

Imunobiologija crijevne suznice: od lokalne imunosti i mikrobioma do zglobne upale

Banić, Marko; Mustapić, Sanda; Knežević, Biljana; Kardum, Duško; Babić, Žarko; Eraković Haber, Vesna

Source / Izvornik: **Reumatizam, 2023, 70, 1 - 18**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

<https://doi.org/10.33004/reumatizam-sup-70-1-1>

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:184:125675>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-18**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Medicine - FMRI Repository](#)



IMUNOBIOLOGIJA CRIJEVNE SUZNICE: OD LOKALNE IMUNOSTI I MIKROBIOMA DO ZGLOBNE UPALE

IMMUNOBIOLOGY OF INTESTINAL MUCOSA: FROM LOCAL IMMUNITY AND MICROBIOME TO INFLAMMATION OF JOINTS

Marko Banić^{1,2,3}, Sanda Mustapić³, Biljana Knežević³, Duško Kardum^{3,4},
Žarko Babić^{1,3}, Vesna Eraković Haber^{2,5}

¹ Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska / School of Medicine University of Zagreb, Zagreb, Croatia

² Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka, Hrvatska / School of Medicine University of Rijeka, Rijeka, Croatia

³ Zavod za gastroenterologiju, hepatologiju i kliničku prehranu, Klinička bolnica Dubrava, Zagreb, Hrvatska
/ Division of Gastroenterology, Hepatology and Clinical nutrition, University Hospital Dubrava, Zagreb, Croatia

⁴ Sveučilište „Sjever“, Koprivnica – Varaždin, Hrvatska / University Nord, Koprivnica – Varaždin, Croatia

⁵ Institut Selvita, Zagreb, Hrvatska / Institute Selvita, Zagreb, Croatia

Adresa autora za dopisivanje / Corresponding author's address:

Prof. dr. sc. Marko Banić

Zavod za gastroenterologiju, hepatologiju i kliničku prehranu
/ Division of Gastroenterology, Hepatology and Clinical nutrition
Klinička bolnica Dubrava / University Hospital Dubrava
Avenija Gojka Šuška 6

10000 Zagreb

Hrvatska / Croatia

E-pošta / E-mail: mbanic@kdbd.hr

Primljeno / Received: 15. 09. 2023. / 15th September 2023

Prihvaćeno / Accepted: 27. 09. 2023. / 27th September 2023

SAŽETAK

Sagledavajući evolucijski razvoj kralježnjaka i njihovu koevoluciju s vlastitom crijevnom mikrobiotom i okolišem, postaje jasno važno mjesto imunološkog sustava pridruženog sluznicama u razvoju ukupnog imunološkog sustava jedinke i jačanju obrambenog sustava organizma. Koncept limfatičkog tkiva pridruženog sluznici crijeva u širem smislu predstavlja strukturu i funkciju urođene i stečene, humoralne i celularne imunosti pridružene sluznici u procesiranju luminalnih antigena. Taj koncept uključuje integritet sluzničke barijere, sloj sluzi, očuvani epitelni sloj i uske veze između stanica, lučenje antimikrobnih peptida, obrasce prepoznavanja antigena, uključivši mikrobnne i one nastale oštećenjem tkiva, obrasce stvaranja signala i puteve prijenosa signala, mehanizme humoralne i celularne imunosti, citokinsku mrežu i lokalni citokinski okoliš, interakciju urođenih limfoidnih stanica s pomagačkim, izvršnim i regulacijskim limfocitima T, interakciju s ostalim stanicama strome te metaboličku i imunološku interakciju s vlastitim mikrobiomom. Rezultati brojnih istraživanja zabilježili su etiopatogenetsku povezanost između crijevne i zglobne upale, tvrdeći kako se u patogenetskom kolopletu isprepliću činitelji naslijeđa, promijenjena imunološka reakcija te činitelji okoliša, onog vanjskog i unutarnjeg pod kojim razumijevamo crijevnu mikrobiotu. Opravdano je ustvrditi kako za sve skupine navedenih reumatoloških bolesti postoji, kako za koji entitet, više ili manje dokaza o povezanosti s crijevnom upalom, odnosno patološkom imunološkom reakcijom i crijevnom disbiozom. Za sada, ne postoji dovoljno dokaza da bi ta povezanost imala kauzalni karakter. Rezultati dobiveni primjenom umjetne inteligencije u obradi velikih količina podataka mogli bi izdvojiti fenotipski različite skupine bolesnika s reumatoidnim artritisom i spondiloartropatijama, uz dijagnostičke i terapijske implikacije. Prvenstveno u svjetlu pretpostavke da gensko naslijeđe, imunološka reakcija i crijevna disbioza na različiti način doprinose nastanku bolesti u različitim skupina bolesnika, odnosno u individualnom bolesniku. Primjenom načela translacijske medicine u istraživanju, dijagnostici i terapiji crijevne i zglobne upale čini-mo značajan korak naprijed ka preciznoj i personaliziranoj medicini.

KLJUČNE RIJEČI: crijevni mikrobiom, crijevna sluznica, crijevna upala, limfatičko tkivo, spondiloartropatije, reumatoidni artritis

ABSTRACT

Considering the evolution of vertebrates and their coevolution with self intestinal microbiome and environment, the important role of gut associated immune system becomes clear, especially in the development of the body immune system and in fostering the defense of the organism as a whole. The concept of gut-associated lymphoid tissue in broader sense, represents the structure and function of innate and adaptive, humoral and cellular immunity in the intestinal mucosa, in processing luminal antigens. The concept includes the integrity of intestinal barrier, the mucus layer, intestinal epithelium and tight junctions, secretion of antimicrobial peptides, patterns of microbial and damage associated antigens recognition, the patterns of signal induction and transduction, mechanisms of humoral and cellular immunity, cytokine network and local cytokine milieu, the interaction of innate lymphoid cells with helper, cytotoxic and regulatory T cells, interaction with stromal cells in intestinal lamina propria and metabolic and immunologic interaction with self microbiota, as well. The results of numerous studies have documented the etiopathogenetic association of gut and joint inflammation, with the interplay of inflammation of gut and joints, stating that genetic heritage, aberrant immunologic reaction and environmental factors – outer environment and inner environment represented by gut microbiome interact in the pathogenetic conundrum. It seems justified to say that there exists the association of aforementioned rheumatologic diseases and intestinal inflammation, involving aberrant immune reaction and intestinal dysbiosis. Up to now, there is not enough evidence that this association have the character of causality. The results obtained by the use of artificial intelligence in processing the big data could possibly identify phenotypically different cohorts of patients with rheumatoid arthritis and seronegative spondyloarthropathies, bringing up diagnostic and therapeutic implications. Predominantly in the light of hypothesis that genetic background, immunologic reaction and gut dysbiosis differently contribute to disease occurrence in different group of patients and in individual patient, as well. The principles of translational medicine in research, diagnostics and therapy of gut and joint inflammation represent a significant step towards precise and personalized medicine.

KEY WORDS: intestinal inflammation, intestinal microbiome, intestinal mucosis, lymphoid tissue, spondyloarthropathies, rheumatoid arthritis

**USPOREDNI FILOGENETSKI RAZVOJ
PROBAVNE CIJEVI I OBRAMBENOG
SUSTAVA ORGANIZMA**

Održavanje lokalne (sluzničke) i sistemske imunostne homeostaze u živih organizama ovisi o nastalim ili naslijeđenim, specifičnim i nespecifičnim obrambenim mehanizmima koji su intenzivni fokus istraživanja u svih organizama različitih razina taksonomske složenosti. Rezultati istraživanja provedenih na višestaničnim organizmima, reptilima, pticama, sisavcima, odnosno beskrležnjacima i kralježnjacima iznjedrili su zaključak kako stanični sastav, struktura i funkcija imunološkog sustava pridruženog sluznici probavne cijevi nisu univerzalni za višestanični živi svijet. Prateći filogenezu, u nekih vrsta metazoa postoji formirano primitivno crijevo i organi za izmjenu plinova; u crva hemociti okružuju crijevo, no pri tome ne tvore organizirane limfatične tkivne strukture kao u sisavaca i viših kralježnjaka, na površini crijevnog epitela nekih beskrležnjaka nalazimo peritrofički matriks koji štiti epitel od abrazije i funkcijski zapravo odgovara sloju sluzi u sisavaca. Istraživanja na vinskoj mušici (*Drosophila melanogaster*) bilježe prisutnost receptora za prepoznavanje obrazaca (engl. *pattern recognition receptors* – PRR) kao mehanizam urođene imunosti koji biva potaknut različitim mikrobnim ligandima, uz posljedično lučenje antimikrobnih peptida, i ubrzo su otkriveni humani homolozi receptora za mikrobne ligande, što je omogućilo eksploziju istraživanja u vezi s

odnosom humanog organizma i njegove crijevne mikrobiote. (1)

Kroz evolucijsko stablo, u nižih kralježnjaka zabilježena je sposobnost stvaranja raznolikosti receptora za antigen, sazrijevanja specijaliziranih stanica i struktura specijaliziranoga imunološkog tkiva pridruženog sluznicama. U svih kralježnjaka primarna limfna tkiva nastaju prije evolucijske pojave sekundarnih limfnih tkiva, no uz različito filogenetsko podrijetlo u kralježnjaka s čeljusti i bez čeljusti. U kralježnjaka bez čeljusti ne nalazimo jasno definiran timus i smatra se da su u njih tkiva odgovorna za diferencijaciju limfocita potekla iz imunološkog tkiva pridruženog sluznicama. U kralježnjaka s čeljusti postoji organizirani timus u kojem je jasna granica između kortikalne i medularne regije i slezena koja ima jasno definiranu crvenu i bijelu pulpu. (2)

Evolucijski izrazito važna karakteristika viših kralježnjaka s čeljusti jest načelo imunološki spregnutog prepoznavanja, odnosno sposobnost prepoznavanja antigena, spregnuto s prepoznavanjem molekula (peptida i glikolipida) sustava tkivne podudarnosti (engl. *mean histocompatibility complex* – MHC).

U kordata, primjerice u morskih pasa i u kralježnjaka s čeljusti, zabilježeno je postojanje receptora na limfocitima T (engl. *T-cell receptor* – TCR), heterodimera koji se sastoji od uparenih $\alpha\beta$ ili $\gamma\delta$ lanaca i koji ima ulogu prepoznavanja antigena i prijenosa signala. Limfociti T i B prisutni su u svih kralježnjaka i prema istra-

živanjima dihotomija između limfocita T i B u miševa i ljudi nastala je na evolucijskoj razini zajedničkog pretka kralježnjaka, prije oko 500 milijuna godina, odnosno prije evolucijskog nastanka timusa, slezene, TCR-a i imunoglobulina. Osim nastanka limfocita T i B te TCR-a i imunološki spregnutog prepoznavanja koje uključuje molekule MHC na površini limfocita, drugu važnu evolucijsku prekretnicu predstavlja fenomen promjene klase lučenog imunoglobulina u istom limfocitu B. Spomenuti fenomen je omogućen ekspresijom gena aktivacije rekombinacije (engl. *recombination-activating gene* – RAG) uz stvaranje enzima – rekombinaza, što za posljedicu ima sposobnost limfocita B za lučenje druge klase imunoglobulina s drugim funkcijskim atributima, uz zadržavanje specifičnosti za dati antigen. Na taj način dvije zasebne linije limfocita – limfociti B koji proizvode protutijela uz mogućnost promjene klase lučenog protutijela i limfociti T koji reguliraju imunološku reakciju uz prepoznavanje antigena koje je spregnuto s molekulama MHC predstavljaju drevnu i dobro očuvanu evolucijsku strategiju imunološke obrane u kralježnjaka. (3)

U imunološkom sustavu pridruženom sluznicama uključivši i sluznicu probavnog sustava glavnu obrambenu ulogu ima imunoglobulin izotipa A (IgA) koji iz sluznice biva lučen u lumen probavnog sustava, poglavito crijeva. Sekretorni IgA (sIgA) opisan je u sisavaca šezdesetih godina 20. stoljeća i poznato je da se IgA u obliku dimera spaja sa sekretornom komponentom – J-lancem i pomoću polimernog receptora za imunoglobuline (engl. *polymeric Ig receptor* – pIgR) biva transcitozom transportiran kroz epitelni sloj u lumen crijeva, kao sIgA. Homolozi nalik sIgA u sisavaca opisani su u ptica i reptila, no ne nalaze se u amfibija i riba. Kao funkcionalni analog sIgA u sisavaca, u amfibija je opisan imunoglobulin X i u ribe teleost imunoglobulin T. (4,5)

Općenito, u ljudi limfociti T sazrijevaju u timusu i limfociti B započinju svoj put u koštanoj srži. Važno je naglasiti da u nekih sisavaca i svih ptica osnovnu ulogu u ontogenezi limfocita B ima limfatično tkivo pridruženo crijevnoj sluznici (engl. *gut associated lymphoid tissue* – GALT) i u ptica je to posebna struktura u okviru GALT-a koju nazivamo Fabricijeva burza. (1)

Koevolucija kralježnjaka i usvojene crijevne mikrobiote, prvenstveno bakterija, traje vrlo dugo i istraživanja je prate unatrag 150 milijuna godina, što predstavlja kontinuirani evolucijski tlak za obje strane – humani organizam i mikrobiotu. Značajno je naglasiti da u imunokompetentnog domaćina vrlo rijetko nastaju bolesti prouzročene zajednicama unutar vlastite „zdrave“ crijevne mikrobiote, naprotiv crijevna mikrobiota značajno doprinosi očuvanju metaboličke, nutritivne i imunološke homeostaze domaćina. (1)

Pri rođenju humana crijevna sluznica ima potpunu arhitekturu, zahvaljujući dugom gestacijskom razdoblju

i placentalnom prolasku sastojaka hrane (antigena) te mikroba i mikrobnih produkata koji snažno utječu na razvoj limfnog tkiva crijevne sluznice i stvaranje oskudne crijevne mikrobiote *in utero*, u kojoj prevladavaju *Proteobacteriaceae*. Nasuprot tomu, u miševa uslijed relativno kratkog gestacijskog razdoblja sluznica sazrijeva i poprima potpunu arhitekturu u postnatalnom razdoblju. (1)

Tijekom samog poroda i postnatalno, u novorođenčeta nastupa progresivna mikrobna kolonizacija crijeva, isprva majčinom urogenitalnom florom tijekom prolaza kroz porođajni kanal i kasnije laktobacilima i bifidobakterijama iz majčinog mlijeka te usvajanjem flore iz okoliša. Djetetova crijevna mikrobiota postaje stabilna u trećoj godni života. Usporedo s razvojem crijevne mikrobiote razvija se i diferencira imunološki sustav crijevne sluznice, što se očituje u sazrijevanju i jačanju epitelne barijere te staničnom sastavu i multiplim aspektima urođene i stečene imunosti.

