

Inhibitori Janus kinaza u liječenju upalnih reumatskih bolesti

Čaić, Mislav

Master's thesis / Diplomski rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:252255>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-05-29**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

MEDICINSKI FAKULTET

Mislav Čaić

**Inhibitori Janus kinaza u liječenju
upalnih reumatskih bolesti**

DIPLOMSKI RAD



Zagreb, 2019.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

MEDICINSKI FAKULTET

Mislav Čaić

**Inhibitori Janus kinaza u liječenju
upalnih reumatskih bolesti**

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2019.

Ovaj diplomski rad izrađen je na Zavodu za kliničku imunologiju i reumatologiju Klinike za unutarnje bolesti KBC-a Zagreb pod vodstvom doc.dr.sc. Miroslava Mayera i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2018./2019.

SADRŽAJ

POPIS I OBJAŠNJENJE KRATICA KORIŠTENIH U RADU.....	
SAŽETAK.....	
SUMMARY.....	
1. UVOD.....	1
1.1. Povijesni pregled terapije upalnih reumatskih bolesti	1
1.2. Citokini i međustanična komunikacija	3
2. SIGNALNI PUT JAK/STAT.....	4
2.1. Unutarstanični prijenos signala	4
2.2. Klinički značaj puta JAK/STAT	7
2.2.1. Teška združena imunodeficijencija	7
2.2.2. Sindrom hiper-IgE.....	7
2.2.3. Kronična mukokutana kandidijaza.....	8
2.2.4. Mijeloproliferativne bolesti i solidni tumori.....	8
3. ULOGA JAK/STAT U REUMATOLOŠKIM ENTITETIMA.....	11
3.1. JAK/STAT u patogenezi reumatoidnog artritisa	11
3.2. JAK/STAT u patogenezi psorijatičnog artritisa	15
3.3. JAK/STAT u patogenezi sistemskog eritemskog lupusa	17
4. KLINIČKA PRIMJENA INHIBICIJE PUTA JAK/STAT	21
4.1. Terapija upalnih reumatskih bolesti.....	21
4.1.1. Nesteroidni protuupalni lijekovi	21
4.1.2. Glukokortikoidi	22
4.1.3. Lijekovi koji mijenjaju tijek upalne reumatske bolesti (DMARD)	23
4.1.4. Inhibitori Janus kinaza.....	27

5. ZAHVALE	32
6. LITERATURA	33
7. ŽIVOTOPIS.....	40

POPIS I OBJAŠNJENJE KRATICA KORIŠTENIH U RADU:

NSAID - nesteroidni protuupalni lijek (*engl. nonsteroidal anti-inflammatory drug*)

COX - ciklooksigenaza (*engl. cyclooxygenase*)

DMARD - lijek koji mijenja tijek upalne reumatske bolesti (*engl. disease-modifying antirheumatic drug*)

TNF - čimbenik nekroze tumora (*engl. tumour necrosis factor*)

G-CSF - faktor stimulacije granulocitnih kolonija (*engl. granulocyte colony stimulating factor*)

GM-CSF - faktor stimulacije granulocitnih i makrofagnih kolonija (*engl. granulocyte-macrophage colony stimulating factor*)

JAK - Janus kinaza

STAT - *engl. signal transducer and activator of transcripton*

MAP kinaza - proteinska kinaza aktivirana mitogenom (*engl. mitogen-activated protein kinase*)

NF-κB - nuklearni čimbenik kapa B (*engl. nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*)

PI3k/Akt/mTOR - fosfatidilinozitol 3-kinaza/proteinska kinaza B/meta rapamicina u sisavaca (*engl. phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B/mammalian target of rapamycin*)

SOCS - supresor citokinske signalizacije (*engl. suppressor of cytokine signalling*)

IL - interleukin

EPO - eritropoetin

TPO - trombopoetin

GH - hormon rasta (*engl. growth hormone*)

LOF - gubitak funkcije (*engl. loss of function*)

GOF - dobivanje funkcije (*engl. gain of function*)

SCID - teška združena imunodeficijencija (*engl. severe combined immunodeficiency*)

CMC - kronična mukokutana kandidijaza (*engl. chronic mucocutaneous candidiasis*)

IFN - interferon

GWAS - cjelogenomska studija povezanosti (*engl. genome-wide association study*)

ALL - akutna limfoblastična leukemija

AML - akutna mijeloična leukemija

PV - policitemija vera

PMF - primarna mijelofibroza

ET - esencijalna trombocitoza

SLE - sistemski eritemski lupus (*engl. systemic lupus erythematosus*)

RA - reumatoidni artritis

MHC - glavni kompleks tkivne podudarnosti (*engl. major histocompatibility complex*)

ACPA - protutijela usmjerena na citrulinirane proteine (*engl. anti-citrullinated protein antibodies*)

RANKL - ligand receptora aktivatora nuklearnog čimbenika kapa B (*engl. receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand*)

FGF - fibroblastni čimbenik rasta (*engl. fibroblast growth factor*)

VEGF - vaskularni endotelni čimbenik rasta (*engl. vascular endothelial growth factor*)

PDGF - čimbenik rasta podrijetlom iz trombocita (*engl. platelet-derived growth factor*)

TGF - transformirajući čimbenik rasta (*engl. transforming growth factor*)

PsA - psorijatični artritis

BLyS - stimulator limfocita B (*engl. B lymphocyte stimulator*)

TLR - receptor sličan Tollu (*engl. Toll-like receptor*)

SLEDAI - *engl. SLE Disease Activity Index*

ERK - kinaza regulirana izvanstaničnim signalom (*engl. extracellular signal-regulated kinase*)

SAŽETAK

Inhibitori Janus kinaza u liječenju upalnih reumatskih bolesti

Autor: Mislav Čaić

Paradigma liječenja upalnih reumatskih bolesti značajno se mijenjala kroz povijest novim spoznajama o patogenezi i otkrićima bazičnih medicinskih znanosti općenito. Konkretno, fokus terapijskog pristupa upalnim reumatskim bolestima pomicao se od široke, neselektivne imunosupresije kakvu omogućavaju glukokortikoidi, preko utjecanja na izvršne (eferentne) funkcije imunoloških stanica, do visokospecifične blokade pojedinih citokina. Nova saznanja o načinu na koji citokini dovode do promjene staničnog fenotipa omogućila su terapijsko interferiranje s molekulama koje čine signalni put od citokinskog receptora do stanične jezgre.

Signalni put JAK/STAT sastavni je dio fundamentalnih homeostatskih mehanizama, s obzirom da omogućava efikasnu međustaničnu komunikaciju. Opisani su brojni klinički entiteti koji su rezultat primarnih poremećaja JAK i STAT, no isto tako, pretjerana ili oslabljena funkcija puta JAK/STAT nalazi se kao sekundarni fenomen u raznim infektivnim, upalnim i malignim bolestima. Reumatoidni artritis, psorijatični artritis i sistemski eritemski lupus primjeri su bolesti u kojima je neravnoteža između proupalnih i protuupalnih citokina temeljni faktor u inicijaciji i progresiji bolesti, ali i održavanju kroničnog upalnog procesa. Inhibitori Janus kinaza lijekovi su koji na unutarstaničnoj razini sprječavaju učinak citokina na ciljnu stanicu. Predstavnici ove skupine lijekova trenutno odobreni za liječenje upalnih reumatskih bolesti u Republici Hrvatskoj su tofacitinib i baricitinib, dok se brojni drugi inhibitori JAK nalaze u drugoj i trećoj fazi kliničkih istraživanja. Stoga, predviđa se skorašnje proširenje terapijskih mogućnosti liječenja upalnih reumatskih bolesti.

Imajući na umu brojne dokaze o važnosti pojedinih citokina u patogenezi upalnih reumatskih bolesti, s naglaskom na uspješnost desetljećima primjenjivane anticitokinske terapije, očekivana je sve šira primjena inhibitora Janus kinaza u liječenju upalnih reumatskih bolesti.

Ključne riječi: citokini, glukokortikoidi, inhibitori Janus kinaza, signalni put JAK/STAT, upalne reumatske bolesti

SUMMARY

Janus kinase inhibitors in the treatment of inflammatory rheumatic diseases

Author: Mislav Čaić

According to new findings regarding the pathogenesis of inflammatory rheumatic diseases and the discoveries in the field of basic medical sciences, the paradigm for treating inflammatory rheumatic diseases changed significantly over time. Specifically, the therapeutic goal shifted from nonselective immunosuppression, attained by administration of corticosteroids, to the impact on executive (efferent) functions of immune cells, and highly specific cytokine blockade. The understating of mechanisms of cytokine-induced changes of cell phenotype is now broader than ever, which is crucial for developing and applying new therapeutic strategies, such as interfering with the signalling pathway from the cytokine receptor to the cell nucleus.

The JAK/STAT signalling pathway is an integral part of fundamental mechanisms of homeostasis, since it enables effective intercellular communication. Primary disruption of JAKs and STATs results in numerous clinical entities, but excessive or inadequate JAK/STAT pathway function can be observed as a secondary phenomenon in various other infectious, inflammatory, and malignant diseases. Some examples of diseases where the imbalance of pro- and antiinflammatory cytokines plays a key role in initiation, progression and chronification of the inflammatory process are rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis and systemic lupus erythematosus. Janus kinase inhibitors block the effects of cytokines on the target cell, acting intracellularly. In Croatia, Janus kinase inhibitors currently approved for the treatment of inflammatory rheumatic diseases are tofacitinib and baricitinib. Numerous other JAK inhibitors are at the moment in phases 2 and 3 of clinical research. Therefore, the expansion of available therapeutic approaches to the treatment of inflammatory rheumatic diseases is expected and imminent.

Having in mind multiple evidences on the important role of cytokines in the pathogenesis of inflammatory rheumatic diseases, with the emphasis on the success of anticytokine therapy, the use of Janus kinase inhibitors in the treatment of such disorders is certainly going to amplify.

Key words: cytokines, glucocorticoids, Janus kinase inhibitors, JAK/STAT signalling pathway, inflammatory rheumatic diseases

1. UVOD

1.1. Povijesni pregled terapije upalnih reumatskih bolesti

Prvi opis reumatoidnog artritisa kao zasebnog entiteta daje Augustin Jacob Landré-Beauvais 1800. godine. Liječenje upalnih bolesti provodi se, do otkrića acetilsalicilne kiseline, korištenjem pripravaka dobivenih obradom kore vrbe s uporištem u empirijskim spoznajama i opisano je već u drevnom Egiptu. Acetilsalicilna kiselina sintetizirana je prvi puta 1853. godine u Njemačkoj i 1897. u drugim zemljama svijeta nastojanjem da se umani profil gastrointestinalnih nuspojava do tada već nekoliko desetljeća poznatog salicina, aktivnog ekstrakta kore vrbe. Ime „nesteroidni protuupalni lijekovi“ (NSAID) nastalo je 1960-ih iz potrebe da ih se razluči od steroidnih lijekova, s obzirom da tada nije bio poznat mehanizam djelovanja niti neka karakteristika koja bi izdvajala ovu skupinu lijekova. Različito nazivlje bilo je prijeko potrebno s obzirom na veliki udio nuspojava nastalih pretjeranim korištenjem steroida zbog početnog oduševljenja njihovim protuupalnim svojstvima (1). Mehanizam djelovanja acetilsalicilne kiseline, ireverzibilno vezanje enzima ciklooksigenaze (COX) i supresija proizvodnje prostaglandina i tromboksana, otkriven je 1971. godine. Iako učinkoviti u liječenju upalnih bolesti, tradicionalni neselektivni NSAID imaju neke neželjene nuspojave kao što su povećana sklonost krvarenju zbog inhibicije agregacije trombocita, povećana učestalost gastrointestinalnih ulkusa, krvarenja u gastrointestinalni trakt i perforacije te ozljeda bubrega.

Kortizon, prvi sintetizirani glukokortikoid, proizveden je 1948. godine, za što je 1950. dodijeljena Nobelova nagrada Edwardu Kendallu, Tadeusu Reichsteinu i Philipu Henchu. S obzirom na dramatično kliničko poboljšanje u pacijenata oboljelih od reumatoidnog artritisa liječenih kortizonom, pretpostavljalo se da hipofunkcija nadbubrežne žlijezde ima značajnu ulogu u patogenezi reumatoidnog artritisa. Međutim, ubrzo je postalo jasno da dugotrajna terapija visokim dozama glukokortikoida izaziva ozbiljne sustavne nuspojave. Lijekovi kojima je moguće zadržati dugotrajnu imunosupresiju i zaustaviti progresiju bolesti, uz podnošljive nuspojave, nazivaju se lijekovima koji mijenjaju tijek upalne reumatske bolesti (DMARD) i počeli su se koristiti u liječenju autoimunih reumatskih bolesti 1960-ih. Prvi DMARD korišten u liječenju reumatoidnog artritisa, a kasnije i psorijaze i upalnih bolesti crijeva, bio je metotreksat, sintetiziran 1947. godine. Korisnost DMARD u kliničkoj praksi otkrivena je empirijski, a farmakološki ciljevi DMARD otkriveni su naknadno i uključuju enzime odgovorne za sintezu nukleinskih kiselina, inhibicija kojih dovodi do posljedičnog zaustavljanja proliferacije upalnih stanica.

Suprotno tome, 1980-ih godina dolazi do otkrića brojnih citokina u upalom zahvaćenom sinovijalnom tkivu oboljelih od reumatoidnog artritisa i do promjene u pristupu u konstruiranju lijekova. Nastaju prve molekule kojima je farmakološki cilj unaprijed definirana molekula s poznatom ulogom u patogenezi bolesti. Prva terapija te vrste za cilj ima čimbenik nekroze tumora (TNF- α), s obzirom na njegovu poznatu ulogu u reguliranju brojnih imunoloških putova. Do danas su proizvedene brojne anti-citokinske molekule s obzirom na klinički odgovor i sigurnosni profil (2).

1.2. Citokini i međustanična komunikacija

Citokini su peptidne molekule s brojnim kompleksnim regulacijskim učincima na imunosni sustav i imunost općenito. Svoj učinak ostvaruju predominantno izlučeni lokalno, autokrinom i parakrinom signalizacijom, ali i na udaljenim mjestima od mjesta izlučivanja, endokrinom signalizacijom. Prvi otkriveni citokini opisani su kao čimbenici imunološkog odgovora i, s obzirom na to da ih luče limfociti aktivirani specifičnim antigenom, nazvani su limfokini. Ostale skupine citokina nazvane su prema izvršnim funkcijama u organizmu kao što su faktori stimulacije kolonije: granulocitni (G-CSF) i granulocitno-makrofagni faktor stimulacije kolonije (GM-CSF). Preklapanje funkcija različitih citokina otežava adekvatnu nomenklaturu, ali u kontekstu autoimunih bolesti korisno je primjenjivati funkcionalnu klasifikaciju. Kao imunomodulatorne tvari koje ne prolaze kroz lipidnu barijeru citoplazme, svoj učinak na ciljne stanice ostvaruju putem različitih skupina transmembranskih receptora i signalnih puteva u stanici (3). Vezanje citokina na stanični receptor dovodi do aktiviranja signalnih kaskada koje se integriraju na razini transkripcijskih faktora i dovode do promjene fenotipa stanice. U kontekstu autoimunskih reumatskih bolesti ciljana inhibicija pojedinih citokina pokazala se kao učinkovit terapijski pristup.

