Imunološki mehanizmi u bolestima gastrointestinalnog trakta

Topalušić, Iva

Master's thesis / Diplomski rad

2014

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:105:727514

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**



Repository / Repozitorij:

Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository







SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Iva Topalušić

Imunološki mehanizmi u bolestima gastrointestinalnog trakta

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2014.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Iva Topalušić

Imunološki mehanizmi u bolestima gastrointestinalnog trakta

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2014.

Ovaj rad izrađen je na Odjelu za kliničku imunologiju, pulmologiju i reumatologiju Klinike za unutarnje bolesti Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, KB „Sveti Duh“, pod vodstvom prof.dr.sc. Asje Stipić-Marković, te je predan na ocjenu u akademskoj godini 2013./ 2014.

POPIS KRATICA:

GALT- od engl. gut associated lymph tissue

MLČ- mezenterijski limfni čvor

LP- lamina proprija

PP- Peyerove ploče

LF- limfatični folikul

CD- od engl. cluster of differentiation

DS- dendritička stanica

T reg- regulatorni limfocit T

IL- interleukin

TGFß- od engl. transforming growth factor ß

RK- retinoična kiselina

HLA- od engl. human leukocite antigen

TLR-od engl. Toll- like receptor

NLR-od engl. Nod- like receptor

NOD- od engl. nucleotide oligomerization domain

iNOS- od engl. inducible nitric-oxide synthase

IEL- intraepitelni limfocit

GF- od engl. germ-free

SIT-specifična imunoterapija

SLIT- sublingvalna imunoterapija

OIT- oralna imunoterapija

SCIT- supkutana imunoterapija

TNFα- od engl. tumor necrosis factor α

IFNϒ- interefron ϒ

APRIL-od engl. proliferation inducing ligand

BAFF-od engl. B-cell activating factor

SADRŽAJ

Sažetak

Summary

1. UVOD 1
2. IMUNOLOŠKI SUSTAV PROBAVNE CIJEVI 2
3. CRIJEVNA MIKROBIOTA 9
4. ALERGIJSKE REAKCIJE NA HRANU 11
5. CELIJAKIJA 15
6. UPALNE BOLESTI CRIJEVA 18
7. SINDROM IRITABILNOG CRIJEVA 22
8. EOZINOFILNI EZOFAGITIS I GASTROENTERITIS 24
9. ZAKLJUČAK 26
10. ZAHVALE 27
11. LITERATURA 28
12. ŽIVOTOPIS 38

SAŽETAK

Iva Topalušić

Imunološki mehanizmi u bolestima gastrointestinalnog trakta

Imunološki sustav gastrointestinalnog trakta organiziran je u limfno tkivo pridruženo sluznici probavne cijevi-GALT (od engl. gut associated lymphoid tissue). Nedavno je prepoznata i imunološka uloga epitelnih stanica koje luče antimikrobne peptide, produciraju crijevni glikokaliks i imaju predočnu funkciju. Dendritičke stanice (CD 103^+ DS) glavne su predočne stanice crijevne imunosti. Potiču imunoregulatorne mehanizme, kojima se prema antigenima hrane i crijevne mikrobiote normalno uspostavlja imunotolerancija. Glavni je mehanizam uspostave imunotolerancije poticanje diferencijacije naivnih limfocita T prema regulatornim limfocitima (T reg). T reg lučenjem antiinflamatornih citokina IL-10 i TGFß (transformirajući čimbenik rasta β), inhibiraju proinflamatornu imunološku kaskadu (Th1, Th2, Th17). U uspostavi imunotolerancije ulogu imaju i sekretorna IgA antitijela koja smanjuju imunogenost antigena, okružuju ih i odvajaju od sluznice, te sprječavaju kontakt s imunološkim stanicama. Pravilna diferencijacija limfocita T ovisi o interakciji stanica nespecifične imunosti i crijevne mikrobiote. U sluznici probavnog sustava nalazi se oko 10^{13} bakterija, od kojih 85% čine laktobacili i bifidobakterije. Za mnoge je pripadnike crijevne mikrobiote (*B. fragilis, F. prauznitsii*) pokazano da stimuliraju upravo diferencijaciju T reg. Poremećaj diferencijacije T reg i promjene crijevne mikrobiote smatraju se važnima u razvoju alergijskih reakcija na hranu. Stoga se proučava terapijska uloga probiotika i specifične imunoterapije, s ciljem poticanja imunotolerancije. Kod bolesnika s upalnim bolestima crijeva, nađeno je niz promjena nespecifične i specifične imunosti. Najčešće se spominju polimorfizmi NOD2 (od od engl. Nod-like receptor) i TLR4 (od engl. Toll-like receptor) te dominacija Th17 limfocitnog odgovora. Niz je novosti vezanih uz patogenezu celijakije koja je povezana s Th1 i Th2 obrascima preosjetljivosti na gluten i njegove frakcije. Otkrivena je značajna uloga IL-15 u patogenezi refraktorne celijakije, što otvara mogućnost uspješnijem liječenju ovih bolesnika. Sindrom iritabilnog crijeva također se povezuje s imunološkim promjenama te se postižu dobri terapijski rezultati probioticima. Eozinofilni ezofagitis i gastroenteritis u posljednje su vrijeme u porastu te se povezuju s alergijama na hranu. Ipak, potrebna su daljnja istraživanja njihove patogeneze.

Ključne riječi: imunoregulacija, nespecifična i specifična imunost, crijevna mikrobiota, probiotici, gastrointestinalne bolesti

SUMMARY

Iva Topalušić

Immunological mechanisms in gastrointestinal diseases

The mucosal immune system includes diffuse lymphoid cells and organized lymphoid structures that form gut associated lymphoid tissue-GALT. The immunological role of epithelial cells has also been confirmed. They produce glycocalyx and antimicrobial peptides that control different classes of microorganisms. Dendritic cells (DC) have the main role in antigen presenting. Under steady-state conditions, CD 103^+ DC are specialized in driving mucosal tolerogenic responses. They induce T regulatory cell development. T reg produce IL-10 and TGFß (transforming growth factor β), that have an antiinflamatory effect and inhibit Th1, Th2 and Th17 cell development. IgA are also important to control intestinal immune homeostasis via two actions. They reduce the expression of inflammatory bacterial epitopes by opsonization and inhibit their contact with immune cells. The intestinal microbiota is composed of 10^{13} microorganisms. *Lactobacilli and Bifidobacteria* dominate (> 85% of total bacteria). Microbiota has diverse effect on immune cells. For instance, *B. fragilis and F. prauznitsii* are able to promote T reg differentiation. The role of gut microbiota dysbiosis and deviation in T reg cells differentiation has been well studied in the pathogenesis of food allergy. Further studies are needed to investigate therapeutic effects of probiotics and speciffic imunotherapy. There are many disorders in adaptive and innate immunity whitch are thought to have a role in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. Mutations of NOD2 (Nod-like receptor) and TLR4 (Toll- like receptor), as well as increased activity of Th17 pathway, have been studied in the context of inflammatory bowel disease. New pharmacological approaches due to these mechanisms are needed to be studied. Coeliac disease is both Th1 and Th2 disorder caused by a gluten hypersensitivity. The role of IL-15 in refractory coeliac disease has recently been highlighted. Irritable bowel syndrom has also been explained by some immunological mechanisms. Recent studies have shown that probiotics have good results in treatment of these patients. Eosinophilic esophagitis and eosinophilic gastroenteritis have receantly been recognised as increasing disorders, at least partly connected with food allergy. Further studies are needed to explain pathogenesis of these disorders.

Key words: immunoregulation, adaptive immunity, innate immunity, gut microbiota, probiotics, gastrointestinal diseases

1. UVOD

Imunološki sustav gastrointestinalnog trakta kompleksan je sustav imunoloških stanica i njihovih interakcija s crijevnim miljeom. Čine ga imunokompetentne stanice, poput neutrofila, monocita, makrofaga te limfocita, ali i stanice čija se uloga u imunološkim reakcijama i imunomodularnim procesima tek otkriva, poput epitelnih i dendritičkih stanica.

Sluznica probavnog sustava u stalnom je kontaktu s nizom egzogenih antigena koji pobuđuju imunološki odgovor. Prema vlastitim tkivnim antigenima, antigenima hrane, inhalacijskim antigenima te normalnoj mikrobiološkoj flori (crijevna mikrobiota), imunološki sustav ima zadaću uspostaviti toleranciju, a patogene mikroorganizme uništiti i eliminirati. U zdravom organizmu, ovi su procesi uravnoteženi.[1-3]

Sluznica probavnog sustava kolonizirana je velikim brojem bakterija (oko 10^{13}). Napretkom molekularne biologije i mikrobiologije, sve se više identificiraju novi sojevi crijevne mikrobiote, a napredak bazičnih istraživanja iz područja imunologije omogućava bolje razumijevanje uloge mikrobiote u imunostimulaciji i imunomodulaciji.[4] Smatra se kako crijevna mikrobiota ima važnu ulogu u razvoju imunološkog sustava tijekom ranog djetinjstva i obrani protiv patogenih mikroorganizama karakterističnih za dječju dob.[5,6] Također, čini se kako je interakcija imunoloških stanica i mikrobiote ključna u uspostavi mehanizama imunotolerancije na antigene hrane i normalne mikroflore. Poremećaji u ovim procesima, smatraju se odgovornima za razvoj alergijskih reakcija na hranu, upalnih bolesti crijeva, celijakije te sindroma iritabilnog kolona. Novija istraživanja ukazuju na ulogu interakcija imunološkog sustava i crijevne mikrobiote na niz sistemskih imunoloških bolesti, poput multiple skleroze, atopijskih bolesti, dijabetesa tipa I te promjena na koštanozglobnom sustavu.[3] Također, u brojnim su studijama bolje razjašnjeni mehanizmi djelovanja probiotika i mogućnosti njihove terapijske primjene.[7]

U svjetlu novih spoznaja o imunologiji probavnog sustava, ponovno je aktualizirana „higijenska hipoteza“ (Strachan 1989) koja govori o promjenama u načinu života (zapadni stil, primjena antibiotika, inhibitora protonske pumpe, nesteroidnih protuupalnih lijekova) i razvoju atopijskih bolesti. Novije spoznaje tu su hipotezu modificirale i proširile, ukazujući na važnost okolišnih čimbenika u pravilnom razvoju crijevnog ekosistema te regulaciji imunoloških procesa probavnog sustava. Time predstavljaju temelj razvoju novih terapijskih pristupa usmjerenih prema imunološkim patogenetskim mehanizmima.[8]

2. IMUNOLOŠKI SUSTAV PROBAVNE CIJEVI

Imunološki sustav gastrointestinalnog trakta kompleksan je sustav imunoloških stanica, organiziranih u limfno tkivo pridruženo sluznici probavne cijevi-GALT (od engl. gut associated lymph tissue). GALT čine organizirane strukture poput Peyerovih ploča (PP), limfatičnih folikula (LF) i mezenterijskih limfnih čvorova (MLČ), te stanice lamine proprije (LP) i intraepitelni limfociti (IEL).[9] Peyerove ploče smještene su submukozno, dominantno u području ileuma. Histološki predstavljaju nakupinu limfnog tkiva s germinativnim centrima i mnoštvom limfocita, od kojih dominiraju limfociti B i CD4+ limfociti T. Limfatični folikuli manje su nakupine limfnog tkiva, građom slične Peyerovim pločama. Zajedno s mezenterijskim limfnim čvorovima i Peyerovim pločama, predstavljaju mjesto indukcije imunološkog odgovora prema humoralnoj ili staničnoj imunosti, te mehanizama imunoregulacije. Stanice lamine proprije i intraepitelni limfociti T pripadaju efektorskom odjeljku probavne imunosti. U lamini propriji nalazimo aktivirane plazma stanice, CD4+ i CD8+ subpopulacije limfocita T, predočne dendritičke stanice, makrofage te nešto mastocita i eozinofila. Intraepitelni limfociti T uglavnom su CD8+ (slika 1). Imunološki odgovor možemo podijeliti na nespecifični i specifični, iako su ti odnosi u probavnom sustavu isprepleteni i teško odjeljivi. U širem smislu, epitelne i Panethove stanice također se smatraju imunološkim stanicama, budući da se sve više otkriva njihova uloga u inicijaciji i regulaciji i imunološkog odgovora.[10]

2.1. Nespecifična imunost

2.1.1. Epitelna barijera

Epitelne stanice predstavljaju prvu liniju obrane protiv patogena te drugih antigena koji pobuđuju imunološki odgovor. Smatra se da imaju važnu ulogu u nespecifičnoj imunosti. Istraživanja su pokazala da epitelne stanice na membrani eksprimiraju molekule tkivne podudarnosti, HLA I i II, te da imaju sposobnost predočavanja antigena. Epitelne stanice posjeduju i specijalne receptore za prepoznavanje epitopa mikroorganizama, čija aktivacija dovodi do produkcije citokina, „up-regulacije“ kostimulatornih molekula na predočnim stanicama te pokretanja specifičnog imunološkog odgovora. Također, sudjeluju u transportu

IgA antitijela iz lamine proprije u lumen probavne cijevi, posredstvom posebnog receptora za imunoglobuline (IgR).[11,12]

Epitelne stanice međusobno su povezane tijesnim spojevima (engl. tight junctions), čime se održava kontinuitet sluznice. Ipak, manji peptidi mogu proći paracelularno te doći u kontakt s imunološkim stanicama lamine proprije. Specijalizirane stanice epitela tankog crijeva, tzv. M stanice, procesom transcitoze prenose antigene u subepitelni prostor.

