



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

Станко С. Петровић

**ПРОЦЕНА СИГУРНОСТИ И ЕФЕКТА
ПРИМЕНЕ АНТИАГРЕГАЦИОНЕ ТЕРАПИЈЕ
КОД БОЛЕСНИКА СА СРЕДЊЕ ТЕШКОМ
ФОРМОМ УЛЦЕРОЗНОГ КОЛИТИСА**

докторска дисертација

Крагујевац, 2020. године



UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES

Станко С. Петровић

**EVALUATION OF SAFETY AND EFFICACY OF
ANTIPLATELET THERAPY IN PATIENTS
SUFFERING FROM MODERATE FORM OF
ULCERATIVE COLITIS**

Doctoral Dissertation

Крагујевац, 2020. године

ИДЕНТИФИКАЦИОНА СТРАНИЦА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

<i>I Аутор</i>	
Име и презиме: Станко С. Петровић	
Датум и место рођења: 14.10.1973. године у Зајечару	
Садашње запослење: лекар субспецијалиста - Гастроентерохепатолог у Клиници за гастроентерологију и хепатологију Војномедицинске академије у Београду	
<i>II Докторска дисертација</i>	
Наслов: процена сигурности и ефекта примене антиагрегационе терапије код болесника са средње тешком формом улцерозног колитиса	
Број страница: 101	
Број слика: 14	
Број библиографских података: 268	
Установа и место где је рад израђен: Војномедицинска академија, Београд, Србија	
Научна област (УДК): Медицина (Клиничка и експериментална медицина)	
Ментор: др сци.мед. Дино Тарабар, редовни професор	
<i>III Оцена и одбрана</i>	
Датум пријаве теме: 29.08.2016. године	
Број одлуке и датум прихватања докторске дисертације: одлука бр. IV-03-1177/33 од 07.12.2016. године	
Комисија за оцену научне заснованости теме и испуњености услова кандидата: <ol style="list-style-type: none">1. Проф. др Драган Миловановић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област <i>Фармакологија и токсикологија</i>, председник;2. Проф. др Радоје Додер, ванредни професор Медицинског факултета ВМА Универзитета одбране у Београду за ужу научну област <i>Интерна медицина</i>, члан;3. Проф. др Небојша Арсенијевић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област <i>Микробиологија и имунологија и Онкологија</i>, члан;4. Доц. др Наташа Здравковић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област <i>Интерна медицина</i>, члан;5. Доц. др Светлана Ђукић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област <i>Интерна медицина</i>, члан	
Комисија за оцену и одбрану докторске/уметничке дисертације: <ol style="list-style-type: none">1. Проф. др Наташа Здравковић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област <i>Интерна медицина</i>, председник;2. Проф. др Светлана Ђукић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област <i>Интерна медицина</i>, члан;3. Проф. др Александра Сокић Милутиновић, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област <i>Интерна медицина</i>, члан;	
Датум одбране дисертације:	

Захвалница

На почетку, и највише, захваљујем се мојој супрузи Маријани на њеној великој помоћи и подршци, без ње овај рад апсолутно не би био изводљив.

Неизмерно хвала мом ментору професору др Дину Тарабару, који је веровао у мене, и који је био више од ментора, који је подржао моје идеје из којих је произишао овај докторат.

Неизмерну захвалност дугујем медицинским техничарима Снежани Глигоријевић са Клинике за гастроентерологију КБЦ Драгиша Мишовић и Љиљани Банковић са Клинике за гастроентерологију и хепатологију ВМА. Такође се захваљујем целом колективу Клинике за гастроентерологију и хепатологију ВМА на подршци.

Захваљујем се професорима Ненаду Перишићу, Радоју Додеру и Небојши Манојловићу на помоћи и подршци.

Велику захвалност дугујем проф. др Данилу Војводићу који ми је својим стручним и пријатељским саветима био од велике помоћи, а такође се захваљујем на труду техничару Верици Смиљанић из Лабораторије за клиничку и експерименталну имунологију ВМА.