S evolucijskog gledišta, učinkovita komunikacija među stanicama od izuzetne je važnosti za razvoj, homeostazu tkiva i organizma i obranu domaćina. Postoji nekoliko signalnih puteva koji to omogućuju, a signalni put JAK/STAT vjerojatno je arhitektonski najjednostavniji koji omogućuje izravan prijenos informacija od transmembranskog receptora do jezgre (4).

2. SIGNALNI PUT JAK/STAT

2.1. Unutarstanični prijenos signala

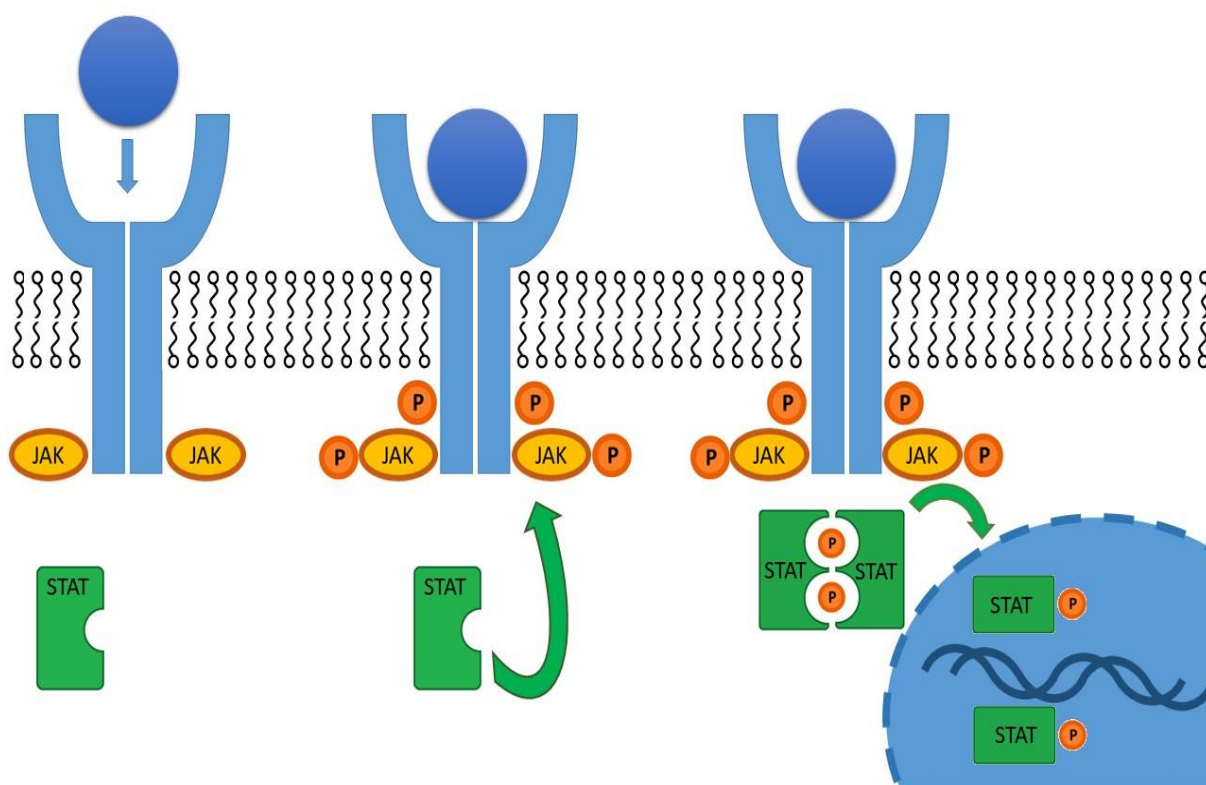
Podjela receptora za citokine temelji se na građi izvanstanične domene (koja veže ligand-citokin) i signalnog mehanizma unutar stanice (5). Dvije velike skupine, tip 1 i tip 2 superobitelj citokinskih receptora koriste isti mehanizam prijenosa signala do jezgre; put JAK/STAT. Ostali mogući načini prijenosa signala su put MAP-kinaza, NF- κ B i PI3K/Akt/mTOR signalni put (6).

Put JAK/STAT evolucijski je očuvan signalni put kojeg aktiviraju razni citokini, interferoni, faktori rasta i druge slične molekule. Ubikvitarnost ovog signalnog puta potvrđuje i činjenica da uz mutacije i polimorfizme gena koji kodiraju komponente puta JAK/STAT vezujemo brojne bolesti, poglavito maligne i imunološke prirode (4).

Četiri su poznate Janus kinaze (JAK 1-3, TYK2), kao i sedam aktivatora transkripcije (STAT 1-4, 5a, 5b, 6), a funkcija svake od njih detaljno je istražena kako na prirodnim humanim tako i na animalnim modelima.

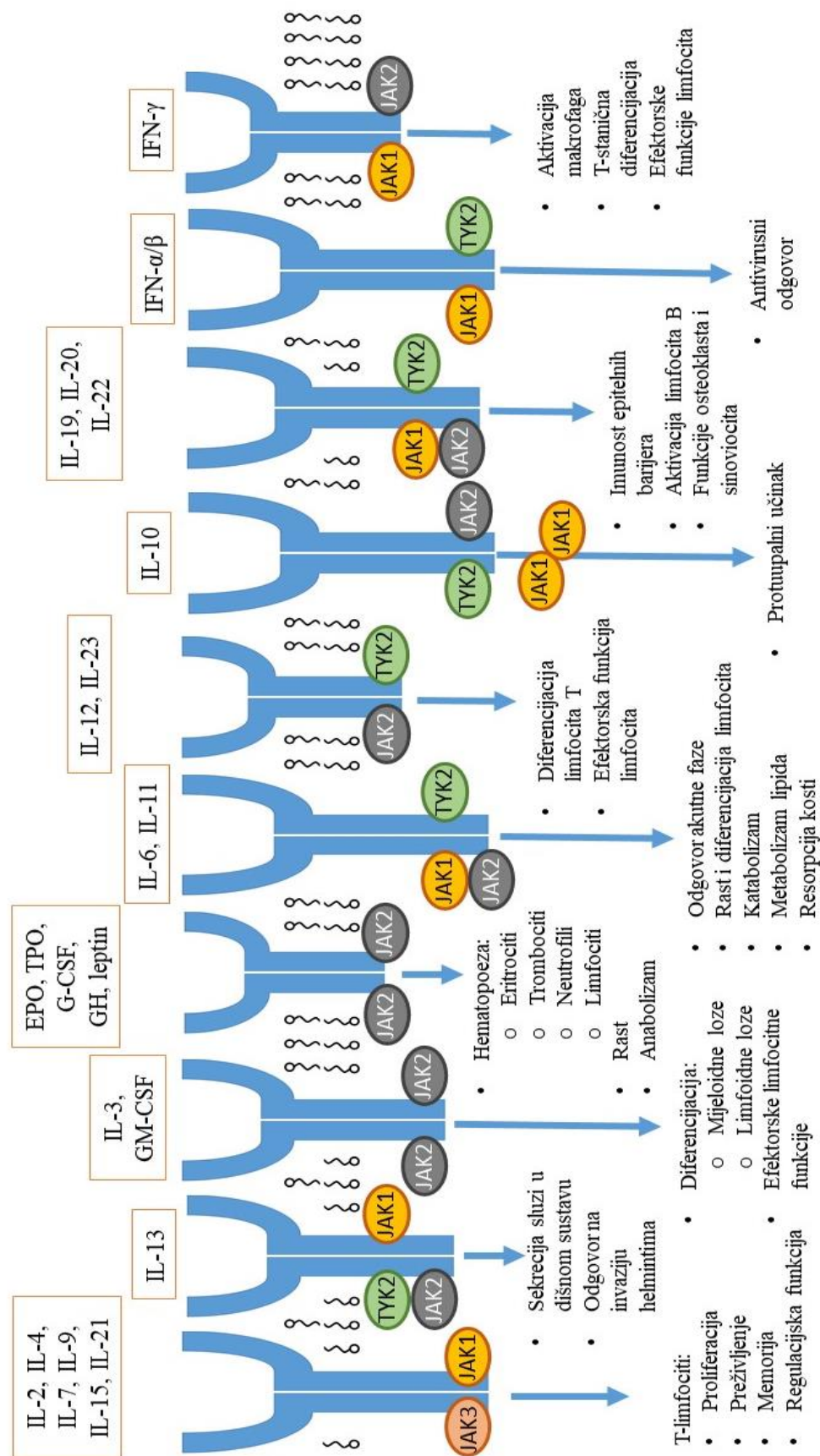
Trenutni model slijeda događaja u signalnim putevima JAK/STAT drži da podražaj citokinskog receptora na staničnoj membrani aktivira pridruženu kombinaciju JAK, što dovodi do fosforilacije citoplazmatske domene receptora. Tako fosforiliran citoplazmatski dio receptora vezuje monomere bjelančevina STAT koje i same tada bivaju fosforilirane, dimeriziraju i premještaju se u staničnu jezgru, gdje vezuju specifične promotorske regije DNA. Način na koji citoplazmatska domena citokinskog receptora stupa u fizički kontakt s bjelančevinom JAK nije u potpunosti poznat, no da bi se potaknula kinazna aktivnost JAK, nužna je njezina neposredna blizina s citokinskim receptorom na staničnoj membrani. Trenutno je malo poznato o načinu na koji neke druge (non-JAK) kinaze fosforiliraju bjelančevine STAT (7). Aktivnost bjelančevina STAT dostiže vrhunac 5 do 30 minuta nakon podražaja citokinskog receptora te se vraća na početnu razinu 1 do 4 sata kasnije. Na kočenje aktivnosti STAT djeluju razni konstitucijski (proteoliza, defosforilacija te inhibicija proteinima inhibitorima aktiviranih STAT) i inducibilni mehanizmi (supresori citokinske signalizacije). Supresori citokinske signalizacije (SOCS) su proteini koji posreduju regulaciju citokinskih receptora „naniže“ kompeticijom sa STAT za vezno mjesto na JAK i poticanjem proteasomske razgradnje citokinskih receptora (8).

Mehanizam kojim STAT utječu na transkripciju gena poznat je iz istraživanja na *knock-out* miševima i novijim tehnologijama koje omogućavaju cjelogenomske procjene genske ekspresije. Dimeri STAT vežu desetke tisuća veznih mjesta DNA i reguliraju transkripciju na tisuće kodirajućih gena.



Slika 1. Shematski prikaz signalnog puta JAK/STAT.

Govoreći o STAT kao posrednicima odgovora stanice na citokinsku stimulaciju, važno se prisjetiti kako citokini osim puta JAK/STAT aktiviraju i neke druge puteve (put MAP-kinaza, NF- κ B, PI3K/Akt/mTOR) te kako postoje drugi, necitokinski podražaji koji mogu utjecati na aktivnost STAT (npr. epidermalni faktor rasta ili receptori s intrinzičnom kinaznom aktivnosti). Također, nefosforilirani STAT imaju neke uloge u stanici mimo utjecaja na DNA. Primjerice, STAT3 može utjecati na permeabilnost mitohondrijske membrane i oksidativnu fosforilaciju. Nadalje, JAK mogu imati utjecaj na staničnu jezgru bez posredovanja STAT, uključujući fosforilaciju histona. Iako je prethodno opisan jednostavniji mehanizam signalnog puta JAK/STAT dostatan za razumijevanje utjecaja citokina na promjenu fenotipa stanice, važno je istaknuti njegovu kompleksnost i uključenost u brojne stanične procese (4).



Slika 2. Uloge signalnog puta JAK/STAT u fiziološkim procesima u organizmu, izrađeno prema (9).

2.2. Klinički značaj puta JAK/STAT

Neposredan dokaz važnosti signalnog puta JAK/STAT su oni fenotipovi koji nastanu mutacijom gena koji kodira neku od komponenti tog puta. Za razliku od entiteta gdje se poremećaji signalizacije JAK/STAT nalaze kao primarni patofiziološki moment, sekundarni poremećaji aktivnosti JAK i STAT mnogo su češći i jedan su u nizu faktora koji doprinose kliničkoj slici bolesti. Sljedeći primjeri ilustriraju ubikvitarnost i fundamentalnost signalnog puta JAK/STAT kroz kliničke slike koje su rezultat njegove disfunkcije. Općenito govoreći, mutacije koje dovode do gubitka funkcije (LOF) određenih bjelančevina JAK i STAT dovode do sindroma imunodeficijencija, a mutacije koje uzrokuju pojačanu aktivaciju (GOF) JAK i bjelančevina STAT povezane su s mijeloproliferativnim neoplazmama, leukemijama i limfomima, kao i drugim zloćudnim bolestima (10).

2.2.1. Teška združena imunodeficijencija

Teška združena imunodeficijencija (SCID) je primarna imunodeficijencija kod koje kombinacija nefunkcionalnosti limfocita T i poremećenog stvaranja imunoglobulina dovodi do kliničke slike karakterizirane teškim rekurirajućim infekcijama, proljevima, atopijskim dermatitisom i poremećajem u rastu i razvoju. Kod mutacija koje dovode do nefunkcionalnosti citokinskog receptora zbog defektne γ podjedinice, stanica nije u stanju odgovoriti na podražaj IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 i IL-21 što izravno utječe na sazrijevanje limfocita T, NK-stanica i nemogućnost diferencijacije limfocita B. Neke Janus kinaze pridružene su više različitih citokinskih receptora, ali JAK3 nije ubikvitarno izražena (uglavnom ju izražavaju hematopoetske stanične linije) i jedino se veže za one citokinske receptore koji sadrže zajednički lanac γ . Stoga mutacije *JAK3* imaju za posljedicu gotovo identičnu kliničku sliku (4).

2.2.2. Sindrom hiper-IgE

Sindrom hiper-IgE (Jobov sindrom) multisistemska je bolest koja se očituje teškim, rekurirajućim piogenim infekcijama kože, gornjeg i donjeg dišnog sustava, jetre te povišenom koncentracijom imunoglobulina E (IgE). U podlozi bolesti leži mutacija *STAT3*, koji regulira gene ključne za diferencijaciju limfocita T u Th17 fenotip, uključujući i sami gen *IL-17*. IL-17 ključan je za migraciju neutrofila na mjesto upale, a ima osobitu ulogu u obrani od *Staphylococcus aureus* i raznih gljivičnih infekcija. STAT3 posreduje i signalizaciju putem

IL-22 koji ima ulogu u očuvanju integriteta epitelnih barijera (koža, respiratorni trakt, probavni trakt). Disfunkcija ovog signalnog puta manifestira se atopijskim dermatitisom, mukokutanom kandidijazom te stafilokoknim apscesima kože. Oštećena funkcija STAT3 u reguliranju memorijskih CD8⁺ limfocita T očituje se rekurirajućim infekcijama *Varicella zoster* i Epstein-Barrinim virusom. Molekularna osnova abnormalnosti skeleta i krvožilja koja prati ovaj sindrom još nije sasvim jasna (4,11)

2.2.3. Kronična mukokutana kandidijaza

Kronična mukokutana kandidijaza (CMC) prezentira se kao rekurirajuća ili perzistirajuća infekcija kože, adneksa i sluznica organizmima roda *Candida*, ponajprije *C. albicans*. U podlozi ove bolesti je mutacija s dobitkom funkcije *STAT1* (u daljnjem tekstu geni su pisani kurzivom). Takve mutacije uzrokuju pojačano lučenje interferona gama (IFN- γ) koji koči transkripciju *IL-17*, što rezultira pojačanom osjetljivošću gljivičnim infekcijama već prethodno opisanim mehanizmom. Mutacije dobitka funkcije *STAT1* povezuju se s autoimunošću, cerebralnim aneurizmama i karcinomima pločastih stanica.