Epitelne stanice imaju i sekretornu, apsorptivnu i probavnu funkciju. Sluznica crijeva prekrivena je negativno nabijenim glikokaliksom koji elektrostatski odbija većinu bakterija. Kiseli pH želuca ima baktericidni učinak, a crijevni motilitet također smanjuje kontakt sluznice s bakterijama. Djelovanjem probavnih enzima smanjuje se imunogenost antigena hrane (slika 1).[13]

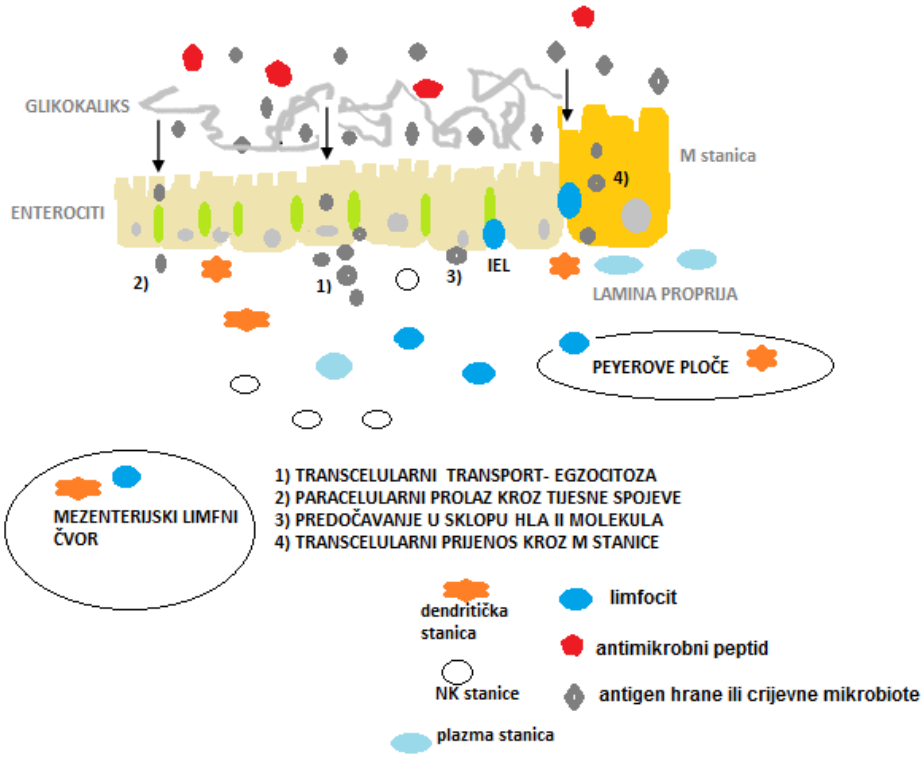
Antimikrobni peptidi poput defenzina, angiogenina, lektina i lizozima također imaju važnu ulogu u antimikrobnoj aktivnosti. Luče ih epitelne stanice, intraepitelni limfociti i Panethove stanice tankog crijeva. Lučenje antimikrobnih peptida regulirano je interakcijom navedenih stanica i crijevne mikrobiote, tj. prepoznavanjem bakterijskih antigena posredstvom posebnih skupina receptora. Antimikrobni peptidi važni su u oblikovanju sastava crijevne mikroflore, a time neizravno u regulaciji specifičnog imunološkog odgovora.[14]

2.1.2. **Prepoznavanje antigena**

Stanice nespecifične imunosti, poput neutrofila, makrofaga, dendritičkih, Panethovih i epitelnih stanica, posjeduju transmembranski i intracelularno smještene skupine receptora, od kojih su najpoznatije obitelji TLR (od engl. Toll-like receptor) i NLR (od engl. Nod-like receptor). Ovi receptori imaju sposobnost prepoznavanja pojedinih bakterijskih epitopa-PAMP (od engl. pathogen-associated molecular patterns).[15]

TLR receptori su transmembranski proteini koji u interakciji s bakterijskim antigenima aktiviraju unutarstaničnu signalizaciju preko NF-κB molekula, čime se pokreće produkcija iNOS (od engl. inducible nitric-oxide synthase), citokina, kemotaksija stanica nespecifične imunosti, humoralni IgA odgovor te produkcija antimikrobnih peptida (ponajviše lektina). TLR 1, 2, 3, 4, 5 i 9 receptori nađeni su u ljudskom tkivu, ali o njihovoj funkciji ponajviše doznajemo iz pokusa na mišjim modelima.[16] Ipak, poremećaj ekspresije nekih od ovih receptora opisan je u bolesnika s Chronovom bolešću. Smatra se da TLR receptori imaju ulogu u maturaciji nezrelih dendritičkih stanica, te ovisno o spektru citokina koje luče, utječu na diferencijaciju limfocita T prema inflamatornom ili neinflamatornom odgovoru.[17]

Unutar obitelji NLR receptora, najbolje su istraženi NOD1 i NOD2, smješteni intracelularno. NOD1 receptore nalazimo u epitelnim stanicama. Oni uglavnom prepoznaju peptidoglikan gram-negativnih bakterija.[18] Ekspresija NOD2 receptora karakteristična je ponajviše za monocite i Panethove stanice, a prepoznaju muramil-peptid koji nalazimo i u gram-pozitivnih i u gram-negativnih bakterija.[19] U pokusima na miševima koji su imali smanjenu funkciju NOD2, zamijećena je smanjena sposobnost eliminacije bakterija i lučenja antimikrobnih peptida (posebice defenzina) te povećana permeabilnost sluznice crijeva. [20]



Slika 1. Građa epitelne barijere i stanice lamine proprije; mehanizmi prijenosa luminalnih antigena.

2.1.3. **Dendritičke stanice**

Dendritičke stanice (DS) glavne su predočne stanice crijevne imunosti. Nalaze se u lamini propriji sluznice tankog i debelog crijeva, mezenterijskim limfnim čvorovima i Peyerovim pločama. Dendritičke stanice površinski mogu izražavati biljege CX3C1 i CD 103^+. CD 103^+ DS važne su u uspostavljanju imunološke tolerancije na antigene hrane i normalne crijevne flore. CX3C1 DS potječu od prekursora monocita te uspostavljaju direktni kontakt s luminalnim antigenima. Pružaju svoje citoplazmatske nastavke preko epitelnog sloja sluznice te antigene predočuju CD 103^+ DS. Nakon što dođu u kontakt s antigenom, CD 103^+ DS limfom putuju u Peyerove ploče i mezenterijske limfne čvorove, gdje antigene predočuju

naivnim limfocitima T, te pokreću specifični imunološki odgovor. Također, imaju sposobnost indukcije receptora CCR9 i α4β7 integrina na T limfocitima te plazma stanicama, čime se one udomljuju (engl. „homing“) u sluznici probavnog sustava (slika 2). Dendritičke stanice imaju sposobnost samostalne fagocitoze.[1, 21]

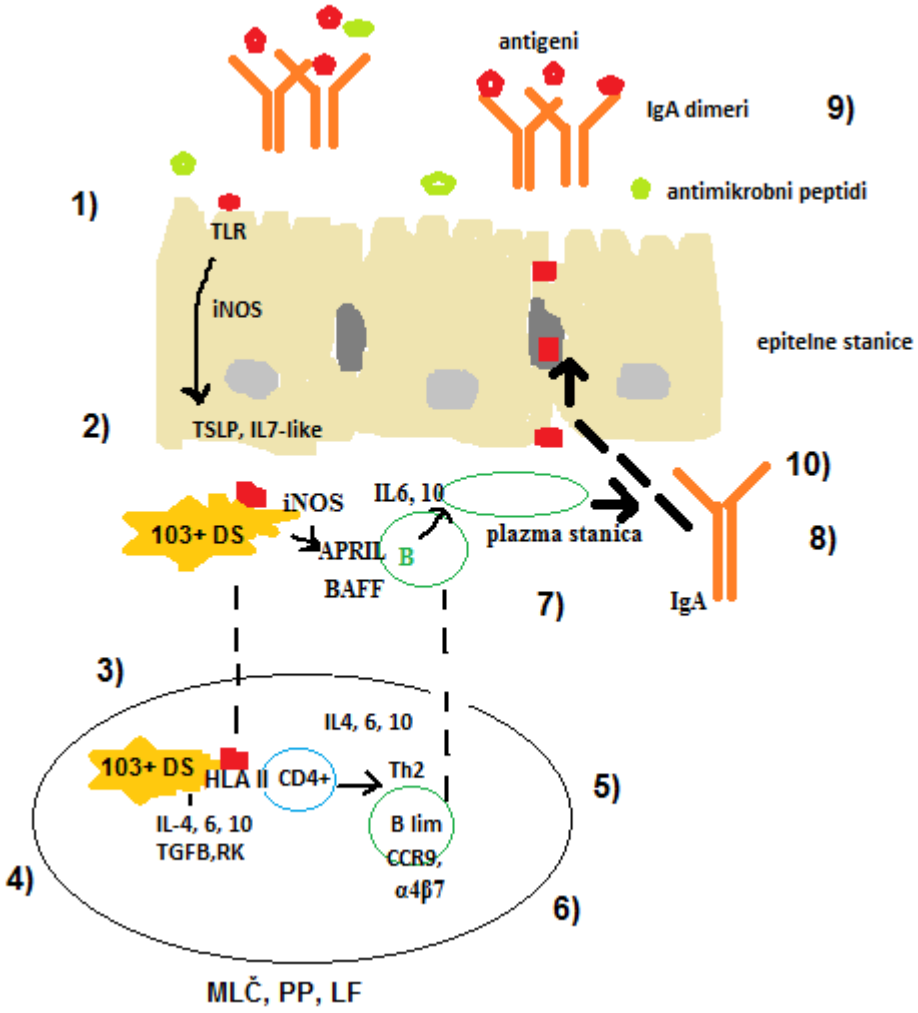
2.2. Specifična imunost

2.2.1. Limfociti B i humoralna imunost

Humoralna imunost crijeva temelji se na produkciji antitijela razreda IgA. Produciraju ih aktivirane plazma stanice u lamini propriji sluznice. Molekule IgA zatim se vežu za polimerni Ig receptor na bazolateralnoj površini epitelnih stanica te se u obliku dimera (sekretorni IgA, SIgA) prenose u lumen probavne cijevi. SIgA molekule okruže antigene hrane i mikroorganizme te ih odvoje od sluznice. Također, smanjuju ekspresiju proinflamatornih epitopa stijenke komenzalne flore te neutraliziraju antigene koji dospiju u laminu propriju. Stoga se može reći da IgA antitijela imaju antiinflamatorno djelovanje. Međutim, lokalno stvoreni SIgA sudjeluju i u eliminaciji mikroorganizama, i to na dva načina: transportirajući ih retrogradno u lumen vežući se za Ig epitelnih stanica te inducirajući ekspresiju receptora za IgA na fagocitima.[22] Značenje humoralne imunosti najbolje je vidljivo na primjeru bolesnika s imunodeficijencijama (npr. izolirani manjak IgA, hiper IgM sindrom), kod kojih je utvrđen porast broja bakterija u crijevu, klonalna proliferacija B limfocita, pojava autoreaktivnosti i alergija na hranu te povećana incidencija upalnih bolesti crijeva.[23-26]

Humoralni odgovor pokreću dendritičke stanice, mehanizmom ovisnim i neovisnim o T limfocitima. Nakon što CD 103^+ DS iz lamine proprije zajedno s antigenom dospiju u Peyerove ploče, limfatične folikule ili mezenterijske limfne čvorove, pokreće se humoralna imunost ovisna o limfocitima T. DS se pod utjecajem citokina iz epitelnih stanica (IL-7- like, TSLP-od eng. thymic stromal lipopoetin) „ kondicioniraju“ te počinju producirati IL-4, 6 i 10, čime usmjeravaju diferencijaciju naivnih CD4+ limfocita T prema Th2 odgovoru i aktivaciji B limfocita. Također, DS luče retinoičnu kiselinu (RK) i TGFβ koji preko CD40 receptora aktiviraju B limfocite, sintezu IgA te diferencijaciju plazma stanica. Aktivirane plazma stanice putuju u laminu propriju te izlučuju IgA u obliku dimera u lumen probavne cijevi. Dendritičke stanice u lamini propriji mogu i neovisno o T limfocitima predočiti antigene limfocitima B, te ih stimulirati specifičnim faktorima rasta, BAFF (od engl. B-cell activating

factor) i APRIL (od engl. proliferation inducing ligand). Do sinteze ovih molekula dolazi nakon stimulacije epitelnih i dendritičkih stanica putem TLR receptora (uglavnom TLR5) te proizvodnje iNOS. iNOS facilitira produkciju APRIL i BAFF, aktivaciju B limfocita te sintezu IgA. U sazrijevanju B limfocita ulogu imaju i lokalno stvoreni IL-6 i 10 koje luče dendritičke stanice, makrofazi i stanice strome (slika 2).[22, 27]



Slika 2. Humoralna imunost. 1) prepoznavanje antigena putem TLR receptora, 2) epitelne stanice počinju lučiti TSLP i IL-7 like protein, 3) stimulirane 103+ DS putuju u PP, MLN i LF, 4) DS luče spektar citokina IL-4, 6, 10, TGFβ, RK te predočuju antigen naivnim limfocitima T, 5) usmjeravanje diferencijacije T limfocita prema Th2 odgovoru i aktivaciji B limfocita, 6) indukcija ekspresije CCR9 i α4β7 na B limfocitima, 7) udomljavanje B limfocita u lamini propriji, 8) sekrecija IgA, vezanje za preoteine bazolateralne površine epitela, 9) IgA dimeri okružuju antigene u lumenu, 10) mehanizam sinteze IgA neovisan o T limfocitima, stimulacija B limfocita putem BAFF, APRIL, iNOS, IL-6, 10.

2.2.2. Limfociti T

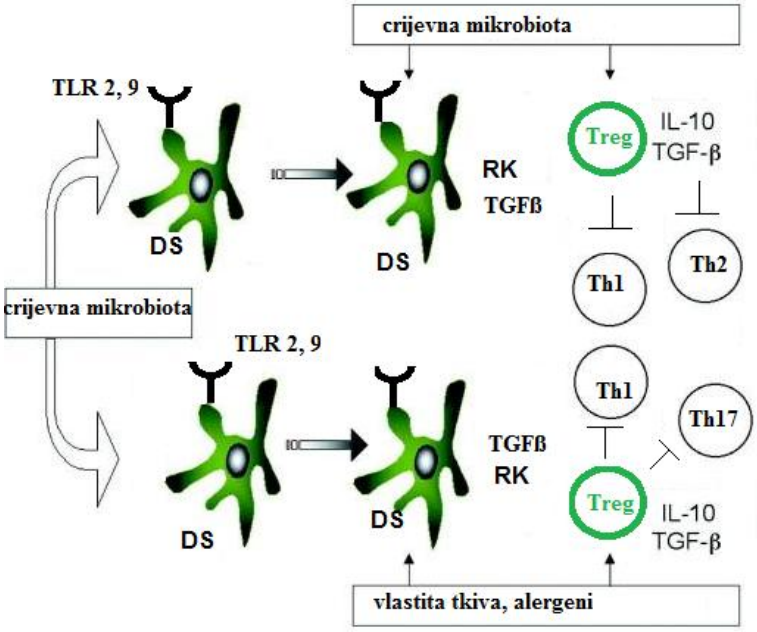
Limfociti T ključan su segment specifične imunosti, obrane protiv patogena i regulacije imunološkog odgovora. Kao što je već spomenuto, naivni CD4+ limfociti T susreću se s antigenima u Peyerovim pločama, mezenterijskim limfnim čvorovima i limfatičnim folikulima. Nakon prezentiranja antigena od strane $CD103^+$ dendritičkih stanica, dolazi do diferencijacije limfocita T, ovisno o interakciji $CD103^+$ DS i crijevne mikrobiote. Spektar citokina koji luče dendritičke stanice, usmjerit će diferencijaciju T limfocita u četiri moguća smjera: Th1, Th2, Th17 i T reg (regulatorni limfocit T). Rana produkcija IL-2 i IFNϒ dovodi do Th1 odgovora koji je važan u obrani protiv intracelularnih uzročnika. Razvoj humoralnog Th2 odgovora potiču IL-4, 6 i 10, posebice kod parazitarnih infekcija, dok je nekontrolirani Th2 odgovor prisutan kod alergijskih bolesti. Th17 odgovor, potaknut IL-1, 6 i 23, ključan je u obrani protiv patogena. S druge strane, zbog jakog proinflamatornog učinka, povezuje se s brojnim autoimunim bolestima, poput upalnih bolesti crijeva, multiple skleroze, reumatoidnog artritisa i psorijaze. Th17 stanice normalno su prisutne u lamini propriji, gdje koegzistiraju s regulatornim limfocitima T, dok se u sekundarnim limfnim tkivima diferenciraju u prisustvu infekcije.[2, 3, 28, 29] U normalnim uvjetima (engl. ″steady state″), imunotolerancija je dominantni obrazac imunološkog odgovora, u kojem ključnu ulogu imaju regulatorni limfociti T.