Посебно се захваљујем научном сараднику др сци. мед. Немањи Ранчићу на великом стрпљењу, свим стручним и пријатељским саветима.

Захваљујем се мом дугогодишњем пријатељу и декану Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, професору Владимиру Јаковљевићу на подршци и помоћи током израде доктората.

Захваљујем се професору Небојши Арсенијевићу и Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу на помоћи током израде докторске дисертације.

На крају хвала мојим родитељима Миланки и Слободану на несебичној љубави коју су ми пружили, подршци и вери у мене током свих ових година.

Посебна захвалност упућена је мојој ћерки Катарини, мојој највећој инспирацији.

Сажетак

Увод/Циљ: Тромбоцити имају важну улогу у настанку улцерозног колитиса обзиром на њихову улогу у хемостази и стварању микротромбова у малим крвним судовима слузнице колона што представља прву патолошку промену у улцерозном колитису, и чињеницу да су они проинфламаторне ћелије, да након активације ослобађају велики број биолошки активних супстанци и тиме потенцирају инфламацију. Основни циљ нашег истраживања је био да се испита безбедност и ефикасност примене лека *Brilique*, који смањује агрегацију и активност тромбоцита, код болесника са средње тешком формом улцерозног колитиса у погоршању.

Метод: У ову двоструко слепу, рандомизовану проспективну клиничку студију са паралелним дизајном, укључили смо 40 болесника са средње тешком формом улцерозног колитиса у погоршању, који су претходно лечени системском и локалном применом препарата Месалазина, Сулфасалазином или Пентазом. Болесници су рандомизовани у 2 групе: **стандардну групу** која је лечена стандардном терапијом (*Imuran 2 mg* на килограм телесне масе уз *Prednison*, у почетној дози од 40 mg дневно, са постепеним смањењем дозе до 20 mg дневно, а након 3 месеца узимања *Prednison-a*, исти би постепено искључио из терапије) уз *Placebo*, и групу која је лечена стандардном терапијом уз *Brilique* таблете 90 mg једном дневно, током 3 месеца. Код свих болесника је пре почетка испитивања и у периоду од месец дана па до истека 90 дана од почетка испитивања урађена колоноскопија и одређен *Nancy score*. На почетку студије, 7. и 30. дана од почетка испитивања код свих болесника одређивани су, у крви, комплетна крвна слика, уреа, креатинин, глукоза, албумин, калијум, холестерол, триглицериди, *AST*, *ALT*, магнезијум, *CRP*, *sCD40L*, *sP-selectin*, *IL-6*, *IL-13*, *TNF-α*, *IFN γ*, *IL-17A*, *IL-17F*, *IL-21*, *IL-22*, *IL-4*, *IL-5*, *IL-2*, *IL-9*, *IL-10*, *ADP* зависна агрегација тромбоцита и фекални калпротектин у столицама. Потом су анализирани добијени вредности параметара које смо пратили, а све време су праћени нежељени ефекти терапије (појачано интестинално или новонастало екстраинтестинално крварење, тромбоцитопенија, брадикардија, диспнеја).

Резултати: у групи болесника који су примали *Brilique*, у односу на стандардну групу, дошло је до испољавања антиинфламаторног дејства лека *Brilique*, што се манифестовало значајно нижим просечним вредностима *IL-2* и разликама вредности *IL-6*, *TNF-α*, *IL-17A*, *IL-21*, *IL-22*, *IL-9*, 7. дана од почетка испитивања, а што је праћено снижењем *sCD40L* и *sP-selectin* у крви. Осим модрица по кожи доњих екстремитета код 6 болесника, које су се повукле након 7-10 дана, није забележен никакав други нежељени ефекат терапије са *Brilique-om*.

Закључак: након примене лека *Brilique* код болесника са средње тешком формом улцерозног колитиса у погоршању дошло је до испољавања антиинфламаторног ефекта, што може имати велики клинички значај.

Кључне речи: улцерозни колитис, *Brilique*, *sCD40L*, *sP-selectin*, *TNF-α*, *IL-2*, *IL-6*, *IL-9*, *IL-10*, *IL-13*, *IL-17A*, *IL-17F*, *IL-21*, *IL-22*.