Suprotno CMC, sindrom koji je posljedica mutacija gubitka funkcije *STAT1* karakteriziraju rekurirajuće diseminirane mikobakterijske infekcije (4,12).

2.2.4. Mijeloproliferativne bolesti i solidni tumori

Konstitutivna aktivacija puta JAK/STAT prepoznata je kao čimbenik onkogeneze 1990-ih godina te može nastati zbog autokrinog/parakrinog lučenja citokina, aktivirajućih mutacija citokinskih receptora, aktivirajućih mutacija *JAK* ili drugih aktivatora STAT ili mutacija samih *STAT* (13).

Nekoliko je entiteta iz skupine mijeloproliferativnih bolesti koje se povezuju s mutacijom *JAK2*: policitemija vera, esencijalna trombocitoza i primarna mijelofibroza. Sve ih karakterizira povećana proizvodnja eritrocita i/ili megakariocita u koštanoj srži. Iako su prvotno opisani kao zasebne bolesti, od 1950-ih se prepoznaju preklapanja te se mutacija *JAK2* nalazi kod gotovo svih bolesnika s policitemijom verom (više od 95%), kao i mnogih s esencijalnom trombocitozom i primarnom mijelofibrozom (od 32% do 57%). *JAK2* je ključan u prijenosu signala nizvodno s receptora koji vežu eritropoetin, trombopoetin i ostalih koji upravljaju eritocitopoezom i megakariocitopoezom (10,14). To potvrđuje i

uspješnost liječenja refrakterne aplastične anemije i idiopatske trombocitopenične purpure JAK2 aktivatorom eltrombopagom (4).

Poremećena aktivacija STAT nalazi se u mnogim tumorima, kako hematološkim tako i solidnim. STAT3 sudjeluje u patogenezi difuznog B-velikostaničnog limfoma kao i tumorima dojke i nazofarinksa (15). STAT5 se također nalazi kao čimbenik u patogenezi solidnih tumora i hematoloških maligniteta kao što je kronična mijeloidna leukemija.

Osim uloge STAT u poticanju onkogeneze, prepoznati su i njihovi protektivni učinci. Interferoni su značajni u imunološkom prepoznavanju i eliminaciji maligno promijenjenih stanica, a većinu učinaka ostvaruju posredovanjem STAT1 (16).

2.2.5. Multigenske bolesti

Osim identifikacije monogenских mutacija gubitka ili pojačanja funkcije, cjelogenomske studije povezanosti (GWAS) omogućile su identifikaciju polimorfizama *JAK* i *STAT* u češćim humanim bolestima. Primjerice, polimorfizmi *STAT1* vezuju se uz rizik obolijevanja od malignih bolesti, *STAT3* uz Crohnovu bolest i psorijazu, *STAT4* uz reumatoidni artritis i sistemski eritemski lupus te *STAT6* jednonukleotidni polimorfizmi uz astmu i alergijsku dijatezu.

Funkcionalni značaj ovih polimorfizama u patogenezi većine navedenih bolesti ostaje nejasan, ali ukazuje na fundamentalnu ulogu puta JAK/STAT u humanoј patologiji, od rjeđih monogenских do češćih, složenijih bolesti (4).

Tablica 1. JAK i STAT s pripadajućim citokinima i mutacijama s rezultirajućim fenotipovima (4).

JAK/STAT	Ključan u signalizaciji	Genetska veza s humanom patologijom
JAK1	IFN- α/β , IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15, IL-21, IL-6 obitelj citokina, IL-10 obitelj citokina	Mutacije GOF: ALL, AML, tumori solidnih organa
JAK2	IFN- γ , IL-3, IL-5, GM-CSF, EPO, TPO, G-CSF, GH, leptin	Mutacije GOF: PV, PMF, ET, razni akutni i kronični hematološki maligniteti
JAK3	IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15, IL-21	Mutacije LOF: SCID
TYK2	IFN- α/β , IL-12, IL-23	Mutacije LOF: primarne imunodeficijencije
STAT1	Svi interferoni	Mutacije LOF: podložnost mikobakterijskim i virusnim infekcijama
STAT2	Interferoni tipa I	Deficijencija uzrokuje podložnost virusnim infekcijama
STAT3	IL-6 i ostali citokini gp130	Mutacije LOF: sindrom hiper-IgE (autosomno dominantni)
STAT4	IL-12, IL-23, interferoni tipa 1	Polimorfizmi: rizik od SLE, RA
STAT5a, STAT5b	IL-2, EPO, TPO, GM-CSF, GH, IL-7	Deficijencije: autoimunost, imunodeficijencije, sklonost krvarenjima
STAT6	IL-4, IL-13	Polimorfizmi: rizik od astme i alergijske diateze

3. ULOGA JAK/STAT U REUMATOLOŠKIM ENTITETIMA

3.1. JAK/STAT u patogenezi reumatoidnog artritisa

Reumatoidni artritis (RA) bolest je koja se povezuje sa progresivnim invaliditetom, sustavnim komplikacijama te značajnim socioekonomskim opterećenjem. Trenutna strategija liječenja je započinjanje agresivnije terapije po dijagnozi i inzistiranje na kliničkoj remisiji. Međutim, za uspješnije zbrinjavanje pacijenata s reumatoidnim artritismom nedostaju prediktivni biomarkeri prognoze i terapijskog odgovora, rijetko se uspostavlja održiva remisija bez farmakološke intervencije, mortalitet je viši nego u općoj populaciji te ne postoji način za ponovno uspostavljanje imunološke tolerancije. Velik napredak u razumijevanju patogenetskih mehanizama započinjanja i održavanja bolesti obećava napredak u svim navedenim područjima.

Pretpostavlja se da je za nastanak bolesti potreban okolišni čimbenik koji dovede do gubitka imunološke tolerancije na vlastite antigene u genetički susceptibilne osobe. Među ostalim, dokazi koji upućuju na postojanje genetske predodređenosti uključuju studije na blizancima gdje se konkordancija bolesti u oba blizanca kreće između 15% i 30% za monozigotne i 5% za dizigotne blizance. Identificirane su brojne varijante gena koji su uključeni u patogenezu bolesti. To su skupine gena koje reguliraju aktivaciju limfocita T (*HLA-DRB1*, *PTPN22*, *CD28*, *CD40*, *CTLA4*, *IL2*, *STAT4*, ...), geni koji sudjeluju u signalnom putu NF- κ B, geni za enzime koji konvertiraju arginin u citrulin, gen za jedan od receptora TNF- α i brojni drugi (17).

Općenito se može reći da genetski čimbenici uključeni u patogenezu reumatoidnog artritisa povećavaju rizik nastanka bolesti na nekoliko razina; mijenjaju opću reaktivnost imunološkog sustava povećanjem afiniteta antigen prezentirajućih stanica za autoantigen, mijenjaju antigen-specifični odgovor te mijenjaju sposobnost ciljnog tkiva da modulira imunološki odgovor (18). Najviše istraživani genetski faktor rizika je lokus HLA-DRB1 MHC II gena. Molekularna osnova za tu povezanost naziva se teorijom zajedničkog epitopa. Zajednički epitop je karakterističan slijed aminokiselina u hipervarijabilnoj regiji beta lanca HLA-DRB1 (vezno mjesto za antigen), koji je odgovoran za povećani afinitet za autoantigen i autoreaktivni odgovor stečene imunosti. Prisutnost zajedničkih epitopa smatra se rizičnim čimbenikom za nastanak reumatoidnog artritisa, razvoj težih oblika bolesti, kao i za razvoj izvanzglobnih poremećaja. Pretpostavljeni mehanizam uključuje povećano stvaranje protutijela na anticitrulinirane proteine u serumu (ACPA) te djelovanje putem kalretikulina, receptora prisutnog na neimunološkim stanicama uključenog u regulaciju imunološkog

odgovora i angiogenezu (19). Iako postoji snažna povezanost navedenih alela s pojavnošću reumatoidnog artritisa, ne moraju biti prisutni u svih pacijenata. Važno je također napomenuti kako postoji varijabilnost navedenih alela među različitim etničkim skupinama (17).

U reumatoidnom artritisu patološko lučenje citokina raznih populacija stanica sinovije, prvenstveno makrofaga M1 fenotipa, od velike je važnosti za razvoj bolesti. Proces pretvorbe monocita u aktivirani makrofag naziva se polarizacijom i uvjetovan je citokinskim mikrokolišem sinovije, a pod kontrolom je, među ostalim, i signalnog puta JAK/STAT (20). Relativna zastupljenost raznih citokina (citokinski profil) karakteristična je za sve faze bolesti, uključujući i prekliničku fazu. Neki citokini se nalaze u povećanoj koncentraciji u serumu prije pojave simptoma u ljudi koji će tek razviti reumatoidni artritis u usporedbi sa zdravim kontrolama.

U novije vrijeme postaje jasno kako određeni citokini oblikuju protutijelima posredovanu autoimunost prije klinički manifestne bolesti. To su proupalni citokini $\text{TNF-}\alpha$, IL-6, IL-1 β , GM-CSF, kao i IL-4, IL-12, IL-17. Primjerice, limfociti Th17 potaknuti IL-17 luče IL-21 i IL-22 u germinativnim centrima limfnih čvorova i time potiču plazmablaste na promjenu glikozilacije Fc-fragmenta izlučenih protutijela IgG. Tako izmijenjena protutijela pokazuju veći afinitet za Fc-receptore osteoklasta, što povećava sklonost lokalizacije protutijela na zglobove i posreduje gubitak koštane mase (21).

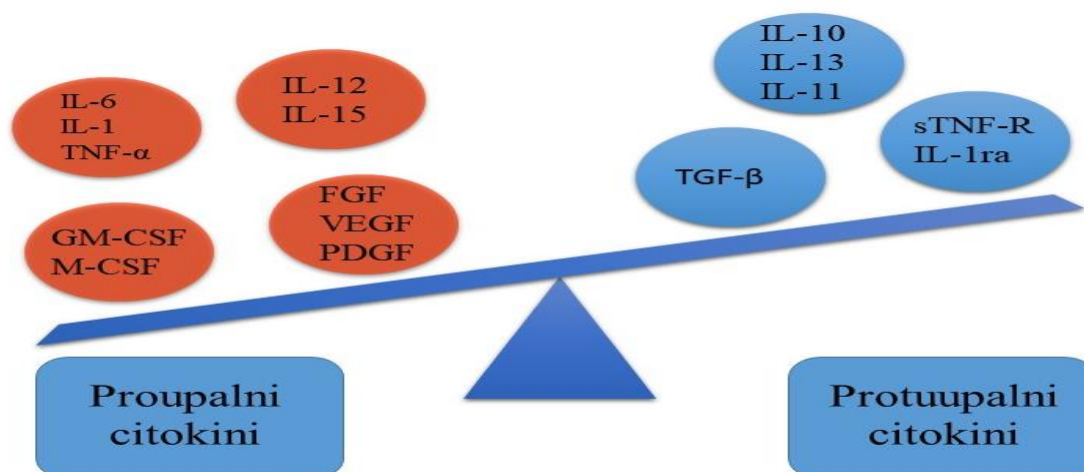
U fazi tranzicije u kroničnu bolest najznačajniji je nalaz sinovitisa čije su patohistološke odrednice proliferacija sinovijalnih fibroblasta, neoangiogeneza te regrutiranje brojnih leukocita (limfocita T i B, monocita/makrofaga, mastocita). Navedena zbivanja dovode do hipertrofije sinovije i širenja tako upalno promijenjenog tkiva u okolnu hrskavicu i kost.

$\text{TNF-}\alpha$ kao promotor aktivacije osteoklasta, hondrocita, vaskularnog endotela i fibroblasta igra glavnu ulogu u upalnoj fazi bolesti, čime izravno posreduje hipertrofiju sinovije (21,22). U patogenezi reumatoidnog artritisa djeluje kao proupalni citokin, ostvarujući proupalni učinak na više razina; inducira aktivaciju leukocita i endotela, utječe na preživljenje i aktivaciju sinoviocita te potiče dodatno lučenje ostalih citokina i kemokina. U kulturi stanica sinovije blokada signalizacije $\text{TNF-}\alpha$ smanjuje lučenje ostalih proupalnih citokina kao što su IL-1, IL-6, IL-8 i GM-CSF. Moduliranjem osteoklastogeneze izravno posreduje nesrazmjer između koštane destrukcije i izgradnje, koji je jedno od glavnih obilježja reumatoidnog artritisa (23).

IL-6 kao prototip proupalnog citokina i jedan od hijerarhijski najvažnijih citokina u kliničkoj fazi bolesti svoje brojne učinke u patogenezi bolesti ostvaruje modulacijom mehanizama stečene imunosti koji su uključeni u patogenezu reumatoidnog artritisa. Osnovne serološke

karakteristike reumatoidnog artitisa su IgM i IgG reumatoidni faktori i ACPA. IL-6 inducira diferencijaciju limfocita B u plazma stanice i potiče stvaranje protutijela. Također, stimulira proliferaciju limfocita T i njihovu diferencijaciju u Th17 fenotip i lučenje IL-17. Migracija neutrofila iz krvi u tkivo (zglob) jedna je od glavnih karakteristika akutne upale. Neutrofili na staničnoj membrani izražavaju receptor za IL-6 te potaknuti IL-6 luče proteolitičke enzime i reaktivne kisikove radikale koji doprinose oštećenju zgloba u reumatoidnom artritisu. Mehanizam tranzicije iz akutnog upalnog procesa, obilježenog polimorfonuklearnom (neutrofilnom) infiltracijom zgloba u kronični proces, obilježen monocitnom infiltracijom odvija se također posredovanjem IL-6. U sinoviji pacijenata s reumatoidnim artritisom IL-6 jedan je od najzastupljenijih citokina i njegova koncentracija korelira s histološkim karakteristikama kroničnog sinovitisa (24,25). IL-6 zajedno sa TNF- α uzrokuje neke od komorbiditeta i sustavnih simptoma koji se viđaju u reumatoidnom artritisu kao što su metabolički sindrom, ateroskleroza/povećan kardiovaskularni rizik, osteoporoza, anemija kronične bolesti, psihijatrijske bolesti kao što je depresija te povećan rizik malignih bolesti (21,22).

IL-1 u patogenezi reumatoidnog artritisa ponajviše je odgovoran za destrukciju hrskavice i kosti putem poticanja proizvodnje RANKL uključenog u osteoklastogenezu i matriks metaloproteinaza uključenih u degradaciju hrskavice. U animalnim modelima injekcija IL-1 u zglob izaziva akumulaciju leukocita u sinovijalni prostor i dostatna je za razvitak kroničnog artritisa.