2.2.3. Regulatorni limfociti T

Regulatorni limfociti T ($CD4^+CD25^+FoxP3^+$) otkriveni su sedamdesetih godina prošlog stoljeća. Dosadašnja istraživanja ukazuju na ključnu ulogu T reg u uspostavi imunotolerancije na antigene hrane i crijevne mikrobiote u sluznici probavnog sustava. T reg imaju imunosupresivni učinak temeljen na lučenju citokina IL-10 i TGFβ, koji blokiraju proinflamatornu imunološku kaskadu (Th1, Th2, Th17). Poremećena funkcija T reg povezuje se s autoimunosti, upalnim bolestima crijeva i alergijskim reakcijama na hranu.[30]

Diferencijacija naivnih limfocita T prema T reg odgovoru najprije je otkrivena u timusu (nT reg, od engl. natural T regs). Potiču ih $CD11c^+$ DS aktivirane TSLP. Međutim, danas se zna da se ona odvija i periferno, kao specifičan odgovor na prisutne antigene (iT reg, od engl. induced T regs). Antigenima stimulirane $CD\ 103^+$ DS, mehanizmom ovisnim o TGFß i RK, u normalnim uvjetima pokreću diferencijaciju naivnih limfocita T u smjeru T reg. Ekspresija $FoxP3^+$ gena smatra se ključnom za funkciju regulatornih limfocita T te sintetizu antiinflamatornih citokina IL-10 i TGFß.

Mnoga istraživanja upućuju na antiinflamatornu i imunoregulatornu ulogu T reg. Primjerice, transfer naivnih limfocita T u imunodeficijentne miševe s eksperimentalno izazvanim kolitisom, u kontaktu s crijevnom mikroflorom dovodi do diferencijacije T reg i smanjenja upale.[31] Dodatno, blokiranje signalnog puta IL-10 ne dovodi do izliječenja eksperimentalnog kolitisa.[32]



Slika 3. Mehanizam uspostave tolerancije na antigene hrane i crijevne mikrobiote. Crijevna mikrobiota putem TLR (2, 9) receptora djeluje na DS te potiče sintezu TGFß i RK. Oni usmjeravaju diferencijaciju naivnih limfocita T u T reg odgovor. T reg luče IL-10 i TGFß koji imaju antiinflamatorni učinak i blokiraju Th1, Th2 i Th17 odgovor.

2.2.4. Intraepitelni limfociti

Intraepitelni limfociti (IEL) heterogena su skupina $CD4^+$ i $CD8^+$ limfocita T, smještenih u epitelnom sloju sluznice. Prema tipu receptora, razlikuju se $\delta\Upsilon^+$ i $\alpha\beta^+$ IEL. $\delta\Upsilon^+$ IEL imaju niz uloga u crijevnoj imunosti. U uvjetima kolonizacije patogenima, luče proinflamatorne citokine IL-1 i TNFϒ. Pokazuju citolitički učinak prema inficiranim stanicama, a mogu lučiti i antiinflamatorne citokine, poput IL-10 i TGFß. Lučenjem faktora rasta keratinocita, potiču obnavljanje epitela. U kontaktu s HLA I molekulama epitelnih stanica, na površini IEL dolazi do pojačane ekspresije receptora za IL-15, koji je uključen u patogenezu celijakije. Većina $\alpha\beta^+$ IEL je patogen- specifična, a njihov broj raste s dobi i u vrijeme infekcije. [33]

3. CRIJEVNA MIKROBIOTA

Crijevna mikrobiota kompleksan je mikrobiološki ekosistem, većinom sastavljen od bakterija, čiji se broj procjenjuje na oko 10^{13}. Sastav mikrobiote dinamičan je i varijabilan. Mijenja se ovisno o dobi, promjenama u okolišu, geografskom smještaju, prehrani i primjeni antibiotika. Više od 85% ukupnog broja bakterija pripada „dobrim", gram-pozitivnim laktobacilima i bifidobakterijama. Laktobacili prevladavaju u želucu i tankom crijevu, dok u debelom crijevu nalazimo niz pripadnika ostalih rodova (*E. faecalis, Bacteroides, Bifidobacterium, Clostridium, Peptococcus).* Crijevna mikrobiota ima imunostimulativnu (stimulira razvoj GALT, regrutaciju imunoloških stanica u submukozni prostor, protektivni učinak epitelnih stanica, sekreciju antimikrobnih peptida) te imunomodulatornu ulogu (utječe na tip imunološkog odgovora).[4] Uloga mikrobiote u oblikovanju crijevne imunosti ponajviše je istraživana na modelima životinja uzgajanima u sterilnim uvjetima (engl. ″germ-free animals″, GF), kod kojih je uočen poremećaj razvoja GALT, diferencijacije plazma stanica te smanjena produkcija IgA. Također, zabilježen je smanjeni postotak T reg i Th17 limfocita te smanjena ekspresija imunosupresivnog citokina IL-10.[34] GF miševi pokazali su i neravnotežu omjera Th1/ Th2 odgovora i hipereozinofiliju.[4]

Mehanizmi kojima mikrobiota djeluje na imunološki sustav nisu u potpunosti poznati, ali se smatra da se radi o prepoznavanju bakterijskih antigena putem TLR receptora, produkciji kratkolančanih masnih kiselina i citokina.[4,7] *Bacteroides fragilis* prva je bakterija za koju je u eksperimentima na životinjskim modelima utvrđeno da potiče diferencijaciju T reg limfocita. Ključan antigen prepoznavanja *B. fragilis* i imunoloških stanica je PSA (polisaharidni antigen), putem TLR2 signalizacije. U pokusima je dokazano da i samostalna prisutnost PSA dovodi do diferencijacije T reg i sinteze IL-10. Također, kolonizacija GF miševa s *B. fragilis* štiti od eksperimentalno izazvanog kolitisa.[35,36] *Faecalibacterium prauznitsii* iz skupine *Clostridia* istraživana je na bolesnicima s Chronovom bolesti. Utvrđeno je da je snižena razina *F. prauznitsii* u endoskopskom bioptatu ileuma povezana s povišenim rizikom postoperativnog relapsa bolesti,[37] dok se snižena razina *Clostridia IV* povezuje se s atopijskim bolestima u djetinjstvu.[38]

Niz je čimbenika okoliša koji se povezuju s promjenama crijevne mikrobiote. Način prehrane smatra se vrlo bitnim u njenom oblikovanju. Primjerice, u uzorcima stolice djece iz ruralnih područja Afrike, nađene su bakterije važne za metabolizam polisaharida, dok ih u uzorcima europske djece, čija se prehrana temelji na jednostavnim ugljikohidratima, uopće nije bilo. Također, u afričkoj su kohorti utvrđene više razine antiinflamatornih citokina. [39]

Primjena antibiotika povezuje se s redukcijom populacije *Bacteroides i Bifidobacteria* te istovremenim rastom populacija *Campylobacter, Streptococcus i Candida albicans* u crijevnoj flori.[40] Način poroda također se čini važnim. Djeca rođena vaginalnim putem kolonizirana su bakterijama majčine vaginalne flore (*Lactobacillus, Prevotella*), dok su djeca rođena carskim rezom kolonizirana bakterijama s površine kože (*Staphylococcus, Corynebacterium*).[41] Također, djeca na tvorničkoj hrani (engl. ″infant formula″) manje su kolonizirana populacijom *Bifidobacteria* od djece dojene majčinim mlijekom.[42,43]

3.1. Probiotici

Probiotici su živi organizmi koji različitim mehanizmima utječu na sastav i funkciju crijevne mikrobiote te aktivnost epitelnih i imunoloških stanica. Do sada su na humanoj populaciji najviše istraživane skupine *Bifidobacterium spp i Lactobacillus spp.* Probiotici suprimiraju rast i vezanje patogenih bakterija za sluznicu. Luče kratkolančane masne kiseline koje snižavaju pH u lumenu crijeva te pospješuju produkciju antimikrobnih peptida i mucina. Maslačna kiselina, koja nastaje kao produkt njihova metabolizma, facilitira proliferaciju epitelnih stanica te održavanje epitelne barijere.[44] Također, probiotici (npr. *Lactobacillus casei*) putem posebnih proteina sprječavaju apoptozu epitelnih stanica te potiču crijevni motilitet.[45] Njihova je uloga i imunomodulatorna. Naime, u nekim je pokusima utvrđeno da probiotici potiču diferencijaciju T reg limfocita.[46] Na modelu eksperimentalnog kolitisa, pokazano je da kombinacija *Lactobacillus acidophilus i Bifidobacterium longum* dovodi do smanjenja upale pospješujući diferencijaciju T reg, intraepitelnih limfocita te sintezu antiinflamatornog citokina IL-10. [47]

Povezivanje disbalansa crijevne mikrobiote i patogeneze niza bolesti suvremenog doba, poput upalnih bolesti crijeva, sindroma iritabilnog kolona, alergije i astme, celijakije, dijabetesa tipa I i multiple skleroze, dalo je poticaj istraživanju uloge probiotika u prevenciji i terapiji ovih bolesti. Terapijski su ciljevi indukcija regulatornih (imunoprotektivnih mehanizama), poboljšanje integriteta i funkcije epitelne barijere te smanjenje koncentracije luminalnih antigena i TLR liganada, koji dovode do agresivnog imunološkog odgovora. U izvođenju studija problem predstavlja izbor adekvatnog probiotskog preparata, njegova doza te faza bolesti u kojoj se primjenjuje.[7] Stoga su potrebna daljnja istraživanja utjecaja probiotika na imunološke procese, s ciljem standardizacije primjene probiotika u kliničkoj praksi, te što adekvatnijeg djelovanja na ključne patogenetske mehanizme bolesti.

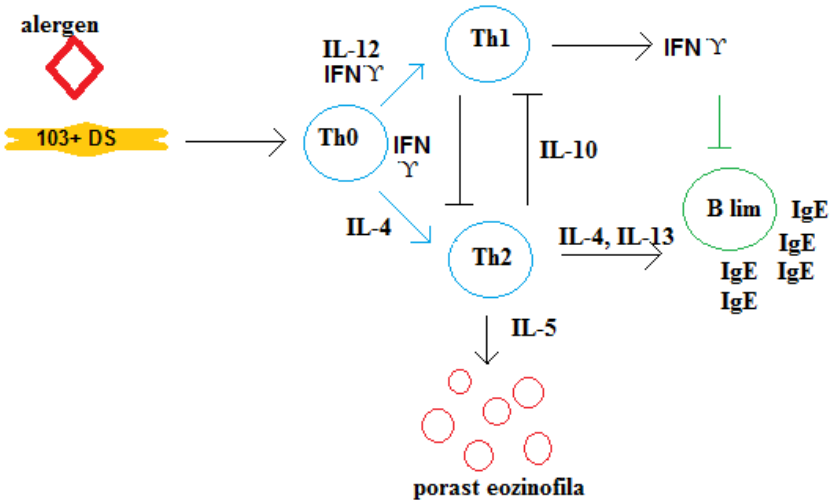
4. ALERGIJSKE REAKCIJE NA HRANU

Prevalencija alergijskih bolesti, pa tako i alergijskih reakcija na hranu, u proteklih je 40-ak godina u stalnom porastu. Najveći rast bilježi se u zapadnim zemljama, posebice među djecom.[48] Iako genetska predispozicija igra važnu ulogu u razvoju atopije, smatra se da okolinski čimbenici također utječu na pojavu alergija. Najčešće namirnice koje izazivaju alergijsku reakciju jesu mlijeko, jaja, mahunarke, orasi, kikiriki i plodovi mora. Alergogeni potencijal imaju proteini, aditivi, boje, konzervansi i produkti njihove razgradnje. Klinički se alergijske reakcije na hranu očituju u vidu urtikarije, angioedema, abdominalnih bolova, proljeva i povraćanja, respiratorne simptomatologije, sve do teških sistemskih reakcija s hipotenzijom i razvojem anafilaktičkog šoka.[49]

4.1. „ Higijenska hipoteza“ i uloga regulatornih limfocita T

U znanosti je već dvadesetak godina prisutna tzv. „higijenska hipoteza“, koja govori o povezanosti alergijskih bolesti i smanjene ekspozicije mikroorganizmima iz okoliša tijekom ranog djetinjstva. Glavnim patofiziološkim mehanizmom smatralo se skretanje imunološkog odgovora s Th1 na Th2 obrazac, uzrokovano nedovoljnom stimulacijom imunološkog sustava antigenima mikroorganizama (slika 4). Međutim, istovremeno je uočen i porast prevalencije bolesti koje su dominantno vezane uz Th1 obrazac imunološkog odgovora, poput Chronove bolesti, dijabetesa tipa I te multiple skleroze. Dodatno, parazitarne infekcije koje pobuđuju snažan Th2/IgE odgovor nisu pokazale povezanost s razvojem atopije.[3] Stoga je higijenska hipoteza u daljnjim istraživanjima modificirana. Sve veće razumijevanje antiinflamatorne uloge regulatornih limfocita T i imunosupresivnih citokina IL-10 i TGFß, dovelo je do spoznaje o važnosti ravnoteže alergen-specifičnih T reg i Th2 limfocita u odgovoru na alergene prisutne u probavnoj cijevi. Također, biopsija duodenuma djece s alergijom na hranu pokazala je da je dominantni poremećaj u sluznici smanjena prisutnost T reg limfocita i lučenja TGFß.[50] Dodatno, u krvi majki s atopijskom konstitucijom, u 34. tjednu gestacije nađene su snižene koncentracije $FoxP3^+$ T reg.[51] Stoga se čini da je uz disbalans Th1/Th2 imunoloških obrazaca, regulatorna uloga T reg ključna u uspostavi normalnog, tolerogenog odgovora na antigene hrane. Novija translacijska istraživanja upućuju na ulogu mikro RNA molekula u promociji $FoxP3^+$ signalnih puteva. Smatra se da je njihovo prisustvo nužno u

diferencijaciji T reg limfocita u timusu. Mikro RNA molekule u velikim su količinama pronađene u majčinom i kravljem mlijeku, a vrlo su slabo zastupljene u tvorničkoj dječjoj hrani, čime se tumači manja sklonost dojene djece razvoju atopije. [52]



Slika 4. Interakcije imunoloških stanica u razvoju alergijske reakcije na hranu. Stimulacija DS antigenima hrane uzrokuje diferencijaciju Th0 limfocita prema Th1 i Th2 odgovoru, pri čemu Th2 dominira. IL-5 potiče diferencijaciju eozinofila.