U starijoj dobi humane jedinke imunološki status je karakteriziran niskim stupnjem (sterilne) upale kao posljedicom dugotrajne antigenske stimulacije (engl. *inflammaging*). Općenito, imunološki sustav u starosti pokazuje smanjenu funkciju (engl. *immunosenescence*), što je u starijih povezano s povećanom incidencijom infekcija, tumora i autoimunih bolesti. Imunološki sustav sluznica karakterizira slabljenje funkcije epitelne barijere, u crijevu se smanjuje broj Peyerovih ploča, izoliranih limfnih folikula i smanjeno je stvaranje IgA, prvenstveno ono ovisno o limfocitima T. S obzirom na promjene u imunološkom sustavu sluznice, motilitetu crijeva, prehrani i dugotrajnom utjecaju okoliša, u starijoj dobi dolazi do smanjene raznolikosti i stabilnosti crijevne mikrobiote koja je karakterizirana smanjenim brojem protektivnih komenzala. (6,7)

Sagledavajući evolucijski razvoj kralježnjaka i njihovu koevoluciju s vlastitom crijevnom mikrobiotom i okolišem postaje jasno važno mjesto imunološkog sustava pridruženog sluznicama u razvoju ukupnog imunološkog sustava jedinke i jačanju obrambenog sustava organizma.

KONCEPT LIMFATIČKOG TKIVA PRIDRUŽENOG SLUZNICAMA I IMUNOLOGIJA SLUZNICE CRIJEVA

Povijesni osvrt

Nekoliko tisućljeća unatrag poznato je kako bolesnici koji prežive bolest postaju otporni na istu bolest, u slučaju ponovne izloženosti uzročniku. Poznata je legenda o Mitridatu, kralju Ponta, koji je gajio strah kako će ga netko od neprijatelja otrovati i svaki je dan namjerno pio krv prethodno otrovanih gusaka, za stjecanje otpornosti na otrov. Naposljetku, kada je uočio pada Ponta zbog nadiranja rimske vojske pokušao sa-

moubojstvo ispišvi otrov, isti otrov nije djelovao. Prve intervencije su poznate još iz 9. stoljeća prije Krista kada su stari kineski liječnici običavali strugotine pustula oboljelih od velikih boginja rabiti kao inhalant s namjerom izazivanja otpornosti u zdravih. Taj običaj koji je nosio i rizik fatalnog ishoda proširio se preko Indije u Tursku, gdje su se s postupkom variolacije upoznali i Englezi (Lady Mary Wortley Montague, 1717.). Engleski veterinar Edward Jenner zabilježio je kako mljekarice koje prebole kravlje boginje postaju otporne na velike boginje (1798.) i današnji pojam vakcinacije potječe od imena virusa kravljih boginja *Vaccinia* (lat. *vacca* – krava). (8)

Istraživanja na prijelazu 19. u 20. stoljeće i tijekom prve polovice 20. stoljeća zabilježila su dokaze o prijenosu imunosti majčinim mlijekom u miševa (Paul Erlich, 1892.) i otkrivena su specifična potutijela u sekretu probavnog sustava koja ne koreliraju s titrom protutijela u serumu (Alexandre Besredka, 1919.). Studije u ranim šezdesetim godinama prošlog stoljeća pokazale su da veliki limfociti (limfoblasti) koji ulaze u krvotok iz duktusa toracikusa nastanjuju laminu propriju crijeva i ondje se diferenciraju u plazma stanice koje većinom stvaraju i luče IgA. Za razliku od perifernih limfnih čvorova i slezene, zabilježeno je da Peyero-ve ploče i mezenterijalni limfni čvorovi sadrže veći broj limfocita koji u citoplazmi imaju IgA te predstavljaju glavni izvor IgA limfocita koji nastanjuju i diferenciraju se tijekom navedenog puta i u lamini propriju crijeva. Istraživanja iz tog razdoblja donose spoznaju o specifičnoj formi – sekretornom IgA (sIgA) i Per Brandtzaeg je 1974. godine opisao mehanizam transporta IgA u vanjske sekrete, u kojem sekretorna komponenta (SC) iz epitelnih stanica čini receptor za J-lanac polimernog IgA. (9)

Kasnija istraživanja bilježe kako limfociti B koji luče druge klase imunoglobulina nakon susreta s antigenom u Peyero-vim pločama specifično nastanjuju laminu propriju crijeva i drugih sluznica i navedene druge klase imunoglobulina također mogu biti lučene u lumen. Za limfocite T također je dokazano da nakon susreta s antigenom specifično nastanjuju laminu propriju sluznice. Štoviše, pokazano je kako limfociti koji su se susreli s antigenom u nekoj sluznici kao aktivirane memorijske stanice naseljavaju i druge sluznice.

Spomenute spoznaje i brojne istraživačke rasprave o ulozi sluznica u imunologiji sisavaca, međusobna povezanost i razmjena imunoloških informacija između različitih sluznica te opći utjecaj sluznica na sistemnu imunost iznjedrile su sedamdesetih godina 20. stoljeća pojam zajedničkog limfatičkog tkiva pridruženog sluznicama (engl. *common mucosal immunological system*, Bienenstock, 1974.) koji kasnije prerasta u koncept MALT (engl. *mucosa associated lymphoid tissue*), odnosno za limfatičko tkivo pridruženo crijevnoj sluz-

nici u koncept GALT (engl. *gut-associated lymphoid tissue*). (10)

Limfatičko tkivo ili bolje rečeno imunosni sustav pridružen sluznici crijeva kao dio sveukupne crijevne barijere ima ključnu ulogu o održanju imunološke i opće homeostaze jedinke i karakteriziraju ga posebne okolnosti vanjskog i unutarnjeg okoliša. Sluznica crijeva je u neprestanom odnosu s mnoštvom nutritivnih i mikrobnih antigena koji kao dio vanjskog okoliša dolaze u lumen crijeva. S druge strane, tijekom fetalnog i dječjeg razdoblja u životu jedinke stvara se vlastita crijevna mikrobiota koja nastanjuje ekološke niše probavne cijevi i možemo je smatrati dijelom unutrašnjeg okoliša. Ponovno treba naglasiti kako se usporedno i međuovisno s razvojem crijevnog mikrobioma razvija i imunosni sustav sluznice. (11)

Crijevna barijera: od sluzi, antimikrobnih peptida i uskih veza do limfocita i stanica strome lamine proprije

Crijevna barijera predstavlja glavno sučelje između domaćina i potencijalno štetnih fizikalnih, kemijskih i mikrobnih noksi i kao takva predstavlja osnovnu obranu protiv nekontroliranog prodora antigena kroz sluznicu u dublje slojeve crijeva i potencijalno u sistem organizma. Crijevna barijera uključuje i nespecifične mehanizme kao što je integritet epitelnog sloja, očuvan vanjski i unutarnji sloj sluzi i očuvane mehanizme uskih veza između stanica koje selektivno propuštaju tvari iz lumena. Regulaciju toj barijeri osiguravaju mehanizmi urođene i stečene imunosti koji međudjeluju s genskim naslijeđem i epigenetskim potpisom jedinke, činiteljima okoliša i vlastitim mikrobiomom. Preduvjet homeostaze barijere predstavljaju očuvan „zdravi“ vlastiti crijevni mikrobiom (stanje eubioze) te očuvani „homeostatski moduli“ koji reguliraju imunobiološke procese koji se odvijaju u funkcioniranju barijere, primjerice procese autofagije, stres endoplazmatskog retikuluma, lučenje sluzi i antimikrobnih peptida, receptore prepoznavanja obrazaca (engl. *pattern recognition receptors* – PRRs) i njihov odnos s mikrobiotom, citokinske module i regulacijske limfocite T (Tregs). (12,13)

Koncept limfatičkog tkiva pridruženog sluznici crijeva u širem smislu predstavlja strukturu i funkciju urođene i stečene, humoralne i celularne imunosti pridružene sluznici u procesiranju luminalnih antigena. Taj koncept uključuje integritet sluzničke barijere koja se prostire na oko 300 m², sloj sluzi, očuvani epitelni sloj i uske veze između stanica, lučenje antimikrobnih peptida, obrasce prepoznavanja antigena, uključivši mikrobne i one nastale oštećenjem tkiva, obrasce stvaranja signala i puteve prijenosa signala, mehanizme humoralne i celularne imunosti, citokinsku mrežu i lokalni citokinski okoliš, interakciju urođenih limfoid-

nih stanica s pomagačkim, izvršnim i regulacijskim limfocitima T, interakciju s ostalim stanicama strome te metaboličku i imunološku interakciju s vlastitim mikrobiomom. (14)

Imunološki sustav crijevne sluznice odlikuje specifična struktura i organizacija iz koje priozlazi glavna imunološka funkcija pojedine populacije stanica koja određuje način njihove komunikacije i mjesto i ulogu u kompleksnom procesiranju luminalnih antigena. Tako je glavno obilježje imunološkog sustava crijeva kompartmentalizacija koja označava odvojenost pojedinih vrsta i skupina stanica koje specifično nastanjuju pojedine regije i specifična mjesta u sluznici, bez obzira na njihovu neznatnu topografsku udaljenost u sveukupnom „imunološkom pejzažu“ sluznice. Između tih, prostorno usko odijeljenih populacija stanica postoji značajna fenotipska i funkcionalna razlika. Drugo je važno obilježje imunološkog sustava sluznice specifična organizacija u kojoj iz funkcionalne perspektive razlikujemo induktivna i efektorna imunostna mjesta. U induktivna mjesta gdje se odvija uzorkovanje i predočenje antigena ubrajamo Peyerove ploče (opisao ih je švicarski anatom Johannes Conrad Peyer, 1677. godine), izolirane limfne folikule/limfne agregate u tankom crijevu i kolonu, crvuljak, cekum i mezenterijalne limfne čvorove. Efektorna imunostna mjesta obuhvaćaju intraepitelni odjeljak, odnosno intraepitelne limfocite (IEL) i rastresito tkivo lamine proprije. Sažeti opis procesiranja antigena počinje u specijaliziranim stanicama M (engl. *microfold*) koje nalazimo u sastavu epitela pridruženog folikulima (engl. *follicle-associated epithelium* – FAE) i dendritičnim stanicama (DC) koje imaju sposobnost pružanja dugačkih izdanaka između epitelnih stanica koji dosežu u lumen crijeva i koje nakon uzorkovanja antigena omogućuju njegov transport iz crijevnog lumena do induktivnih mjesta imunološke reakcije kao što su Peyerove ploče u mukozi i submukozi ileuma te do izoliranih limfnih folikula/limfnih agregata u tankom crijevu i kolonu (engl. *solitary isolated lymphoid tissue* – SILT) i dalje u mezenterijalne limfne čvorove. Prema dogovoru dvaju društava – Society for Mucosal Immunology i International Union of Immunological Societies, GALT u užem smislu predstavlja upravo ova organizirana induktivna mjesta. Prema spomenutom dogovoru drenirajući limfni čvorovi, primjerice MLN, i efektorna mjesta, primjerice rastresito tkivo lamine proprije svakako su dio integriranoga imunološkog sustava sluznice, no ne pripadaju GALT-u u užem smislu jer nemaju ulogu uzorkovanja i predočavanja antigena. (15,16)

Za razliku od Peyerovih ploča koje postoje *in utero* i u kojima se germinativni centri stvaraju neposredno nakon rođenja, organogeneza izoliranoga limfnog tkiva (SILT) počinje nakon rođenja te SILT ima važnu ulogu u indukciji sIgA i kontroli broja i raznolikosti crijevne mikrobiote, na način koji je ovisan o limfociti-

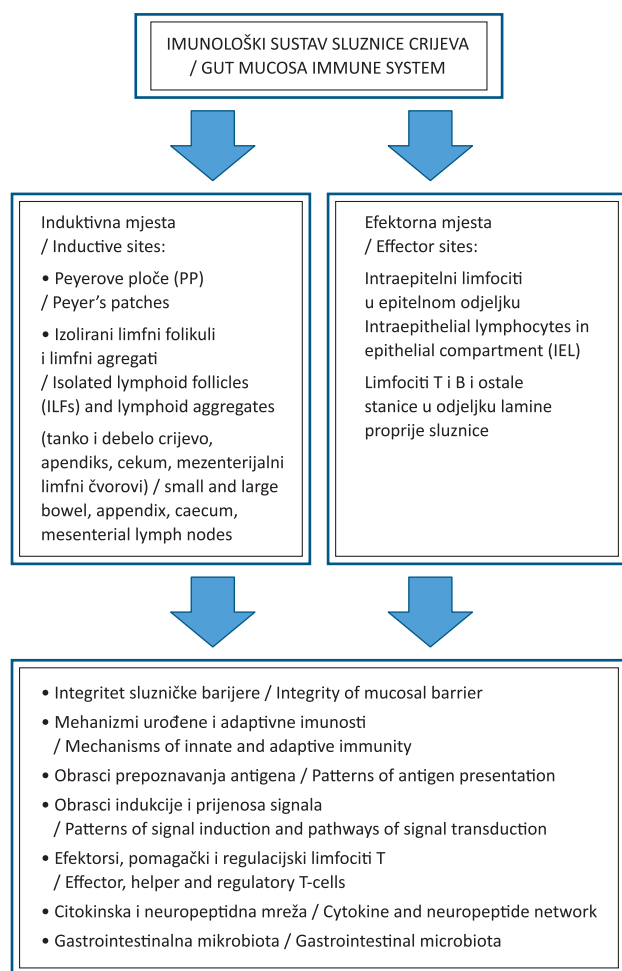
ma T. Važno je napomenuti da SILT, koje evolucijski predstavlja most između mehanizama urođene i adaptivne imunosti, ne može u potpunosti nadomjestiti funkciju Peyerovih ploča ukoliko iste nedostaju. (17)