Slika 3. Poremećena citokinska ravnoteža u reumatoidnom artritisu, prilagođeno prema (26).

Signalni put JAK/STAT glavna je spona između većine proupalnih citokina koji se pojačano luče u tijeku bolesti i same upale, odnosno staničnog odgovora na citokinski podražaj.

Fosforilacija (aktivacija) STAT ključna je za više nizvodnih staničnih mehanizama koji reguliraju preživljenje stanice, apoptozu, nekroptozu i staničnu diferencijaciju (27).

Poznato je otprilike 36 kombinacija citokinskih receptora koji odgovaraju na podražaj oko 38 citokina. Genetske studije sugeriraju kako je sustav citokinskih receptora restriktivan u smislu da različite skupine receptora preferencijalno koriste točno određeni JAK ili kombinaciju JAK (28). Studije o ulozi JAK/STAT provedene na animalnim modelima u skladu su s onima provedenim na staničnim kulturama humanog tkiva upalnih artritisa.

U sinovijalnom tkivu oboljelih nalazi se pojačana ekspresija STAT1, i to poglavito u limfocitima T i B i sinoviocitima sličnima fibroblastima. Primarna uloga STAT1 jest posredovanje upalnih i antivirusnih učinaka IFN- γ kao i njegove antiproliferativne i proapoptotičke funkcije. IFN- γ prvi je citokin za koji je otkriveno da uzrokuje polarizaciju makrofaga u M1 fenotip. Vezanje IFN- γ za pripadajući receptor potiče fosforilaciju JAK1 i JAK2, dimerizaciju STAT1, vezanje čimbenika transkripcije na interferonom aktivirane promotorske regije DNA i prijepis ciljnih gena, koji uključuju gene za proupalne citokine (29). Osim IFN- γ , koji je primarni aktivator STAT1, ostali mogući aktivatori su IL-6, IL-10 te IFN- α i IFN- β (8,27).

IL-6 svoj učinak na stanicu ostvaruje posredovanjem JAK1, JAK2 i TYK2 koji aktiviraju STAT3. Neizravan dokaz o važnosti JAK1, JAK2 i TYK2 kao čimbenika u patogenezi reumatoidnog artritisa je uspješnost terapijske inhibicije IL-6 (30). Ekspresija JAK3 uglavnom je ograničena na limfocite. JAK3 konstitutivno je vezan za zajednički γ lanac receptora za citokine IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 i IL-21. Stoga je pogodan za eventualnu terapijsku intervenciju (31–33). STAT3 potiče transkripciju različitih setova gena u različitim staničnim populacijama. Osim IL-6, aktiviraju ga i IL-10 i IFN- α/γ . U limfocitima T, STAT3 omogućuje proliferaciju putem IL-6 posredovane supresije apoptoze. Protuupalni učinak IL-10 na makrofage također se ostvaruje djelovanjem STAT3. *In vitro* studije na humanom tkivu potvrđuju ulogu STAT3 u kroničnom tijeku reumatoidnog artritisa; opažen je abnormalni rast i preživljenje sinoviocita. Tome u prilog govori i činjenica da u miševa sa suprimiranim STAT3 epidermalni faktor rasta na sinoviocite djeluje kao proapoptotički signal. STAT5 aktiviran signalom IL-2 utječe na diferencijaciju limfocita T u Treg fenotip (34). Uloga STAT4 u reumatoidnom artritisu vjerojatno je proupalna, s obzirom da se signal IL-12, kojeg tipično luče Th1 limfociti, prenosi tim putem. S druge strane, IL-4, tipični citokin Th2 odgovora, odgovor stanice posreduje putem STAT6 (8).

Konstitutivna aktivacija i poremećaji signalnog puta JAK/STAT važni su za mnoge kliničke aspekte reumatoidnog artritisa povezanih s patogeneom i progresijom bolesti.

3.2. JAK/STAT u patogenezi psorijatičnog artritisa

Psorijatični artritis (PsA) česta je upalna bolest perifernog i aksijalnog skeleta (zglobova i enteza), udružena s povećanim mortalitetom od kardiovaskularnih bolesti. Dijagnoza se uglavnom postavlja na temelju kliničkog fenotipa koji obuhvaća mnoge znakove više organskih sustava kao što su entezitis, daktilitis, distrofije nokta, uveitis, kao i radiološkog nalaza erozije i formiranja nove kosti. Upala sinovijalne membrane jedno je od važnijih obilježja psorijatičnog artritisa i obilježena je pojačanom vaskularizacijom i infiltracijom upalnih stanica. Upalne stanice luče brojne proupalne citokine koji aktiviraju fibroblaste slične sinoviocitima i potiču ih na širenje u okolnu hrskavicu i kost (5,35).

Cjelogenomske studije povezanosti pokazale su da psorijatični artritis ima snažniju i različitu genetsku komponentu od kožne psorijaze. Konkordancija u jednojajčanih blizanaca kreće se između 80% i 100%. Omjer rizika za nastanak bolesti srodnika u prvom koljenu oboljelog od psorijatičnog artritisa je 40, dok je za kožnu psorijazu 8 (36). Specifični HLA aleli diktiraju različite subfenotipove psorijatičnog artritisa. Primjerice, HLA-B*27:05:02 haplotip vezuje se uz entezitis, daktilitis i simetrični sakroileitis, dok se HLA-B*08:01:01 vezuje uz deformitete zglobova, asimetrični sakroileitis i daktilitis. Neki HLA aleli djeluju protektivno na razvoj bolesti (37). Nekoliko je ne-HLA lokusa uključeno u patogenezu psorijatičnog artritisa, uključujući gene *IL23R* i *TNFAIP3*, ali i gene koji kodiraju citokine kao što su IL-4, IL-5 te IL-21, izravno dovodeći u vezu specifične citokinske signalne puteve i psorijatični artritis (5,38). Citokini su ključni čimbenici u upalnom i proliferativnom procesu kože i zglobova.

Više je studija dokazalo povišenu koncentraciju TNF- α i pojačanu ekspresiju receptora TNF- α u sinovijalnoj tekućini i sinovijalnoj membrani oboljelih od psorijatičnog artritisa. Razina ekspresije receptora TNF- α u sinovijalnoj tekućini korelira s težinom bolesti (39). TNF- α ključan je citokin u nastanku različitih patoloških karakteristika psorijatičnog artritisa; angiogeneza i promet stanica, proliferacija sinoviocita sličnih fibroblastima te poticanje otpuštanja proupalnih citokina (IL-6, IL-8). U transgeničnih miševa pojačano ekspimiran TNF- α dovodi do pojave erozivnog poliartritisa i hiperplazije sinovijalnog panusa (40). Najizravniji dokaz o ulozi TNF- α u patogenezi psorijatičnog artritisa jest uspješnost anti-TNF terapije. U pacijenata liječenih direktnim inhibitorima TNF nalazi se smanjenje ekspresije adhezijskih molekula i proupalnih citokina što rezultira značajnom inhibicijom raznih upalno-proliferativnih signalnih puteva. Klinička korist blokade signalizacije TNF vjerojatno je u vezi s inhibicijom T-staničnog odgovora i djelovanja signalnog puta IL-23/IL-17 (41).

Za aktivaciju dendritičkih stanica i poticanje diferencijacije naivnih limfocita T ključni su IL-12 i IL-23. Aktivacija dendritičkih stanica IFN- α potiče diferencijaciju naivnih limfocita T u fenotip Th1 i Th17. Ove stanične subpopulacije potom luče mnoštvo citokina (IL-17, IL-21, IL-22, IL-23, TNF- α) koji aktiviraju upalne signalne puteve i dovode do promjene strukture i metabolizma raznih tkiva. Klinički, te se promjene manifestiraju kao psorijatični plakovi, sinovitis, daktilitis i entezitis (42).

Vezanje IL-12 i IL-23 na pripadajući citokinski receptor aktivira kinaze TYK2 i JAK2 koje putem STAT4 i STAT6 omogućuju transkripciju *IFN- α* i *IFN- γ* (43). Prijenosu signala IFN- α i IFN- γ , ali i IL-6 i IL-10, putem STAT1 i STAT3, prethodi dimerizacija JAK1 sa JAK2, JAK3, ili TYK2. Osovina IL-23/IL-17 vjerojatno ima središnju ulogu u patogenezi bolesti. Svi učinci stimulacije IL-23 kao što su T-stanično lučenje IL-17, aktivacija i proliferacija keratinocita u kožnim psorijatičnim lezijama, odvija se putem STAT3. S obzirom da se promjena genske ekspresije potaknuta citokinima iz obitelji IL-17 ne odvija putem signalizacije JAK/STAT, možemo reći da je STAT3 uzvodni regulator osovine IL-23/IL-17 (44,45).

Kao i patogenezu reumatoidnog artritisa, patogenezu psorijatičnog artritisa karakterizira neuravnoteženost pro- i protuupalnih citokina. Nju odražavaju poremećaji brojnih upalnih signalnih putova, poput NF- κ B, MAP-kinaza, ali i signalnog puta JAK/STAT, koji integrira signalizaciju većine citokina uključenih u tijek bolesti (46).

3.3. JAK/STAT u patogenezi sistemskog eritemskog lupusa

Sistemski eritemski lupus (SLE, lupus) kronična je multisistemska autoimuna bolest koju obilježava globalni gubitak tolerancije na autoantigene s aktivacijom autoreaktivnih limfocita T i B i stvaranjem autoantitijela. Patološka autoantitijela usmjerena protiv nukleinskih kiselina i njihovih vezujućih proteina jedna su od temeljnih karakteristika lupusa te zajedno sa staničnim i molekularnim medijatorima upale doprinose oštećenju organa. Gubitak tolerancije sa posljedičnom imunološkom disregulacijom rezultat je djelovanja genetskih čimbenika u kontekstu odgovarajućih okolišnih okidača i stohastičkih događaja (47). Tijek bolesti obilježen je nepredvidivim relapsima i periodima remisije, teško se dijagnosticira te je trenutno neizlječiva. Klinička slika izrazito je heterogena, a tipično uključuje artritis, bolesti kože, abnormalnosti krvne slike i oštećenje bubrega (48,49).

Uloga raznih genetskih faktora u patogenezi lupusa jasna je iz činjenice da se udio nasljednosti u nastanku bolesti procjenjuje na 43.9%, udio zajedničkih okolišnih čimbenika na 25.8% te ne zajedničkih čimbenika na 30.3%. Relativni rizik za nastanak bolesti u osobe čiji blizanac ima lupus je 315 (95% CI), a za prve srodnike 24 (50). Prve cjelogenomske studije povezanosti koje su imale za cilj identificirati genske lokuse povezane s lupusom započete su prije više od deset godina i kolektivno su otkrile više od pedeset gena važnih u patogenezi bolesti. Izdvajanje pacijenata s lupusnim nefritisom u zasebnu kohortu dalo je uvid i u moguće zajedničke patogenetske putove lupusa i lupusnog nefritisa (51).

Iako fenotip koji odgovara lupusu može nastati monogenским deficijencijama kao što su manjak komponenti komplementa (*C1QA*, *C1QB*, *C1QC*), egzonukleaza (*TREX1*) i deoksiribonukleaza (*DNASE1L3*), u većini slučajeva radi se o kombinaciji učinaka više genetskih varijanti za koje je lupus konačna zajednička manifestacija (52). Do sada otkriveni geni koji sudjeluju u patogenezi lupusa mogu se podijeliti u četiri funkcionalne kategorije: geni koji utječu na aktivaciju (B) limfocita, geni koji sudjeluju u signalizaciji urođenog kraka imunosti (signalni putevi NF- κ B i IFN-1), geni uključeni u patogenezu lupusnog nefritisa te geni koji reguliraju apoptotički klirens (51).

Osnovni citokini uključeni u upalne procese i oštećenje tkiva u SLE su stimulator limfocita B (BLyS), IL-6, IL-17, IL-18, interferoni tipa I i TNF- α (53).

IL-6 proizvode mnoge stanične linije; primarno makrofazi, ali i limfociti, mezangijske stanice i endotel. Receptor za IL-6 također je izražen na mnogim stanicama kao što su leukociti, megakariociti i hepatociti. Uz TNF- α i IL-1 ostvaruje pleiotropni učinak na mnoga tkiva, što uključuje i sustavne učinke kao što su stvaranje proteina akutne faze i vrućica. Periferno, IL-6 potiče aktivaciju makrofaga, limfocita B, uzrokuje lučenje imunoglobulina iz plazma stanica i

pojačava efektorske funkcije limfocita T (54). Osim sustavnih učinaka, IL-6 usko je vezan uz specifične manifestacije bolesti. Nalazi se u povišenoj koncentraciji u cerebrospinalnom likvoru pacijenata sa simptomima psihoze, dok se u pacijenata s lupusnim nefritisom nalazi u povišenoj koncentraciji u urinu (53).

TNF- α luče prvenstveno makrofazi i leukociti, ali i u manjoj mjeri endotel. Uloga TNF- α u lupusu donekle je nejasna, s obzirom da studije nisu jednoznačno potvrdile korelaciju između njegove koncentracije u serumu i aktivnosti bolesti. Učinci sustavno izlučenog TNF- α vjerojatno nisu u vezi s onim lokalno izlučenim, za kojega se drži da sudjeluje u oštećenju organa u tijeku bolesti. To potvrđuje i činjenica da terapija protutijelima anti-TNF u drugim reumatološkim entitetima smanjuje simptome vezane uz artritis i nefritis, ali povisuje koncentraciju anti-dsDNA u serumu i može, iako vrlo rijetko, izazvati simptome vezane uz lupus (54). U većine pacijenata s lupusnim nefritisom u bioptatu bubrega nalazi se pojačana ekspresija gena *TNF- α* u glomerulima, tubulima i mezangijskim stanicama. S druge strane, jedan od mogućih mehanizama protektivnog djelovanja TNF- α uključuje regulaciju na niže IFN- α što utječe na funkciju antigen prezentirajućih stanica. Čini se da je neto-činak TNF- α u kompleksnim autoimunim bolestima kao što je lupus teško predvidiv rezultat mnogih faktora, uključujući i genetsku podlogu (55).

Stimulator limfocita B (BLyS) pripada obitelji liganda faktora tumorske nekroze. Izražavaju ga stanice mijeloidne linije, a sekrecija mu je regulirana IFN- γ i IL-10. Veže se na limfocite B i ključan je za proliferaciju i sekreciju imunoglobulina. U transgeničnih miševa, pojačana ekspresija BLyS dovodi do poliklonalne hipergamaglobulinemije (u sklopu koje se stvaraju autoantitijela poput anti-dsDNA), povišenja titra imunih kompleksa i taloženja imunoglobulina u glomerule. Osim što se nalazi u povišenoj koncentraciji u serumu oboljelih od lupusa, može ga se naći i u cerebrospinalnom likvoru bolesnika s neuropsihijatrijskim manifestacijama bolesti (55,56).