Abstract

Background/Aim: It has become clear that platelets play important role in pathogenesis of ulcerative colitis, due to their role in hemostasis and intestinal microthrombosis - which represents the earliest histopathological finding in mucosa of these patients and the fact that platelets are proinflammatory cells, that upon activation, release a multitude of molecules from their granules and thereby amplify inflammation. The aim of our clinical study was to evaluate safety and efficacy of antiplatelet therapy - Brilique in patients suffering from moderate form of ulcerative colitis.

Methods: Forty patients suffering from the moderate form of ulcerative colitis are included into this randomized, double blind, prospective study with parallel design, being previously treated with systemic or local mesalazin, Sulfasalazin or Pentasa. Patients are randomized in two groups: standard group, which received standard therapy (Imuran 2mg per kilogram of body weight, Prednison 40mg daily, with dose tapering to 20mg daily, and after three months of therapy with Prednison, tapering and exclusion from therapy) and Placebo, and second group, which received standard therapy plus Brilique tablet 90 mg once daily, for three months. Total colonoscopy with biopsies and assigned Nancy score were performed twice in all patients: before treatment and in the period of one to three months from the beginning of treatment. AST, ALT, magnesium, CRP, sCD40L, sP-selectin, IL-6, IL-13, TNF- α , IFN γ , IL-17A, IL-17F, IL-21, IL-22, IL-4, IL-5, IL-2, IL-9, IL-10, ADP dependent platelet aggregation (from blood), and fecal calprotectin were performed in all patients at the beginning of treatment, on the seventh day and 30 days from the beginning of treatment. Statistical analysis of the data was completed using the PASW Statistics 18[®] statistical software package. Adverse drug reactions were monitored during this clinical study, especially increased intestinal or occurrence of extraintestinal bleeding, thrombocytopenia, bradycardia, dyspnea.

Results: We found significantly lower average values IL-2 and value differences in IL-6, TNF- α , IL-17A, IL-21, IL-22, IL-9 in patients who received Brilique which is associated with decrease in sCD40L and sP-selectin, comparing to the standard group of patients, on the seventh day from the beginning of the treatment. Six patients reported minor bruises on the skin of the legs, lasting for 7-10 days. No other side effect of the drug was reported.

Conclusion: results obtained from this clinical study support the potential of antiplatelet therapy for treating patients suffering from ulcerative colitis, together with standard therapy.

Keywords: ulcerative colitis, Brilique, sCD40L, sP-selectin, TNF- α , IL-2, IL-6, IL-9, IL-10, IL-13, IL-17A, IL-17F, IL-21, IL-22.

САДРЖАЈ

1. УВОД.....	1
1.1 Историјат.....	1
1.2. Епидемиологија болести.....	1
1.3. Етиопатогенеза болести.....	2
1.3.1. Генетска предиспозиција.....	2
1.3.2. Цревна микробиота.....	4
1.3.3. Цревна баријера.....	7
1.3.4. Имуни систем црева.....	9
1.3.5. Фактори спољне средине.....	11
1.3.6. Цитокини у УК.....	14
1.3.7. <i>P-selectin</i>	17
1.3.8. <i>sCD40L</i>	19
1.3.9. Тромбоцити.....	20
1.3.10. <i>Ticagrelor</i>	24
2. ХИПОТЕЗЕ И ЦИЉЕВИ	28
2.1. Хипотезе студије	28
2.2. Циљеви студије	28
3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД ИСТРАЖИВАЊА.....	29
3.1. Безбедност примене антиагрегационе терапије на анималном моделу за УК.....	29
3.2. Безбедност и ефикасност примене антиагрегационе терапије код болесника са УК.....	29
3.2.1. Популација која је анализирана.....	29
3.2.2. Узорковање.....	29
3.2.3. Варијабле које се мере у студији.....	30
3.2.3.1. Хематолошке и биохемијске анализе	31
3.2.3.2. Агрегабилност тромбоцита.....	31
3.2.3.3. Колоноскопија.....	31
3.2.3.4. Фекални калпротектин.....	32
3.2.4. Терапијски протокол.....	32
3.2.5. Статистичка обрада података.....	33
4. РЕЗУЛТАТИ.....	34
4.1. Безбедност примене антиагрегационе терапије на анималном моделу за УК.....	34
4.2. Безбедност и ефикасност примене антиагрегационе терапије код болесника са УК.....	36
4.2.1. Социодемографске и антропометријске карактеристике пацијената.....	36
4.3. Основни биохемијски параметри.....	37
4.4. <i>CRP</i>	38
4.5. Агрегабилност тромбоцита.....	38
4.6. <i>sCD40L</i> и <i>sPselectin</i>	39
4.6.1. <i>sCD40L</i>	39

