom ispiranja različitim reagensima dobiva čista DNA koja se koristi u daljnjim testovima.¹⁶



Slika 7. Kit za izolaciju

Izvor: <https://lifescience.roche.com/global/en/products/others/high-pure-pcr-template-preparation-kit-3684811.html>

Tipizacijski set za određivanje alela sustava HLA metodom PCR-SSO sastoji se od master-mix-a za reakciju amplifikacije, otopine mikrosfera sa fluorescentno obilježenim oligonukleotidnim probama (pohrana na 4-8°C), dilucijske otopine (pohrana na sobnoj temperaturi) i Taq polimeraze (pohrana na -20°C).¹⁷

Za potrebe određivanja alela sustava HLA molekularnom metodom PCR-SSO, produkt PCR reakcije hibridiziramo sa fluorescentno obilježenim probama u svrhu

detektiranja prisutnosti specifične varijacije pojedinog HLA alela u genomskoj DNA pacijenta. Detekcija fluorescencije oligonukleotidnih proba odvija se pomoću Luminex® aparata.

Kompletan proces tipizacije obavila sam uz pomoć laboratorijskih djelatnika stoga slijedi detaljan protokol koji smo slijedili prilikom određivanja alela pacijenta.

Postupak:

Tipizacijski set za određivanje alela sustava HLA metodom PCR-SSO sastoji se od master-mix-a za reakciju amplifikacije, otopine mikrosfera sa fluorescentno obilježenim oligonukleotidnim probama (pohrana na 4-8°C), dilucijske otopine (pohrana na sobnoj temperaturi) i Taq polimeraze (pohrana na -20°C).

Postavljanje PCR reakcije

- Pola sata prije početka rada Luminex metodom (PCR-SSO) iz frižidera na +4°C izvaditi Lifecodes Master Mix (za HLA-lokus koji želimo raditi) na sobnu temperaturu (22-25°C).
- Ispuniti radnu listu OB-HLA-002 sa podacima o svim uzorcima za analizu, djelatniku koji će obaviti analizu te upotrebljenim reagensima.
- Ispuniti radnu bilježnicu sa podacima sa imenom, prezimenom i barkodom pacijenta, te izračunati potrebne volumene reagensa ovisno o broju uzoraka koji se analizira
- Za svaku analizu (jednog ili više lokusa koju postavlja jedna osoba u jednom PCR aparatu) obavezno je postavljanje jedne reakcije negativne kontrole u kojoj se umjesto DNA u reakcijski mix dodaje 5 µl dH₂O
- Postavljanje PCR reakcije odvija se u PCR kabinetu, upotrebljava se isključivo steriliziran potrošni materijal uz obaveznu upotrebu nitrilnih rukavica, po detaljnom protokolu opisanom u SOP-HLA-009
- Nakon postavljanja PCR reakcije u PCR kabinetu, tubice/setovi se prenose u post-PCR prostoriju Sobu 3 (post-PCR) na sljedeći način - tubice/set izvaditi iz stalka (*ne

smiju se miješati stalci/pipete između pred-PCR I POST-PCR prostora PCR) i u rukama odnijeti u post-PCR prostoriju u thermo-cycler. Za prenošenje većeg broja tubica/setova mogu se koristiti i kartonske kutije za jednokratnu upotrebu ali NIJE DOZVOLJENO iznošenje tubica/setova na stalku iz pred PCR sobe (Soba 2) u post PCR sobu (Soba 3)

Amplifikacija

- Thermocycler se pokreće na program LX_AMP_RAPID na način predviđen protokolima o upotrebi thermocyclera (RU-HLA-AP-002/010)
- Uvjeti umanjavanja navedeni su u SOP-HLA-009

Priprema Luminex[®] aparata za rad

- Prije analize uzoraka ispitanika na Luminex aparatu, potrebno je obaviti redovno čišćenje aparata, te pripremiti odgovarajuće protokole u Xponent programu za rad na Luminex[®] aparatu po uputama u SOP-HLA-011
- Voditi računa da je Luminex[®] aparatu potrebno minimalno pola sata za zagrijavanje lasera – optimalno je uključiti ga i pokrenuti potrebna ispiranja 1h do ½ h prije završetka hibridizacije