Interferoni tipa I proteini su koji fiziološki služe obustavljanju virusne replikacije u domaćinu. Luče ih svi leukociti kao odgovor na podražaj receptora sličnih Tollu (TLR) virusnom DNA i RNA. Povišene vrijednosti IFN tipa I u oboljelih od lupusa jedan je od prvih poremećaja citokina opisanih u humanim autoimunim bolestima (57). Nekoliko je mehanizama kojima doprinose patogenezi lupusa. IFN pojačavaju ekspresiju autoantigena (Ro52), potiču sazrijevanje dendritičkih stanica i regulaciju na više staničnih transmembranskih receptora (MHC I, II), što sve dovodi do upalnog odgovora po tipu Th1.

Prijenos signala IFN tipa I u stanici odvija se uglavnom putem STAT1/STAT1 homodimera, iako neki IFN aktiviraju složene transkripcijske faktore sastavljene od STAT1, STAT2 i interferonom reguliranog čimbenika. STAT1 omogućuju transkripciju gena potrebnih za Th1 imuni odgovor, ali i gena zaduženih za kontrolu proliferacije i apoptoze imunoloških stanica. Nalazi se u povišenim koncentracijama u mononuklearnim stanicama periferne krvi pacijenata s anemijom, u limfocitima T u pacijenata s lupusnim nefritisom te općenito korelira s aktivnošću bolesti (58). Interferonom inducirana signalizacija STAT1 mijenja se u tijeku bolesti i, s obzirom na različite učinke na razne subpopulacije limfocita T i B, može oscilirati između dominantno pro- ili protuupalnog učinka, što klinički odgovara stadijima relapsa i remisija (59).

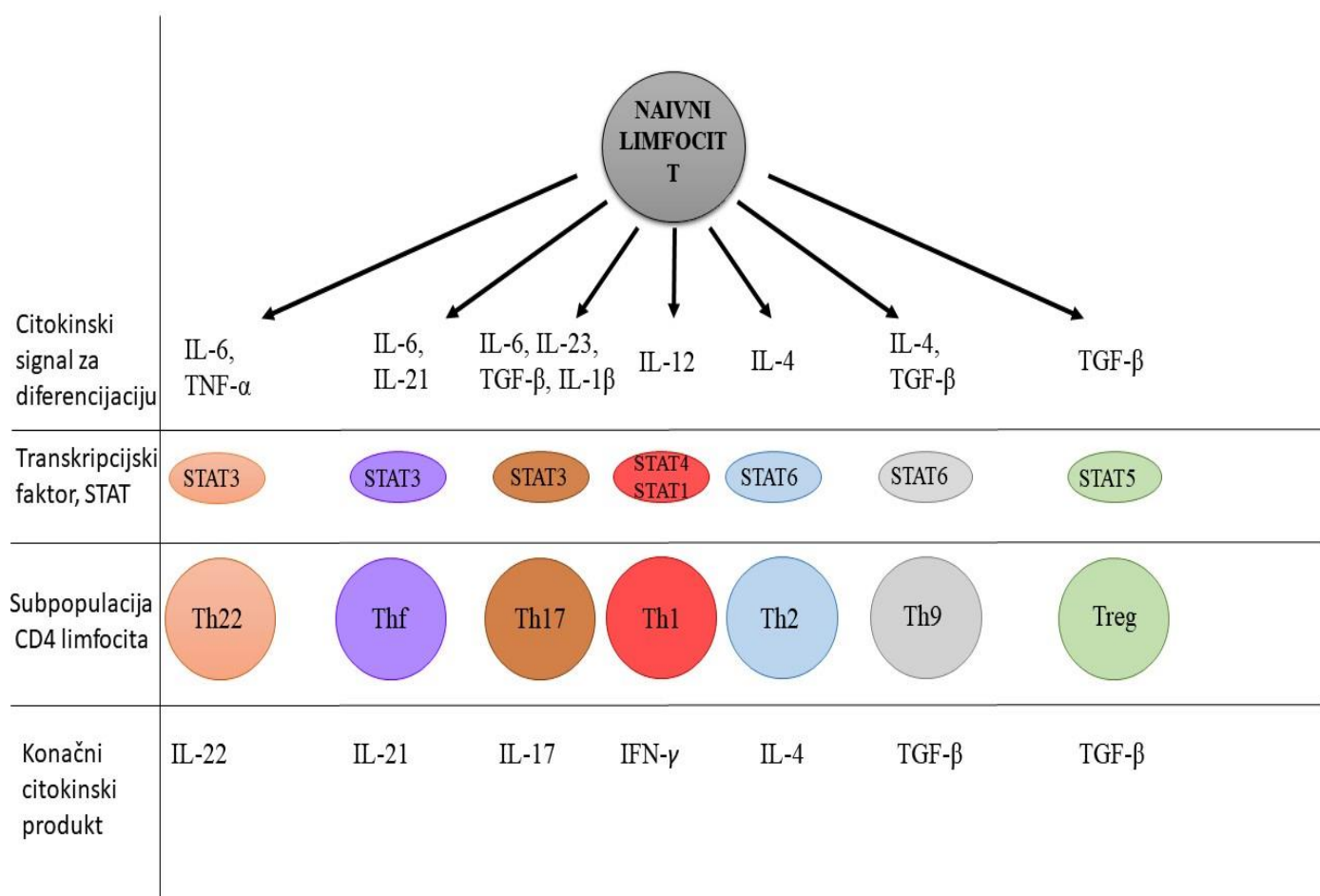
STAT2 je u oboljelih od lupusa konstitutivno fosforiliran, čak i u odsustvu aktivne bolesti. U fiziološkim uvjetima, STAT2 također provodi signal IFN tipa I (IFN- α i IFN- β) i posreduje stanični odgovor na virusnu infekciju. Klinički fenotip izoliranog manjka STAT2 očituje se kao pojačana susceptibilnost virusnim infekcijama zbog teškog oštećenja interferonske signalizacije. Za razliku od STAT1, uloga STAT2 u patogenezi lupusa slabije je istražena (59).

STAT3 posreduje signalizaciju barem šest razreda receptora i ima ključne uloge u brojnim tkivima. Delecija STAT3 u limfocitima T mišjih modela drastično smanjuje ekspresiju IL-21 i IL-17, koji daje signal naivnim limfocitima T za diferencijaciju u Th17 fenotip. Th17 limfociti glavni su izvor citokina odgovornih za regrutaciju neutrofila, funkciju limfocita B i lučenje drugih proupalnih citokina, što dovodi do oštećenja ciljnih organa kakvo se nalazi u lupusu (60). STAT3 također provodi signal IL-6, IL-10 i IL-21 čime potiče plazma stanice na stvaranje protutijela. Inhibicija signalizacije putem STAT3 *in vivo* smanjuje ukupnu koncentraciju autoantitijela i oštećenje bubrega u mišjem modelu lupusa (59).

Prethodno spomenuta veza STAT4 i lupusa (i drugih autoimunih bolesti) uglavnom je posljedica esencijalne uloge STAT4 u provođenju signala IL-12, posebno njegove uloge u reguliranju diferencijacije Th1 limfocita (60). Od otkrića povezanosti varijanti *STAT4* gena i povećanog rizika za nastanak lupusa i reumatoidnog artritisa učinjene su brojne cjelogenomske studije povezanosti na azijskoj i europskoj populaciji. Dokazani su aleli *STAT4* koji nose povećan rizik od teške renalne insuficijencije u lupusnom nefritisu, kao i pojave ishemijskih cerebrovaskularnih događaja i povišenog titra antifosfolipidnih protutijela (59,61).

STAT5 čine dvije izoforme: STAT5A i STAT5B koje kodiraju različiti geni uz preklapanje sekvenci od 96%. Deficijencija obje izoforme u miševa dovodi do smanjenja ekspresije receptora za IL-2 i razvoja teških simptoma autoimunosti. STAT5B je ključan u razvoju limfocita Treg u timusu. U oboljelih od lupusa nalazi se pojačana fosforilacija STAT5 u limfocitima B i T koja korelira s indeksom aktivnosti bolesti (SLEDAI) (59).

Promjena genske ekspresije kao odgovor na podražaj IL-4 najviše je rezultat djelovanja STAT6. Najviše istraživana uloga STAT6 nizvodna je signalizacija u patološkom Th2 staničnom odgovoru u astmi i drugim alergijskim stanjima. U *knock-out* miševa za STAT6 nalazi se izrazito smanjenje koncentracije citokina tipičnih za Th2 stanični odgovor (IL-4, IL-5 i IL-13) koji su uključeni u patogenezu lupusa (59,62).



Slika 4. Uloga signalnog puta JAK/STAT u diferencijaciji naivnog limfocita T u sistemskom eritemskom lupusu, izrađeno prema (59).

4. KLINIČKA PRIMJENA INHIBICIJE PUTA JAK/STAT

4.1. Terapija upalnih reumatskih bolesti

Kronične upalne reumatske bolesti značajan su javnozdravstveni problem. Reumatoidni artritis, kao najčešći autoimuni artritis, ima globalnu prevalenciju od 0.24% godišnje, sistemski eritematozni lupus zahvaća 0.024%, a psorijatični artritis 0.13% svjetske populacije (63–65). Pretjerana i produžena aktivnost upalnih stanica te pojačana ekspresija proupalnih citokina i drugih medijatora upale, kao što su TNF- α , IL-6, IL-1 te IFN- γ središnja su zbivanja u patogenezi autoimunih reumatskih bolesti.

Optimalna farmakološka terapija za oboljele od reumatskih bolesti sastoji se od nesteroidnih protuupalnih lijekova (NSAID), glukokortikoida, konvencionalnih i bioloških antireumatskih lijekova koji mijenjaju tijek bolesti (DMARD) te novijih sintetskih malih molekula (2).

4.1.1. Nesteroidni protuupalni lijekovi

Nesteroidni protuupalni lijekovi djeluju analgetski, antipiretski i protuupalno. Protuupalni učinak zasniva se na inhibiciji enzima ciklooksigenaze (COX). Ciklooksigenaza se nalazi u dvije izoforme: COX-1, koja je konstitutivno izražena u većini tkiva u tijelu i zadužena za sintezu prostanglandina (medijatora upalne i boli) i tromboksana A₂, i COX-2 za čiju aktivnost je potreban podražaj upalnih medijatora (66). Osnovna podjela NSAID-a zasniva se na selektivnosti inhibicije izoformi COX i uključuje tradicionalne neselektivne NSAID i COX-2 selektivne NSAID. Neselektivni NSAID dalje se dijele u podgrupe prema kemijskoj strukturi i obuhvaćaju acetilsalicilnu kiselinu, paracetamol, ibuprofen, naproksen, ketoprofen, piroksikam i druge. Većina lijekova skupine neselektivnih NSAID otkrivena je i sintetizirana 1960-ih godina (67).

NSAID selektivni za COX-2 sintetizirani su iz potrebe da se smanji stopa nuspojava neselektivnih NSAID, s obzirom na ubikvitarnost i brojne fiziološke funkcije COX-1. Ova skupina lijekova obuhvaća meloksikam, celekoksib, parekoksib, etorikoksib i druge (66).

4.1.2. Glukokortikoidi

Glukokortikoidi su otkriveni 1940-ih godina kroz opservacije djelovanja kortizona na pacijente sa reumatoidnim artritismom (68). Lijekovi iz ove skupine sintetizirani kroz naredna desetljeća koriste se u raznim upalnim stanjima, a uključuju prednizon/prednizolon, metilprednizolon i fluorirane glukokortikoide kao što su deksametazon i betametazon (69). Zajedno sa glukokortikoidnim receptorom nalaze se na samome vrhu regulatorne mreže koja blokira nekoliko upalnih signalnih putova. Kompleks glukokortikoid-glukokortikoidni receptor u stanici djeluje na tri načina: I) migrira u staničnu jezgru te kao homodimer veže određene regije DNA gdje potiče ili inhibira transkripciju, II) regulacija nekih gena uključuje interakciju kompleksa sa drugim transkripcijskim faktorima kao što je NF- κ B, III) dio učinka ostvaruje negenomskim putovima, interakcijom sa membranskim receptorima i sustavom drugih glasnika (70). Dokazi upućuju na to da kompleks glukokortikoid-glukokortikoidni receptor inhibira upalni odgovor na sva tri načina, izravnim i neizravnim genomskim, kao i negenomskim putem. U fiziološkoj kontroli upalnih procesa ključnu ulogu ima interakcija između središnjeg živčanog sustava, osovine hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlijezda i komponente stečene i prirodene imunosti. Primjerice, određeni citokini i upalni medijatori stimuliraju periferne nociceptore koji putem dorzalnih kolumni dopijevaju do talamusa i somatosenzornog korteksa. Aktivacija nociceptivnih putova potiče aktivnost osi hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlijezda. Glukokortikoidi inhibiraju sintezu citokina i upalnih medijatora i tako zatvaraju petlju negativne povratne sprege (71).

Uporaba (doza, duljina trajanja terapije i način primjene) ovise o dijagnozi i cilju liječenja. Terapijski učinak u rasponu je od analgetskog do utjecaja na tijek bolesti u reumatoidnom artritisu i snažne imunosupresije u vaskulitisima i sistemskom eritemskom lupusu (72). Iako korist terapijske primjene glukokortikoida proizlazi iz kratkotrajnih vaskularnih promjena (permeabilnost, inhibicija vazodilatacije, migracija leukocita kroz endotel) i ograničene imunosupresije, duga primjena i visoke doze glukokortikoida povezane su s brojnim nuspojavama na više organskih sustava navedenih u Tablici 2. Nuspojave proizlaze iz činjenice kako signalni putovi koje reguliraju glukokortikoidi nisu uključeni samo u imunološke procese, već i u brojne fiziološke funkcije kao što su: kontrola homeostaze odjeljaka tjelesnih tekućina, promet elektrolita, stimulacija glukoneogeneze, mobilizacija aminokiselina, lipoliza, pamćenje i druge kognitivne funkcije (73).

Tablica 2. Nuspojave glukokortikoida (73).

Tkivo	Neželjeni učinak
Nadbubrežna žlijezda	Adrenalna insuficijencija
Kardiovaskularni sustav	Hipertenzija, tromboza, vaskulitis
Središnji živčani sustav	Promjene ponašanja, kognicije, pamćenja
Gastrointestinalni sustav	Krvarenja, pankreatitis
Imunološki sustav	Imunosupresija, aktivacija latentnih virusa
Koža	Atrofija, sporo cijeljenje, eritem, perioralni dermatitis, teleangiektazije
Muskuloskeletni sustav	Nekroza kosti, atrofija mišića, osteoporoza
Oči	Katarakta, glaukom
Bubreg	Pojačano zadržavanje natrija i sekrecija kalija
Reproduktivni sustav	Odgoden pubertet, hipogonadizam
Metabolizam	Dijabetes melitus, centripetalna debljina, dislipidemija, Cushingov sindrom

4.1.3. Lijekovi koji mijenjaju tijek upalne reumatske bolesti (DMARD)

Funkcija NSAID-a ograničena je na analgeziju i poboljšanje funkcije zglobova zahvaćenih autoimunim artritism inhibicijom upalnog odgovora, ali izostaje mogućnost utjecaja na patološki tijek autoimune bolesti. Glukokortikoidi su, uz analgetski učinak, sposobni dovesti do dovoljnog stupnja imunosupresije kako bi se utjecalo na tijek autoimune bolesti, ali dugotrajnu terapiju, čak i u manjim dozama, prate ozbiljne nuspojave. DMARD su skupina lijekova kojom se može održavati dugotrajna imunosupresija uz prihvatljiv profil nuspojava (74).