4.2. Crijevna mikrobiota i alergijske reakcije na hranu

Formiranje crijevne mikrobiote počinje odmah nakon rođenja te ovisi o majčinim bakterijama te bakterijama iz okoliša. Smatra se da način poroda (vaginalni ili carskim rezom), dojenje, prehrana i geografska regija imaju utjecaj na razvoj crijevne mikrobiote u ranom djetinjstvu. Također, promjene u načinu života (zapadni stil, primjena antibiotika, nesteroidnih protuupalnih lijekova, inhibitora protonske pumpe) pridonose poremećaju mikroflore, tj. smanjenju njezine raznolikosti.[3] Nekoliko je studija pokazalo da se sastav crijevne mikrobiote razlikuje među zdravom djecom i djecom s alergijskim bolestima, kao i među zemljama s visokim i niskim prevalencijama alergijskih bolesti. Najčešći poremećaji uključuju smanjenu kolonizaciju rodovima *Lactobacillus* i *Bifidobacteria*.[51-54] U kohortnoj studiji KOALA iz 2007. godine koja je uključivala 957 djece u dobi od mjesec dana, utvrđena je povezanost IgE senzibilizacije na neki od alergena hrane i/ili inhalatornog alergena i atopijskog dermatitisa s prisutnošću *E. coli* i *C. difficile* u stolici.[55] Također, u istraživanju koje su proveli Candela i

sur. 2012. godine na 19 djece s dijagnozom neke od kliničkih manifestacija atopije (alergijski rinitis, polenoza, astma, atopijski dermatitis, alergija na hranu), nađena je snižena razina *F.prauznitsi, Clostridia IV i Akkermansia muciniphila* u stolici, te povećana razina bakterija iz skupine *Enterobacteriaceae,* neovisno o specifičnom atopijskom poremećaju.[38] Ovi su rezulatati u skladu s već ranije opisanim mehanizmima stimulacije imunološkog sustava, u kojima *F.prauznitsi, Clostridia IV i A.muciniphila* pospješuju diferencijaciju T reg limfocita i aktivnost antiinflamatornih citokina, a *Enterobacteriaceae* proinflamatorne puteve.[4, 36, 35]

4.3. Terapijske perspektive

Izbjegavanje hrane koja izaziva alergijski odgovor najčešća je terapijska metoda. Međutim, istraživanja su pokazala da djeca s alergijama na hranu (posebice na više od dvije vrste hrane i/ili alergija na mlijeko), zbog izbjegavanja namirnica, imaju niži indeks tjelesne mase i na nižoj su centilnoj krivulji rasta.[56] Stoga se javlja potreba za razvojem drugih terapijskih metoda, usmjerenih prema imunološkim patogenetskim mehanizmima.

4.3.1. Probiotici u terapiji prevenciji i terapiji alergijskih reakcija na hranu

Istraživanja uloge crijevne mikrobiote u imunomodulaciji i patogenezi alergijskih bolesti, te bolje razumijevanje mehanizama djelovanja probiotika, pružili su zamah kliničkim studijama primjene probiotika u prevenciji i eventualnom liječenju alergija. U dvostruko slijepoj, randomiziranoj, placebom kontroliranoj studiji Abrahamssona i sur. iz 2007. godine, nije nađena značajnija razlika prevalencije atopijskog dermatitisa kod djece u placebo skupini, i skupini koja je primala probiotik *Lactobacillus reuteri* prenatalno i tijekom prve godine života. Međutim, djeca koja su bila pod terapijom, u 2. su godini života rjeđe imala pozitivan prick-test i porast specifičnog IgE na alergene hrane.[57] U petogodišnjoj kohortnoj studiji Kuitunena i sur. iz 2009. godine, nije opažena značajna razlika učestalosti alergijskih bolesti u placebo skupini i ukupnoj kohorti djece prenatalno i postnatalno tretiranoj probioticima (*LGG, Lactobacillus rhamnosus, Bifidobacterium breve, Propionibacteria*). Međutim, u djece rođene carskim rezom koja su primala probiotike, utvrđena je manja učestalost IgE senzibilizacije i alergijskih bolesti, u odnosu na djecu koja ih nisu primala.[58] Eksperimentalna primjena *Lactobacillus acidophilus* pokazala je suprotan rezultat. Nakon šest mjeseci terapije, u skupini djece koja su dobivala probiotik, utvrđeno je povećanje prevalencije atopijskog

dermatitisa i pozitivnih kožnih testova na alergene. Objašnjenje se možda skriva u činjenici da su bazična istraživanja pokazala da *L. acidophilus* in vitro potiče Th2 odgovor.[59,60] Prema Smjernicama Europske akademije za alergijske reakcije na hranu i anafilaksiju, nema dovoljno dokaza o učinkovitosti primjene probiotika u prevenciji i terapiji alergijskih bolesti.[61]

4.3.2. Specifična imunoterapija

Specifična imunoterapija (SIT) dugo se vremena koristi u terapiji alergijske astme i alergijskog rinitisa, dok njena uloga kod alergijskih reakcija na hranu nije dovoljno proučena. Temelji se na modulaciji imunološkog odgovora na alergene te procesima desenzitizacije i tolerancije. Desenzitizacija podrazumijeva potrebu za većim količinama alergena da bi se potaknula alergijska reakcija. Tolerancija je sposobnost uzimanja većih količina hrane (alergena) bez kliničke reakcije, nakon završetka imunoterapije. Smatra se da se proces uspostave tolerancije temelji na indukciji perifernih T reg limfocita, inhibiciji aktivnosti bazofila i mastocita te supresiji Th2/IgE odgovora. Mogući putevi provođenja imunoterapije kod alergija na hranu su supkutana (SCIT), oralna (OIT) i sublingvalna (SLIT) imunoterapija. SCIT bila je praćena visokom incidencijom sistemskih reakcija te je njena primjena smanjena.[62] OIT temelji se na redovitoj oralnoj primjeni male količine alergena, koja se s vremenom povećava. Provedeno je nekoliko studija OIT (mlijeko, jaja, kikiriki).[63,64] Primjerice, u studiji Meglio i suradnika, 14 od 21 ispitanika 4 je godine nakon završetka terapije bez simptoma dnevno konzumiralo 250 ml mlijeka.[65] U nekim je studijama nakon prestanka uzimanja određene namirnice, pri ponovnom kontaktu došlo do alergijske reakcije.[66] Slične rezultate pokazuju i studije SLIT, koje se temelji na sublingvalnoj primjeni malih količina proteina hrane.[67] Također, započeta je i eksperimentalna primjena omalizumaba (anti IgE) u kombinaciji s OIT. Kod pacijenata s alergijskom reakcijom na mlijeko, brzo je došlo do uspostave desenzitizacije. No, čini se da se ona temeljila na inhibiciji mastocita i bazofila pod utjecajem omalizumaba, budući da je njegovo isključenje iz terapije dovelo je do ponovnih alergijskih reakcija, sa skretanjem na Th1 odgovor.[68]

Iako njihov dugoročni uspjeh nije istražen, navedene studije pokazuju pozitivan pomak u mogućem liječenju alergija na hranu. Daljnja istraživanja patogeneze alergijskih bolesti te mehanizama imunoregulacije i imunotolerancije, omogućit će uspješniji razvoj specifične imunoterapije. Također, potrebna je standardizacija alergena i terapijskog postupka.

5. CELIJAKIJA

Celijakija je česta autoimuna bolest tankog crijeva karakterizirana preosjetljivošću na gluten, proteinsku frakciju pšenice, raži i ječma. Javlja se u genetski predisponiranih osoba, a povezuje se s prisutnošću antigena skupine HLA II, HLA- DQ2 i HLA- DQ8. Ipak, samo 2-5% nositelja ovih gena razvije kliničku sliku, što upućuje na to da postoje i drugi etiološki čimbenici u razvoju bolesti. Klinička slika je vrlo šarolika, a kreće se od klasične, preko atipičnih simptoma i znakova (artritisi, neurološki i psihijatrijski simptomi, neplodnost, anemija, osteoporoza), do teške malapsorpcije. Izbjegavanje hrane koja sadrži gluten najčešće daje dobre kliničke rezultate, s iznimkom refraktorne celijakije.[69]

5.1. Imunopatogeneza celijakije

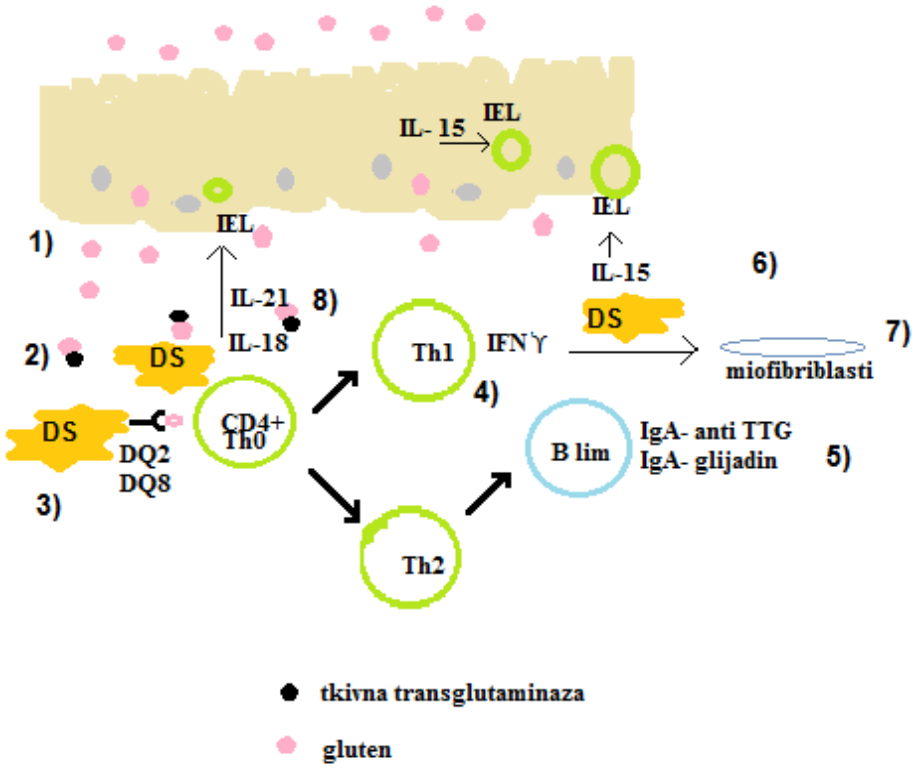
Gluten i njegove frakcije kod predisponiranog domaćina uzrokuju neprimjeren specifični i nespecifični imunološki odgovor. Specifični imunološki odgovor započinje prezentacijom antigena od strane predočnih stanica u sklopu HLA- DQ2 i DQ8 molekula. Tkivna transglutaminaza (TTG) deamidira glutenski proteinski lanac, čime potiče jače vezanje proteina za predočne stanice. Time se pokreće specifični Th1 (IFNΎ) odgovor i Th2 odgovor na tkivnu transglutaminazu (IgA-anti TTG) i glijadin (frakcija glutena).[70]

Proteinske frakcije glutena induciraju ekspresiju molekula klase HLA I na epitelnim stanicama te sintezu IL-15, koji dovodi do ekspresije NKG2D (od engl. natural killer group 2D) heterodimernih receptora na intraepitelnim limfocitima. HLA I molekule su istovremeno ligand za NKG2D receptore, a svojim vezanjem dovode do ekspanzije intraepitelnih limfocita, citolitičke aktivnosti, pokretanja apoptoze epitelnih stanica i povećanja permeabilnosti epitelne barijere. Preko NKG2A (od engl. natural killer group 2A) receptora, dolazi do stimulacije Ύδ^{+}CD8^{+} IEL i sekrecije regulatornih citokina (TGFß).[71] Glijadin može i samostalno potaknuti nespecifični imunološki odgovor, vežući se za TLR4 receptore na makrofazima i dendritičkim stanicama, što dovodi do lučenja proinflamatornih citokina IL-1, IL- 8 i TNFα. Proinflamatorni citokini (IL-18, IL-21) djeluju na miofibroblaste te uzrokuju remodeliranje međustaničnog matriksa i atrofiju vilusa.[72]

Neka istraživanja ukazuju na disbalans u sastavu crijevne mikrobiote kod pacijenata s celijakijom. U studiji Collado-a i sur. iz 2008. godine, djeca s celijakijom imala su smanjenu kolonizaciju bakterijama *Bifidobacteria i B. longum* u odnosu na kontrolnu skupinu.[73]

Također, u djece s celijakijom, nađena je povećana količina *Bacteroides i Clostridium leptum*. Prije uvođenja bezglutenske dijete, u istoj je kohorti nađen porast kolonizacije bakterijama *E.coli i Staphylococcus*, koja se smanjila nakon izuzimanja glutena iz prehrane, što upućuje na to da i sama upala uzrokovana imunološkom reakcijom na gluten dovodi do promjena u sastavu crijevne mikrobiote.[74] Rana infekcija rotavirusom također se povezuje s povećanim rizikom razvoja celijakije u HLA predisponirane djece.[75] Uloga probiotika u liječenju celijakije još nije istražena.