Mezenterijalni limfni čvorovi i druga sekundarna limfatička tkiva u koje se drenira intestinalna sluznica predstavljaju mjesta gdje populacije naivnih limfocita sazrijevaju i postaju specifične za prethodno predočeni antigen te na svojoj površini počinju izražavati biljege koji im omogućuju facilitirani ulazak u sistemsku cirkulaciju i selektivno naseljavanje u laminu proprije (LPL) uz intraepitelne limfocite predstavljaju glavne efektorne stanice u imunološkoj reakciji sluznice i nalaze se u svim odsječcima probavne cijevi. LPL uključuju limfocite B i plazma stanice koje luče imunoglobuline, prvenstveno sIgA koji je specifičan za sluznice, i limfocite T koji luče citokine ili predstavljaju aktivirane memorijske stanice. (18)

Cirkulirajući limfociti T u zdrave osobe predstavljaju tek nekoliko postotaka ukupne populacije limfocita T u organizmu i većinu (oko 80%) nalazimo kao dio populacije LPL-a u crijevnoj sluznici. Gotovo svi limfociti T unutar populacije LPL-a na površini imaju receptor $\alpha\beta$ TCR i nose biljeg CD45. Dio ih nosi biljeg CD4+ karakterističan za pomagačke limfocite T koji imaju ulogu poticanja lučenja sIgA iz plazma stanica, stvarajući specifični citokinski mikrookoliš. Druga skupina limfocita T unutar LPL-a nosi biljeg CD8+ specifičan za citotoksične efektorne stanice i jedan dio njih nosi ima CD45RO+ fenotip koji je specifičan za citolizu posredovanu stanicama. Općenito, većina limfocita T unutar LPL-a izražava aktivacijske biljege i izrazito je važna regulacija njihove ekspanzije što je omogućeno djelovanjem regulacijskih limfocita T (Tregs) kako bi se spriječila prekomjerna aktivacija i proupalno djelovanje aktiviranih LPL-a. Za razliku od limfocita T u sistemnoj cirkulaciji, LPL-T su podložniji mehanizmu apoptoze i pokazuju umanjenju sposobnost aktivacije putem TCR-a. Tako lamina proprije crijevne sluznice predstavlja glavno efektorno mjesto imunosti sluznice i limfociti T i B predstavljaju nositelje te imunosti. (19,20)

IEL koji posjeduju $\alpha\beta$ TCR i $\gamma\delta$ TCR poredani su unutar jednoslojnog epitela sluznice (jedan na tri enterocita u tankom crijevu i jedan IEL na 40 enterocita u debelom crijevu) i predstavljaju „stražare i nadzornike“ koji održavaju balans između očuvanja epitelne barijere i aktivacije mehanizama imunostne protekcije te predstavljaju dio efektorne imunosti. (21)

Stanične populacije unutar rastresitog tkiva lamine proprije crijeva također uključuju monocite, makrofage, dendritične stanice, polimorfonuklearne leukocite – neutrofile, bazofile i eozinofile, endotelne stanice



SLIKA 1. Limfatičko tkivo pridruženo sluznici i imunološki sustav crijeva

FIGURE 1 Gut-associated lymphoid tissue – galt and gut immune system

krvnih žila, glatke miocite i fibroblaste. Unatoč tomu što se nalaze u efektornom odjeljku stanične imunosti dendritične stanice i glatke mišićne stanice mogu imati funkciju predočivanja antigena. Na taj način i različite stanice koje ne predstavljaju imunološke stanice u užem smislu imaju važno mjesto u imunološkoj reakciji sluznice. (22,23)

Sažeto, u sveukupnom imunološkom sustavu sluznice, poglavito u efektornom odjeljku lamine proprije crijeva dendritične stanice predstavljaju senzore i promotore koji predočuju antigen i induciraju oralnu toleranciju kroz deleciju antigen-specifičnih limfocita T, induciraju sazrijevanje T_{regs} te potiču stvaranje i lučenje sIgA; tkivni makrofagi i monociti iz cirkulacije predstavljaju prvu liniju obrane i homeostaze putem mehanizama urođene imunosti koji potiču toleranciju na vlastitu crijevnu mikrobiotu te odstranjuju apoptotični materijal iz lamine proprije; neutrofil koji imaju središnje mjesto u akutnoj crijevnoj upali; eozinofili, bazofili i mastociti sluznice kao multifunkcionalne stanice imaju ulogu u urođenoj i adaptivnoj imunosti te

alergijskoj reakciji; druge stanice intestinalne strome, uključivši i živčane niti koje predstavljaju raznolikost bez koje se ne može. (24–26) (slika 1)

U održavanju homeostaze crijevne barijere, ali i u crijevnoj upali sudjeluju i solubilni medijatori: citokini koji posjeduju kameleonski potencijal „dobrih i loših igrača“; prostaglandini i leukotrieni te solubilni medijatori stišavanja upale (engl. *specialized pro-resolving mediators* – SPM) – lipoksini, resolvini, protektini i maresini koji u suradnji s monocitima i makrofagima stvaraju mikrookoliš za rezoluciju upale. (27)

Regulacijski limfociti T: čuvari crijevne homeostaze

Tijekom prethodnih petnaestak godina fokus istraživanja u području imunologije sluznice usmjeren je prema populacijama regulacijskih limfocita T i urođenih limfoidnih stanica (engl. *innate lymphoid cells* – ILC). T_{regs} u sluznici se fenotipski razlikuju od regulacijskih limfocita T u drugim organima i predstavljaju glavne posrednike u očuvanju imunološke homeostaze sluznice, odnosno činitelje ravnoteže između proupalnih mehanizama, prvenstveno protiv patogena, i protuupalnih mehanizama koji uspostavljaju i održavaju toleranciju prema tvarima iz okoliša, prvenstveno bjelancevinama iz hrane i vlastitoj mikrobioti. (28)

Važno je istaknuti da u sluzničkim T_{regs} razlikujemo dvije subpopulacije koje imaju različito podrijetlo: tT_{regs} koji se diferenciraju i sazrijevaju u timusu i pT_{regs} koji se induciraju u ekstratimičkim tkivima periferije, iz $CD4+$ naivnih limfocita T. Sluznica crijeva predstavlja mikrookoliš naklonjen T_{regs} i u skupini $T_{regs}CD4+$ u sluznici razlikujemo $T_{regs}CD25+$ i $T_{regs}CD45RB^{low}CD4+$. Obje subpopulacije karakterizira transkripcijski faktor Foxp3 (engl. *forkhead box P3* – FoxP3) koji ne služi samo kao površinski biljeg, već određuje razvoj i funkciju T_{regs} . Izvorno je transkripcijski faktor FoxP3 opisan kao mutirani gen u fatalnoj autoimunoj, autoinflamatornoj i alergijskoj bolesti koju karakteriziraju promjene na više organa (engl. *immune dysregulation, polyendocrinopathy, and enteropathy syndrome* – IPEX). $T_{regs}FoxP3+$ posreduju i reguliraju imunološki odgovor na više staničnih razina i putem više molekularnih mehanizama. Za T_{regs} u sluznici su najvažnije funkcije stvaranje i lučenje inhibitornih citokina, primjerice IL-10 i $TGF\beta$ te ekspresija površinskih inhibitornih molekula, primjerice LAG-3 (engl. *lymphocyte activating gene-3* – LAG-3) i CTLA-4 (engl. *cytotoxic T-lymphocyte antigen 4* – CTLA-4). (29)

CTLA-4 ima važnu ulogu u regulaciji homeostaze, prvenstveno smanjujući kostimulatorne interakcije između naivnih limfocita T i dendritičnih stanica, u okviru imunološkog sustava sluznice. Bakterije crijevne mikrobiote, prvenstveno vrsta *Clostridium*, metaboliziraju dijetna vlakna i stvaraju masne kiseline krat-

kih lanaca (engl. *short-chain fatty acids* – SCFA), primjerice butirat, propionat i acetat koje aktiviraju signal putem GPRs (engl. *G-protein coupled receptors* – GPRs) koji stimulira proliferaciju i funkciju pT_{regs}. (30)

Urođene limfatične stanice: brza reakcija na neposrednu noksu

Urođene limfatične stanice ILC (engl. *innate lymphoid cells* – ILC) za sisavce su izrazito važan korak u evoluciji imunološkog sustava sluznice budući da stvaraju lokalne preduvjete za antigen-specifičnu (vremenski sporiju) reakciju u sluznici. Reakcija ILC-a na noksu u sluznici događa se unutar sat vremena i na taj način ILC predstavljaju usku poveznicu između urođene i adaptivne imunosti budući da stvaraju mikrookoliš koji potiče diferencijaciju limfocita T i adaptivnu reakciju koja puni učinak postiže tek za nekoliko dana. (31)

Najveći broj ILC-a su rezidentne stanice sluznice koje, ovisno o subpopulaciji i karakteru podražaja, mogu biti uključene u održavanje homeostaze, ali i u imunopatološka zbivanja. Razlikujemo tri vrste ILC-a: ILC1 koja funkcijski odgovara limfocitima T_h1 i za njih je specifičan transkripcijski faktor T-bet; ILC2 koji funkcijski odgovaraju limfocitima T_h2 i za njih je specifična visoka ekspresija transkripcijskog faktora Gata3; ILC3 koji funkcijski odgovaraju T_h17 limfocitima i za njih je specifičan transkripcijski faktor ROR γ t. (32)

Prema definiciji ILC na svojoj površini ne izražavaju TCR niti receptor limfocita B, ne prolaze selekciju u timusu, ne podliježu klonskoj selekciji niti klonalnoj ekspanziji i nemaju sposobnost memorije specifične za dati antigen. Opisane su subpopulacije limfocita T koje su slične ILC i u tu skupinu ubrajamo MAIT (engl. *mucosa associated invariant T-cells* – MAIT, invarijantne NKT stanice, podskupine $\gamma\delta$ limfocita T i memorijske stanice tkiva (engl. *tissue-resident memory T-cells* – T_{RM}). Kao i ILC, navedene podskupine stanica imaju sposobnost promptne reakcije na infekciju ili ozljedu sluznice. (33)

ILC1 su smještene u epitelnom odjeljku gdje uz interakciju s IEL luče IFN γ koji djeluje protiv virusa i tumora. NK stanice koje predstavljaju homolog citotoksičnih CD8+ limfocita T ubrajamo u subpopulaciju ILC1 i te stanice posjeduju učinkovita antivirusna i antitumorska svojstva. ILC1 također mogu sudjelovati u kroničnoj upali koja je karakterizirana prekomjernim lučenjem IFN γ . Lokalna imunost epitelnih površina kože, pluća i crijeva uključuje različit udio subpopulacija ILC. U koži prevladavaju ILC1 (60,5%), u plućima ILC2 (88,8%) i u crijevnoj sluznici ILC3 (64,2%). ILC3 u crijevnoj sluznici, osobito u lamini proprijii ileuma, spregnuto s djelovanjem T_h17 posreduju imunološki odgovor tipa 3 koji definira simbiotski odnos prema crijevnoj mikrobioti i sprječava njezin prodor u sluzni-

cu, ograničavajući ekološke niše mikrobiote pretežito na crijevni lumen. U infekciji patogenima ILC3 potiču stvaranje antimikrobnih peptida (engl. *anti-microbial peptides* – AMPs), no kod infekcije invazivnim mikroorganizmima prekomjerno stvaranje i lučenje IFN γ može prouzročiti oštećenje tkiva. U infekcijama prouzročenim helmintima podskupina epitelnih stanica nazvanih Tuft stanicama (engl. *Tuft cells*) pojačano stvara i luči IL-25 koji pobuđuje ILC2, što za krajnji učinak ima stimulaciju vrčastih stanica za lučenje sluzi koja stvara učinkovitu barijeru za helminte. U kontaktu s alergenom epitelne stanice luče TSLP (engl. *thymic stromal lipoprotein* – TSLP) i IL-33 koji potiču ILC2 na lučenje IL-5 i posljedičnu aktivaciju eozinofila. (34)

Važno je istaknuti ulogu podskupine stanica unutar subpopulacije ILC3 koju nazivamo LTi stanice (engl. *lymphoid tissue inducer* – LTi) u razvoju Peyerovih ploča i limfnih čvorova tijekom fetalnog razdoblja i kasnije. Zanimljiva je spoznaja kako su LTi i njima uvjetovan razvoj limfatičnog tkiva u ontogenezi specifični za sisavce i u drugih kralježnjaka tercijarna limfatička tkiva nastaju djelovanjem kronične upale. U sisavaca neposredno po rođenju LTi naseljavaju laminu proprijii crijevne sluznice i formiraju takozvane „*cryptopatches*“. Tijekom kolonizacije crijeva komenzalnim mikroorganizmima dolazi do reakcije s urođenim receptorima za mikroorganizme i njihove produkte na epitelnim stanicama koje stvaraju CCL30 koji aktivira CCR6+LTi, što za krajnji učinak ima regrutaciju limfocita B, stvaranje stotina izoliranih folikula (engl. *isolated lymphoid follicles* – ILFs) u sluznici koji predstavljaju glavni izvor crijevnih limfocita B koji luče IgA i održavaju homeostatsku simbiozu s crijevnom mikrobiotom. Također je važno napomenuti da u odrasle jedinke nastanak tercijarnoga limfnog tkiva može biti potaknut kroničnom upalom, primjerice u Crohnoj bolesti u kojoj tercijarna limfna tkiva nalazimo u submukozi i mišićnom sloju stijenke crijeva. (35)

Ukratko, ILC su uključeni u mehanizme crijevne homeostaze, no kao i CD4+ limfociti T, ILC mogu biti uključeni u patogenezu kroničnih upalnih bolesti sa značajnom autoimunomskom komponentom koje zahvaćaju više organa i organskih sustava i koje skupno zovemo imunološki posredovane bolesti (engl. *immune-mediated inflammatory diseases* – IMIDs), primjerice kronične idiopatske upalne bolesti crijeva, psorijaza, ekcem, astma, reumatoidni artritis, ankilozirajući spondilitis i brojne druge.