4.6.2. <i>sP-selectin</i>	40
4.7. Биомаркери у серуму.....	40
4.7.1. <i>IL-6</i>	40
4.7.2. <i>IL-13</i>	41
4.7.3. <i>TNF-α</i>	42
4.7.4. <i>IFN-γ</i>	42
4.7.5. <i>IL-17A</i>	43
4.7.6. <i>IL-17F</i>	43
4.7.7. <i>IL-21</i>	44
4.7.8. <i>IL-22</i>	44
4.7.9. <i>IL-5</i>	45
4.7.10. <i>IL-2</i>	45
4.7.11. <i>IL-9</i>	46
4.7.12. <i>IL-10</i>	47
4.8.1. <i>CRP</i>	47
4.8.2. <i>sCD40L</i>	48
4.8.3. <i>sPselektin</i>	49
4.8.4. <i>IL-6</i>	49
4.8.5. <i>IL-13</i>	50
4.8.6. <i>TNF-α</i>	50
4.8.7. <i>IL-17A</i>	51
4.8.9. <i>IL-17F</i>	51
4.8.10. <i>IL-21</i>	52
4.8.11. <i>IL-22</i>	52
4.8.12. <i>IL-2</i>	53
4.8.13. <i>IL-9</i>	53
4.8.14. <i>IL-10</i>	54
4.9. Фекални калпротектин.....	54
4.10. <i>Nancy score</i>	55
4.11. Корелације.....	57
4.12. Додаци.....	59
5. ДИСКУСИЈА	60
5.1. Социодемографске и антропометријске карактеристике пацијената.....	60
5.2. Основни биохемијски параметри.....	61
5.3. <i>sCD40L</i>	62
5.4. <i>sPselektin</i>	63
5.5. Цитокини.....	65
5.5.1. <i>IL-6</i>	65
5.5.2. <i>IL-13</i>	66
5.5.3. <i>TNF-α</i>	67
5.5.4. <i>IFN γ</i>	69
5.5.5. <i>IL-17A</i>	69
5.5.6. <i>IL-17F</i>	71

5.5.7. <i>IL-21</i>	71
5.5.8. <i>IL-22</i>	73
5.5.9. <i>IL-4</i> и <i>IL-5</i>	74
5.5.10. <i>IL-2</i>	74
5.5.11. <i>IL-9</i>	75
5.5.12. <i>IL-10</i>	76
5.6. Фекални калпротектин.....	77
5.7. <i>Nancy score</i>	78
6. ЗАКЉУЧЦИ	80
7. ЛИТЕРАТУРА	81
8. БИОГРАФИЈА АУТОРА	97
БИБЛИОГРАФИЈА РАДОВА	98
Образац 1	
Образац 2	