Celijakija je povezana i s drugim autoimunim poremećajima, poput autoimunog tireoiditisa i hepatitisa, dijabetesa tipa I, psorijaze i Sjögrenovog sindroma.[76] Mehanizmi koji povezuju ova stanja nedovoljno su poznati, ali predstavljaju vrijedno područje istraživanja i upućuju na važnost pravilnog diferencijalnodijagnostičkog razmatranja pacijenata s autoimunosti.



Slika 5. Imunopatogeneza celijakije. 1) gluten i njegove frakcije dospijevaju u laminu propriju; 2) TTG djeluje na gluten (deamidacija); 3) promijenjena molekula glutena veže se s visokim afinitetom za molekule tkivne podudarnosti DQ2 i DQ8 te se predočuje naivnim limfocitima; 4) Th1 odgovor dovodi do produkcije IFNϒ; 5) Th2 odgovor i produkcija IgA antitijela na TTG i glijadin; 6) produkcija IL-15 i stimulacija IEL, 7) tkivna remodelacija; 8) lučenje proinflamatornih citokina nakon direktnog vezanja antigena na predočne stanice.

5.2. Refraktorna celijakija

Refraktorna celijakija rijedak je oblik celijakije karakteriziran perzistirajućim simptomima bolesti nakon 12 mjeseci pravilne bezglutenske prehrane. Može se javiti odmah po dijagnozi, ili nakon inicijalno dobrog odgovora na dijetu. Dijeli se na tip I i II. Za tip II karakteristična je prisutnost abnormalnih intraepitelnih limfocita ($iCD3^+CD8^-$) i visoka sklonost razvoju T-staničnog limfoma.[77] CD3 molekule koje se normalno nalaze na površini stanice, kod refraktorne celijakije smještene su intracelularno ($iCD3^+$), a kod tipa II izostaje i površinska ekspresija CD8 molekula. Zbog ove atipije, tip II refraktorne celijakije već se smatra limfomom niskog stupnja, s visokom rizikom razvoja T-staničnog limfoma visokog stupnja malignosti.[78,79] Patogenetska podloga refraktorne celijakije nije razjašnjena. Ipak, u posljednje se vrijeme u kontekstu refraktorne celijakije tipa I spominje uloga citokina IL-15. Štoviše, u serumu nekih bolesnika, nađena je njegova povećana koncentracija. Smatra se da on inhibira diferencijaciju T reg i TGFß signalni put, s razvojem nekontrolirane autoimune reakcije neovisne o glutenu. Ovaj tip bolesti dobro reagira na terapiju kortikosteroidima i imunosupresivima.[80] U patogenezi refraktorne celijakije tipa II, ključnu ulogu ima ekspanzija atipičnih IEL. Smatra se da epitelne stanice pretjerano produciraju IL-15, možda pod utjecajem IFNϒ za vrijeme kronične virusne infekcije.[81] Čini se da IL-15 ima antiapoptotični učinak, koji pridonosi nekontroliranoj proliferaciji IEL, s visokim rizikom razvoja T-staničnog limfoma.[82] Kao terapijska mogućnost spominje se transplantacija mezenhimalnih matičnih stanica.

5.3. Novi terapijski pogledi

U današnjoj se kliničkoj praksi liječenje celijakije temelji na bezglutenskoj dijeti, koja se pokazala učinkovitom u većini slučajeva. Međutim, kod refraktorne celijakije, ne daje adekvatne terapijske rezultate. Također, u namirnicama se mogu naći i male količine neregistriranog glutena, što kod visoko osjetljivih pacijenata dovodi do imunološke reakcije. Stoga se istražuju nove terapijske metode koje bi u budućnosti mogle dati bolje rezultate u liječenju kompliciranijih bolesnika s celijakijom.

Imunomodulatorna i biološka terapija celijakije najatraktivnije su terapijske metode. Na mišjem modelu pokušana je indukcija imunotolerancije intranazalnom primjenom glijadina. Došlo je do smanjenja proliferacije T limfocita i produkcije inflamatornih citokina.[83] Biološka

terapija smatra se potencijalno korisnom kod refraktornih oblika celijakije. Inhibitori CCR9 receptora i α4ß7 integrina koji se nalaze na površini limfocita i omogućuju njihovo udomljavanje u sluznici probavnog sustava, došli su do faze 2 kliničkih istraživanja liječenja rezistentne Chronove bolesti. Međutim, još nisu testirani u kontekstu celijakije.[84] Mnogo se nade polaže i u istraživanje inhibitora IL-15 u liječenju refraktorne celijakije tipa II. Inhibitori IL-15 pokazali su dobar učinak u liječenju reumatoidnog artritisa, psorijaze i upalnih bolesti crijeva, međutim još nisu rađene studije na pacijentima s celijakijom.[85]

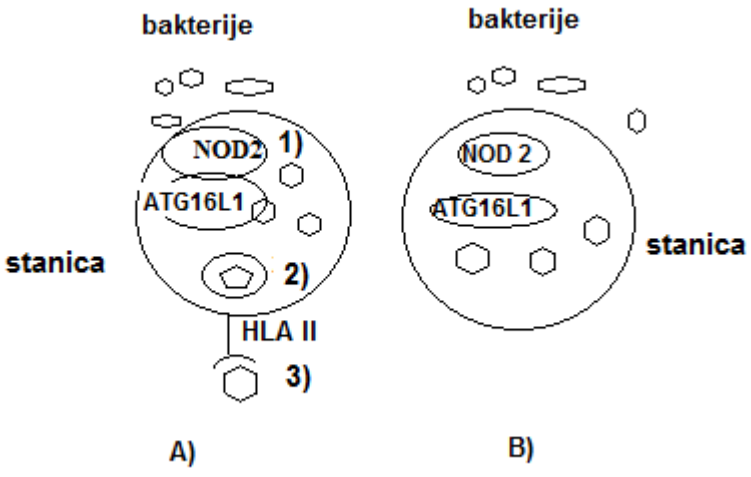
6. UPALNE BOLESTI CRIJEVA

Upalne bolesti crijeva obuhvaćaju Chronovu bolest i ulcerozni kolitis. Chronovu bolest karakterizira transmuralna granulomatozna upala koja može zahvatiti bilo koji dio probavne cijevi, a najčešće terminalni ileum. Niz je mogućih komplikacija bolesti, poput stvaranja fistula, fisura i apscesa. Ulcerozni kolitis uzrokuje površinske ulceracije, najčešće lokalizirane u distalnom kolonu i rektumu.[86] Etiološki čimbenik koji potiče upalu nije poznat, ali se smatra da se radi o međuigri genetskih čimbenika, imunološkog sustava i čimbenika okoliša (crijevne infekcije, stres, prehrana), koji dovode do neprimjerenog odgovora na intestinalnu mikrobiotu u genetski predisponiranog domaćina.[2]

6.1. Promjene nespecifične imunosti u upalnim bolestima crijeva

Niz je promjena u nespecifičnoj imunosti koje se povezuju s upalnim bolestima crijeva. Polimorfizam gena za NOD2 receptore jedna je od promjena koja se najsnažnije povezuju s Chronovom bolešću.[87] Mehanizmi kojima promijenjeni NOD2 receptori pridonose razvoju bolesti nisu do kraja razjašnjeni. NOD2 receptori smješteni su intracelularno, u dendritičkim stanicama, makrofazima, epitelnim stanicama i limfocitima T. Njihova je uloga prepoznavanje muramil-dipeptida, dijela peptidoglikana stijenke bakterija i mikoplazmi. Vezanjem MDP za NOD2 receptore dolazi do pokretanja unutarstaničnog signalnog puta NF-κB molekula, čija se aktivnost između ostalog povezuje sa sintezom antimikrobnih peptida.

Primjerice, pokusi na NOD2$^{-/-}$ miševima pokazuju smanjenje sinteze antimikrobnih peptida, rapidno eksperimentalno napredovanje patogenih bakterija iz crijeva u jetru i slezenu, te razvoj spontane upale u sterilnim uvjetima.[88,89] Pacijenti s Chronovom bolešću kod kojih je utvrđen polimorfizam gena za NOD2, također pokazuju manju produkciju antimikrobnog peptida α defenzina u Panethovim stanicama.[90] Spominje se i alternativni patogenetski model, povezan sa stimulacijom mutiranih NOD2 receptora bakterijskim endotoksinima, koji dovodi do pretjerane produkcije proinflamatornih citokina TNFα, IL-1β, i IL-6. Čini se da je ovaj mehanizam također uključen u patogenezu bolesti, s obzirom na to da anti TNFα (infliksimab) ima dobar terapijski učinak, a pretjerana produkcija TNFα u miša uzrokuje kolitis.[91,92] U posljednje se vrijeme spominje uloga NOD2 receptora u procesu autofagije. Autofagija je stanični događaj tijekom kojeg u lizosomima dolazi do degradacije staničnih organela. Na sličan se način razgrađuju i bakterije, te se predočuju u sklopu HLA II molekula. Čini se da se NOD2 molekule vežu za ATG16L1 protein, koji je ključan u autofagiji i formiranju fagosoma. Do interakcije dolazi na citosolnom dijelu stanične membrane, na mjestu gdje bakterije ulaze u stanicu (slika 5).[93,94] Mutacije NOD2 gena dovode do sinteze kratkog peptida koji se ne može vezati za ATG16L1 protein, te izostaje degradacija organela i mikroorganizama, uključujući i prezentaciju antigena.[95] Smanjena antimikrobna aktivnost dovodi do promjene u sastavu crijevne mikrobiote te porasta broja patogenih bakterija koje izazivaju upalni odgovor.



Slika 5. A) 1) NOD2 receptori vežu se na citosolni dio membrane te za ATG16L1 protein; 2) nastajanje autofagosoma; 3) prezentacija antigena u sklopu HLA II molekula. B) defektni NOD2 ne ulazi u interakciju s ATG16L1, nema degradacije bakterija i prezentacije antigena.

U patogenezi upalnih bolesti crijeva spominje se i uloga TLR receptora, koji također imaju ulogu u prepoznavanju antigena bakterija. U zdravom tkivu dominantna je ekspresija TLR3 i TLR5 receptora. S druge strane, istraživanja pokazuju da je ekspresija TLR4 izrazito pojačana i kod Chronove bolesti i kod ulceroznog kolitisa. TLR 4 receptori prepoznaju lipopolisaharide (LPS) bakterijske kapsule. S obzirom na to da je ekspresija TLR4 u zdravom organizmu gotovo suprimirana, prema LPS je uspostavljena imunotolerancija. Čini se da kod upalnih bolesti crijeva upravo hiperekspresija TLR4 receptora dovodi do vrlo intenzivne imunološke reakcije na LPS i oštećenja tkiva.[96]

6.2. Specifična imunost i upalne bolesti crijeva

Poremećaj regulacije limfocita T povezuje se i s Chronovom bolesti i s ulceroznim kolitisom. Th1 odgovor smatrao se dominantnim imunološkim obrascem kod pacijenata s Chronovom bolesti, dok se ulcerozni kolitis povezivao s abnormalnim Th2 odgovorom i hiperprodukcijom IL-4 i IL-13. Međutim, u in-vitro istraživanjima, u sluznici obje skupine bolesnika nađene su više razine proupalnog citokina IFNγ u odnosu na zdrave ispitanike, zbog čega uloga Th2 odgovora kod ulceroznog kolitisa ostaje kontroverzna.[86] Mnoga istraživanja ukazuju na to da u patogenezi upalnih bolesti crijeva važnu ulogu ima poremećaj na razini regulatornih T limfocita. Primjerice, transfer $CD4^+CD25^+$ T reg kod eksperimentalno izazvanog kolitisa u imunodeficijentnog miša uzrokuje smanjenje upale.[97] Također, studije na pacijentima s poliendokrinom X-vezanom enteropatijom, uzrokovanom mutacijom FoxP3 gena pokazuju da nedostatna i nepravilna funkcija T reg dovodi do autoimunosti i kronične intestinalne upale.[98] Međutim, istraživanja su također pokazala da kod nekih bolesnika u stanju intestinalne upale dolazi do povećanja broja T reg u lamini propriji, što može upućivati na neosjetljivost imunoloških stanica na imunosupresiju, a ne na primarni poremećaj diferencijacije regulatornih limfocita T.[99]

Novija istraživanja ukazuju i na ulogu Th17 limfocita u patogenezi upalnih bolesti crijeva, tj. na poremećaj ravnoteže Th17/ Treg imunološkog odgovora. Th17 limfociti diferenciraju se iz naivnih limfocita T u prisutnosti TGFß i IL-6.[100] Pod utjecajem navedenih citokina, dolazi do ekspresije receptora za IL-23 (IL-23R) na Th17 stanicama. Vezanje IL-23 na Th17 limfocite dovodi do njihove ekspanzije te krajnjeg sazrijevanja upalnog fenotipa, ponajviše u vidu sinteze IL-17.[101,102] IL-17 kao ključan citokin Th17 odgovora, važan je za poticanje migracije

neutrofila, sazrijevanje dendritičkih stanica te produkciju niza drugih citokina (IL-1, IL-6, IL-8, TNF).[103] Mehanizmi kojima Th17 limfociti pridonose razvoju upale vrlo su kompleksni i nedovoljno istraženi. Čini se da disbalans FoxP3$^+$ T reg/Th17 ima važnu ulogu, posebice stoga što se zna da retinoična kiselina, ključna u diferencijaciji T reg, ima snažno inhibitorno djelovanje na Th17 odgovor.[104,105] Također, kod pacijenata s upalnim bolestima crijeva, u sluznici i serumu nađene su više razine IL-17 i IL-23 te su identificirani makrofazi koji pojačano luče IL-23, TNF i IL-6.[106,107] Nakon terapije kortikosteroidima i anti p-40 (antitijelo na p-40 podjedinicu proteina IL-23) antitijelima, dolazi do normalizacije IL-23 i IL-17.[108] U prilog važnosti IL-23 i Th17 odgovora govore i genetička istraživanja. Polimorfizmi gena za IL-23R povezuju se s Chronovom bolesti, ulceroznim kolitisom, ali i psorijazom i ankilozantnim spondilitisom.[109] Također, spominju se i polimorfizmi gena za još tri važna proteina koji sudjeluju u unutarstaničnoj signalizaciji IL23/ Th17 puta: STAT3, JAK2 i p-40 (IL-12B podjedinica IL-23, zajednička s IL-12). [110,111,112]

Nekoliko je mogućih terapijskih implikacija ovih patogenetskih procesa. Anti p-40 antitijela, koja blokiraju zajedničku podjedinicu IL-23 i IL-12, već su se pokazala učinkovitima u terapiji psorijaze. Obećavajući su i rezultati u terapiji pacijenata s Chronovom bolesti, kod kojih je nakon primjene anti p-40 došlo do smanjenja ekspresije IL-6, IL- 17, IL- 12 i IL- 23 u mononuklearima lamine proprije.[113,114] Zanimljiva je i uspješna terapijska primjena anti TNF antitijela (infliksimab). Mnoge stanice luče TNF, uključujući i Th1, Th17, dendritičke stanice i makrofage, što upućuje na kompleksnost imunoloških odnosa. Za potpuno razumijevanje, potrebno je integrirati put TNF u imunološku kaskadu IL-23/ Th17 odgovora.