Recirkulacija imunoloških stanica: od predočenja antigena do limfnog čvora i lamine proprijie sluznice

Recirkulacija imunoloških stanica glavno je obilježje imunosti, poglavito imunološkog sustava sluznice. Ovdje je važno istaknuti kako u čovjeka većina ukupne

količine limfe (oko 4L) koja se drenira u sistemnu cirkulaciju potječe iz crijeva. Unatrag više desetljeća poznato je da limfociti i druge imunološke stanice kruže (recirkuliraju) iz sistemske cirkulacije u lokalna limfna tkiva i iz navedenih tkiva limfnom drenažom ponovno ulaze u sistemni krvotok. (36)

Unatrag petnaestak godina poznati su i osnovni mehanizmi i ovdje je važno naglasiti da različite imunološke stanice – DC, naivni limfociti, limfociti koji migriraju unutar limfnih čvorova i vraćaju se u krvotok, aktivirani limfociti T i B te efektorne memorijske stanice imaju različite obrasce recirkulacije i naseljavanja drenirajućih limfnih čvorova, migracije unutar limfnih čvorova, mehanizama izlaska iz limfnih čvorova te naseljavanja perifernih tkiva, ovisno o ekspresiji adhezijskih molekula i njihovih liganda. (37)

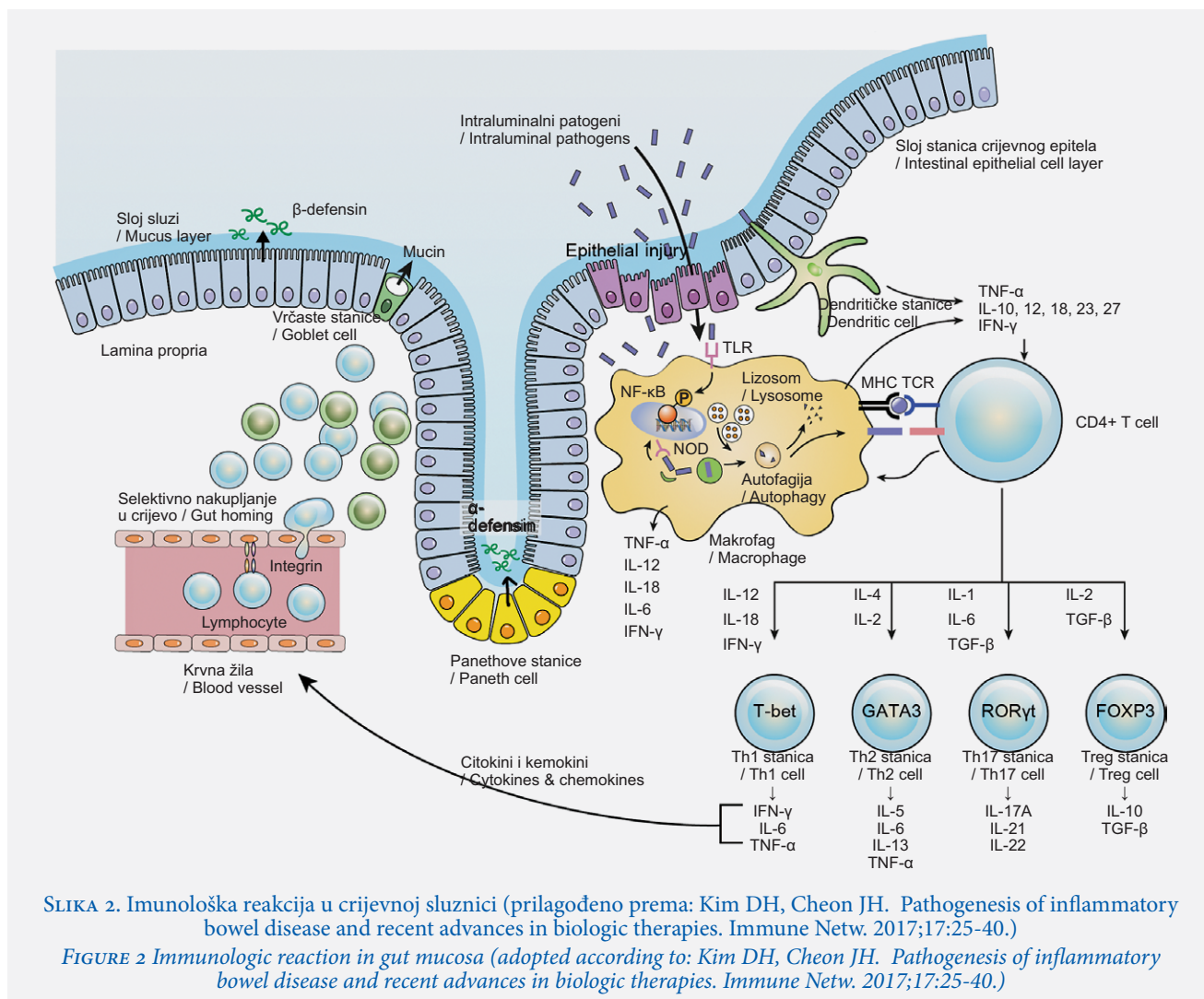
Stanične adhezijske molekule (engl. *cell adhesion molecules* – CAMs) posreduju u staničnim interakcijama i u interakciji stanica s ekstracelularnim okolišem. Unutar velike i raznolike skupine staničnih adhezijskih molekula koje su uključene u proces stanične migracije i recirkulacije razlikujemo tri osnovne kategorije/familije: selektine L, E i P; integrine i skupinu adhezijskih receptora koji su članovi superfamilije imunoglobulinskih gena. Dodatno su u proces transmigracije recirkulacije i transgresije u tkiva uključeni i kemokini, prvenstveno kemokini CC i CXC, proteini niske molekularne težine koji se vežu za svoje ligande (CCLs): CCR koji veže kemokine CC i CXCR koji vežu kemokine Cx. L-selektin se nalazi na površini imunoloških stanica i reagira s ligandom (glikanom) na površini vaskularnog endotela i obrnuto, selektini E i P se nalaze na površini vaskularnog endotela i reagiraju s glikanima na površini imunološke stanice. Znatno čvršća veza ostvaruje se interakcijom integrinskih molekula na površini imunoloških stanica koje predstavljaju heterodimere koji se sastoje od jednog α i jednog β lanca i koji reagiraju s ligandima superfamilije imunoglobulinskih gena ICAM-1 i ICAM-2 (engl. *intercellular adhesion molecules -1 and -2* – ICAM-1 i ICAM-2), VCAM-1 (engl. *vascular cell adhesion molecule-1* – VCAM-1) i MadCAM-1 (engl. *mucosal addressin adhesion molecule-1* – MadCAM-1). Potrebno je istaknuti da integrini reguliraju više staničnih funkcija, uključivši rast i diferencijaciju stanica, migraciju i apoptozu. (38)

Proces ulaska imunoloških stanica u tkiva predstavlja kaskadu događaja koja se odvija u nekoliko koraka (engl. *multistep adhesion cascade*) i predstavlja sekvencijsku interakciju selektinskih, integrinskih i kemokinskih molekula s njihovim odgovarajućim ligandima. Ulazak limfocita T iz krvotoka u limfne čvorove odvija se u nekoliko koraka: selektinima posredovano „vezivanje i kotrljanje“ (engl. *tethering and rolling*), kemokinima i integrinima posredovana aktivacija i adhezija te kemokinima posredovana (CCL21-CCR7) transendo-

telna i intranodalna migracija. Nasuprot tomu, u imunološkoj homeostazi migracija DC u drenirajuće limfne čvorove odvija se bez posredovanja integrina i u upali sluznice pojačana migracija DC je ovisna o ekspresiji CCR7. Važno je napomenuti kako je unutar MALT-a recirkulacija naivnih limfocita T ovisna o ekspresiji CAM-a na postkapilarnim venulama (engl. *high endothelial venules* – HEV) i ekspresija MadCAM-1 je specifična za MLN koji dreiniraju limfu iz sluznice crijeva i Peyerove ploče. Naseljavanje limfocita T i B u limfne čvorove sluznice i Peyerove ploče omogućeno je kemokinskom interakcijom (CCL21-CCR7) i limfociti B naseljavaju folikule Peyerovih ploča specifične za limfocite B kemokinskom interakcijom CXCL13-CXCR5. Izlazak limfocita iz limfnih čvorova reguliran je lipofosfolipidom sfingozin – 1-fosfatom koji se može vezati na pet receptora: S1P₁ – S1P₅. Nakon aktivacije limfociti na svojoj površini izražavaju biljeg CD69 koji u reakciji s S1P₁ inducira internalizaciju S1P₁, što za posljedicu ima smanjen odgovor na S1P uz posljedicu inhibicije napuštanja limfnog čvora. Nakon opsežne proliferacije u limfnom čvoru limfociti T gube biljeg CD69, što omogućuje reekspresiju S1P₁ te ponovno dobivaju sposobnost napuštanja limfnog čvora. (39)

Naivni limfociti T recirkuliraju i ulaze u sekundarne limfatičke organe, a efektorini limfociti T i limfociti B koji luče IgA selektivno naseljavaju periferna tkiva putem specifične interakcije različitih CAM-a i njihovih liganda. Za limfocite B koji luče IgA i njihovo naseljavanje u tanko crijevo je specifična interakcija CCR10 na limfocitima B i CCL28 na epitelnim stanicama crijeva. Limfociti T nakon imunološki spregnutog prepoznavanja antigena na predočujućim stanicama u kontekstu djelovanja više kostimulatornih molekula doživljavaju klonalnu ekspanziju i diferencijaciju te mijenjaju svoj migracijski potencijal posredovan ekspresijom adhezijskih molekula i kemokinskih receptora. (40)

Učinkovita migracija i naseljavanje limfocita T i B u crijevnu sluznicu tankog i debelog crijeva posredovano je interakcijom integrina $\alpha_4\beta_7$ na površini limfocita s vaskularnim adresinom MadCAM-1 na vaskularnom endotelu. Selektivno nakupljanje efektornih limfocita T u sluznici tankog crijeva omogućeno je dodatnom kemokinskom interakcijom CCL25-CCR9. Već je prije spomenuto kako naivni limfociti imaju sposobnost recirkulacije između sekundarnih limfnih tkiva, za razliku od efektornih i memorijskih limfocita koji ulaze u periferna tkiva – laminu propriju i epitel crijeva – i u većini slučajeva tamo i ostaju. Zadržavanje i preživljenje tih limfocita ovisi o uvjetima lokalnog mikrookoliša, primjerice subpopulacija CD8+ limfocita T naseljava crijevni epitel kroz interakciju integrina $\alpha_E\beta_7$ (E označava specifičnost za epitel) i ligandom E-cadherinom koji se



SLIKA 2. Imunološka reakcija u crijevnoj sluznici (prilagođeno prema: Kim DH, Cheon JH. Pathogenesis of inflammatory bowel disease and recent advances in biologic therapies. *Immune Netw.* 2017;17:25-40.)

FIGURE 2 Immunologic reaction in gut mucosa (adopted according to: Kim DH, Cheon JH. Pathogenesis of inflammatory bowel disease and recent advances in biologic therapies. *Immune Netw.* 2017;17:25-40.)

nalazi na lateralnoj i bazolateralnoj površini epitelnih stanica. Drugi su primjer subpopulacija limfocita u tkivu sluznice crijeva koja posjeduje integrin $\alpha_4\beta_1$ čiji ligand je kolagen IV bazalne membrane i subpopulacija imfocita koja izražava integrin $\alpha_4\beta_2$ čiji ligand je kolagen I. Postoje dokazi kako neke podskupine efektornih i memorijskih imfocita ipak napuštaju periferna tkiva i ulaze u drenirajuće limfne čvorove. (41)

Sposobnost recirkulacije je limfocitima T i B omogućena ekspresijom CAM-a i pojačana ekspresija CAM-a na limfocitima ovisi o metabolizmu vitamina A u DC i epitelnim stanicama crijeva te stromalnim stanicama limfnih čvorova. Vitamin A se u tim stanicama djelovanjem enzima retinalne dehidrogenaze metabolizira do retinoične kiseline (engl. *retinoic acid* – RA) i otpušta u okoliš gdje utječe na funkciju susjednih stanica. RA putem receptora na tim stanicama, uključivši i limfocite, potiče transkripciju i indukciju adhezijskih molekula i time selektivno naseljavanje limfocita u tkivo sluznice crijeva. (42) (slika 2)

Razlikujemo tri skupine memorijskih stanica: centralne memorijske stanice (engl. *central memory cells*)

koje zadržavaju biljege CCR7 i CD62L i time ostvaruju sposobnost ulaska u limfne čvorove, efektorne memorijske stanice (engl. *effector memory cells*) koje ne posjeduju navedene biljege i recirkuliraju kroz periferna tkiva i rezidentne memorijske stanice (engl. *resident memory cells*) koje ne cirkuliraju, već se zadržavaju u perifernim tkivima. (43,44)

U istraživanju i razvoju ciljane terapije za crijevnu upalu intervencija u smislu zaprječavanja selektivnog nakupljanja limfocita u tkivo sluznice već je dokazala svoje kliničko djelovanje primjenom protutijela koja blokiraju integrin $\alpha_4\beta_7$. (45)

HUMANI HOLOBIONT I PATOFIZIOLOŠKE OSOVINE IZMEĐU CRIJEVA I UDALJENIH ORGANA

Povijesni i civilizacijski osvrt

Počevši od kraja 19. stoljeća i početkom 20. stoljeća suvremena civilizacija je obilježena eksplozijom znanstvenog i tehnološkog napretka, presudnim otkrićima u području tehnologije i biomedicine, ali i onečišće-

njem okoliša i zalih vode te promjenama klimatskih uvjeta na zemlji. Aktualno vrijeme zapadnoga civilizacijskog kruga karakterizira promjena sveukupnih životnih navika i načina života te promjena proizvodnje hrane uz visok sadržaj rafiniranih namirnica, bogatih aditivima. Tijekom prethodnog perioda od pola stoljeća bilježimo strmi trend porasta kroničnih nezaraznih bolesti, degenerativnih bolesti mišićno-koštanog sustava, benignih i osobito malignih novotvorina te imunološki posredovanih (autoimunskih) bolesti. Navedena promjena trenda počinje unatrag stotinjak godina, u uvjetima reaktivno stabilnoga ljudskog genoma. Tijekom navedenog razdoblja usporedno možemo pratiti evoluciju spoznaja o svijetu mikroba, počevši od klasičnog koncepta i dihotomnog stava o zaraznim i nezaraznim bolestima (Kochovi postulati) i unatoč kategoričnosti i nedorečenosti klasičnog koncepta ostvaren je značajan napredak u liječenju zaraznih bolesti i unaprjeđenju zdravlja pučanstva. U kontekstu očuvanja zdravlja zajednice i pojedinca, suvremene spoznaje govore o relativno tipičnom sastavu crijevnih mikroba u zdravih ljudi i atipičnom sastavu crijevnih mikroba koji je povezan s kroničnim nezaraznim, imunološki posredovanim, metaboličkim i neuropsihijatrijskim bolestima i poremećajima. (46)