1. УВОД

1.1. Историјат

Улцерозни колитис (УК) је хронична упална болест црева која се карактерише појавом специфичних ерозија и улцерација на слузници дебелог црева (колона), непознате је етиологије и спада у групу инфламаторних болести црева (ИБЦ), заједно са Кроновом болешћу (КБ). Први описи УК сежу у време старих Грка (1). Први су *François-Joseph-Victor Broussais* (1772–1838) и *John Brown* (1810–1882) поставили теорију да већина болести настају услед инфламације у дигестивном тракту (2). *Sir Samuel Wilks* (1824–1911) је први употребио термин улцерозни колитис да би описао болесника који је имао симптоме који одговарају УК (3). Пресудна је била 1909. година, јер је тада у Лондону приказано 300 случајева болесника са овом болешћу, када се први пут спомињу фактори ризика, симптоми болести, покушаји лечења (4). Исте године *John Percy Lockhart-Mummery* (1875–1957) је демонстрирао да је сигмоидоскопија безбедна и корисна за експлорацију колона и постављање дијагнозе УК (5). Марта исте године је први пут објављен чланак о УК од стране *Herbert P. Hawkins-a* у часопису *British Medical Journal* под називом “*Address on the natural history of ulcerative colitis and its bearing on treatment*” (6). У годинама које следе долази до бољег разумевања УК. *Lewisohn* је први демонстрирао фамилијарну предиспозицију болести (7); *Hewitt* асоцијацију између УК и полипа (8); а *Wangensteen* да УК повећава ризик за развој карцинома колона (9). *Helmholz* је 1923. године први описао УК код деце, старости 8-15 година (10). Након 1930. године долази до стандардизације хируршких техника, које су се користиле у лечењу УК, а неке од њих као што су илеостомија, субтотална и тотална колектомија се користе и данас (11,12). *Warren* и *Sommers* су 1940. године по први пут дали детаљан опис патологије УК и први пут употребили термин крипт-апсцес (13). У то време долази до инетнзивног развоја Психијатрије као биолошке науке и постоје бројни описи који повезују УК са психијатријским стањима, типовима личности (14). *Wittkower* је у 28 од укупно 40 болесника са УК доказао да је траума претходила настанку болести (15). Након Другог Светског Рата креће ера клиничких студија и медицине засноване на доказима. 1950. године је публикован чланак од стране Sloan и сарадника о 2000 пацијената са УК (16). У часопису *British Medical Journal* објављен је чланак од стране *Truelove*, прва слепа, контролисана студија о УК која је показала да постоји клиничко побољшање и смањење mortalитета у болесника са УК који су примали кортикостероиде (17). Потом следи извештај Шведског лекара *Nanna Svartz* (1890–1986) о ефикасности примене *sulfasalazine-a* у УК и откриће *mercaptopurine -a* од стране *Bean-a* (18,19). У последњих 60 година је постигнут велики напредак на пољу молекуларне биологије и генетике у разумевању ове болести (20).

1.2. Епидемиологија болести

Мушкарци обољевају нешто чешће од жена, а УК се најчешће јавља у другој и трећој деценији живота, али постоји и други пик у шестој и седмој деценији живота (21).

Болест почиње од дисталног дела - ректума и шири се ка проксимално, а код око 5% случајева пацијената са панколитисом, захваћен је и терминални илеум у дужини од неколико цм (*backwash ileitis*). Ректум је захваћен у 95% болесника. На основу величине захваћености колона (екстензивност болести), УК делимо на:

- 1) дистални колитис - проктитис (ректум) и проктосигмоидитис (ректум и сигмоидни колон)
- 2) левострани колитис (ректум, сигмоидни и десцендентни колон, до лијеналне флекуре)

3) екстензивни колитис - захваћен колон проксимално од лијеналне флексура или цео колон (панколитис) (22).

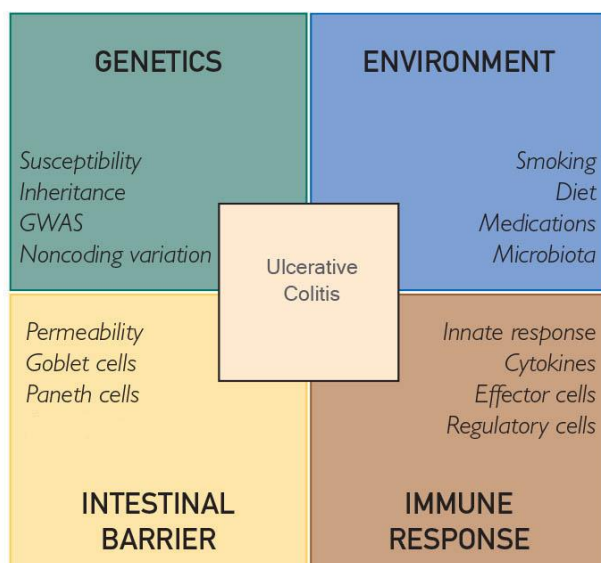
Тачан механизам настајања болести није до краја познат, али главни патофизиолошки механизам представља неадекватан одговор имуног система црева на цревну микробиоту у особа са генетском предиспозицијом. Клинички ток болести се манифестује периодима погоршања (егзацербација) који се смењују са периодима побољшања (ремисија), а код мањег броја болесника постоји хронично активна болест.