Dvije temeljne skupine DMARD su konvencionalni sintetski (ksDMARD) i biološki DMARD (bDMARD). Osnovna razlika leži u činjenici da su bDMARD proizvedeni kako bi ciljano vezali molekule eksprimirane na staničnoj površini ili one izlučene u ekstracelularni prostor, a za koje se unaprijed zna uloga u patogenezi autoimune bolesti (75).

4.1.3.1. Konvencionalni sintetski DMARD

Konvencionalni sintetski DMARD i dalje su temelj liječenja autoimunih reumatskih bolesti.

Metotreksat, analog i antagonist folne kiseline, koristi se kao DMARD prve linije zbog visoke stope kliničkog odgovora, dugotrajne učinkovitosti i prihvatljive toksičnosti. Mehanizam djelovanja uključuje inhibiciju svih enzima ovisnih o folatima, regulaciju na niže ekspresije adhezijskih molekula, inhibiciju sinteze purina i pirimidina i supresiju proliferacije limfocita s posljedičnim smanjenjem proizvodnje proupalnih citokina kao što su: IL-4, IL-13, IFN- γ , TNF- α i GM-CSF. Mjerljiva razina inhibicije proizvodnje citokina u krvi oboljelih od reumatoidnog artritisa postiže se nakon oralne primjene 10 mg metotreksata već nakon 2 sata, iako je za klinički odgovor potrebno više tjedana. U oboljelih od mijeloproliferativnih bolesti izazvanih mutacijom *JAK2*, metotreksat u niskim dozama značajno smanjuje fosforilaciju STAT5, neovisno o inhibiciji dihidrofolat reduktaze, za sada nepoznatim mehanizmom (76–78).

Leflunomid inhibira dihidroorotat dehidrogenazu, enzim esencijalan za sintezu RNA i DNA, pogotovo u aktiviranim proliferirajućim limfocitima. U organizmu se metabolizira u teriflunomid, snažan inhibitor NF- κ B signalnog puta, što dovodi do supresije proizvodnje proupalnih citokina poput: IL-6, IFN- γ , TNF- α i IL-17. Osim inhibicije NF- κ B signalnog puta, značajan mehanizam kojim leflunomid inhibira proizvodnju citokina uključuje signalni put JAK/STAT, pri čemu inhibicija fosforilacije STAT6 vjerojatno ima glavnu ulogu u smanjenju ekspresije IL-17 i TNF- α (2,79).

Od ostalih ksDMARD koji se koriste u liječenju autoimunih reumatskih bolesti sa (djelomično) poznatim utjecajem na ekspresiju citokina i staničnu signalizaciju treba spomenuti sulfasalazin, hidroksiklorokin i klorokin. Sulfasalazin se prvenstveno koristi u liječenju reumatoidnog artritisa, a svoje učinke ostvaruje inhibicijom IL-6 i TNF- α nedovoljno istraženim mehanizmom. Antimalarici (hidroksiklorokin, klorokin) usporavaju kliničku progresiju reumatoidnog artritisa i lupusa inhibicijom aktivacije limfocita T i B i sekrecije TNF- α , IL-6 i IL-1 β (2).

Općenito, u pacijenata s reumatoidnim artritisom s dobrim odgovorom na terapiju ksDMARD nalazi se smanjena ekspresija JAK3, STAT1, STAT4 i STAT6 u tkivu sinovije (80).

4.1.3.2. Biološki DMARD

Biološki lijekovi koji mijenjaju tijek upalne reumatske bolesti (bDMARD) koriste se u liječenju već tri desetljeća. Dizajnirani su sa ciljem da interagiraju sa specifičnim molekulama (citokinima i citokinskim receptorima) za koje je otprije poznata uloga u patogenezi bolesti. Dominacija proupalnih citokina u autoimunim reumatskim bolestima odgovorna je za početak i održavanje procesa koji dovode do patoloških promjena zahvaćenog tkiva. bDMARD mogu biti protutijela usmjerena na proupalni citokin ili citokinski receptor, „lažni receptor“ specifičnog citokina ili rekombinantni protein koji onemogućuje vezanje endogenog liganda (citokina) na pripadajući receptor, a sam je agonist ili antagonist citokinskog receptora (81).

bDMARD su prvi puta korišteni u inhibiciji signalizacije TNF- α , s obzirom na njegovu središnju uzvodnu ulogu u pokretanju upalne kaskade. Interakcija TNF- α s receptorom pokreće, osim upalne kaskade, niz signalnih putova kao što su NF- κ B, signalni put liganda receptora aktivatora NF- κ B (RANKL), put kinaze regulirane izvanstaničnim signalom (ERK) i neke proapoptotičke signalne putove. Stoga anti-TNF terapija inhibira ekspresiju ostalih proupalnih citokina (IL-1, IL-6, GM-CSF) (2).

Etanercept je prvi inhibitor TNF- α korišten u liječenju reumatoidnog artritisa. To je rekombinantni protein koji se sastoji od topljivog humanog TNF receptora i imunoglobulinskog dijela. Primjenjuje se supkutano s poluvremenom eliminacije od 3 do 3.5 dana. Veže i inaktivira slobodne TNF i TNF vezane na staničnu membranu.

Infliksimab je rekombinantno kimerično protutijelo koje se sastoji od konstantne sekvence humanog imunoglobulina i varijabilne regije koja veže sve oblike humanog TNF- α . Primjenjuje se intravenski, maksimalnu koncentraciju postiže za 1 sat, a poluvrijeme eliminacije iznosi 8 do 10 dana. Nakon primjene, nalazi se smanjenje ekspresije adhezijskih molekula odgovornih za migraciju leukocita, IL-1, IL-6 i IL-8.

Adalimumab je sasvim humanizirano monoklonsko protutijelo koje sprječava vezanje TNF- α na receptor. Primjenjuje se supkutano s poluvremenom eliminacije od 2 tjedna. S obzirom na manju imunogeničnost, može se primjenjivati u pacijenata koji razviju alergijsku reakciju na infliksimab.

Golimumab je također sasvim humanizirano monoklonsko protutijelo koje u usporedbi s infliksimabom i adalimumabom potentnije veže topljivi i transmembranski oblik TNF. Primjenjuje se supkutano s poluvremenom eliminacije između 7 i 20 dana.

Certolizumab pegol je Fab-fragment humanog protutijela anti-TNF- α kemijski vezan na polietilen glikol. Primjenjuje se supkutano s poluvremenom eliminacije od 2 tjedna. Kemijska

struktura ga čini efikasnijim u odnosu na ostale inhibitore TNF s obzirom da se u visokim koncentracijama nakuplja u upalno promijenjenom tkivu (2,81,82).

Iako je terapija anti-TNF bDMARD uglavnom učinkovita u pacijenata koji boluju od raznih autoimunih reumatskih bolesti, u gotovo 40% pacijenata izostaje klinički odgovor (83). S obzirom na središnju ulogu TNF- α u obrani organizma od patogena, osobito od *Mycobacterium tuberculosis*, i sinergističkim učinkom s IFN- γ u poticanju ekspresije inducibilne sintetaze dušikovog oksida, očekivane nuspojave uključuju povećan rizik od teških infekcija te granulomatoznih i intracelularnih infekcija kao što je tuberkuloza (23).

IL-6 jedan je od ključnih citokina u patogenezi mnogih autoimunskih reumatskih bolesti, a kao terapijski cilj najviše se koristi u reumatoidnom artritisu, gdje posreduje učinke na sinoviju vrlo slične TNF- α : proliferacija panusa, povećana resorpcija kostiju i oksidativni stres leukocita (23). Sposobnost IL-6 i TNF- α da potaknu fosforilaciju STAT putem citokinskog receptora smatra se jednim od temeljnih patofizioloških momenata u održavanju kronične upale, iako se promjena staničnog fenotipa potaknuta IL-6 i TNF- α odvija većim dijelom drugim signalnim putovima (6).

Tocilizumab je humanizirano monoklonsko protutijelo usmjereno na receptor IL-6, koji se nalazi usidren na staničnoj membrani i slobodan u cirkulaciji. Može se primjenjivati supkutano i intravenski, s niskom imunogeničnošću (84). Stoga ometanje nizvodne signalizacije receptora IL-6 inhibiranjem vezanja liganda dovodi do značajnog smanjenja fosforilacije STAT i nizvodnog prijenosa signala (6).

IL-1 kao jedan od ključnih proupalnih citokina utječe na brojne različite populacije stanica i tkiva, primjerice na imunološke stanice, endotel, neurone i hepatocite. U povišenim koncentracijama vezuje se uz upalnu patogenezu i tumorigenezu (tumorska angiogeneza i metastaziranje). Anakinra je rekombinantni modificirani humani protein, antagonist receptora IL-1. Primjenjuje se supkutano jedan puta dnevno (82). U većine pacijenata klinički odgovor je nešto slabiji nego pri primjeni anti-TNF- α terapije, ali sa značajno manjim rizikom od infekcija (23).

IL-17 je proupalni citokin kojeg uglavnom luče Th17 i ostali limfociti T. Njegova ključna uloga kao komponente stečene imunosti jest kemotaksija neutrofila, limfocita, dendritičkih stanica i monocita na mjesto upale. Rezultat pretjerane sekrecije IL-17 kakva se nalazi u mnogim kroničnim upalnim stanjima jest pojačano lučenje ostalih proupalnih citokina kao što su TNF- α , IL-6 i IL-1.

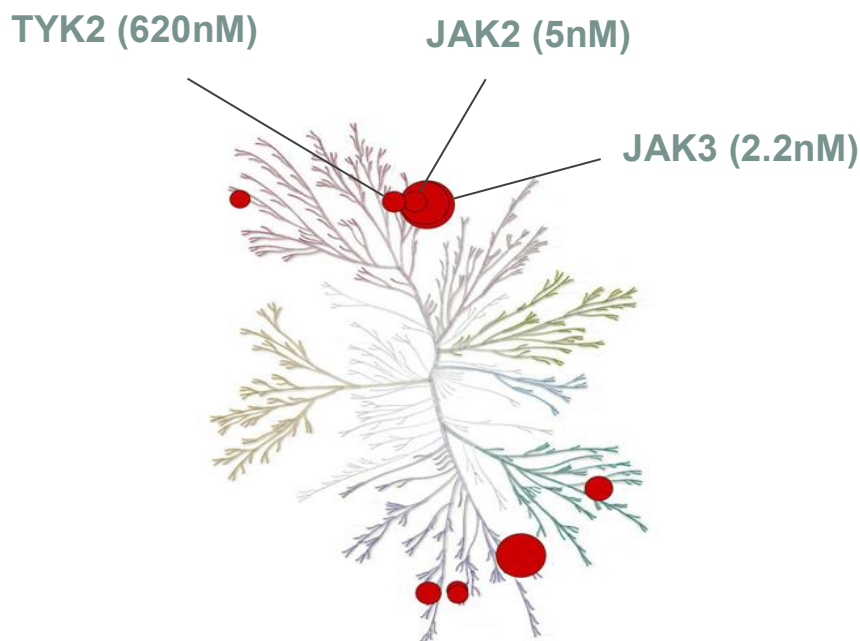
Secukinumab je potpuno humano monoklonsko protutijelo koje selektivno veže IL-17A. Primjenjuje se supkutanom injekcijom jedan puta tjedno kroz četiri tjedna, a zatim slijedi mjesečna doza održavanja (45). Iako IL-17 svoje funkcije na ciljne stanice ne izvršava putem signalnog puta JAK/STAT, za poticaj naivnog limfocita T podraženog IL-23 na diferencijaciju u fenotip Th17, ključna je fosforilacija STAT3 (45).

Ravnoteža između proupalnih i protuupalnih citokina kao glavni regulator progresije bolesti, težine kliničke slike, morbiditeta i mortaliteta glavno je uporište u primjeni anticitokinske terapije. Cilj takve terapije jest prevaga protuupalnih čimbenika regulacijom ekspresije proupalnih citokina s jedne strane, i protuupalnih citokina, antagonista citokinskih receptora i solubilnih citokinskih receptora s druge strane.

4.1.4. Inhibitori Janus kinaza

U novije vrijeme terapija autoimunih reumatskih bolesti polazi od činjenice da se učinak citokina na ciljnu stanicu može blokirati na unutarstaničnoj razini, inhibicijom provođenja signala od membranskog receptora do jezgre (85).

Inhibitori Janus kinaza (JAK-inhibitori) blokiraju više citokinskih signalnih putova istovremeno, s obzirom da signalni put JAK/STAT integrira signal više različitih citokinskih receptora. Gotovo svi bDMARD; anti-TNF- α , anti-IL-1, anti-IL-6 (posebno tocilizumab koji blokira signal JAK1, JAK2 i TYK2) smanjuju fosforilaciju i aktivaciju STAT, što se odražava i na kliničko poboljšanje. Ta opažanja sugeriraju važnost spomenutih Janus kinaza kao potencijalnih farmakoloških ciljeva (30). Pri primjeni bDMARD u terapiji autoimunih reumatskih bolesti susreću se brojni problemi vezani uz samu prirodu molekula. Inhibicija jednog citokina ne garantira terapijski odgovor kod svih pacijenata, što je najviše vidljivo iz primjene terapije anti-TNF- α . Nadalje, terapijski učinak jednog bDMARD može slabjeti kroz vrijeme zbog sekundarnog gubitka učinkovitosti. Taj fenomen može biti posljedica stvaranja protutijela na samu molekulu ili aktiviranje alternativnih upalnih signalnih putova neovisnih o blokiranom citokinu. Inhibitori Janus kinaza su male, neproteinske molekule bez mogućnosti stvaranja imunološke reakcije na sam lijek. S druge strane, protuupalni učinak JAK-inhibitora je usporediv, a po nekim studijama i veći od onog bDMARD (86,87). Svi JAK-inhibitori djeluju kao kompetitivni inhibitori veznog mjesta za ATP na JAK te sve kinaze pokazuju određen stupanj homologije. Iako JAK inhibitori prve generacije (tofacitinib, baricitinib, ruksolitinib) inhibiraju više od jedne JAK, pokazuju relativnu kinomsku selektivnost. Niti jedan JAK-inhibitor prve generacije nije dobar inhibitor TYK2 (3).



Slika 5. Interakcija tofacitiniba s humanim kinomom, kinazna selektivnost (88).