Velika skupina imunološki posredovanih bolesti (IMID) s trendom povećanja incidencije i prevalencije u populaciji, u koju ubrajamo upalne bolesti crijeva, reumatoidni artritis, psorijazu i psorijatični artritis te seronegativne aksijalne i periferne spondiloartropatije, povezana je sa sistemnim proupalnim okolišem, aberantnom funkcijom imunološkog sustava te crijevnom disbiozom, uz nastanak dvosmjerne povezanosti s drugim tkivima, organima i organskim sustavima. Zbog stanja kronične sisteme upale bolesnici koji boluju od IMID-a imaju povišen rizik za kardiovaskularne bolesti, metabolički sindrom, dijabetes tipa 2, masnu jetru i bolesti bubrega. Unatoč patofiziološkim specifičnostima u odnosu na zahvaćeno tkivo ili organ IMID imaju zajedničke, prije spomenute patogenetske obrasce. Štoviše, bolesnica ili bolesnik koji pati od jedne IMID ima nekoliko puta veći rizik za nastanak druge IMID. (47) U većini IMID-a, kao i u većini autoimunskih bolesti zabilježeni su gastrointestinalni simptomi, crijevna disbioza, narušena crijevna barijera uz povećanu propusnost crijevnog epitela i upala. IMID i autoimune bolesti predstavljaju teret za oboljelu osobu zbog narušene kvalitete života i mogućeg nastanka invaliditeta, kao i za društvo zbog povećanog i dugotrajnog korištenja zdravstvenih resursa, poglavito u svjetlu činjenice pomaka incidencije prema starijim dobnim skupinama, prvenstveno za RA s prevalencijom u populaciji oko 1%. (48,49)

Holobiont kao evolucijska jedinka: interakcija humanog genoma, mikrobioma i okoliša

Sluznice humanog organizma razlikuju se po svojoj fiziološkoj ulozi, sastavu i broju različitih subpopulacija imunoloških stanica i drugih stanica koje sudjeluju u imunološkoj reakciji sluznice te po uvjetima koji vladaju u određenom (mikro)okolišu. Navedene razlike uvjetuju i razlike u sastavu i raznolikosti mikroorganizama koji nastanjuju ekološke niše pojedine sluznice. U rezultatima dosadašnjih istraživanja najbolje je karakterizirana mikrobna populacija crijevne sluznice i u razmatranju njezine uloge u zdravlju i bolesti potrebno je izložiti više pojmova i definicija. Mikrobiotu sluznice crijeva čine svi mikroorganizmi koji žive u ekološkim nišama crijeva, kao što su bakterije, arhea, virusi, gljive i ostali mikroeuکاریoti, uključivši i protozoe. Mikrobiom predstavlja ukupni genom mikrobiote i pojam metagenom označava sve zajednice gena mikroorganizama, identificiranih metodama molekularne biologije. Metagenom zapravo predstavlja združeni genom svih dominantnih mikroba u ljudskom probavnom sustavu. (50)

Metode neovisne o kultivaciji i koje se oslanjaju na ukupnu mikrobnu DNA (engl. *shotgun metagenomics*) govore o 23.000 gena u humanom organizmu prema 600.000 mikrobnih gena, odnosno humani organizam pridonosi s 4% ukupnom hologenomu simbionta. (51) Većinu sastava i broja bakterija u mikrobioti humanog crijeva čine četiri osnovna bakterijska koljena (engl. *phyla*) – *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Actinobacteria* i *Proteobacteria*, uz napomenu kako *Bacteroidetes* i *Firmicutes* čine preko 95% crijevnog bakterioma. Udio tih bakterijskih koljena varira u različitim segmentima probavne cijevi. (52)

Na taj način, humani organizam se nalazi u simbiozi koja kroz mutualistički odnos sa svojom mikrobiotom predstavlja superorganizam, odnosno živi sustav najvišeg stupnja složenosti koji se sastoji od više organizama i sposoban je za autonomni metabolizam i reprodukciju. (53) Superorganizam zajedničkim potencijalom i snagama osigurava odgovarajući metabolizam nutrijenata, degradaciju ksenobiotika, zaštitu od patogena i regulaciju crijevne barijere sa zadaćom optimalnog zdravlja i održavanja homeostaze. (54)

Opisani superorganizam predstavlja združeni sustav humanog domaćina i vlastite mikrobiote koji se međusobno oblikuju hologenom, odnosno sveukupne gene domaćina i mikroba, te tako stvoreni holobiont predstavlja evolucijsku jedinku čija se mikrobiota nalazi pod utjecajem vertikalnog prijenosa (od strane roditelja) i pod utjecajem horizontalnog prijenosa (iz okoliša ili od strane pripadnika jedinki iste ili druge vrste), kao slijed evolucijske selekcije. Ovdje je važno naglasiti kako tijekom fetalnog razdoblja majčina mikrobiota i metaboliti mogu prolaziti kroz placentalu i amnion-

sku barijeru te također dolazi do vertikalnog prijenosa već nastalih majčinih epigenetskih modifikacija u fetus. (55)

U razmatranju sastava i raznolikosti crijevne mikrobiote neophodno je uzeti u obzir nekoliko dimenzija. Longitudinalna osovina govori kako se segmenti probavne cijevi razlikuju u odnosu na specifične fiziološke, kemijske, nutritivne i imunološke okolnosti i osobitosti svakog segmenta oblikuju mikrobne ekološke zajednice, specifične za pojedini segment crijeva. Transverzalna osovina razlikuje nekoliko mikrobni zajednica: mikrobe u lumenu crijeva, mikrobe u unutarnjem sloju sluzi, mikrobe vezane uz sluznicu i mikrobe koje se nalaze unutar epitelnih kripti. (56) Luminalna mikrobiota ima pretežito metaboličku funkciju i novija istraživanja su dokumentirala postojanje osnovne mikrobiote, specifične za epitelnu kriptu (engl. *crypt-specific core microbiota* – CSCM) u kojoj prevladavaju firmikutne bakterije i proteobakterije. (57) U odnosu na zdravu populaciju, u bolesnika s upalnom bolesti crijeva i kolorektalnim karcinomom zabilježen je povećani broj bakterija koje invadiraju ili prijanjaju uz sluznicu crijeva. (58) Bakterije koje prijanjaju uz sluznicu također imaju važnu ulogu u sazrijevanju imunološkog sustava sluznice te u protekciji crijevne barijere, primjerice segmentirane filamentozne bakterije (SFB) koje stimuliraju urođenu i adaptivnu imunost sluznice, potičući Th17 obrazac reakcije i lučenje IgA i *Bacteroides fragilis* koji eksprimira polisaharid A (PSA) i time uz djelovanje DC-a stvara imunomodulacijski učinak. (59)

Interakcija crijevne mikrobiote i imunološkog sustava crijeva odvija se na više razina. Kompartimentalizacija crijevne mikrobiote odnosno ekskluzija u lumen i površnu sluznicu crijeva odvija se održavanjem imunološke tolerancije na mnoštvo komenzalnih mikrobnih antigena uz istovremenu mogućnost brze imunološke reakcije na patogene i ostale nokse. Kompartimentalizaciju mikrobiote omogućuje unutarnji sloj sluzi, bogat antimikrobnim peptidima (AMPs) koje luče Panethove stanice i bogat lučenim sIgA. S druge strane, mikrobni signali putem metabolita indola djelovanjem na uske veze i proteine citoskeletona učvršćuju crijevnju barijeru. (60) Mikrobiota također ima ligande za PRR i poglavito putem TLR-a, najizraženije u interakciji s TLR5 (engl. *toll-like receptors*) te NOD1 i NOD2 (engl. *NOD – nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 1 and 2*) čija interakcija s ligandima mikrobiote za razliku od interakcije s patogenima stvara tolerantan okoliš za mikrobiotu, regulira njezin sastav i raznolikost te na taj način učvršćuje crijevnju barijeru. MyD88 (engl. *myeloid differentiation factor 88 – MyD88*) kao glavni adaptor signalnog puta za TLR i inflamosomi, poglavito NLRP6 koji aktivira upalne kaspaze s krajnjim ishodom litičke smrti stani-

ce odnosno piroptoze, također sudjeluju u oblikovanju crijevne mikrobiote. (61) Tijekom razdoblja od 24 sata, nekoliko grama sIgA biva izlučeno u humano crijevo i važno je napomenuti da se lučenje IgA odvija putem mehanizama ovisnih i neovisnih o limfocitima T, gdje mehanizam ovisan o limfocitima T više utječe na oblikovanje crijevne mikrobiote. Opisana je regulacijska petlja koja uključuje Foxp3+ regulacijske limfocite T, homeostatsko lučenje diverzificiranog i selekcioniranog IgA repertoara i održavanja raznolikog i bogatog sastava mikrobiote koja obilato stvara SCFA koje podržavaju integritet crijevne barijere. (62) Subpopulacija Th17 limfocita ima dvojaku ulogu; ukoliko se njihovo sazrijevanje odvija pod utjecajem SFB-a ta podskupina sudjeluje u održavanju simbioze i crijevne homeostaze, a u slučaju kada je sazrijevanje pod utjecajem bakterije *Citrobacter*, ta podskupina ima sposobnost lučenja proupalnih citokina. (63) U regulaciji simbiotskog odnosa između humanog organizma i mikrobiote i održavanju homeostaze crijevne barijere osim epitela i već spomenutih mehanizama sudjeluju i mnoge druge stanice i signalni putovi, primjerice stanice koje predodaju antigen, uključivši i dendritične stanice lamine proprije, aktivirani CD8+ limfociti T, sekundarne žučne kiseline koje reguliraju homeostazu ROR γ + regulacijskih limfocita T, invarijantne NK stanice (engl. *invariant natural killer T cells* – iNKT) i Wnt signalni put koji djelujući na matične stanice kontrolira i regulira proliferaciju i restituciju epitela. (64)

U obzir treba uzeti i različit sastav mikrobiote, ovisno o cirkadijanom ritmu, ovisno o dobi jedinke te transverzalnom gradijentu kisika. (65)

Dva velika istraživačka projekta u vezi s katalogizacijom metagenoma probavnog sustava, *MetaHIT* u Europi i *Human Microbiome Project* (HMP) u SAD dali su snažan zamah razvoju metoda metagenomike i iznjedrili rezultat kako u probavnom sustavu postoji relativno mali broj osnovnih i najučestalijih mikroorganizama (engl. *the core microbiome*) koji bi mogao biti klinički relevantan i povezan s bolestima. (66) Mikrobiota humanog crijeva pokazuje obrasce tri enterotipa: *Prevotella*, *Bacteroides* i *Ruminococcus*, uz napomenu da enterotipovi nisu u potpunosti ekološki stabilni budući da njihova fleksibilnost i plasticitet omogućuju uz dugotrajniju promjenu prehrane i/ili antibiotsku terapiju prelazak iz jednog enterotipa mikrobioma u drugi. Istraživanja su pokazala kako je enterotip *Bacteroides* povezan sa zapadnjačkim načinom prehrane, bogatim animalnim proteinima i mastima, a enterotip *Prevotella* je povezan s prehranom koja je bogata vlaknima (složenim ugljikohidratima), podrijetlom iz voća i povrća. (67) Slijedeća važna spoznaja jest kako postoji interindividualni raspon broja mikrobnih gena (manje od 200.000 – više od 800.00) i manji broj gena (engl. *gene richness*) se učestalije susreće u enterotipu *Bacte-*

roides, za razliku od enterotipa *Prevotella* i *Ruminococcus* kod kojih je dokumentiran značajno veći broj mikrobnih gena. Manje bogatstvo, odnosno broj i raznolikost gena unutar dominantnog metagenoma, posebice u enterotipu *Bacteroides*, povezano je s fenotipom kroničnih bolesti, relativnom otpornošću postojeće mikrobiote na promjenu, kroničnom upalom niskog stupnja i sklonošću za metaboličke bolesti, osobito u pretilih koji slabo reagiraju na kalorijsko ograničenje. (68)

Prema rezultatima istraživanja i raspravama objavljenim u znanstvenim publikacijama moguće je navedene negativne promjene u bogatstvu i raznolikosti metagenoma crijevne mikrobiote i s tim promjenama povezane kronične, nazarazne, metaboličke i imunološki posredovane bolesti tumačiti u svjetlu promjena koje karakteriziraju suvremeni način života i društvene okolnosti. Tijekom prethodnih pedesetak godina u suvremenom svijetu, poglavito zapadnoga civilizacijskog kruga bilježimo porast broja poroda carskim rezom, što osiromašuje vertikalnu transmisiju mikrobiote od majke na dijete; kontinuirani porast upotrebe antibiotika u perinatalnom razdoblju i u ostalim dobnim skupinama; pomak ka zapadnjačkom načinu prehrane, u kojemu mliječni proizvodi, žitarice, rafinirani šećeri, rafinirana biljna ulja i alkohol čine oko 70% dnevnog unosa energije, i također bilježimo značajno smanjenu fizičku aktivnost, prvenstveno u djece i mlađih dobnih skupina. (69)

Mikrobiota u mutualističkom odnosu doprinosi trofičkoj funkciji, metabolizmu, očuvanju crijevne barijere, imunološkoj stimulaciji i signalizaciji prema gotovo svim organima i organskim sustavima u humanom domaćinu. Održavanje ove homeostaze i simbioze presudno je za zdravlje i održanu „zdravu“ mikrobiotu nazivamo stanjem eubioze. Nasuprot tomu, dugotrajno alterirani sastav mikrobiote koji nazivamo disbiozom dovodi do povećane sklonosti domaćina za infekciju, sepsu, kronične nezarazne, metaboličke i imunološki posredovane (autoimunosne) bolesti crijeva i udaljenih organa. Stanje disbioze može dovesti do ekspanzije patogenih i patobiontskih crijevnih bakterija, inducira imunološki sustav na prekomjerni proupalni odgovor i smanjuje stvaranje homeostatskih mikrobnih produkata, primjerice masnih kiselina kratkih lanaca (SCFA). (70) Crijevna disbioza je povezana s neselektivno propusnom crijevnom barijerom, upalom čiji intenzitet može biti od niskog stupnja do jasnih morfoloških i kliničkih znakova upale i oksidativnim stresom, što dodatno pogoršava stupanj crijevne disbioze.