Највећа инциденца УК је у Северној Европи, Великој Британији и Северној Америци (23). У последњој декади долази до пораста инциденце у земљама у развоју као што су земље Латинске Америке, Азије и Источне Европе, док је у земљама Северне Америке и Западне Европе инциденца иста у последњој декади. Преваленца болести је већа у развијеним земљама, највећа је у Норвешкој 505 на 100000 становника и Северној Америци 286 на 100000. У земљама Северне Америке и Западне Европе постоји географска дистрибуција болести – чешћа је у земљама које су северније, а ређа у земљама које су јужније (24). Инциденца УК у Србији је 6 на 100000. Постоји хипотеза да болест има блажи клинички ток ако се јави у каснијој животној доби, што није прихваћено од стране свих истраживача. Екстензивност болести утиче на клинички ток и представља важан прогностички фактор. Код особа са УК повећан је морталитет у односу на општу популацију, најчешће због колоректалног карцинома, постоперативних компликација, токсичног мегаколона, перфорације црева, терминалне болести јетре услед примарног склерозирајућег холангитиса, плућне тромбоемболије (24). Породично оптерећење представља фактор ризика за настанак болести, у студији *Henriksen-a* и сарадника је нађено да је инциденца породичног оптерећења око 10% (25).

1.3. Етиопатогенеза болести

У настајању УК неколико фактора има главну улогу: генетска предиспозиција, дефект цревне баријере, поремећен имуни систем црева и фактори спољне средине, што је приказано на слици 1. УК карактерише оштећење епителаних ћелија (Ећ) (смањена продукција мукуса и поремећај рапарације) и појаве упале коју изазивају цревна микробиота и бројне запаљенске ћелије које се могу наћи у крзну слузнице.

Слика 1. Патогенеза Улцерозног колитиса. GWAS, студије повезаности целог генома



1.3.1. Генетска предиспозиција

Епидемиолошке студије и студије на близанцима су показале да се болест чешће јавља у неким породицама, а да позитивно породично оптерећење доноси до 5 пута већи

ризик да особа оболи од УК у односу на особе чији чланови породице немају УК. УК је комплексно полигенско обољење, које подразумева промену *DNA* (*deoxyribonucleic acid*) секвенце (генске мутације и генетски полиморфизми) или поремећај контроле експресије гена (без промене у *DNA* секвенци) - епигенетске промене, поремећај *micro RNA* (*miRNA*, *ribonucleic acid*) и дуголанчаних некодирајућих *RNA* (*dnRNA*) (26). Студије повезаности целог генома (*GWAS*) и студије генетских веза (*Linkage studies*) су до сада повезале 240 локуса са ИБЦ, од тога 30 специфично за УК, а 70% од укупног броја локуса се налази и у другим аутоимуним болестима као што су анкилозирајући спондилитис, псоријаза, примарни склерозирајући холангитис. Ове болести се чешће јављају код особа са УК, што значи да је генетска предиспозиција важна за њихов настанак. На основу тога можемо закључити да различите имунопосредоване болести имају сличну генетску подлогу и да у њиховом настанку и други фактори ризика имају важну улогу. Биолошки процеси који су обухваћени ИБЦ генским локусима су укључени у регулацију цревне баријере, епителну реституцију, регулацију урођеног имунитета, регулацију аутофагије, метаболичке путеве важне за ћелијску хомеостазу. 80-90% свих локуса се налази у некодирајућим деловима *DNA*, што значи да су укључени у регулацију генске експресије. Међутим идентификацијом генских локуса код особа оболелих од УК није могуће предвидети ток болести, што значи да су ту важни и фактори средине (27).