Tofacitinib je prvi inhibitor Janus kinaza odobren za liječenje reumatoidnog artritisa (FDA 2012.) koji preferencijalno inhibira signaliziranje putem JAK3, JAK1, te u manjoj mjeri JAK2. Trenutno se koristi za liječenje umjerenog do teškog reumatoidnog artritisa u kombinaciji s metotreksatom ili kao monoterapija, te u liječenju aktivnog psorijatičnog artritisa u kombinaciji s metotreksatom. Primjenjuje se peroralno dva puta dnevno u dozi od 5 mg (3). Primarni cilj liječenja tofacitinibom jest inhibicija JAK3, koji je najviše izražen u limfocitima, te manjak tog enzima ne utječe na ostale organe i tkiva. Usprkos djelomičnoj selektivnosti za JAK1 i JAK2, kinaze koje sudjeluju u širem spektru citokinske signalizacije i izražene su gotovo ubikvitarno, kliničke studije potvrđuju prihvatljiv sigurnosni profil tofacitiniba (4). JAK3 je pridružen samo jednom citokinskom receptoru odgovornom za prijenos signala IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 i IL-21 i ključan je u razvoju limfocita T i NK-stanica te proliferaciji i funkciji limfocita B, a u kontekstu reumatoidnog artritisa u prvim patofiziološkim zbivanjima (13). Inhibicija JAK1 i JAK2 blokira signalizaciju IFN- γ , IL-6, IL-12 i IL-23. Tofacitinib time funkcionalno utječe na urođeni i stečeni imunološki odgovor inhibicijom diferencijacije naivnog limfocita u fenotip Th1 i Th17 (89). Iako se terapija tofacitinibom dobro podnosi, može povećati stopu infekcija slično bDMARD, od čega su najčešće ozbiljne infekcije pneumonije, celulitisi, infekcije urinarnog trakta i divertikulitisi. Ostale nuspojave uključuju glavobolje, blaže infekcije gornjeg respiratornog trakta, gastrointestinalne tegobe i hipertenziju (30).

Baricitinib je selektivan i reverzibilan inhibitor JAK1 i JAK2, uz slabiju inhibiciju TYK2 i JAK3 *in vitro*. Koristi se u liječenju umjerenog do teškog oblika reumatoidnog artritisa kao monoterapija ili u kombinaciji s metotreksatom. Primjenjuje se peroralno u dozi od 4 mg ili 2 mg jedanput na dan (30). Zaustavlja radiografsku progresiju bolesti, posebno nalaza koštanih erozija i suženja zglobove pukotine (3). Inhibira unutarstaničnu signalizaciju brojnih proupalnih citokina kao što su IL-6 i IL-23, te smanjuje ekspresiju citokina Th1 (IL-12, IFN- γ) i Th17 limfocita (IL-17, IL-22). Inhibicija citokinima (IL-6, TPO) uzrokovane fosforilacije STAT3 doseže najvišu razinu već nakon 1 do 2 sata nakon primjene i održava se kroz 16 do 24 sata (90). Usprkos inhibiciji JAK2 koji je važan faktor hematopoeze, u odobrenim dozama nije pronađena povećana incidencija anemija u pacijenata liječenih baricitinibom. Češće nuspojave uključuju infekcije gornjeg respiratornog trakta, hiperkolesterolemiju, mučninu i trombocitozu (30).

Različite kombinacije JAK pridružene citokinskim receptorima jedna su od razina specifičnosti signalnog puta JAK/STAT. Primjerice, kombinacija JAK1-JAK2-TYK2 odgovorna je za odgovor akutne faze, diferencijaciju limfocita T, metabolizam lipida i koštanu resorpciju. JAK2-TYK2 putem IL-12 i IL-23 potiče diferencijaciju limfocita Th17, a JAK1-TYK2 antivirusnu imunost i aktivaciju NK-stanica.

Novi, selektivniji JAK inhibitori, vezanjem samo jedne Janus kinaze trebali bi smanjiti profil nuspojava uz terapijski učinak usporediv sa neselektivnijim JAK inhibitorima.

Upadacitinib i filgotinib selektivni su JAK1 inhibitori i trenutno u trećoj fazi kliničkih ispitivanja. Za oba lijeka ispituje se učinkovitost u reumatoidnom artritisu i upalnim bolestima crijeva, dok se upadacitinib ispituje i za primjenu u psorijatičnom artritisu, ankilozantnom spondilitisu i atopijskom dermatitisu. Primjena upadacitiniba postiže brz i kontinuiran klinički odgovor i usporava radiografsku progresiju reumatoidnog artritisa, dok filgotinib pokazuje značajnu učinkovitost u Crohnovoj bolesti (91).

Iako neželjeni učinci terapije JAK inhibitorima u liječenju autoimunih reumatskih bolesti sugeriraju dobar sigurnosni profil, treba imati na umu nekoliko činjenica o citokinskoj signalizaciji. Citokini kao što su IL-10, IL-22 i IL-27 imaju značajne protuupalne, a IL-2 proupalne i protuupalne funkcije. Ostaje otvoreno pitanje kliničkog značaja blokiranja signalnih putova navedenih citokina. Također, s obzirom na ulogu interferona, IL-12 i drugih citokina u eliminaciji maligno promijenjenih stanica, dugotrajna inhibicija signalizacije JAK/STAT može potpomognuti tumorigenezu (92). Međutim, studije pokazuju da oboljeli od reumatoidnog artritisa liječeni tofacitinibom nemaju povećanu incidenciju malignih bolesti (93).

Klinički važna distinkcija JAK-inhibitora i bDMARD leži u farmakokinetskoj razlici ove dvije skupine lijekova. Iako je povećan rizik od infekcija pri primjeni JAK-inhibitora sličan onome bDMARD (uz izuzetak infekcije herpes zoster virusom), poluvrijeme eliminacije od nekoliko sati omogućava brzu reverziju imunosupresivnog učinka.

4.2. Budućnost i perspektiva

Budućnost inhibicije signalnog puta JAK/STAT u liječenju autoimunih reumatskih bolesti najbolje opisuje primjer tocilizumaba. Iako je u početku korišten za liječenje reumatoidnog artritisa, danas je odobren za brojne druge indikacije: juvenilni idiopatski artritis, vaskulitisi velikih krvnih žila, reumatična polimijalgija, spondiloartritisi, miozitis, sistemska skleroza i ostale reumatske bolesti. S obzirom da postojeći JAK inhibitori blokiraju i signalizaciju IL-6, navedene bolesti mogle bi biti pogodne za ispitivanje blokade JAK. Interferonski obrazac genske ekspresije u lupusu, miozitisu, primarnom Sjögrenovom sindromu i sistemske sklerozi sugerira moguću učinkovitost inhibicije JAK i u ovim entitetima.

Trenutni je način primjene i doziranje inhibitora JAK usporediv sa onime u DMARD: kontinuirana sistemska primjena u niskoj dozi. Istražuju se mogućnosti započinjanja liječenja visokim dozama do postizanja remisije s postupnim smanjenjem do doze održavanja. Također, topički oblici tofacitiniba pokazuju učinkovitost u liječenju kožne psorijaze i atopijskog dermatitisa u kliničkim istraživanjima. Ukoliko topička primjena JAK inhibitora pokaže učinkovitost usporedivu sa sistemskom, otvaraju se mogućnosti liječenja upalnih bolesti jednog organa (pluća, gastrointestinalni sustav).

Moguća prednost selektivne inhibicije nad trenutnom pan-JAK-inhibicijom leži u boljem sigurnosnom profilu, što bi omogućilo povećanje doze i posljedično jači imunosupresivni učinak.

Potencijalni budući farmakološki cilj mogao bi biti izravna inhibicija aktivacije STAT: sprječavanjem dimerizacije STAT, ometanjem vezanja STAT za citoplazmatsku domenu citokinskog receptora ili interferiranjem sa vezanjem STAT na DNA. Ove mogućnosti osobito se istražuju u kontekstu malignih bolesti, s obzirom na konstitutivnu aktivnost signalnog puta JAK/STAT u maligno promijenjenim stanicama. Međutim, za razliku od JAK, STAT nemaju enzimsku aktivnost, što otežava razvijanje lijeka koji bi imao adekvatnu bioraspoloživost, *in vivo* učinak i selektivnost. STAT3, jedan od najistraživanijih terapijskih ciljeva u tumorima solidnih organa visoko je homologan STAT1. Također, STAT konvergiraju mnoštvo signalnih putova među kojima su i signalni putevi zaduženi za prevenciju tumorigeneze i obranu organizma (94).

Navedene činjenice sugeriraju potrebu za oprezom i razumijevanjem mehanizama na koje se utječe inhibicijom fundamentalnog signalnog puta kao što je JAK/STAT.

5. ZAHVALE

Prvenstveno bih se želio zahvaliti svome mentoru, doc. dr. sc. Miroslavu Mayeru na ideji i podršci u pisanju diplomskog rada, ali i na usmjeravanju, kako profesionalnom tako i osobnom, koje je obilježilo sve kliničke godine mog studija.

Hvala i mojoj obitelji, bratu Zvonimiru i roditeljima, Danieli i Domagoju, na razumijevanju, potpori i prilagođavanju mojim brojnim fazama kroz šestogodišnji studij.

Najviše zahvaljujem svojoj Anji, uz koju su sve prepreke, pa i one nesvakidašnje teške, neizmjereno lake.

Na kraju zahvaljujem svim dragim prijateljima, onima stečenim tijekom studija i onima na čiju podršku sam mogao računati i od ranije.

6. LITERATURA

1. Buer JK. Origins and impact of the term 'NSAID.' *Inflammopharmacology*. 2014 Oct;22(5):263–7.
2. Li P, Zheng Y, Chen X. Drugs for Autoimmune Inflammatory Diseases: From Small Molecule Compounds to Anti-TNF Biologics. *Front Pharmacol*. 2017 Jul 12;8:460.
3. Schwartz DM, Bonelli M, Gadina M, O'Shea JJ. Type I/II cytokines, JAKs, and new strategies for treating autoimmune diseases. *Nat Rev Rheumatol*. 2016 Jan;12(1):25–36.
4. O'Shea JJ, Schwartz DM, Villarino AV, Gadina M, McInnes IB, Laurence A. The JAK-STAT pathway: impact on human disease and therapeutic intervention. *Annu Rev Med*. 2015;66:311–28.
5. Veale DJ, Fearon U. The pathogenesis of psoriatic arthritis. *Lancet Lond Engl*. 2018 Jun 2;391(10136):2273–84.
6. Malemud CJ. Negative Regulators of JAK/STAT Signaling in Rheumatoid Arthritis and Osteoarthritis. *Int J Mol Sci*. 2017 Feb 24;18(3).
7. Murray PJ. The JAK-STAT Signaling Pathway: Input and Output Integration. *J Immunol*. 2007 Mar 1;178(5):2623–9.
8. Ivashkiv LB, Hu X. The JAK/STAT pathway in rheumatoid arthritis: Pathogenic or protective? *Arthritis Rheum*. 2003;48(8):2092–6.
9. O'Shea JJ, Gadina M, Schreiber RD. Cytokine Signaling in 2002: New Surprises in the Jak/Stat Pathway. *Cell*. 2002 Apr 19;109(2):S121–31.
10. O'Shea JJ, Holland SM, Staudt LM. JAKs and STATs in immunity, immunodeficiency, and cancer. *N Engl J Med*. 2013 Jan 10;368(2):161–70.
11. Sonnenberg GF, Fouser LA, Artis D. Border patrol: regulation of immunity, inflammation and tissue homeostasis at barrier surfaces by IL-22. *Nat Immunol*. 2011 May;12(5):383–90.
12. O'Shea JJ, Gadina M, Kanno Y. Cytokine Signaling: Birth of a Pathway. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2011 Dec 1;187(11):5475–8.
13. Leonard WJ, O'Shea JJ. Jaks and STATs: biological implications. *Annu Rev Immunol*. 1998;16:293–322.
14. Spivak JL. Narrative review: Thrombocytosis, polycythemia vera, and JAK2 mutations: The phenotypic mimicry of chronic myeloproliferation. *Ann Intern Med*. 2010 Mar 2;152(5):300–6.
15. Song JJ, Grandis JR. STAT signaling in head and neck cancer. *Oncogene*. 2000 May 15;19(21):2489–95.
16. Dunn GP, Koebel CM, Schreiber RD. Interferons, immunity and cancer immunoediting. *Nat Rev Immunol*. 2006 Nov;6(11):836–48.

17. McInnes IB. The Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. *N Engl J Med*. 2011;15.
18. Ravlić-Gulan J, Novak S, Gulan G. Patogenetski mehanizmi u reumatoidnom artritisu. *Med Flum*. 2012;48(4):11.
19. Žerjavić NL, Jureša DS, Babić-Naglić Đ, i sur. Raspodjela HLA-DRB1 gena u hrvatskih bolesnika s artritisom. *Reumatizam*. 2005;52(1):12–6.
20. Malyshev I, Malyshev Y. Current Concept and Update of the Macrophage Plasticity Concept: Intracellular Mechanisms of Reprogramming and M3 Macrophage “Switch” Phenotype. *BioMed Res Int*. 2015;2015:341308.
21. Firestein GS, McInnes IB. Immunopathogenesis of Rheumatoid Arthritis. *Immunity*. 2017 21;46(2):183–96.
22. Ridgley LA, Anderson AE, Pratt AG. What are the dominant cytokines in early rheumatoid arthritis? *Curr Opin Rheumatol*. 2018 Mar;30(2):207–14.
23. Noack M. Selected cytokine pathways in rheumatoid arthritis. *Semin Immunopathol*. 2017;19.
24. Jones SA. Directing transition from innate to acquired immunity: defining a role for IL-6. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2005 Sep 15;175(6):3463–8.
25. Srirangan S, Choy EH. The Role of Interleukin 6 in the Pathophysiology of Rheumatoid Arthritis. *Ther Adv Musculoskelet Dis*. 2010 Oct;2(5):247–56.
26. Andreakos ET, Foxwell BM, Brennan FM, Maini RN, Feldmann M. Cytokines and anti-cytokine biologicals in autoimmunity: present and future. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2002 Aug;13(4–5):299–313.
27. Malemud C, Pearlman E. Targeting JAK/STAT Signaling Pathway in Inflammatory Diseases. *Curr Signal Transduct Ther*. 2009 Sep 1;4(3):201–21.
28. O’Shea JJ, Gadina M, Schreiber RD. Cytokine signaling in 2002: new surprises in the Jak/Stat pathway. *Cell*. 2002 Apr;109 Suppl:S121–131.
29. Tugal D, Liao X, Jain MK. Transcriptional control of macrophage polarization. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2013 Jun;33(6):1135–44.
30. T. Virtanen A, Haikarainen T, Raivola J, Silvennoinen O. Selective JAKinibs: Prospects in Inflammatory and Autoimmune Diseases. *BioDrugs*. 2019 Feb;33(1):15–32.
31. Tanaka Y, Yamaoka K. JAK inhibitor tofacitinib for treating rheumatoid arthritis: from basic to clinical. *Mod Rheumatol*. 2013 May;23(3):415–24.
32. Ghoreschi K, Laurence A, O’Shea JJ. Janus kinases in immune cell signaling. *Immunol Rev*. 2009 Mar;228(1):273–87.
33. Walker JG. Expression of Jak3, STAT1, STAT4, and STAT6 in inflammatory arthritis: unique Jak3 and STAT4 expression in dendritic cells in seropositive rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2006 Feb 1;65(2):149–56.