Skupina istraživača je predložila koncept presudne tranzicije mikrobiote iz stanja eubioze/simbioze u stanje disbioze. Prema navedenom konceptu, ako i dođe do pomicanja u ekosistemu unutar ekološke robusno-

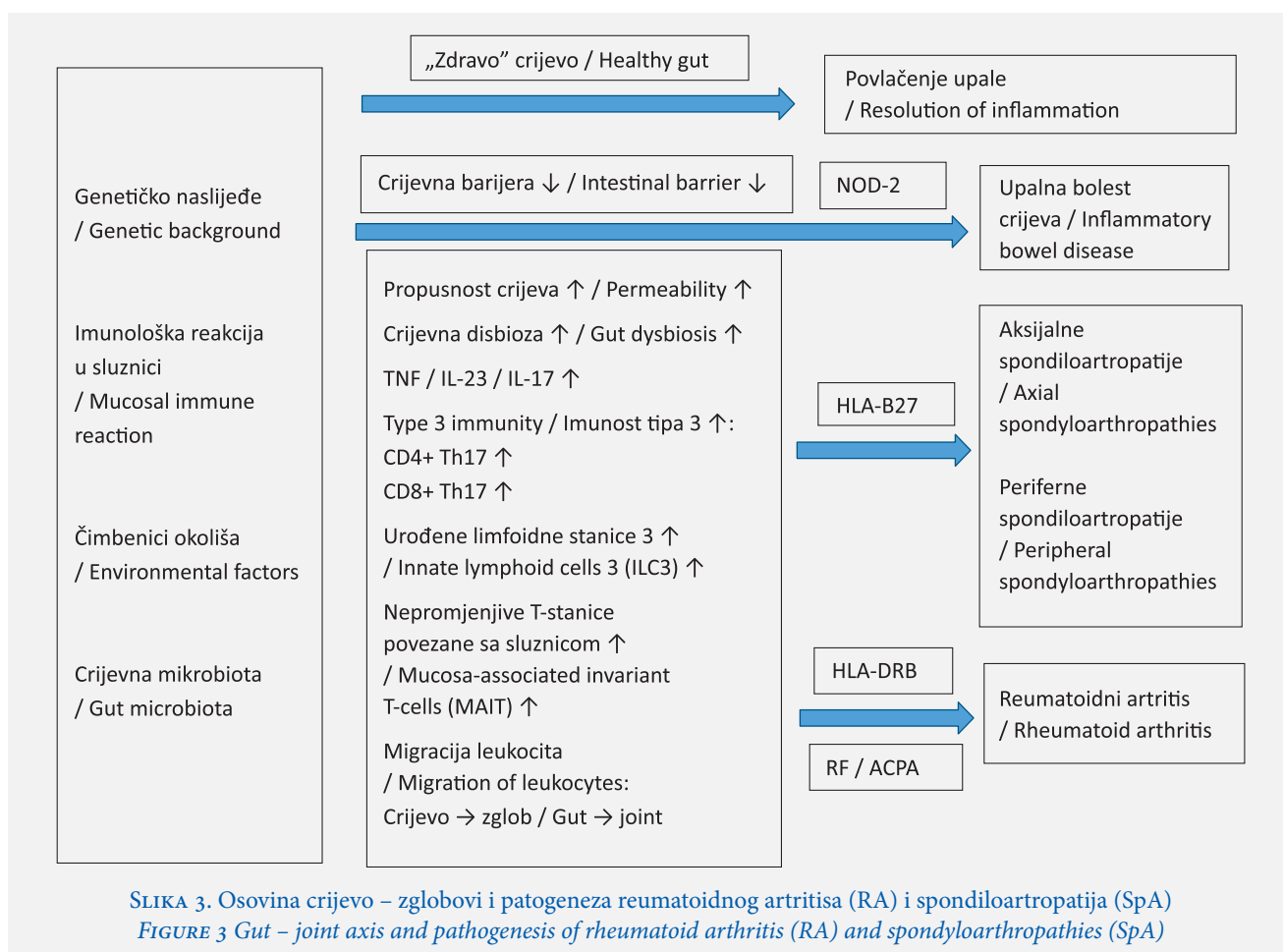
sti, ekološka otpornost (reziliencija) ekosistema crijevne mikrobiote ponovno će uspostaviti eubiozu/simbiozu odnosno crijevnu homeostazu. Opsežniji stres i dugotrajnija noksa mogu dovesti do promjene iza prijelomne točke kada ekosistem uspostavlja ekvilibrij koji je tipičan za stanje bolesti i taj patološki ekvilibrij zaostaje i nakon prestanka djelovanja stresa, odnosno nokse. (71,72) Prema navedenom konceptu, povratak u stanje eubioze zahtjeva pojačane napore te dugotrajno i potpuno uklanjanje stresa. Nasuprot tomu, zdravu mikrobnu zajednicu crijevne mikrobiote karakterizira visoka taksonomska raznolikost, veliko bogatstvo (engl. *richness*) gena i stabilna osnovna mikrobiota (engl. *core microbiota*) koja pokazuje izrazitu rezistenciju na kolonizaciju crijeva patogenim i invazivnim mikroorganizmima.

Osovine između crijeva i udaljenih organa: od crijevne do zglobne upale

Rezultati brojnih istraživanja, rasprave na stručnim i znanstvenim panelima te konsenzus konferencije zabilježile su etiopatogenetsku povezanost između crijevne i zglobne upale, tvrdeći kako se u patogenetskom kolopletu isprepliću činitelji naslijeđa, promijenjena imunološka reakcija te činitelji okoliša, onoga vanjskog i unutarnjeg pod kojim razumijevamo crijevnju mikrobiotu. (73)

Crijevo je napučeno nadaleko najvećim brojem urođenih i adaptivnih imunoloških stanica i time predstavlja najveći imunološki organ u tijelu. Tkiva crijeva također nastanjuje velik broj stanica drugih razvojnih linija koje imaju svoju specifičnu ulogu u imunološkoj i upalnoj reakciji te mikrobiota crijeva predstavlja ogroman broj antigena i aktivnih gena koji se nalazi u lumenu i na površini sluznice, čineći unutrašnji okoliš crijeva domaćina – holobionta. Polazeći od navedenih činjenica možemo prihvatiti kako crijevo u narušenoj homeostazi posjeduje ogroman potencijal za poticanje sistemnoga proupalnog stanja i širenje upale u udaljena tkiva, organe i organske sustave. (74)

Kada govorimo o crijevnoj upali, odnosno kliničkim entitetima Crohnove bolesti, ulceroznog kolitisa i celiakije, u čijem nastanku i biološkom tijeku možemo zabilježiti slične, ali i različite patogenetske obrasce, poznato je da se u određenog broja bolesnika mogu pojaviti ekstraintestinalne manifestacije (EIM) bolesti. U EIM koje su povezane s multifokalnom upalom ubrajamo upalne promjene oka i kože, uha, sluznice usta i nosa te muskuloskeletne upalne promjene, prvenstveno spondiloartropatiju. (75) Imunološki mehanizmi koji stoje u podlozi EIM nisu do kraja razjašnjeni i postoje dvije teorije koje povezuju upalu crijeva s upalom izvan crijeva. Prva teorija govori o ekstenziji antigen-specifičnog imunološkog odgovora u ekstraintestinalna tkiva i organe te uključuje ektoičnu (u



SLIKA 3. Osovina crijevo – zglobovi i patogeneza reumatoidnog artritisa (RA) i spondiloartropatija (SpA)
 FIGURE 3 Gut – joint axis and pathogenesis of rheumatoid arthritis (RA) and spondyloarthropathies (SpA)

ekstraintestinalnim tkivima) ekspresiju kemokina specifičnih za crijevo i adhezijskih molekula, migraciju limfocita T u ekstraintestinalna tkiva putem nespecifičnih adhezijskih molekula, križnu reaktivnost translociranih mikrobnih antigena te cirkulirajuća protutijela i imune komplekse. (76) Zabilježeno je kako se leukociti u upalnim bolestima crijeva mogu vezati na sinovijsku membranu putem repertoara adhezijskih molekula; limfociti T iz crijeva bolesnika s upalnim bolestima crijeva putem kemokinskih receptora mogu naseljavati druga tkiva; ozljeda, mehanički stres ili upala niskog intenziteta u patogenezi spondiloartropatija mogu potaknuti migraciju efektornih stanica crijeva u tkiva zglobova; autoantitijela protiv bjelančevina kolona mogu križno reagirati s antigenima ekstraintestinalnih tkiva i organa, primjerice zglobova. (77) Druga teorija promatra EIM kao nezavisna upalna zbivanja koja imaju neke činitelje rizika koji su zajednički s upalnim bolestima crijeva, primjerice genetičke i one vezane uz utjecaj okoliša. Sistemni učinci crijevne upale i disbioze mogu se očitovati u povećanoj koncentraciji proupalnih citokina u cirkulaciji, primjerice TNF α , IFN γ , IL-6 i bakterijskog lipopolisaharida (LPS), što dovodi do povišenog „upalnog tonusa“ te uz

povećanu permeabilnost crijevne barijere i povećanu ekspresiju ekstravazacijskih liganda na vaskularnom endotelu i cirkulirajuće neutrofile koji pokazuju aktivacijski fenotip može doći do snižavanja praga za imunološku aktivaciju u tkivima izvan crijeva. (75) Dugo je poznata veza između crijevnih infekcija i reaktivnog artritisa. Infekcije prouzročene crijevnim patogenima *Salmonella*, *Campylobacter*, *Yersinia* i *Shigella* u određenog broja oboljelih mogu biti praćene pojavom artritisa i ukazuju na vezu između crijevne mikrobiote i ekstraintestinalne upale. U spondiloartropatija je zabilježena smanjena raznolikost mikrobiote uz povećan broj *Ruminococcus gnavus* i pozitivnu korelaciju s aktivnosti bolesti. (78)

Ne ulazeći u detaljniju raščlambu seropozitivnih i seronegativnih artropatija niti u kriterije za dijagnozu, diferencijalnu dijagnozu i aktivnost aksijalnih, perifernih, kombinacije perifernih i aksijalnih artropatija te enteropatskih artropatija (povezanih s upalnom bolesti crijeva, celijakijom, Whippleovom bolesti i crijevnom premosnicom), opravdano je ustvrditi kako za sve skupine navedenih reumatoloških bolesti postoji, kako za koji entitet, više ili manje dokaza o povezanosti s crijevnom upalom, odnosno patološkom imunološkom

reakcijom i crijevnom disbiozom. Za sada ne postoji dovoljno dokaza da bi ta povezanost imala kauzalni karakter. (slika 3)

Reumatoidni artritis

Reumatoidni artritis (RA) je autoimunosna bolest, karakterizirana destrukcijom zglobova, sinovitisom i stvaranjem agresivnog panusa. U patogenezi RA crijevna mikrobiota predstavlja važnog činitelja, no za tu povezanost ima manje znanstvenih dokaza nego za povezanost crijevne disbioze i seronegativnih spondiloartropatija, posebice aksijalnog spondiloartritisa. (79) Rezultati znanstvenih istraživanja bilježe razliku u sastavu i raznolikosti crijevne mikrobiote između bolesnika s RA i zdravih ispitanika i osobito je zanimljiva spoznaja da promjene u crijevnoj mikrobioti prethode kliničkoj pojavnosti RA, ukazujući na crijevu disbiozu kao na prikriveni okidač za nastanak sistemske upale. Crijevna disbioza u bolesnika s RA karakterizirana je deplecijom protuupalnih bakterija (primjerice *Faecalibacterium*) koji stvaraju SCFA, prvenstveno butirata, i povećanjem broja proupalnih bakterija (primjerice *Streptococcus*) te promjena raznolikosti i sastava crijevnog mikrobioma može doprinosti patogenezi RA na više načina, primjerice promjenom funkcije crijevne barijere kroz smanjenu ekspresiju proteina uskih veza (okludini i kladini) i zabilježeno povećanje biomarkera crijevne propusnosti u krvi (zonulin, protein koji veže lipopolisaharis, serumski CD14); molekularnom mimikrijom, odnosno križnom reaktivnošću na bakterijske antigene i vlastite antigene (primjerice kolagen tipa 2); narušavanjem ravnoteže između Th17 i regulacijskih limfocita T; promjenom ravnoteže subpopulacija folikularnih pomagačkih (Tfh) i folikularnih regulacijskih (Tfr) limfocita T u germinativnim centrima koji sudjeluju u aktivaciji i diferencijaciji limfocita B i nastanku plazma stanica; promjenom smjera metabolizma triptofana od indola koji sudjeluje u očuvanju crijevne barijere prema kinureninu i ksanturenskoj kiselini čije su koncentracije povišene u RA i promjenom redoks statusa mikrookoliša uz zamjenu obligatnih anaeroba u kolonu fakultativnim anaerobima, odnosno stvaranjem okoliša pogodnog za nastanak takvog tipa disbioze u kolonu koji je povezan s upalom. (80)

Istraživanja na široko korištenom eksperimentalnom modelu artritisa (engl. *collagen induced arthritis* – CIA), kao i istraživanja na eksperimentalnim modelima u kojima miševi spontano razvijaju RA (SKG miševi s kolitis-posredovanim limfocitima T, K/BxN miševi transgenični za receptor limfocita T, „knockout“ miševi za antagonist receptora iL-1 – iL-1rn-/-) pokazuju kako kolitis u tih miševa ne nastaje ako u potpunosti nedostaju crijevne bakterije (engl. *germ-free conditions* – GF). (81) Za razliku od GF uvjeta, monokolonizacija pojedinim bakterijama, primjerice *Prevotella copri* ili *Lactobacillus bifidus* ili kolonizacija mikro-

biotom bez patogena (engl. *pathogen-free*) dovodi do razvoja artritisa. U miševa s CIA koji su tretirani antibiotikom ne nastaje artritis ili su upalne promjene slabije izražene, dok u SKG miševa sa spontanom nastankom artritisa kolonizacija mikrobiotom bolesnika s RA (u kojoj prevladava *Prevotella* spp) čini ih još sklonijima nastanku artritisa. (82)