Hibridizacija

- Po završetku umnažanja produkt PCR reakcije pohranjuje se na +4°C (najviše do 24h) ili se odmah po završetku amplifikaciju nastavlja sa hibridizacijom po predviđenom protokolu (SOP-HLA-010) te pokreće analiza na Luminex aparatu

Interpretacija rezultata

- Nakon dovršetka analize u Luminex aparatu, izlazni podaci sačuvani su u obliku .csv dokumenta na računalo u Sobi 3 spojenom na Luminex aparat. - .csv dokumenti pomoću USB-sticka prenose se na računalo u Sobi 2 na kojem se nalazi software za analizu podataka MatchIt te se po protokolu SOP-HLA-012 interpretiraju dobiveni rezultati

Izvešća i evidencija o dobivenim rezultatima

- Rezultate svih tipizacija upisati u radnu listu OB-HLA-002 sa obaveznom evidencijom manualno promjenjenih lažno pozitivnih/negativnih proba i pohraniti u odgovarajući registrator u arhivi Laboratorija za tipizaciju tkiva
- Dokument s rezultatima za svakog pacijenta dobijemo klikom na oznaku **Reports** (gore lijevo u izborniku) te odabirom **All Loci Report**, te ga ispisujemo klikom na ikonu **Print** – ispis izvješća pridružuje se eventualnim ostalim izvješćima/serološkim radnim listama za istog pacijenta, te uz jednu kopiju izdanog nalaza pohranjuje u arhivi Laboratorija za tipizaciju tkiva

Protokol izradila: Sonja Jaman, mag.biol.mol.; u primjeni od 01.02.2023.; izdanje 4, oznaka SOP-HLA-008.

4. REZULTATI

Rezultati izmjerenih vrijednosti koncentracije hormona TSH, T₄, fT₄ i T₃ su bile unutar referentnog intervala, dok je rezultat koncentracije hormona fT₃ bio ispod donje granice referentnog intervala. Količina antitijela protiv tireoglobulina (anti-Tg) i antitijela protiv tireoidne peroksidaze (TPO) su pokazala značajno povišene vrijednosti u odnosu na referentni interval.

KLINIČKI BOLNIČKI CENTAR SPLIT
Zavod za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku, Firule
Tel: 021/556-577, Fax: 021/556-579
Spinčićeva 1, Split

PREZIME I IME: _____
Spol: M
Datum rođenja: 24.8.2001.
Mat. broj: _____
Barkodovi: 2604**0491

Uputio: **AMBULANTA**
Liječnik: - -
Vrijeme uzorkovanja: 26.4.2023.
Uzorkovao:
Vrijeme primitka: 26.04.2023 07:44
Primio: Milena Nadrčić, univ.bacc.med.lab.diag

HORMONI I VITAMINI

Pretraga	Rezultat	Jedinica	Ref. interval	Opaska
HORMONI				
(S) TSH	4.290	mIU/L	0.81-4.33	Roche ECLIA
(S) T4	95.6	nmol/L	66-181	Roche ECLIA
(S) FT4	17.2	pmol/L	12.9-21.4	Roche ECLIA
(S) T3	1.48	nmol/L	1.3-3.1	Roche ECLIA
(S) FT3	4.42 L	pmol/L	4.50-6.86	Roche ECLIA

Izradio/la:

Validirao/la:

Margita Nimac-Kalcina, spec. analit. toksikologije

SEROLOŠKI TESTOVI

Pretraga	Rezultat	Jedinica	Ref. interval	Opaska
Antitijela protiv tireoglobulina (anti-Tg)	14.2 H	U/ml	< 4.11	NOVA METODA (Abbott CMIA). U slučaju pozitivnog nalaza ne preporučuje se ponavljati pretragu jer nema kliničkog značenja, R.I. za odraslu dob
Antitijela protiv tireoidne peroksidaze (TPO)	452.5 H	U/ml	< 5.61	NOVA METODA (Abbott CMIA). U slučaju pozitivnog nalaza ne preporučuje se ponavljati pretragu jer nema kliničkog značenja, R.I. za odraslu dob

Izradio/la:

Validirao/la:

zdrav.teh. Ivković Lejo Marina

Margita Nimac-Kalcina, spec. analit. toksikologije

NAPOMENE I KOMENTARI

Vrijeme validacije: 26.4.2023. 11:02:37
Validirao/la:

MARGITA NIMAC-KALCINA
SPEC. ANALIT. TOKSIKOLOGIJE
M. N. K.
1982267

Vrijeme ispisa: 2.5.2023. 22:42:28

Str.: 1/1

Rezultati tipizacije alela lokusa HLA-B* i HLA-DRB1* (HLA-B*44 *51; HLA-DRB1*11, -) ne ukazuju na genetsku predispoziciju pacijenta za Hashimotov tireoiditis.