34. Charles-Schoeman C, Gonzalez-Gay MA, Kaplan I, i sur. Effects of tofacitinib and other DMARDs on lipid profiles in rheumatoid arthritis: implications for the rheumatologist. *Semin Arthritis Rheum*. 2016;46(1):71–80.
35. Kruithof E, Baeten D, De Rycke L, i sur. Synovial histopathology of psoriatic arthritis, both oligo- and polyarticular, resembles spondyloarthropathy more than it does rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2005;7(3):R569-580.
36. Karason A, Love TJ, Gudbjornsson B. A strong heritability of psoriatic arthritis over four generations--the Reykjavik Psoriatic Arthritis Study. *Rheumatol Oxf Engl*. 2009 Nov;48(11):1424–8.
37. Haroon M, Winchester R, Giles JT, Heffernan E, FitzGerald O. Certain class I HLA alleles and haplotypes implicated in susceptibility play a role in determining specific features of the psoriatic arthritis phenotype. *Ann Rheum Dis*. 2016 Jan;75(1):155–62.
38. Alenius G-M, Friberg C, Nilsson S, Wahlström J, Dahlqvist SR, Samuelsson L. Analysis of 6 genetic loci for disease susceptibility in psoriatic arthritis. *J Rheumatol*. 2004 Nov;31(11):2230–5.
39. Mease P. Tumour necrosis factor (TNF) in psoriatic arthritis: pathophysiology and treatment with TNF inhibitors. *Ann Rheum Dis*. 2002 Apr;61(4):298–304.
40. Keffer J, Probert L, Cazlaris H, i sur. Transgenic mice expressing human tumour necrosis factor: a predictive genetic model of arthritis. *EMBO J*. 1991 Dec;10(13):4025–31.
41. Summers deLuca L, Gommerman JL. Fine-tuning of dendritic cell biology by the TNF superfamily. *Nat Rev Immunol*. 2012 Apr 10;12(5):339–51.
42. Meglio PD, Nestle FO. The role of IL-23 in the immunopathogenesis of psoriasis. *F1000 Biol Rep* [Internet]. 2010 May 24 [citirano 2019 Svibanj 25];2. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2950033/>
43. Mortezaei M, Ritchlin C. IL12/IL23 Inhibition in the Treatment of Psoriatic Arthritis. *Curr Treat Options Rheumatol*. 2015 Jun 1;1(2):197–209.
44. Chiricozzi A, Faleri S, Saraceno R, i sur. Tofacitinib for the treatment of moderate-to-severe psoriasis. *Expert Rev Clin Immunol*. 2015 Apr;11(4):443–55.
45. Boutet M-A, Nerviani A, Gallo Afflitto G, Pitzalis C. Role of the IL-23/IL-17 Axis in Psoriasis and Psoriatic Arthritis: The Clinical Importance of Its Divergence in Skin and Joints. *Int J Mol Sci*. 2018 Feb 9;19(2).
46. Tan Y, Qi Q, Lu C, i sur. Cytokine Imbalance as a Common Mechanism in Both Psoriasis and Rheumatoid Arthritis. *Mediators Inflamm*. 2017;2017:2405291.
47. Deng Y, Tsao BP. Genetic susceptibility to systemic lupus erythematosus in the genomic era. *Nat Rev Rheumatol*. 2010 Dec;6(12):683–92.
48. Wahren-Herlenius M, Dörner T. Immunopathogenic mechanisms of systemic autoimmune disease. *Lancet Lond Engl*. 2013 Aug 31;382(9894):819–31.

49. Moulton VR, Suarez-Fueyo A, Meidan E, Li H, Mizui M, Tsokos GC. Pathogenesis of Human Systemic Lupus Erythematosus: A Cellular Perspective. *Trends Mol Med*. 2017 Jul;23(7):615–35.
50. Kuo C-F, Grainge MJ, Valdes AM, i sur. Familial Aggregation of Systemic Lupus Erythematosus and Coaggregation of Autoimmune Diseases in Affected Families. *JAMA Intern Med*. 2015 Sep;175(9):1518–26.
51. Mohan C, Putterman C. Genetics and pathogenesis of systemic lupus erythematosus and lupus nephritis. *Nat Rev Nephrol*. 2015 Jun;11(6):329–41.
52. Lo MS. Monogenic Lupus. *Curr Rheumatol Rep*. 2016 Dec;18(12):71.
53. Jacob N, Stohl W. Cytokine disturbances in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther*. 2011;13(4):228.
54. Davis LS, Hutcheson J, Mohan C. The Role of Cytokines in the Pathogenesis and Treatment of Systemic Lupus Erythematosus. *J Interferon Cytokine Res*. 2011 Oct;31(10):781.
55. Yap DYH, Lai KN. The role of cytokines in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus - from bench to bedside: Cytokines in systemic lupus erythematosus. *Nephrology*. 2013 Apr;18(4):243–55.
56. Mackay F, Woodcock SA, Lawton P, i sur. Mice transgenic for BAFF develop lymphocytic disorders along with autoimmune manifestations. *J Exp Med*. 1999 Dec 6;190(11):1697–710.
57. Bengtsson AA, Sturfelt G, Truedsson L, i sur. Activation of type I interferon system in systemic lupus erythematosus correlates with disease activity but not with antiretroviral antibodies. *Lupus*. 2000;9(9):664–71.
58. Karonitsch T, Feierl E, Steiner CW, i sur. Activation of the interferon-gamma signaling pathway in systemic lupus erythematosus peripheral blood mononuclear cells. *Arthritis Rheum*. 2009 May;60(5):1463–71.
59. Goropevšek A, Holcar M, Avčin T. The Role of STAT Signaling Pathways in the Pathogenesis of Systemic Lupus Erythematosus. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2017 Apr;52(2):164–81.
60. Raphael I, Nalawade S, Eagar TN, Forsthuber TG. T cell subsets and their signature cytokines in autoimmune and inflammatory diseases. *Cytokine*. 2015 Jul;74(1):5–17.
61. Bolin K, Sandling JK, Zickert A, i sur. Association of STAT4 Polymorphism with Severe Renal Insufficiency in Lupus Nephritis. *PLoS ONE* [Internet]. 2013 Dec 27 [citirano 2019 Svibanj 23];8(12). Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3873995/>
62. Kaplan MH, Schindler U, Smiley ST, Grusby MJ. Stat6 is required for mediating responses to IL-4 and for development of Th2 cells. *Immunity*. 1996 Mar;4(3):313–9.

63. Gabriel SE, Michaud K. Epidemiological studies in incidence, prevalence, mortality, and comorbidity of the rheumatic diseases. *Arthritis Res Ther*. 2009;11(3):229.
64. Cross M, Smith E, Hoy D, Carmona L, Wolfe F, Vos T, et al. The global burden of rheumatoid arthritis: estimates from the global burden of disease 2010 study. *Ann Rheum Dis*. 2014 Jul;73(7):1316–22.
65. Scotti L, Franchi M, Marchesoni A, Corrao G. Prevalence and incidence of psoriatic arthritis: A systematic review and meta-analysis. *Semin Arthritis Rheum*. 2018;48(1):28–34.
66. Antman EM, Bennett JS, Daugherty A, i sur. Use of nonsteroidal antiinflammatory drugs: an update for clinicians: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2007 Mar 27;115(12):1634–42.
67. Rainsford KD. Anti-inflammatory drugs in the 21st century. *Subcell Biochem*. 2007;42:3–27.
68. Hench PS, Kendall EC. The effect of a hormone of the adrenal cortex (17-hydroxy-11-dehydrocorticosterone; compound E) and of pituitary adrenocorticotrophic hormone on rheumatoid arthritis. *Proc Staff Meet Mayo Clin*. 1949 Apr 13;24(8):181–97.
69. Buttgereit F, Burmester G-R, Straub RH, Seibel MJ, Zhou H. Exogenous and endogenous glucocorticoids in rheumatic diseases. *Arthritis Rheum*. 2011 Jan;63(1):1–9.
70. Nagaich AK, Rayasam GV, Martinez ED, i sur. Subnuclear trafficking and gene targeting by steroid receptors. *Ann N Y Acad Sci*. 2004 Jun;1024:213–20.
71. Webster JI, Tonelli L, Sternberg EM. Neuroendocrine regulation of immunity. *Annu Rev Immunol*. 2002;20:125–63.
72. van der Goes MC, Jacobs JW, Bijlsma JW. The value of glucocorticoid co-therapy in different rheumatic diseases - positive and adverse effects. *Arthritis Res Ther*. 2014;16(Suppl 2):S2.
73. Rhen T, Cidlowski JA. Antiinflammatory Action of Glucocorticoids — New Mechanisms for Old Drugs. *N Engl J Med*. 2005 Oct 20;353(16):1711–23.
74. Laev SS, Salakhutdinov NF. Anti-arthritic agents: progress and potential. *Bioorg Med Chem*. 2015 Jul 1;23(13):3059–80.
75. Grubišić F. Prijedlog nove nomenklature lijekova koji mijenjaju tijek upalne reumatske bolesti. *Reumatizam*. 2014;61(1):46–7.
76. Meier FMP, Frerix M, Hermann W, Müller-Ladner U. Current immunotherapy in rheumatoid arthritis. *Immunotherapy*. 2013 Sep;5(9):955–74.
77. Gerards AH, de Lathouder S, de Groot ER, Dijkmans B a. C, Aarden LA. Inhibition of cytokine production by methotrexate. Studies in healthy volunteers and patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Oxf Engl*. 2003 Oct;42(10):1189–96.

78. Thomas S, Fisher KH, Snowden JA, Danson SJ, Brown S, Zeidler MP. Methotrexate Is a JAK/STAT Pathway Inhibitor. *PloS One*. 2015;10(7):e0130078.
79. González-Alvaro I, Ortiz AM, Domínguez-Jiménez C, Aragón-Bodi A, Díaz Sánchez B, Sánchez-Madrid F. Inhibition of tumour necrosis factor and IL-17 production by leflunomide involves the JAK/STAT pathway. *Ann Rheum Dis*. 2009 Oct;68(10):1644–50.
80. Walker JG, Ahern MJ, Coleman M, i sur. Changes in synovial tissue Jak-STAT expression in rheumatoid arthritis in response to successful DMARD treatment. *Ann Rheum Dis*. 2006 Dec;65(12):1558–64.
81. Rider P, Carmi Y, Cohen I. Biologics for Targeting Inflammatory Cytokines, Clinical Uses, and Limitations. *Int J Cell Biol* [Internet]. 2016 [citirano 2019 Lipanj 4];2016. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5204077/>
82. Guo Q, Wang Y, Xu D, Nossent J, Pavlos NJ, Xu J. Rheumatoid arthritis: pathological mechanisms and modern pharmacologic therapies. *Bone Res*. 2018 Dec;6(1):15.
83. Roda G, Jharap B, Neeraj N, Colombel J-F. Loss of Response to Anti-TNFs: Definition, Epidemiology, and Management. *Clin Transl Gastroenterol*. 2016 Jan;7(1):e135.
84. Scott LJ. Tocilizumab: A Review in Rheumatoid Arthritis. *Drugs*. 2017 Nov;77(17):1865–79.
85. Deon D, Ahmed S, Tai K, i sur. Cross-Talk Between IL-1 and IL-6 Signaling Pathways in Rheumatoid Arthritis Synovial Fibroblasts. *J Immunol*. 2001 Nov 1;167(9):5395–403.
86. Taylor PC, Keystone EC, van der Heijde D, i sur. Baricitinib versus Placebo or Adalimumab in Rheumatoid Arthritis. *N Engl J Med*. 2017 16;376(7):652–62.
87. Kotyla PJ. Are Janus Kinase Inhibitors Superior over Classic Biologic Agents in RA Patients? *BioMed Res Int* [Internet]. 2018 May 10 [citirano 2019 Lipanj 5];2018. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5971265/>
88. Ghoreschi K, Laurence A, O'Shea JJ. Selectivity and therapeutic inhibition of kinases: to be or not to be? *Nat Immunol*. 2009 Apr;10(4):356–60.
89. Modulation of innate and adaptive immune responses by tofacitinib (CP-690,550). - PubMed - NCBI [Internet]. 2019 [citirano 2019 Lipanj 5]. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21383241>
90. Al-Salama ZT, Scott LJ. Baricitinib: A Review in Rheumatoid Arthritis. *Drugs*. 2018 May;78(7):761–72.
91. Serhal L, Edwards CJ. Upadacitinib for the treatment of rheumatoid arthritis. *Expert Rev Clin Immunol*. 2019 Jan 2;15(1):13–25.
92. Mittal D, Gubin MM, Schreiber RD, Smyth MJ. New insights into cancer immunoediting and its three component phases--elimination, equilibrium and escape. *Curr Opin Immunol*. 2014 Apr;27:16–25.

93. Wollenhaupt J, Silverfield J, Lee EB, i sur. Safety and efficacy of tofacitinib, an oral janus kinase inhibitor, for the treatment of rheumatoid arthritis in open-label, longterm extension studies. *J Rheumatol*. 2014 May;41(5):837–52.
94. Santoni M, Massari F, Del Re M, i sur. Investigational therapies targeting signal transducer and activator of transcription 3 for the treatment of cancer. *Expert Opin Investig Drugs*. 2015 Jun;24(6):809–24.

7. ŽIVOTOPIS

Rođen sam 26.5.1994. godine u Zagrebu, gdje sam završio osnovnu školu i I. opću gimnaziju.

Godine 2007. završio sam osnovnoškolsko obrazovanje u Glazbenoj školi „Ivan Zajc“ u Zagrebu, a 2013. godine završio sam srednjoškolsko obrazovanje na Glazbenom učilištu „Elly Bašić“ te stekao zvanje glazbenik gitarist. Tijekom osnovnoškolskog i srednjoškolskog obrazovanja u glazbenoj školi, više sam puta osvojio prvu nagradu na državnim i međunarodnim gitarističkim natjecanjima u solo i komornim kategorijama.

Maturirao sam 2013. godine te upisao Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Tijekom svog fakultetskog obrazovanja bio sam aktivno uključen u razne studentske izvannastavne aktivnosti.

Tijekom akademske godine 2017./2018. i 2018./2019. radio sam kao urednik studentskog neuroznanstvenog časopisa „Gyrus“, za kojeg sam i napisao više članaka.

Također, posljednje 2 godine studija sudjelovao sam u organizaciji *Croatian Student Summit* (CROSS), kao član znanstvenog odbora kongresa.

Godine 2018. prijavio sam sažetak znanstvenog rada pod naslovom „Mean platelet volume as a potential biologics therapy response predictor and disease activity indicator in patients with rheumatoid arthritis.“, koji je objavljen u kongresnoj knjižici godišnjega europskog kongresa reumatologije društva EULAR 2018, kao suplement časopisa „Annals of the Rheumatic Diseases“.

Iste godine aktivno sam sudjelovao na Central European Congress of Rheumatology (CECR), s prikazom slučaja „Apremilast as a treatment of choice for psoriatic arthritis in a patient with difficult to treat autoimmune hepatitis.“

Godine 2018. pohađao sam *Dubrovnik Summer School of Emergency Medicine*, u sklopu koje sam odslušao i uspješno savladao tečaj neposrednog održavanja života (Immediate Life Support – ILS) te dobio certifikat Europskog vijeća za reanimatologiju (European Resuscitation Council – ERC).

Aktivno govorim i pišem engleski jezik (razina C1) te sam 2010. godine položio *Certificate in Advanced English* (CAE). Služim se i njemačkim jezikom (razina B2).