Istraživanja pokazuju kako u mikrobioti bolesnika s RA dominiraju *Prevotella copri*, *Lactobacillus salivarius* i *Collinsella*, a periodontogeni patogeni *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* i *Porphyromonas gingivalis* povezani su sa povišenim titrom protutijela na citrulirane proteine i također su uključeni u patogenezu RA. (83)

Seronegativne spondiloartropatije

Pojam seronegativnih artropatija (SpA) predstavlja kišobran pod kojim se okuplja skupina entiteta karakterizirana činjenicom kako se u krvi oboljelih, za razliku od bolesnika s RA, ne nalazi reumatoidni faktor. U toj skupini entiteta možemo razabrati aksijalni spondiloartritis, idiopatski ankilozirajući spondilitis (AS), periferne spondiloartropatije i njihovu kombinaciju. Treba naglasiti da pojava aksijalnog spondiloartritisa obično prethodi crijevnoj upali i aktivnost aksijalnog spA ne prati isti intenzitet crijevne upale. U reaktivnom artritisu kojemu prethodi definirana gastrointestinalna (*Yersinia enterocolitica*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Campylobacter jejuni*), urinarna ili okularna infekcija i u spA udruženoj s upalnom bolesti crijeva infekcija i/ili crijevna bolest prethodi nastanku obično periferne spA. (84)

Udruženost humanoga leukocitnog antigena (HLA) klase I, konkretno HLA-B27 i ankilozirajućeg spondilitisa poznata je od sedamdesetih godina godina 20. stoljeća i predstavlja jednu od najjačih etiopatogenetskih udruženosti budući da HLA-B27 nalazimo u 80 – 90% bolesnika s AS-om i osoba koja je nositelj HLA-B27 ima 87 puta veći relativni rizik za razvoj AS-a. (85) Etiopatogenetski mehanizmi kojima HLA-B27 utječe na razvoj AS-a nisu do kraja razjašnjeni i hipoteze uključuju molekularnu mimikriju i križnu reakciju na peptide infektivnog uzročnika i HLA-B27 zbog sličnosti epitopa; hipotezu pogrešno smotanih proteina u endoplazmatskom retikulumu, uključivši i nesmotani protein HLA-B27 koji je uzrokom ERUPR-a (engl. *endoplasmic reticulum unfolded protein response* – ERUPR) što uz pojačano stvaranje i otpuštanje IL-23 za posljedicu ima jačanje proupalne reakcije Th17, odnosno imunosti tipa 3 u kojoj su mobilizirani i upalni makrofagi, neutrofil i eozinofili; i hipotezu kako HLA-B27 predstavlja marker za lokus još neidentificiranog gena koji se nalazi u blizini i koji je vezan za imunološku reakciju i upalni odgovor. (86)

Prije tridesetak godina ukazala se potreba za eksperimentalnim modelom koji bi bio pogodan za istraži-

vanje upalnih bolesti, udruženih s HLA-B27. Primjenom rekombinantne DNA tehnologije stvoreni su transgenični štakori u koje su unešeni geni za humani HLA-B27 i β 2 mikroglobulin i u nekih linija transgeničnih štakora, primjerice u liniji 21-4H spontano je nastajala multiorganska bolest, uključivši kolitis i promjene koje su nalik humanoj spondiloartropatiji. (87) Zanimljiva je činjenica da u istom transgeničnom modelu u miševa nisu zabilježene prije opisane promjene kao niti u štakora transgeničnih za kombinaciju β 2 mikroglobulina i drugih molekula MHC klase I (HLA-A2 ili HLA-B7). Štoviše, u HLA-B27/ β 2 mikroglobulin transgeničnih štakora nisu zabilježene upalne promjene crijeva i zglobova ako su štakori bili bez mikrobiote (GF). Tako je navedeni model omogućio istraživanje složene interakcije između crijevne mikrobiote, imunološkog sustava i gena koji organizam čine osjetljivim na bolest. (88) U svjetlu nastanka multiorganske bolesti u opisanom transgeničnom modelu potrebno je sagledati i činjenicu kako HLA-B27 potiče disbiozu u zdravih ispitanika, osobito u ileumu. (89)

Istraživanja govore o incidenciji upalne bolesti crijeva u bolesnika sa SpA, u rasponu od 5 – 10%, u AS-u je incidencija ovisna o trajanju bolesti i veća je u bolesti dužeg trajanja. Morfološka istraživanja primjenom endoskopije i histologije zabilježila su incidenciju kliničke upalne bolesti crijeva u bolesnika sa SpA od 10% i iznenađujući je podatak o supkliničkoj, histološki zabilježenoj crijevnoj upali u 50% bolesnika sa SpA, uz napomenu da je u oko polovine bolesnika upalom bio zahvaćen ileum i kolon, u četvrtine samo ileum i u preostale četvrtine samo kolon. Štoviše, crijevna upala u kojoj su histološki prevladavali neutrofilni bila je pretežito povezana s perifernim SpA, a crijevna upala histološki karakterizirana miješanim mononuklearnim infiltratom bila je povezana s aksijalnim SpA. (90)

Genetička istraživanja primjenom GWAS-a (engl. *genome-wide association study*) koja se koriste za identifikaciju genomičkih varijanti koje su statistički povezane s rizikom za nastanak bolesti bilježe 120 lokusa (regija) povezanih s AS-om koji objašnjavaju 28% nasljednosti i navedena istraživanja su potvrdila povezanost AS-a i HLA-B27, no i ukazala na druga „čvorišta“ rizičnih činitelja, povezanih s funkcijom promatranih gena. Istraživanja metodom GWAS u Crohnovoj bolesti zabilježila su 200 lokusa i u ulceroznom kolitisu 180 lokusa koji objašnjavaju 11%, odnosno 7,5% naslijeđa u tim bolestima. (91) U vezi s navedenim rezultatima valja pretpostaviti da u patogenezi crijevne i zglobne upale postoji „nedostajuće naslijeđe“ koje će, zajedno s epigenetskim potpisima i potragom za patofiziološkim čvorovima u trijasi genetike, imunološke reakcije i djelovanja vanjskog i unutrašnjeg okoliša (mikrobioma) biti predmet budućih istraživanja u tim bolestima.

ZAKLJUČAK I POGLED U BUDUĆNOST; VELIKA KOLIČINA PODATAKA I UMJETNA INTELIGENCIJA

Klinička povezanost između crijevne i zglobne upale objektivno je zabilježena u literaturi tijekom tridesetih godina 20. stoljeća. (92) Reumatoidni artritis, aksijalne i periferne spondiloartropatije pripadaju skupini imunološki posredovanih upalnih bolesti te zbog svoga kroničnog karaktera i zbog ograničenja životnih aktivnosti bitno umanjuju kvallitetu života i radnu sposobnost oboljelih. Zbog trenda porasta incidencije i značajne prevalencije u pučanstvu također predstavljaju značajan javnozdravstveni problem koji utječe na pojačanu alokaciju zdravstvenih resursa za te bolesti.

Tijekom prethodnih desetljeća klinička i bazična istraživanja, uključivši i istraživanja na eksperimentalnim modelima koji povezuju crijevu i zglobnu upalu potvrdila su jasnu povezanost, ukazavši na topive posrednike, prvenstveno citokine i metabolite, imunološku reakciju tipa 3 (Th17), recirkulaciju antigen-specifičnih limfocita T uz pojačanu ekspresiju adhezijskih molekula na zglobnim tkivima te crijevu disbiozu kao na važne činitelje koji se bilježe u patofiziološkoj osovini između crijeva i zglobova. Prema rezultatima spomenutih istraživanja, opisana i dokumentirana povezanost nema jasan uzročni karakter, poglavito ne u svim entitetima koji su definirani zglobnom upalom. S druge strane, u našoj svakidašnjici svjedočimo kako raspoloživa terapija, uključivši i anticitokinsku terapijsku strategiju ne polučuje očekivani dogovor u svih bolesnika.

Već u sadašnjosti i svakako u bliskoj budućnosti možemo očekivati da će velike količine podataka (engl. *big data*) dobivene multiomičkim istraživanjima i nadopunjene kliničkim podacima i podacima slikovnih metoda, odnosno radiomike (engl. *radiomics*) te obrađene primjenom umjetne inteligencije (engl. *artificial intelligence* – AI) pružiti bolji uvid u moguće etiopatogenetske povezanosti nego što to sada pružaju rezultati dobiveni standardnim statističkim metodama. Rezultati dobiveni primjenom umjetne inteligencije u obradi velikih količina podataka mogli bi izdvojiti fenotipski različite skupine bolesnika s RA i SpA, uz dijagnostičke i terapijske implikacije, prvenstveno u svjetlu pretpostavke da gensko naslijeđe, imunološka reakcija i crijevna disbioza na različit način doprinose nastanku bolesti u različitim skupina bolesnika, odnosno u individualnom bolesniku. Primjenom spomenutih načela translacijske medicine u istraživanju, dijagnostici i terapiji crijevne i zglobne upale činimo značajan korak naprijed ka preciznoj i personaliziranoj medicini.

FINANCIRANJE: Autori za ovaj rad nisu primili nikakva sredstva.

IZJAVA O SUKOBU INTERESA: Autori izjavljuju da nisu u sukobu interesa.

LITERATURA / REFERENCES

1. Miller RD, Salinas I. Phylogeny of the mucosal immune system. U: Smith DP, Blumberg RS, MacDonald TT, Society for Mucosal Immunology, ur. Principles of mucosal immunology. 2. izd. Boca Raton: CRC Press, Taylor and Francis Group; 2020, str. 23–32.)
2. Schroeder K, Basel TCG. The origin of mucosal immunity: Lessons from the holobiont hydra. 2016. *mBio* 7(16):e01184-16. doi:10.1128/mBio.01184-16
3. Mestecky J, Strober W, Russel MW, Kelsal BL, Cheroutre H, ur. Mucosal Immunology. 3. izd. Amsterdam: Elsevier; 2013.
4. Nyholm SV, Graf J. Knowing your friends: Invertebrate innate immunity fosters beneficial bacterial symbioses. *Nat Rev Microbiol.* 2012;10:815–27.
5. Lange C, Heinrich G, Klostermeier UC, Lopez-Quintero JA, Olberg H-H. Defining the origins of NOD-like receptor system at the base of the animal evolution. *Mol Biol Evol.* 2011;28:1687–702.
6. Taleban S, Colombel J-F, Mohler MJ, Fain MJ. Inflammatory bowel disease in elderly: A review. *Journal of Crohns and colitis.* 2015;5:507–15.
7. Ruel J, Ruane D, Mehandru S, Gower-Rousseau C, Colombel J-F. IBD across the age spectrum – is it the same disease? *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2014;11:88–98.
8. Mestecky J, Bienenstock J, McGhee JR, Lamm ME, Strober W, Ogra PL. Historical aspects of mucosal immunology. U: Ogra PJ, Mestecky J, Lamm ME, Strober W, Bienenstock J, McGhee JR, ur. Mucosal Immunology. 2. izd. San Diego: Academic Press; 1999, str. xix–xlii.
9. Brandtzaeg P. History of oral tolerance and mucosal immunity. *Ann N Y Acad Sci.* 1996; 778:1–27.
10. Ogra PL. Mucosal immunity: Some historical perspective on host-pathogen interactions and implications for mucosal vaccines. *Immunology & Cell Biology.* 2003;81(3):23–33.
11. Mestecky J, McGhee JR, Bienenstock J, Lamm ME, Strober W, Cebra JJ i sur. Historical aspects of mucosal immunology. U: Mestecky J, Strober W, Russel MW, Kelsall BL, Cheroutre H, Lambrecht BN, ur. 4. izd. Amsterdam: Elsevier; 2005, str. xxxi–lvii.
12. Janeway CA, Travers P Jr, Walport M, Shlomchik M, ur. Immunobiology: The immune system in health and disease. 2. izd. New York: Garland Science; 2001.
13. Niv Y, Banić M. Gastric barrier function and toxic damage. *Dig Dis.* 2014;32:235–42.
14. Wershil BK, Furuta GT. Gastrointestinal mucosal immunity. *J Allerg Clin Immunol.* 2008;121:380–3.
15. Banić M. Imunologija crijeva. U: Vucelić B., ur. Upalne bolesti crijeva. Zagreb: Medicinska naklada; 2019, str. 39–83.
16. Brandtzaeg P, Pabst R. Let's go mucosal: Communication on slippery ground. *Trends Immunol.* 2004;25:570–7.
17. Buettner M, Lochner M. Development and function of secondary and tertiary lymphoid organs in the small intestine and the colon. *Front Immunol.* 2016;7:342.
18. Pabst O, Cerovic V, Hornef M. Secretory IgA in the coordination of establishment and maintenance of the microbiota. *Trends Immunol.* 2016;37:287–96.
19. Pabst R, Brandtzaeg P. Overview of the mucosal immune system structure. U: Smith DP, Blumberg RS, MacDonald TT, Society for Mucosal Immunology, ur. Principles of mucosal immunology. 2. izd. Boca Raton: CRC Press, Taylor and Francis Group; 2020, str. 3–21.
20. Dotan I, Mayer L. Mucosal immunology and inflammation. U: Feldman M, Friedman LS, Brandt LJ, ur. Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and liver disease. 10. izd. Philadelphia: Elsevier – Saunders; 2016, str. 16–27.
21. Neutra MR, Mantis NJ, Kraehenbuhl JP. Collaboration of epithelial cells with organized mucosal lymphoid tissues. *Nat Immunol.* 2001;2:1004–9.
22. Sheridan BS, Lefrancois L. Intraepithelial lymphocytes: To serve and protect. *Curr Gastroenterol Rep.* 2010;12(6):513–21.
23. Olivares-Villagomez D, Van Kaer L. Intestinal intraepithelial lymphocytes: Sentinels of mucosal barrier. *Trends Immunol.* 2018;39(4):264–75.
24. Wynn TA, Chawla A, Pollard JW. Macrophage biology in development, homeostasis and repair. *Nature.* 2013;496:445–455.
25. Hedl M, Abraham C. Negative regulation of human mononuclear phagocyte function. *Muc Immunol.* 2013;6:205–23.
26. Travers J, Rothenberg ME. Eosinophils in mucosal immune responses. *Muc Immunol.* 2015; 8:464–475.
27. Serhan CN. Novel pro-resolving lipid mediators in inflammation are leads for resolution physiology. *Nature.* 2014;510:92–101.
28. Traxinger BR, Richert-Spuchler LE, Lund JM. Mucosal tissue regulatory T-cells are integral in balancing immunity and tolerance at portals of antigen entry. *Muc Immunol.* 2022;15:398–407.
29. Honda K, Hori S. Role of regulatory T cells in mucosal immunity. U: Smith DP, Blumberg RS, MacDonald TT, Society for Mucosal Immunology, ur. Principles of mucosal immunology. 2. izd. Boca Raton: CRC Press, Taylor and Francis Group; 2020, str. 123–33.
30. Fiyouzi T, Pelaez-Prestel H, Reyes-Manzanas R, Lafuente EM, Reche PA. Enhancing regulatory T cells to treat inflammatory and autoimmune diseases. *Int J Mol Sci.* 2023;24(9): 7797. <https://doi.org/10.3390/ijms24097797>
31. Eberl G, Collona M, Di Santo JP, McKenzie AN. Innate lymphoid cells: A new paradigm in immunology. *Science.* 2015, doi:10.1126/science.aaa6566
32. Powell N. Innate lymphoid cells. U: Smith DP, Blumberg RS, MacDonald TT, Society for Mucosal Immunology, ur. Principles of mucosal immunology. 2. izd. Boca Raton: CRC Press, Taylor and Francis Group; 2020, str. 115–22.