KLINIČKI BOLNIČKI CENTAR-SPLIT
ZAVOD ZA TRANSFUZIJSKU MEDICINU
LABORATORIJ ZA TIPIZACIJU TKIVA
[Tel:021 557-430](tel:021557430)

NALAZ HLA TIPIZACIJE

Prezime i ime:G.M.

Godina rođenja:

Broj: SS03/23

HLA-A **HLA-A 1**

HLA- B*44 **HLA- B*51**

Test izveden na : LIFECODES HLA- B(lot 3007903)

HLA-Bw **HLA-Bw**

HLA-Cw **HLA-Cw**

Test izveden na : INNO-TRAIN HLA-READY PLATE ABC 72 (lot H720619)

HLA-DRB1*11 **HLA-DRB1***

Test izveden na : LIFECODES HLA- DRB1 (lot 3007903)

HLA-DQB1* **HLA-DQB1***

HLA-DQA1* **HLA-DQA1***

Test izveden na : LIFECODES HLA- DQB/DQA1 (lot. 3007804)

Napomena:

Test izvršio:

Sonja Jaman, mag.biol.mol

Voditeljica laboratorija:

Doc.dr.sc. Esma Čečuk- Jeličić

5. RASPRAVA

U ovom radu prikazana je i opisana štitna žlijezda, njena građa i funkcije, u svrhu razumijevanje važnosti laboratorijskog testiranja za Hashimotov tireoiditis. U istraživanju je prikazan slučaj dvadeset jednogodišnjaka koji ima dijagnozu autoimune bolesti dugi niz godina te za istu prima terapiju Eutyroxom. Cilj je bio provesti laboratorijsku dijagnostiku i ukazati na njen značaj u praćenju i liječenju Hashimotovog tireoiditisa. U tu svrhu provedene su biokemijske pretrage na koncentracije hormona TSH, T₄, fT₄, T₃ i fT₃ koji su ključni za dijagnozu i praćenje HT-a, a mjerene su na uređaju Roche cobas e 800 metodom elektrokemiluminiscentnim imunoesejem „ECLIA”. Uzorak je uzet u Kliničkom bolničkom centru Split, na Zavodu za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku, na Firulama; natašte ujutro u 7 sati, prije primjene uobičajene svakodnevne terapije, također uz poštivanje svih predanalitičkih čimbenika. Što se tiče antitijela protiv tireoglobulina (anti-Tg) i antitijela protiv tireoidne peroksidaze (TPO) koji su mjereni su na uređaju Abbott-Alinity kemiluminiscentnom imunokemijskom metodom „CMIA”, pokazalo se da su visoko izvan referentnih intervala, što potvrđuje autoimunu bolest. Uz mjerenje koncentracije hormona TSH, T₄, fT₄, T₃ i fT₃, količine antitijela protiv tireoglobulina (anti-Tg) i antitijela protiv tireoidne peroksidaze (TPO), kod pacijenata sa sumnjom na Hashimotov tireoiditis određeni su i aleli lokusa HLA-B i HLA-DRB1 obzirom na poznatu povezanost sustava HLA i autoimunih bolesti molekularnom metodom PCR-SSO (Polymerase chain reaction sequence-specific oligonucleotide) na Luminex® aparatu. Ova dijagnostika provedena je u KBC-u Split, na Zavodu za transfuzijsku medicinu, u Laboratoriju za tipizaciju tkiva. HLA tipizacija pomogla je također u razumijevanju podloge autoimune bolesti HT-a jer može uputiti na to radi li se o genetskoj predispoziciji za razvoj bolesti ili ne, što je u ovom slučaju dalo negativne rezultate, stoga se pretpostavlja da pacijent nema genetsku podlogu za HT, već je bolest posljedica nekih okolišnih čimbenika, što pak nije tema ovog rada.