6.3. Crijevna mikrobiota i probiotici u upalnim bolestima crijeva

Za upalne je bolesti crijeva karakteristična smanjena antimikrobna aktivnost uslijed poremećaja procesa nespecifične imunosti, u kojima glavnu ulogu igraju NOD2 receptori i ATG proteini. Smatra se da posljedično dolazi do porasta bakterija u crijevu i pojačane antigene stimulacije Th1 i Th17 limfocita. Studije su također pokazale porast patogenih bakterija kod pacijenata s upalnim bolestima crijeva. Primjerice, enteroinvazivna E. coli čini 99% patogenih bakterija kod bolesnika s Chronovom bolešću. [115] Također, čini se da pacijenti s upalnim bolestima crijeva imaju manje raznolik sastav crijevne mikrobiote, kao i sniženu razinu pripadnika rodova Firmicutes i Bacteroidetes.[116] U pokusu Sokola i suradnika iz 2008. godine, utvrđena je povezanost redukcije *Faecalibacterium prausnitzii* u sluznici ileuma s

povišenim rizikom postoperativnog relapsa kod pacijenata s Chronovom bolesti. Također, u istoj je studiji objavljeno da *Faecalibacterium prausnitzii* u staničnoj kulturi mononukleara potiče produkciju aniinflamatornog Il-10, a na modelu kolitisa u miša suprimira produkciju TNFα i IL-12. [37] Iako navedena istraživanja djeluju ohrabrujuće, klinička primjena probiotika na pacijentima s upalnim bolestima crijeva još uvijek ne daje dovoljno dokaza o njihovom terapijskom učinku. Razlog je vjerojatno mali broja ispitanika i nestandardiziranost probiotskih preparata. Daljnja istraživanja probiotika treba usmjeriti na identifikaciju cilljanih molekula ili komponenti bakterija koje potiču diferencijaciju regulatornih limfocita T (npr. PSA iz B. fragilis), poboljšanju epitelne barijere (kratkolančane masne kiseline) te smanjenju broja bakterija koje potiču agresivni imunološki odgovor.[7]

7. SINDROM IRITABILNOG CRIJEVA

Sindrom iritabilnog crijeva kronični je funkcijski poremećaj karakteriziran bolovima u trbuhu i poremećajem pražnjenja crijeva, bez organskog supstrata. Klinički se prezentira abdominalnim bolovima i nadutošću, proljevima ili konstipacijom. Predstavlja veliki javnozdravstveni problem, posebice u zapadnim zemljama, gdje mu prevalencija doseže između 8 i 20%. Patogeneza sindroma iritabilnog crijeva vrlo je kompleksna, a obično se spominju poremećaji motiliteta, visceralna preosjetljivost, psihosocijalni poremećaji, genetska predispozicija te imunološki mehanizmi. Imunološki se mehanizmi naročito istražuju kod postinfekcioznog oblika bolesti te kliničke slike s dominantnim proljevima. [117]

7.1. Imunološke promjene

Kod pacijenata sa sindromom iritabilnog crijeva, nađeno je niz promjena koje upućuju na upalnu i imunološku podlogu bolesti. Primjerice, u nekih je bolesnika u bioptatu sluznice nađen porast infiltracije mastocita, neutrofila i makrofaga, ali i $CD3^+$ $CD25^+$ limfocita T.[118,119] U bioptatima sluznice crijeva uočena je i infiltracija limfocita oko plexusa myenetricusa, što se povezuje s visceralnom preosjetljivošću i pojavom abdominalnih bolova, budući da proinflamatorni citokini podražuju nociceptore.[120] Slično kao i kod upalnih bolesti crijeva, i kod pacijenata sa sindromom iritabilnog kolona nađena je povećana ekspresija TLR4 receptora.[121] Mnogi pacijenti svoje tegobe povezuju s konzumacijom određenih namirnica te

se javila ideja povezanosti sindroma iritabilnog kolona i alergijskih reakcija na hranu. Međutim, za sada nema dovoljno dokaza koji bi potvrdili takvu povezanost.[122] Također, mnogi pacijenti s celijakijom imaju simptome iritabilnog crijeva, što je potaknulo pitanje potrebe probira pacijenata s iritabilnim crijevom na celijakiju. Čini se da kod nekih pacijenata izuzimanjem glutena iz prehrane dolazi do regresije simptoma, što upućuje na njihovu genetsku podložnost osjetljivosti na gluten.[123] Međutim, druge studije nisu pokazale korist bezglutenske prehrane te ovo pitanje ostaje otvoreno za daljnja istraživanja.[124]

7.2. Crijevna mikrobiota i terapijska uloga probiotika

Uloga crijevne mikrobiote u patogenezi sindroma iritabilnog crijeva počela se intenzivnije razmatrati kada je uočeno da oko 10% pacijenata nakon akutnog gastroenetritisa i dalje ima abdominalne smetnje.[125] Takav se oblik sindroma iritabilnog crijeva naziva postinfekcioznim. Primjerice, 3 mjeseca nakon preboljelog gastroenteritisa, u bioptatu sluznice pacijenata sa sindromom iritabilnog crijeva, uočen je kontinuirani porast stanica karakterističnih za kroničnu upalu, dok se broj upalnih stanica kod zdravih kontrola smanjio.[126] Također, postoje dokazi kako akutni gastroenetritis dovodi do disbalansa Th1/Th2 odgovora. U sluznici pacijenata s postinfekcioznim oblikom, nađen je porast ekspresije TNFϒ, karakterističnog za Th1 odgovor, te smanjena razina IL-10 u odnosu na zdrave ispitanike i bolesnike s neinfekcioznim oblikom bolesti.[127] Stoga se može zaključiti da imunološki mehanizmi imaju važnu ulogu u ovom obliku sindroma iritabilnog crijeva.

Neovisno o tipu bolesti, mnoge su studije pokazale disbalans u sastavu crijevne mikrobiote kod ovih bolesnika. Obično se radi o smanjenju kolonizacije rodovima *Lactobacillus* i *Bifidobacteria* te porastu pripadnika roda *Enterobacteriaceae.*[128] Stoga je opravdano pitanje terapijske djelotvornosti probiotika. Prema rezultatima dosadašnjih istraživanja, načelno se čini da probiotici poboljšavaju kliničku sliku, s razinom dokaza B. U kliničkoj su primjeni jedna vrsta ili kombinacija probiotika, što otežava usporedbu rezultata te provođenje metaanaliza. Ipak, dvije su studije pokazale učinkovitost *Bifidobacterium infantis* u regresiji simptoma u odnosu na placebo skupinu, a *Lactobacillus acidophilus i Lactobacillus casei* u smanjenju abdominalne boli. Kombinacija *L. rhamnosus* GG, *Bifidobacterium breve i Propionibectaerium freudenreichii* u dvije se studije pokazala boljom od placeba.[129-132]

8. EOZINOFILNI EZOFAGITIS I GASTROENTERITIS

8.1. Eozinofilni ezofagitis

Eozinofilni ezofagitis kronični je upalni poremećaj jednjaka koji se očituje nizom simptoma, poput disfagije, povraćanja, regurgitacije hrane, mučnine i bolova u epigastriju. U zadnja mu je dva desetljeća incidencija u stalnom porastu, a iako se smatrao pedijatrijskom dijagnozom, danas se dijagnosticira i u odraslih pacijenata. Patogeneza eozinofilnog ezofagitisa nije dovoljno razjašnjena. Smatra se da je povezana s alergijskim reakcijama na hranu i inhalacijske alergene te općenito atopijskom konstitucijom. U bioptatu sluznice jednjaka nalazi se povećana infiltracija eozinofila, što je ujedno i dijagnostički kriterij (> 15/vidnom polju). U dječjoj je dobi pokazana visoka povezanost eozinofilnog ezofagitisa s IgE-preosjetljivošću na hranu, a eliminacijskom se dijetom postižu dobri klinički rezultati. Ipak, kod neke djece IgE antitijela nisu pozitivna.[133] Također, u studiji Rodriguesa i sur. iz 2014. godine 77% djece s dijagnozom eozinofilnog ezofagitisa imalo je pozitivan prick i patch test na alergene hrane i/ili inhalatorne alergene, što upućuje na to da je atopijska konstitucija važna, ali da u patogenezi bolesti postoje i drugi mehanizmi.[134] Velika retrospektivna studija Harera i suradnika iz 2013. pokazala je da kod pacijenata s astmom postoji veći rizik razvoja eozinofilnog ezofagitisa ako pacijent ima perifernu eozinofiliju, alergijsku astmu i alergijski rinitis, dok se upotreba steroidnih inhalera pokazala protektivnom prema razvoju eozinofilnog ezofagitisa.[135] Iako se smatralo da je eliminacijska dijeta učinkovita samo kod djece, Gonsalves i sur. su 2012. objavili studiju tijekom koje su provodeći eliminacijsku dijetu u 78% ispitanika, dobili 50%- tno smanjenje infiltracije eozinofila u sluznici. Stoga se čini da ima smisla ovakvu terapiju provoditi i kod odraslih pacijenata.[136] Kao dodatni patogenetski model spominje se povećanje permeabilnosti jednjaka te posljedični izravni kontakt hrane s imunološkim stanicama sluznice. Gastroezofagealni refluks smatra se mogućim uzrokom povećanja permeabilnosti sluznice, a u prilog ovoj teoriji govori poboljšanje kliničke slike nekih pacijenata na terapiju inhibitorima protonske pumpe. Sistematskim pregledom literature, Pellicano i sur. našli su nekoliko studija koje govore o povezanosti eozinofilnog ezofagitisa i celijakije. Prevalencija eozinofilnog ezofagitisa u bolesnika s celijakijom oko 10 je puta veća nego u općoj populaciji. Iako se radi o, prema dosadašnjim saznanjima, dva različita patogenetska modela, moguće je da povećana permeabilnost sluznice u bolesnika s celijakijom može dovesti do razvoja alergijskih reakcija na hranu.[137]

8.2. Eozinofilni gastroenteritis

Eozinofilni gastroenteritis vrlo je rijedak klinički entitet karakteriziran eozinofilnom infiltracijom želuca, tankog i /ili debelog crijeva. Prezentira se abdominalnim bolovima, disfagijom i proljevima, a može dovesti do malapsorpcije, anemije i kašnjenja puberteta kod djece.[138] Etiologija poremećaja nije poznata, ali se smatra da se radi o reakcijama preosjetljivosti. U prilog tome govori povezanost s astmom, atopijskim dermatitisom i alergijskim rinitisom te periferna eozinofilija s povećanim serumskim IgE, koji nisu nužno prisutni. Također, u zahvaćenoj sluznici nađene su povišene razine IL-3 i IL-5 koji sudjeluju u regrutaciji eozinofila. U terapiji najbolje rezultate daju kortikosteroidi, a spominju se i stabilizatori mastocita te antagonisti leukotriena, koji daju mješovite rezultate. Razmatara se i terapija eliminacijskom dijetom.[139,140]

9. ZAKLJUČAK

Kronične bolesti gastrointestinalnog sustava, poput alergijskih reakcija na hranu, upalnih bolesti crijeva, celijakije, eozinofilnog ezofagitisa i sindroma iritabilnog crijeva, u stalnom su porastu u populaciji zapadnih zemalja. Istraživanja pokazuju da su u podlozi ovih bolesti imunološki patogenetski mehanizmi i njihove komplicirane interakcije s crijevnim ekosistemom. Čimbenici okoliša, poput stila prehrane, uzimanja lijekova koji mijenjaju sastav crijevne mikrobiote (antibiotici, inhibitori protonske pumpe, nesteroidni protuupalni lijekovi) te psihosocijalnog stresa, utječu na promjene regulacijskih mehanizama crijevne imunosti, te dovode do intenzivnih imunoloških reakcija na antigene hrane i normalne crijevne flore. Buduća istraživanja trebalo bi usmjeriti na bolje razumijevanje patogenetskih procesa, molekularnu identifikaciju pripadnika crijevne mikrobiote, standardizaciju probiotika, te razvoj novih bioloških lijekova usmjerenih prema specifičnim imunopatogenetskim mehanizmima.

10. ZAHVALE

Zahvaljujem svojoj mentorici, prof.dr.sc. Asji Stipić-Marković na izrsnoj ideji, savjetima i pomoći tijekom pisanja rada.
Zahvaljujem na svom kliničkom znanju i iskustvu koje sam od nje stekla tijekom studija. Hvala na svom vremenu, volji i pažnji koje je posvetila našim zajedničkim stručnim aktivnostima. Zahvaljujem svim djelatnicima Odjela za kliničku imunologiju, pulmologiju i reumatologiju, KB ″Sveti Duh″.

Zahvaljujem liječnicima Odjela za gastroenterologiju i hepatologiju KB ″Sveti Duh″, na kojem sam provela dvije godine kao demonstrator. Posebno zahvaljujem dr.sc. Rosani Troskot Perić na savjetima tijekom pisanja rada.

11. LITERATURA:

1. Rescigno M. Mucosal immunology and bacterial handling in the intestine. Best Pract Res Clin Gastroenterol 2013;27:17-24.

2. Purchiaroni F, Tortora A, Gabrielli M, Bertucci F, Gigante G, Ianiro G. The role of intestinal microbiota and the immune system. Eur Rev Med Pharmacol Sci 2013;17:323-333.

3. Wu HJ, Wu E. The role of gut microbiota in immune homeostasis and autoimmunity. Gut Microbes 2012;3:4-14.

4. Ivanov II, Honda K. Intestinal Commensal Microbes as Immune Modulators. Cell Host Microbe 2012;12:496-508.

5. Weber KT, Polanco I. Microbiota and Some Children´s Diseases; A review. Gastroenerol Res Pract 2012;2012:1-12.

6. Walker AW. Development of the Intestinal Mucosal Barrier. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2002; 34:33-39.

7. Sanders EM, Guarner F, Guerrant R et al. An update on the use and investigation of probiotics in health and disease. Gut 2013;62:787-796.