Постоји удруженост полиморфизама гена за рецептор за *IL-23* (*IL23R*) и повећане склоности за развој УК. Највише су испитивани гени на првом хромозому за полиморфизме гена за *IL23R* (H). Постоји повезаност ИБЦ2 локуса на 12. хромозому са фамилијарном формом УК. *C3435T* и *G2677T* полиморфизми *MDR1* (*multidrug resistance-1*) гена су повезани са настанком УК. *MDR1* ген кодира *P-glycoprotein 170* који се нормално налази на површини епителних ћелија (ЕЋ) и Т лимфоцита (ТЛ), улази у састав мембранског транспортера и учествује у метаболизму многих лекова, тако што испумпава бројне лекове у лумен црева (28).

Полиморфизми гена за *CTLA4* (*Cytotoxic T-lymphocyte antigen 4*), који се налази на хромозому *2q33* су повезани са настанком УК. *CTLA4* је негативни регулатор Т ћелијске активности. Полиморфизми *rs10758669* и *rs10974944* у *JAK2* (*Janus kinase 2*) локусу и полиморфизам *rs12948909* у *STAT3* (*signal transducer and activator of transcription 3*) локусу су чврсто повезани са етиопатогенезом УК. Полиморфизми гена који кодира *TNF α* (*tumor necrosis factor alpha*) *A-308G* и *T-857C* су повезани са повећаном продукцијом *TNF α* што може бити повезано са настанком УК, тежим обликом болести (панколитис) или промењеним одговором на анти *TNF- α* терапију. Бројни полиморфизми *TLR* (Toll-like receptors) гена су повезани са УК: *Arg677Trp* и *Arg753Glu* у *TLR2*, *Thr399Ile* и *Asp299Gly* мутације у *TLR4*, *C-1486T*, *G1174A*, *A2848G* у *TLR9*. Мутација *F206L* гена за *L-selectin* је пронађена код болесника са УК. Полиморфизам *rs3024505 IL-10* је важан у патогенези УК.

Полиморфизам *G-1082A* гена за *IL-10* је чести код особа са УК. Генетски фактори не само што имају прогностички или дијагностички значај, већ имају и предиктивни значај, то јест помажу нам у избору терапије - који лек може бити ефикасан у УК, на пример ефикасност голimumаба, инфликсимаба, азатиоприна (мутација *thiopurine S-methyltransferase*, ензима који је важан у метаболизму лека) (29,30,31).

GWAS су потврдиле повезаност гена важних за УК и појаву есктраинтестиналних манифестација болести и тежих облика болести у оквиру региона главног хистокомпатибилног комплекса (*HLA*). То су *HLA-DRB1*01:03*, *DRB1*07*, *DQB1*03:02*, полиморфизми *HLA B44*, *HLA B35*, *HLA B27*. Гени за *HLA* се налазе на 6. хромозому, где се налази ИБЦ3 регион који је важан за настанак УК. Ту се налазе гени за *MHC* (*major histocompatibility complex*) прве и друге класе, *TNF α* гени и многи други. Полиморфизам *129-Val/Met MICA* (*valine, methionine, MHC class I chain-related molecule A*) гена је важан

за патогенезу УК. *MICA* се везује за *NKG2D* (*Natural Killer Group 2D*) рецептор на НК и ТЛ и доводи до њихове активације (32).

dnRNA немају могућност да кодирају протеине, али утичу на регулацију генске експресије на нивоу транскрипције и транслације. Показано је да поремећај у регулацији *DQ786243*, *CDKN2B-AS1*, *IFNG-AS1*, *H19*, *BC012900*, *BC062296* присутан у мукози колона и крви. Постоји одлична корелација између одговарајућег профила *dnRNA* у ткиву колона код особе која има ИБЦ и особе које нема ИБЦ. *dnRNA* се лако одређују, стабилне су и цена њиховог одређивања није велика. Нејвероватније ће бити потребно одређивати више различитих *dnRNA* – профил *dnRNA*, како би имале клинички значај. Такође се претпоставља да ће се помоћу њих моћи поставити дијагноза УК или КБ, обзиром да се сада дијагноза поставља комбинацијом клиничких симптома, ендоскопског и патохистолошког налаза, што би значајно олакшало рад клиничког лекара (33).