33. Klose CS, Artis D. Innate lymphoid cells as regulators of immunity, inflammation and tissue homeostasis. *Nat Immunol.* 2016;17:765–74.
34. Vivier E, Artis D, Collona M, Diefenbach A, Di Santo JP, Eberl G. Innate lymphoid cells: 10 years on. *Cell.* 2018;174:1054–66.
35. Simoni Y, Fehlings M, Kloverpris HN, Tan IB, Ginhoux F, Newel EW. Human innate lymphoid cells subsets possess tissue-type heterogeneity in phenotype and frequency. *Immunity.* 2017;46:148–61.
36. Hart AL, Ng SC, Mann E, Al-Hassi HO, Bernardo D, Knight SC. Homing of immune cells. Role in homeostasis and intestinal inflammation. *Inflamm Bowel Dis.* 2010;16:1969–77.
37. Miura S, Hokari R, Tsuzuki Y. Mucosal immunity in gut and lymphoid cell trafficking. *Ann Vasc Dis.* 2012;5(3):275–81.
38. Habtezion A, Nguyen LP, Hadeiba H, Butcher EC. Leukocyte trafficking to the small intestine and colon. *Gastroenterology.* 2016;150:340–54.
39. Zundler S, Neurath MF. Novel insights into the mechanisms of gut homing and anti-adhesion therapies in inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis.* 2017;23:617–27.
40. Verhasselt V, Agace W, Pabst O, Stagg A. Lymphocyte trafficking from inductive sites to effector sites. U: Smith DP, Blumberg RS, MacDonald TT, Society for Mucosal Immunology, ur. *Principles of mucosal immunology.* 2. izd. Boca Raton: CRC Press, Taylor and Francis Group; 2020, str. 239–53.
41. Zundler S, Günther C, Kremer AE, Zaiss MM, Rothhammer V, Neurath MF. Gut immune cell trafficking: inter-organ communication and immune-mediated inflammation. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2023;20:50–64.
42. Bono MR, Tejon G, Flores-Santibanez F, Fernandez D, Roseblatt M, Sauma D. Retinoic acid as modulator of T cell immunity. *Nutrients.* 2016;8(6):349. <https://doi.org/10.3390/nu8060349>
43. Sallusto F, Geginat J, Lanzavecchia A. Central memory and effector memory T cell subsets: function, generation and maintenance. *Annu Rev Immunol.* 2004;22:745–63.
44. Zhang Q, Lakkis FG. Memory T cell migration. *Front Immunol.* 2015;6:504.
45. Wiendl M, Becker E, Mueller TM, Voskems CJ, Neurath MF, Zundler S. Targeting immune cell trafficking – insights from research models and implications for future IBD therapy. *Front Immunol.* 2021;12:656452. doi:10.3389/fimmu.2021.656452
46. Banić M. Okoliši, epigenetika i komorbiditet: perspektiva humanog holobionta. U: Jakovljević M, ur. *Komorbiditet, razilijencija i epigenetika iz perspektive pridiktivne, preventivne i personalizirane medicine.* Zagreb: Pro Mente / Medicinska naklada; 2019, str. 172–88.
47. Conrad N, Shivani M, Verbakel JY, Verbeke G, Molenberghs G, Taylor PN i sur. Incidence, prevalence, and co-occurrence of autoimmune disorders over time and by age, sex, and socio-economic status: a population-based cohort study of 22 million individuals in UK. *Lancet.* 2023;401(10391):1878–90.
48. Ortega MA, Garcia-Montero C, Fraile-Martinez O, Alvarez-Mon MA, Gomez-Lahoz AM, Lahera G i sur. Immune-mediated diseases from the point of view of psychoneuroimmunoendocrinology. *Biology.* 2022;11(7):973. <https://doi.org/10.3390/biology11070973>
49. El-Gabalawy H, Guenther LC, Bernstein NC. Epidemiology of immune-mediated inflammatory diseases: Incidence, prevalence, natural history and comorbidities. *J Rheumatol.* 2010;37(Suppl 85):S2–S10.
50. Banić M, Pleško S. Crijevni mikrobiom. U: Vucelić B, ur. *Upalne bolesti crijeva.* Zagreb: Medicinska naklada; 2019, str. 85–116.
51. Grice EA, Segre JA. The human microbiome: our second genome. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2012;13:151–70.
52. Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanch C i sur. A human gut microbial catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* 2010;464(7285):59–65.
53. Eberl G. A new vision of immunity: homeostasis of the superorganism. *Mucosal Immunology.* 2010;3(5):450–60.
54. Eberl G. The microbiota: a necessary element of immunity. *C R Biologies.* 2018;341:281–3.
55. van de Guchte M, Blottiere HM, Dore J. Humans as holobionts: implications for prevention and therapy. *Microbiome.* 2018;6:81–6.
56. Adhikari D, Kim SW, Kwon YM. Characterization of microbiota associated with digesta and mucosa in different regions of gastrointestinal tract of nursery pigs. *Int J Mol Sci.* 2019;20:1630.
57. Daniel N, Lecuyer E, Chassaing B. Host/microbiota interactions in health and disease – time for mucosal microbiology? *Muc Immunol.* 2021;14:1006–16.
58. Darfeuille-Michaud A, Boudeau J, Bulois P, Neut C, Glasser A-L, Barnich N i sur. High prevalence of adherent-invasive *Escherichia coli* associated with ileal mucosa in Crohn's disease. *Gastroenterology.* 2004;127(2):412–21.
59. Schnupf P, Gaboriau-Rothiau V, Gros M, Friedman R, Moya-Nilges M, Nigro G i sur. Growth and host interaction of mouse segmented filamentous bacteria *in vitro*. *Nature.* 2015;520:99–103.
60. Bansal T, Alaniz RC, Wood TK, Yayaraman A. The bacterial signal indole increases epithelial-cell tight-junction resistance and attenuates indicators of inflammation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2010;107:228–33.
61. Broz P, Dixit VM. Inflammasomes: Mechanisms of assembly, regulation and signalling. *Nat Rev Immunol.* 2016;16:407–20.
62. Sutherland DB, Suzuki K, Fagarasan S. Fostering of advanced mutualism with gut microbiota by immunoglobulin A. *Immunol Rev.* 2016;270:20–31.
63. Miossec P, Kolls JK. Targeting IL-17 and Th17 cells in chronic inflammation. *Nat Rev Drug Discov.* 2012;11:763–76.
64. Zheng D, Liwinski T, Elinav E. Interaction between microbiota and immunity in health and disease. *Cell Research.* 2020;30:492–506.
65. Albenberg Lesipova TV, Judge CP, Bittinger K, Chen J, Laughlin A i sur. Correlation between intraluminal oxygen gradient and radial partitioning of intestinal microbiota. *Gastroenterology.* 2014;147:1055–63.e8

66. Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of healthy human microbiome. *Nature*. 2012;486:207–14.
67. Costea P, Hildebrand F, Arumugam M, Bäckhed F, Blaser MJ, Bushman FD i sur. Enterotypes in the landscape of gut microbial community composition. *Nat Microbiol*. 2018;3:8–16. <https://doi.org/10.1038/s41564-017-0072-8>
68. Le Chatelier E, Nielsen T, Qin J, Prifti E, Hildebrand F, Falony G i sur. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature*. 2013;500:541–6. <https://doi.org/10.1038/nature12506>
69. Khan SU, Wu L, Wang W, Li N, Wu X. Trends in dietary nutrients by demographic characteristics and BMI among US adults. 21003 – 2016. *Nutrients*. 2019;11:2617.
70. Malard F, Dore J, Gaugler B, Mohty M. Introduction to host microbiome symbiosis in health and disease. *Mucosal Immunology*. 2020;14:547–54.
71. Litvak Y, Beumler AJ. Microbiota-nourishing immunity: a guide to understanding our microbial self. *Immunity*. 2019;51:214–24.
72. Scheffer M, Carpenter S, Foley JA, Folke C, Walker B. Catastrophic shifts in ecosystems. *Nature*. 2001;413:591–6.
73. Banić M. Patogeneza upalnih bolesti crijeva. U: Vucelić B, ur. *Upalne bolesti crijeva*. Zagreb: Medicinska naklada; 2019, str. 117–44.
74. Holers VM, Demoruelle MK, Kuhn KA, Buckner JH, Robinson WH, Okamoto Y i sur. Rheumatoid arthritis and the mucosal origins hypothesis: protection turns to destruction. *Nat Rev Rheumatol*. 2018;14:542–57.
75. Hedin CRH, Vavricka SR, Stagg AJ, Schoepfer A, Raine T, Puig L i sur. The pathogenesis of extraintestinal manifestations: Implications for IBD research, diagnosis and therapy. *J Crohns Colitis*. 2019;13(5):541–54.
76. Adams DH, Eksteen B. Aberrant homing of mucosal t-cells and extraintestinal manifestations of inflammatory bowel disease. *Nat Rev Immunol*. 2006;6:244–51.
77. Bhagat S, Das KM. A shared and unique peptide in the human colon, eye and joint, detected by a monoclonal antibody. *Gastroenterology*. 1994;107:103–8.
78. Breban M, Tap J, Leboime A, Said-Nahal R, Langella P, Chiochia G i sur. Faecal microbiota study reveals specific dysbiosis in spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis*. 2017;76:1614–22.
79. Chemin K, Gerstner C, Malmstrom V. Effector functions of CD4+ T cells at the site of local autoimmune inflammation – Lessons from rheumatoid arthritis. *Front Immunol*. 2019;10:353. doi: 10.3389/fimmu.2019.0053
80. Romero-Figueroa MdS, Ramirez-Duran M, Montiel-Jarquín AJ, Horta-Baas G. Gut-joint axis: Gut dysbiosis can contribute to the onset of rheumatoid arthritis *via* multiple pathways. *Front Cell Infect Microbiol*. 2023;13:1092118. doi:10.3389/fcimb.2023.1092118
81. Zaiss MM, Wu H-J J, Mauro D, Schett G, Ciccia F. The gut-joint axis in rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol*. 2021;17:224–37.
82. Takeda K, Maeda Y. Host-microbiota interaction in rheumatoid arthritis. *Experimental & Molecular Medicine*. 2019;51:150. <https://doi.org/10.1038/s12276-019-0283-6>
83. Cheng M, Zhao Y, Cui Y, Zhong C, Zha Y, Li S i sur. Stage-specific roles of microbial dysbiosis and metabolic disorders in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2022;81:1669–77.
84. Rodríguez-Reyna TC, Martínez-Reyes C, Yamamoto-Furusho JK. Rheumatic manifestations of inflammatory bowel disease. *World Journal of Gastroenterology*. 2009;15(44):5517–24.
85. Reveille JD, Hirsch R, Dillon CF, Carroll MD, Weisman MH. The prevalence of HLA-B27 in US: data from the US National Health and Nutrition Examination Survey, 2009. *Arthritis Rheum*. 2012;64(5):1407–11.
86. Lim Kam Sian TC, Indumathy S, Halim H, Greule A, Cryle MJ, Bowness P i sur. Allelic association with ankylosing spondylitis fails to correlate with human leukocyte antigen B27 homodimer formation. *J Bio Chem*. 2019;294(52):20185–95.
87. Hammer RE, Maika SD, Richardson JA, Tang JP, Taurog JD. Spontaneous inflammatory disease in transgenic rats HLA-B27 and human beta 2m: an animal model of HLA-B27-associated disorders. *Cell*. 1990;63:1099–1112.
88. Elson CO, Sartor B, Tennyson GS, Ridell RH. Experimental models of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 1995;109:1344–67.
89. Asquith M, Sternes PR, Costello ME, Karstens L, Diamond S, Martin TH i sur. HLA alleles associated with risk of ankylosing spondylitis and rheumatoid arthritis influence the gut microbiome. *Arthritis Rheumatol*. 2019;71:1642–50.
90. Mielants H, De Keyser F, Baeten D, Van den Bosch F. Gut inflammation in the spondyloarthropathies. *Curr Rheumatol Rep*. 2005;7:188–94.
91. Gracey E, Vereecke L, McGovern D, Froehling M, Schett G, Danese S i sur. Revisiting the gut-joint axis: links between gut inflammation and spondyloarthritis. *Nat Rev Rheumatol*. 2020;16(8):415–33.
92. Barga JA, Jackman JR, Kerr JG. Complications and sequel of chronic ulcerative colitis. *Annals of Internal Medicine*. 1929;3:335–52.
93. Smith R. Treatment of rheumatoid arthritis by colectomy. *Annals of Surgery*. 1922;76:515–78.