8. Rook GAW, Brunet LR. Microbes, immunoregulation and the gut. Gut 2005;54:317-320.

9. Forchielli ML, Walker AW. The role of gut- associated lymphoid tissues and mucosal defence. Br J Nutr 2005;93:41-48.

10. Cesta FM. Normal Structure, Function, and Histology of Mucosa-Associated Lymphoid Tissue. Toxicol Pathol 2006;34:599-608.

11. Strober W, Fuss IJ, Blumberg RS. The immunology of mucosal models of inflammation. Annu Rev Immunol 2002;20:495-549.

12. Bland PW. Mucosal T- cell epithelial cell interactions. Chem Immunol 1998;71:40-63.

13. Artis D. Epithelial cell recognition of commensal bacteria and maintance of immune homeostasis in the gut. Nat Rev Immunol 2008;8:411-420.

14. Santaolalla R, Fukata M, Abreu MT. Innate immunity in the small intestine. Curr Opin Gastroenterol 2011;27:125-131.

15. Fukata M, Vamadevan AS, Abreu MT. Toll-like receptors (TLRs) and Nod-like receptors (NLRs) in inflammatory disorders. Semin Immunol 2009;2:242–53.

16. Abreu MT. Toll-like receptor signalling in the intestinal epithelium: How bacterial recognition shapes intestinal function. Nat Rev Immunol 2010;10:131–144.

17. Cario E, Podolsky DK. Differential alteration in intestina epithelial cell expression of toll-like receptor 3 (TLR3) and TLR4 in inflammatory bowel disease. Infect Immun 2000;68:7010–7017.

18. Bouskra D, Brezillon C, Berard M, Werts C, Varona R, Boneca IG, Eberl Gr. Lymphoid tissue genesis induced by commensals through NOD1 regulates intestinal homeostasis. Nature 2008; 456:507–510.

19. Lala S, Ogura Y, Osborne C, Hor SY, Bromfield A, Davies S, Ogunbiyi O, Nuńez G, Keshav S. Crohn's disease and the NOD2 gene: a role for paneth cells. Gastroenterology 2003;125:47–57.

20. Barreau F, Madre C, Meinzer U, Berrebi D, Dussaillant M, Merlin F, Eckmann L, Karin M, Sterkers G, Bonacorsi S, Lesuffleur T, Hugot JP. Nod2 regulates the host response towards microflora by modulating T cell function and epithelial permeability in mouse Peyer's patches. Gut 2010;59:207–217.

21. Niess JH. Role of mucosal dendritic cells in inflamatory bowel disease. World J Gastroenterol 2008;14:5138-5148.

22. Cerutti A, Rescigno M. The Biology of Intestinal Immunoglobulin A Responses. Immunity 2008; 28:740-750.

23. Knight AK, Cunningham-Rundles C. Inflammatory and autoimmune complications of common variable immune deficiency. Autoimmun Rev 2006;5:156–159.

24. Jesus AA, Duarte AJ, Oliveira JB. Autoimmunity in hyper-IgM syndrome. J Clin Immunol 2008; 28:62–66.

25. Malamut G, et al. The enteropathy associated with common variable immunodeficiency: the delineated frontiers with celiac disease. Am J Gastroenterol 2010;105:2262–2275.

26. Agarwal S, et al. Characterization of immunologic defects in patients with common variable immunodeficiency (CVID) with intestinal disease. Inflamm Bowel Dis 2011;17:251–259.

27. Cerutti A, Colls M, Gentile M, Cassis L, Barra CM, He B. Regulation of mucosal IgA responses: lessons from primary immunodeficiencies. Ann N Y Acad Sci 2011;1238:132–144.

28. Li OM, Flavell AR. TGFβ: A master of all T- cell trades. Cell 2008;134:392-404.

29. Weiner LH, Pires da Cunha A, Wu H. Oral Tolerance. Immunol Rev 2011;241:241-259.

30. Izcue A, Powrie F. Special regulatory T-cell review: regulatory T cells and the intestinal tract – patrolling the frontier. Immunology 2008;123:6-10.

31. Sakaguchi S, Wing K, Onishi Y, Prieto-Martin P, Yamaguchi T. Regulatory T- cells: how do they suppress immune responses. International immunology 2009;21:1105-1111.

32. Kretschmer K, Apostolou I, Hawiger D, Khazaie K, Nussenzweig MC, von Boehmer H. Inducing and expanding regulatory T cell populations by foreign antigen. Nat Immunol 2005;6:1219–1227.

33. Sheridan B, Lefrançois L. Intraepithelial Lymphocytes: To Serve and Protect. Curr Gastroenterol Rep 2010;12:513–521.

34. Mapherson AJ, Harris NL. Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system. Nat Rev Immunol 2004;4:478-485.

35. Mazmanian SK, Round JL, Kasper DL. A microbial symbiosis factor prevents intestinal inflammatory disease. Nature 2008;453:620-625.

36. Round JL, Manznanian SK. Inducible Foxp3+ regulatory T-cell development by a commensial bacterium of the intestinal microbiota. Proc Natl Acad Sci 2010;107:12204-12209.

37. Sokol H, Pigneur B, Watterlot L, Lakhdari O, Bermudez- Humaran LG, Gratadoux JJ, Blugeon S. Faecalibacterium prauznitsii is an anti- inflammatoty commensal bacterium ideniffied by gut microbiota analysis of Chron disease patients. Microbiology 2008;105:16731-16736.

38. Candela M, Rampelli S, Turroni S, Severgnini M, Consolandi C, De Bellis G. Unbalance of intestinal microbiota in atopic children. BMC Microbiol 2012;12:95-99.

39. De Filipo C, Cavalieri D, Di Paola M, Ramazzotti M, Poullet JB, Massart S. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. Proc Natl Acad Sci USA 2010;107:14691-14696.

40. Hill DA, Hoffmann C, Abt MC, Du Y, Kobuley D, Kirn TJ. Metagenomic analyses reveal antibiotic induced temporal and spatial changes in intestinal microbiota with associated alterations in immune cell homeostasis. Mucosal Immunol 2010;3:148-158.

41. Renz- Polster H, David MR, Buist AS, Vollmer WM, O´Connor EA, Frazier EA. Caesarean section delivery and the risk of allergic disorders in childhood. Clin Exp Allergy 2005;35:1466-1472.

42. Bezirtzoglou E, Tsiotsias A, Welling GW. Microbiota profile in feces of breast and formula fed newborns by using FISH. Anaerobe 2011;17:478-482.

43. Penders J, Vink C, Driessen C, London N, Thijs C, Stobberingh EE. Quantiffication of Bifidobacterium spp, E. coli and C. difficile in faecal samples of breast fed and formula fed infants by real- time PCR. FEMS Microbiol Lett 2005;243:141-147.

44. O`Mahoni L, Mc Carthy J, Kelly P, Hurley G, Luo F, Chen K. Lactobacillus and Bifidobacterium in irritable bowel syndrome: symptom response and relationship to cytokine profiles. Gastroenterology 2005;128:541-551.

45. Vanderpool C, Yan F, Polk DB Mechanisms of probiotic action: Implications for therapeutic applications in inflammatory bowel diseases. Inflamm Bowel Dis 2008;14:1585–1596.

46. Yang F, Brent Polk D. Probiotics: progress toward novel therapies for intestinal diseases. Curr Opin Gastroenterol 2010;26:95-101.

47. Roselli M, Finamore A, Nuccitelli S, et al. Prevention of TNBS-induced colitis by different *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains is associated with an expansion of gammadeltaT and regulatory T cells of intestinal intraepithelial lymphocytes. Inflamm Bowel Dis 2009;15:1526–1536.

48. Beasley R, Keil U, Von Mutius E et al. Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and atopic eczema: ISAAC. Lancet 1998;351:1225-1232.

49. Sipić- Marković A, Ćvorišćec B. Alergijske bolesti i pseudoalergijske reakcije. U: Vrhovac B. i sur. Interna medicina. Zagreb: Ljevak, 2008. 1355- 1359.

50. Akdis M, Verhagen J, Taylor A, Karamloo F, KaragiannidisC, Crameri R. Immune responses in healthy and allergic individuals are characterized by a fine balance between allergen-specific T regulatory 1 and T helper 2 cells. J Exp Med 2004;199:1567-1575.

51. Perez- Machado MA, Ashwood P, Thomson MA, Latcham F, Sim R, Walker- Smith JA. Reduced transforming growth factor-beta1- producing T cells in the duodenal mucosa of children with food allergy. Eur J Immunol 2003;33:2307-2315.

52. Melnik BC, Malte SJ, Schmitz G. Milk: an exosomal microRNA transmitter promoting thymic regulatory T cell maturation preventing the development of atopy? Journal of Translational Medicine 2014;12:43-54.

53. Bjorkseten B, Naaber P, Sepp E, Mikelsaar M. The intestinal microflora in allergic Estonian and Swedish 2-year-old children. Clin Exp Allergy 1999;29:342-346.

54. Kalliomaki M, Kirjavainen P, Eerola E, Kero P, Salimen S, Isolauri *E*. Distinct patterns of neonatal gut microflora in infants in whom atopy was and was not developing. J Allergy Clin Immunol 2001;107:129-134.

55. Penders J, Thijs C, van den Brandt PA, Kummeling I, Snijders B, Stelma F, Adams H, van Ree R, Stobberingh EE. Gut microbiota composition and development of atopic manifestations in infancy: the KOALA Birth Cohort Study. Gut 2007,56:661–667.

56. Noimark L, Cox HE. Nutritional problems related to food allergy in childhood. Pediatr Allergy Immunol 2008;19:188-195.

57. Abrahamsson TR, Jakobsson T, Bottcher MF, Fredrikson M, Jenmalm MC, Bjorksten B, Oldaeus G. Probiotics in prevention of IgE-associated eczema: a double-blind, randomized, placebocontrolled trial. J Allergy Clin Immunol 2007;119:1174-1182.

58. Kuitunen M, Kukkonen K, Juntunen- Backman K, Korpela R, Pousa T, Tuure T, HaahtelaT, Savilahti E. Probiotics prevent IgE-associated allergy until age 5 years in cesarean-delivered children but not in the total cohort. J Allergy Clin Immunol 2009;123:335-341.

59. Taylor AL, Dunstan JA, Prescott SL. Probiotic supplementation for the first 6 months of life fails to reduce the risk of atopic dermatitis and increases the risk of allergen sensitization in high-risk children: a randomized controlled trial. J Allergy Clin Immunol 2007;119:184-191.

60. Konstantinova S, Smidt H, De Vos WM, Altermann E, Brujins SCM, Singh SK, Valence F. S layer protein A of Lactobacillus acidophilus NCFM regulates immature dendritic cell and T cell functions. Microbiology 2008;105:19474-19479.

61. Muraro A, Halken S, Arshad SH, Beyer K, Dubois AE, Du Toit G. EAACI Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines. Primary prevention of food allergy. Allergy 2014;69:590-601.

62. Mousalem T, Burks AW. Immunology in the clinic review series: focus on allergies: immunotherapy for food allergy. Clin Exp Immunol 2010;167:26-31.

63. Nelson HS, Lahr J, Rule R, Bock A, Leung D. Treatment of anaphylactic sensitivity to peanuts by immunotherapy with injections of aqueous peanut extract. J Allergy Clin Immunol 1997;99:744–751.

64. Jones SM, Pons L, Roberts JL, Scurlock AM, Perry TT, Kulis M, Shreffler WG, Steele P, Henry KA, Adair M, Francis JM, Durham S, Vickery BP, Zhong X, Burks AW. Clinical efficacy and immune regulation with peanut oral immunotherapy. J Allergy Clin Immunol 2009;124:292–300.

65. Meglio P, Bartone E, Plantamura M, Arabito E, Giampietro PG. A protocol for oral desensitization in children with IgE-mediated cow's milk allergy. Allergy 2004;59:980–987.

66. Skripak JM, Nash SD, Rowley H, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled study of milk oral immunotherapy for cow's milk allergy. J Allergy Clin Immunol 2008;122:1154–60.

67. Kim EH, Bird JA, Kulis M, et al. Sublingual immunotherapy for peanut allergy: clinical and immunologic evidence of desensitization. J Allergy Clin Immunol 2011;127:640–646.

68. Nadeau KC, Schneider LC, Hoyte L, Borras I, Umetsu DT. Rapid oral desensitization in combination with omalizumab therapy in patients with cow's milk allergy. J Allergy Clin Immunol 2011;127:1622–1628.

69. Schuppan D, Junker Y, Barisani D. Coeliac disease; From Pathogenesis to Novel Therapies. Gastroenterology 2009;137:1912- 1933.

70. Wolters VM, Wijmenga C. Genetic background of celiac disease and its clinical implications. Am J Gastroenterol 2008;103:190–195.

71. Nijeboer P, Van Wanrooij RLJ, Tack GJ, Mulder CJJ, Bouma G. Update on the diagnosis and management of refractory coeliac disease. Gastroenterol Res Pract 2013;2013:1-9.

72. Meresse B, Verdier J, Cerf-Bensussan N. The cytokine interleukin 21: a new player in coeliac disease? Gut 2008;57:879– 881.

73. Collado MC, Donat E, Ribes-Koninckx C, et al. Imbalances in faecal and duodenal Bifidobacterium species composition in active and non-active coeliac disease. BMC Microbiol 2008;8:232-236.

74. Collado MC, Donat E, Ribes-Koninckx C, et al. Specific duodenal and faecal bacterial groups associated with paediatric coeliac disease. J Clin Pathol 2009;62:264–269.

75. Pavone P, Nicolini E, Taibi R, et al. Rotavirus and celiac disease. Am J Gastroenterol 2007;102:1831.

76. Denham J, Hill ID. Coeliac disease and autoimmunity: Review and controversies. Curr Alergy Asthma Rep 2013;13:347-353.

77. Mudler CJJ. When is a coeliac a coeliac? Report of a working group of the United European Gastroenterology Week in Amsterdam. Eur J Gastroen Hepat 2001;13:1123-1128.

78. Cellier C, Patey N, Mauvieux L. Abnormal intestinal intraepithelial lymphocytes in refractory sprue. Gastroenterology 1998;114:471-481.

79. Al Toma A, Verbeek WHM, Hadithi M, von Blomberg BME, Mulder CJJ. Survival in refractory coeliac disease and entheropathy – associated T-cell lymphoma: retrospective evaluation of of single- centre expirience. Gut 2007;56:1373-1378.

80. Malamut G, Meresse B, Cellier C, Cerf- Bensussan N. Reractory coeliac disease: from bench to bedside. Sem Immunopathol 2012;34:601-613.