6. ZAKLJUČAK

Laboratorijske pretrage imaju veliku važnost u dijagnozi, praćenju i liječenju autoimune bolesti Hashimotovog tireoiditisa.

Osim biokemijskih pretraga na glavne hormone štitnjače (TSH, T₄ i T₃, slobodne T₄ i T₃ te antitijela protiv tireoglobulina i antitijela protiv tireoidne peroksidaze) koje su vrlo pouzdane kako u dijagnozi tako i u praćenju bolesti, iznimnu važnost i značaj ima HLA tipizacija koja nam omogućuje i razumijevanje potencijalne genetske podloge bolesti te samim time olakšava kontrolu i liječenje iste.

Kako bi se uspješno liječila ova bolest potrebna je dobra dijagnostika koja uključuje pretrage koje su opisane u ovom radu.

7. LITERATURA

1. Radojković, R. Suvremene tehnologije u kirurgiji štitnjače.
2. CroRIS - CroSBI. <https://www.croris.hr/crosbi/publikacija/rad-ostalo/743195>.
3. (PDF) Skripta Histologija (skraceno gradivo) - Kovacevic. *dokumen.tips*
<https://dokumen.tips/documents/skripta-histologija-skraceno-gradivo-kovacevic.html>.
4. Brčić, L. & Tireoiditis, H. SVEUČILIŠTE U SPLITU MEDICINSKI FAKULTET.
5. Medić, F. Amiodaron i tiroidna disfunkcija.
6. Arežina, M. PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET.
7. MEDICINSKA FIZIOLOGIJA, 13. izd. *Medicinska naklada*
<https://www.medicinskanaklada.hr/medicinska-fiziologija-13-izd>.
8. Akamizu, T. & Amino, N. Hashimoto's Thyroiditis. in *Endotext* (eds. Feingold, K. R. et al.) (MDText.com, Inc., 2000).
9. Bradanović, J. POVEZANOST PREHRAMBENIH NAVIKA, TJELESNE MASE I FUNKCIJE ŠTITNJAČE. (University of Rijeka. Faculty of Health Studies. Department of Clinical Sciences 1, 2021).
10. Soh, S.-B. & Aw, T.-C. Laboratory Testing in Thyroid Conditions - Pitfalls and Clinical Utility. *Ann Lab Med* **39**, 3–14 (2019).
11. Wu, G., Zou, D., Cai, H. & Liu, Y. Ultrasonography in the diagnosis of Hashimoto's thyroiditis. *Front Biosci (Landmark Ed)* **21**, 1006–1012 (2016).
12. Wilson, S. A., Stem, L. A. & Bruehlman, R. D. Hypothyroidism: Diagnosis and Treatment. *afp* **103**, 605–613 (2021).
13. Sasazuki, T., Inoko, H., Morishima, S. & Morishima, Y. Gene Map of the HLA Region, Graves' Disease and Hashimoto Thyroiditis, and Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Adv Immunol* **129**, 175–249 (2016).
14. Perković, I. Uloga darivateljstva u transplantaciji tkiva i organa. (University of Split. University Department of Health Studies, 2020).
15. (PDF) SVEUČILIŠTE U ZAGREBU -
digre.pmf.unizg.hr/digre.pmf.unizg.hr/4604/1/Marija_Mulanovic_diplomski.pdf

laboratorijskih miševa u cilju određivanja antigena krvnih grupa. Otkrio. *dokumen.tips*
<https://dokumen.tips/documents/sveuoelite-u-zagrebu-digrepfunizg-mulanovic-diplomskipdf-laboratorijskih.html>.

16. Jurić, J. SVEUČILIŠNI ODJEL ZDRAVSTVENIH STUDIJA PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINSKO LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA.
17. Žuvela, L. Važnost sustava HLA u reumatologiji. (University of Split. University Department of Health Studies, 2017).

8. ŽIVOTOPIS

OSNOVNI PODACI:

Ime i prezime: Iva Malenica

Datum rođenja: 15. srpnja 2001.

Mjesto rođenja: Šibenik, RH

OBRAZOVANJE

2008. – 2016.: Osnovna škola Antuna Mihanovića, Drinovci

2016. – 2020.: Srednja škola Ivana Meštrovića, Drniš, Opća gimnazija

2020. – 2023.: Sveučilišni odjel zdravstvenih studija Split,

Preddiplomski studij Medicinsko laboratorijska dijagnostika