81. Mention JJ, Ahmed MB, Begue B. Interleukin 15: a key to disrupted intraepithelial lymphocyte homeostasis and lymphomagenesis in coeliac disease. Gastroenterology 2003;125:730-745.

82. Colpitts SL, Stoklasek TA, Plumlee CR, Obar JJ, Guo C, Lefrancois L. Cutting edge. The role of IFNα receptor in My D88 signaling in induction of IL-15 expression in vivo. J Immunol 2012; 188:2483-2487.

83. Maurano F, Siciliano RA, De Giulio B, et al. Intranasal administration of one alpha gliadin can downregulate the immune response to whole gliadin in mice. Scand J Immunol 2001;53:290–295.

84. Papadakis KA, Prehn J, Moreno ST, et al. CCR9-positive lymphocytes and thymus-expressed chemokine distinguish small bowel from colonic Crohn's disease. Gastroenterology 2001;121:246–254.

85. Baslund B, Tvede N, Danneskiold-Samsoe B, et al. Targeting interleukin-15 in patients with rheumatoid arthritis: a proof- of concept study. Arthritis Rheum 2005;52:2686–2692.

86. Zhang YZ, Li YY. Inflammatory bowel disease: Pathogenesis. World J Gastroenterol 2014;201:91-99.

87. Kaser A, Blumberg RS. Endoplasmic reticulum stress and intestinal inflammation. Mucosal Immunol 2010;3:11–16.

88. Kobayashi KS, Chamaillard M, Ogura Y, et al. Nod2-dependent regulation of innate and adaptive immunity in the intestinal tract. Science 2005;307:731–734.

89. Wehkamp J, Salzman NH, Porter E, et al. Reduced Paneth cell alpha-defensins in ileal Crohn's disease. Proc Natl Acad Sci U S A 2005;102:18129–18134.

90. Ogura Y, Lala S, Xin W, Smith E, Dowds TA, Chen FF, et al. Expression of NOD2 in Paneth cells: a possible link to Crohn's ileitis. Gut 2003;52:1591–1597.

91. Sandborn WJ. Optimizing anti-tumor necrosis factor strategies in inflammatory bowel disease. Curr Gastroenterol Rep 2003;5:501–505.

92. Kontoyiannis D, Boulougouris G, Manoloukos M, Armaka M, Apostolaki M, Pizarro T, et al. Genetic dissection of the cellular pathways and signaling mechanisms in modeled tumor necrosis factorinduced Crohn's-like inflammatory bowel disease. J Exp Med 2002;196:1563–1574.

93. Kuma A, Mizushima N, Ishihara N, Ohsumi Y. Formation of the approximately 350-kDa Apg12-Apg5.Apg16 multimeric complex, mediated by Apg16 oligomerization, is essential for autophagy in yeast. Biol Chem 2002;277:18619–18625.

94. R, Baker J, Brain O, Danis B, Pichulik T, Allan P, et al. NOD2 stimulation induces autophagy in dendritic cells influencing bacterial handling and antigen presentation. Nat Med 2010;16:90–97.

95. Travassos LH, Carneiro LA, Ramjeet M, Hussey S, Kim YG, Magalhaes JG, et al. Nod1 and Nod2 direct autophagy by recruiting ATG16L1 to the plasma membrane at the site of bacterial entry. Nat Immunol 2010;11:55–62.

96. Cario E, Podolsky KD. Differential Alteration in Intestinal Epithelial Cell Expression of Toll-Like Receptor 3 (TLR3) and TLR4 in Inflammatory Bowel Disease. Infect Immun 2000;68:7010-7017.

97. Mottet, C., H. H. Uhlig, and F. Powrie Cutting edge: cure of colitis by $CD4^{+}CD25^{+}$ regulatory T cells. J Immunol 2003;170:3939–3943.

98. Wildin, R. S., F. Ramsdell, J. Peake, F. Faravelli, J. L. Casanova, N. Buist, E. Levy-Lahad, M. Mazzella, O. Goulet, L. Perroni, et al. X-linked neonatal diabetes mellitus, enteropathy and endocrinopathy syndrome is the human equivalent of mouse scurfy. Nat Genet 2001;27:18–20.

99. Uhlig HH, Coombes J, Mottet C, Izcue A, Thompson C, Fanger A, Tannapfel A, Fontenot DJ, Ramsdell F, Powrie F. Characterization of Foxp3+ CD4+ CD25+ and IL-10-Secreting CD4+ CD25+ T Cells during Cure of Colitis. J Immunol 2006;177:5852–5860.

100. Abraham C, Cho J. Interleukin-23/Th17 pathways and inflammatory bowel disease. Inflamm Bowel Dis 2009;15:1090-1100.

101. Hoeve MA, Savage ND, de Boer T, et al. Divergent effects of IL-12 and IL-23 on the production of IL-17 by human T cells. Eur J Immunol 2006;36:661–670.

102. Aggarwal S, Ghilardi N, Xie MH, et al. Interleukin-23 promotes a distinct CD4 T cell activation state characterized by the production of interleukin-17. J Biol Chem 2003;278:1910 – 1914.

103. Lee JW, Wang P, Kattah MG, et al. Differential regulation of chemokines by IL-17 in colonic epithelial cells. J Immunol 2008;181:6536–6545.

104. Coombes JL, Siddiqui KR, Arancibia-Carcamo CV, et al. A functionally specialized population of mucosal CD103 DCs induces Foxp3 regulatory T cells via a TGF-beta and retinoic acid-dependent mechanism. J Exp Med 2007;204:1757–1764.

105. Annunziato F, Cosmi L, Santarlasci V, et al. Phenotypic and functional features of human Th17 cells. J Exp Med 2007;204:1849–1861.

106. Kamada N, Hisamatsu T, Okamoto S, et al. Unique CD14 intestinal macrophages contribute to the pathogenesis of Crohn disease via IL- 23/IFN-gamma axis. J Clin Invest 2008;118:2269 – 2280.

107. Fuss IJ, Becker C, Yang Z et al. Both IL-12p70 and IL-23 are synthesized during active Chron`s disease and are down regulated by treatment with anti-IL-12 p-40 monoclonal antibody. Inflamm Bowel Dis 2006:12:9-15.

108. Cargill M, Schrodi SJ, Chang M, et al. A large-scale genetic association study confirms IL12B and leads to the identification of IL23R as psoiasis-risk genes. Am J Hum Genet 2007;80:273–290.

109. Burton PR, Clayton DG, Cardon LR, et al. Association scan of 14,500 nonsynonymous SNPs in four diseases identifies autoimmunity variants. Nat Genet 2007;39:1329–1337.

110. Barrett JC, Hansoul S, Nicolae DL, et al. Genome-wide association defines more than 30 distinct susceptibility loci for Crohn's disease. Nat Genet 2008;40:955–962.

111. Fisher SA, Tremelling M, Anderson CA, et al. Genetic determinants of ulcerative colitis include the ECM1 locus and five loci implicated in Crohn's disease. Nat Genet 2008;40:710 –712.

112. Franke A, Balschun T, Karlsen TH, et al. Replication of signals from recent studies of Crohn's disease identifies previously unknown disease loci for ulcerative colitis. Nat Genet 2008;40:713–715.

113. Krueger GG, Langley RG, Leonardi C, et al. A human interleukin- 12/23 monoclonal antibody for the treatment of psoriasis. N Engl J Med 2007;356:580 –592.

114. Sandborn WJ, Feagan BG, Fedorak RN, et al. A randomized trial of Ustekinumab, a human interleukin-12/23 monoclonal antibody, in patients with moderate-to-severe Crohn's disease. Gastroenterology 2008;135:1130 –1141.

115. Sasaki M, Sitaraman SV, Babbin BA, et al. Invasive Escherichia coli are a feature of Crohn's disease. Lab Invest 2007; 87:1042–54.

116. Backhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, et al. Host-bacterial mutualism in the human intestine. Science 2005;307:1915–1920.

117. Troskot Perić R, Martinac M, Bilić A. Sindrom iritabilnog crijeva (SIC). Dijagnostički i terapijski postupak. Monografija za liječnike. Zagreb, 2013.

118. Chadwick VS, Chen W, Shu D, et al. Activation of the mucosal immune system in irritable bowel syndrome. Gastroenterology 2002;122:1778-1783.

119. O'Sullivan M, Clayton N, Breslin NP, Harman I, Bountra C, McLaren A, O'Morain CA. Increased mast cells in the irritable bowel syndrome. Neurogastroenterol Motil 2000;12:449-457.

120. Cremon C, Gargano L, Morselli-Labate AM, Santini D, Cogliandro RF, De Giorgio R, Stanghellini V, Corinaldesi R, Barbara G. Mucosal immune activation in irritable bowel syndrome: gender-dependence and association with digestive symptoms. Am J Gastroenterol 2009;104:392-400.

121. Brint EK, MacSharry J, Fanning A, Shanahan F, Quigley EM. Differential expression of toll-like receptors in patients with irritable bowel syndrome. Am J Gastroenterol 2011;106:329-336.

122. Parker TJ, Woolner JT, Prevost AT, Tuffnell Q, Shorthouse M, Hunter JO. Irritable bowel syndrome: is the search for lactose intolerance justified? Eur J Gastroenterol Hepatol 2001;13: 219-225.

123. Wahnschaffe U, Schulzke JD, Zeitz M, Ullrich R. Predictors of clinical response to gluten-free diet in patients diagnosed with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. Clin Gastroenterol Hepatol 2007;5:844-850.

124. Biesiekierski JR, Peters SL, Newnham ED, Rosella O, Muir JG, Gibson PR. No effects of gluten in patients with selfreported non-celiac gluten sensitivity after dietary reduction of fermentable, poorly absorbed, short-chain carbohydrates. Gastroenterology 2013;145:320-328.

125. Schwille-Kiuntke J, Enck P, Zendler C, Krieg M, Polster AV, Klosterhalfen S, Autenrieth IB, Zipfel S, Frick JS. Postinfectious irritable bowel syndrome: follow-up of a patient cohort of confirmed cases of bacterial infection with Salmonella or Campylobacter. Neurogastroenterol Motil 2011;23:479-488.

126. Rana SV, Sinha SK, Sikander A, Bhasin DK, Singh K. Study of small intestinal bacterial overgrowth in North Indian patients with irritable bowel syndrome: a case control study. Trop Gastroenterol 2008;29:23-25.

127. Chen J, Zhang Y, Deng Z. Imbalanced shift of cytokine expression between T helper 1 and T helper 2 (Th1/Th2) in intestinal mucosa of patients with post-infectious irritable bowel syndrome. BMC Gastroenterology 2012;12:91-97.

128. Si JM, Yu YC, Fan YJ, Chen SJ. Intestinal microecology and quality of life in irritable bowel syndrome patients. World J Gastroenterol 2004;10:1802-1805.

129. Whorwell PJ, Altringer L, Morel J, et al. Efficacy of an encapsulated probiotic *Bifidobacterium infantis* 35624 in women with irritable bowel syndrome. Am J Gastroenterol 2006;101:1581-1590.

130. Shin HY, Song YS, Kim HM, Shin TY. Inhibitory effect of inflammatory cytokines production from activated mast cells by Gamisopoonghwanghyul-tang. Immunopharmacol Immunotoxicol 2004;26:587-596.

131. Kajander K, Hatakka K, Poussa T, Färkkilä M, Korpela R. A probiotic mixture alleviates symptoms in irritable bowel syndrome patients: a controlled 6-month intervention. Aliment Pharmacol Ther 2005;22:387-394.

132. Kajander K, Myllyluoma E, Rajilić-Stojanović M, et al. Clinical trial: multispecies probiotic supplementation alleviates the symptoms of irritable bowel syndrome and stabilizes intestinal microbiota. Aliment Pharmacol Ther 2008;27:48-57.

133. Liacouras CA, Furuta GT, Hirano I, Atkins D, Attwood SE, Bonis PA. Eosinophilic esophagitis: updated consensus recommendations for children and adults. J Allergy Clin Immunol 2011;128:3–20.

134. Rodrigues E, Palmer Barros C, Hideki Ynoue, Santos Torido A, Costa Pinto RM, Gesmar Rodrigues S. Clinical characteristics and sensitivity to food and inhalants among children with eosinophilic esophagitis. BMC Research Notes 2014;7:47-52.

135. Harer KN, Enders FT, Lim KG, Alexander JA, Katzka DA. An allergic phenotype and the use of steroid inhalers predict eosinophilic oesophagitis in patients with asthma. Aliment Pharmacol Ther 2013;37:107-113.

136. Gonsalves N, Yang GY, Doerfler B, Ritz S, Ditto AM, Hirano I. The food- elimination diet in adult eosinophilic esophagitis. Gastroenterology 2013;142:1451-1459.

137. Pellicano R, De Angelis C, Ribaldone DG, Fagoonee S, Astegiano M. 2013 Update on coeliac disease and eosinophilic esophagitis. Nutrients 2013;5:3329-3336.

138. Ingle BS, Hinge CR. Eosinophilic gastroenteritis: An unusual type of gastroenteritis. World J Gastroenterol 2013; 19: 5061-5066.

139. Tan AC, Kruimel JW, Naber TH. Eosinophilic gastroenteritis treated with non-enteric-coated budesonide tablets. Eur J Gastroenterol Hepatol 2001;13:425-427.

140. Pérez-Millán A, Martín-Lorente JL, López-Morante A, Yuguero L, Sáez-Royuela F. Subserosal eosinophilic gastroenteritis treated efficaciously with sodium cromoglycate. Dig Dis Sci 1997;42:342-344.

12. ŽIVOTOPIS

Rođena sam u Zagrebu, 1. kolovoza 1989., gdje sam završila osnovnu školu i gimnaziju. Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisala sam 2008. godine.

Dobitnica sam Rektorove nagrade za studentski znanstveni rad (ak. god. 2010./2011.).

U akademskim godinama 2012./2013. i 2013./2014. bila sam demonstrator na Katedri za internu medicinu, kolegij Klinička propedeutika, na Zavodu za gastroenterologiju i hepatologiju KB ″Sveti Duh″.

2012. godine sudjelovala sam posterom i sažetkom (″Gležanjskonadlaktični indeks-pokazatelj stanja perifernih arterija u vaskulitisu″) na Godišnjem sastanku hrvatskih alergologa i kliničkih imunologa, Hrvatskog društva za alergologiju i kliničku imunologiju.

Objavila sam jedan pregledni rad:

Topalušić I, Valpotić I, Stipić- Marković A. Omjer tlaka nad gležnjem i nadlakticom-metoda procjene kardiovaskularnog rizika. Acta Med Croatica 2012; 66:311-313.

Strani jezici: engleski, talijanski, njemački