MiRNA су кратке, једноланчане *RNA*, које регулишу функцију око 30% људских гена, тако што се везују за 3'нетранслациони-регион циљне *iRNA* и тако спречавају њену транслацију. Откривено је око 1000 *miRNA* до сада. *MiR-126*, *miR-155*, and *miR-150* су нађене у вишој концентрацији у ткиву колона код болесника са УК, што на крају резултује инфламацијом преко активације *NF-κB* (*nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*) сигналног пута и последичног повећања *interleukina-8* (*IL-8*), *interferona γ* (*IFN γ*), и *interleukina-1β* (*IL-1β*) (34).

Епигенетски механизми играју важну улогу у развоју УК, регулишући експресију одговарајућих гена, без промена у *DNA* секвенци. Високо су зависни од фактора средине и могу се преносити на потомство. Од њих су најважнији *DNA* метилација и хистонска модификација (ацетилација и метилација), који најчешће настају услед пушења, одговарајуће дијете и под утицајем цревне микрофлоре. У УК хиперметилација *CpG* (5'—C—phosphate—G—3') острваца доводи до утишавања одговарајућих гена, и то оних који утичу на грађу и одржавање цревне баријере или кодирају дефензине. Хипометилација доводи до појачане експресије гена који кодирају хемокине, хемокинске рецепторе, интерлеукине, тј. доводе до инфламације. На пример, накупљање *iNKT* (*invariant natural killer T*) ћелија у крзну слузнице код болесника са УК настаје рано у животу, под дејством цревне микрофлоре која доводи до *DNA* хидроксиметилације и експресије *CXCL16* (*chemokine receptor ligand*) на површини тих ћелија (35).

Мутације у *FCGR2A* гену који кодира *Fc gamma receptor IIa* (*FcγRIIa*), игра важну улогу у регулацију имунитета. Полиморфизам *FCGR2A* утиче на *FcγRIIa/Antitelo* интеракцију што може утицати на појаву УК (36). Полиморфизам гена *PTPN22* (*Protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 22*) гена има улогу у настанку УК (37). *UFP1* (*Up-frameshift protein 1*) смањена експресија у слузници колона повећава експресију *TNFR1* што резултује појачањем инфламације преко *NF-κB* сигналног пута (38).

1.3.2. Цревна микробиота

У лумену дигестивног тракта налази се преко 1000 врста различитих микроорганизама: бактерија, вируса, гљивица, паразита и они живе у симбиози са домаћином. Сви ти микроорганизми се једним именом зову цревна микробиота (ЦМ).

Микробиом преставља скуп микроба и њихових гена. *Firmicutes* и *Bacteroidetes* чине 92% хуманог микробиома. Хумани микробиом се састоји од 1000-1500 различитих бактеријских врста, али једна индивидуа може садржати око 160 различитих бактеријских врста, што значи да је састав микробиоте различит између људи и да зависи од спољашњих фактора и генетске предиспозиције. Састав микробиоте зависи највише од дијете, година старости и упалног процеса. Бактерије чине 95% ЦМ, подељене су на анаеробе (најбројније), факултативне анаеробе и аеробе и поремећај у саставу бактерија је највише проучаван као узрочник разних болести (39). Преко 90% бактерија ЦМ чине

бактерије из породица *Bacteroides* и *Firmicutes*. Постоје 3 ентеротипа у зависности од доминације бактерија у цревној флори: *Bacteroides* - ентеротип 1, *Prevotella* – ентеротип 2, *Ruminococcus* – ентеротип 3 (40). Преко 500 различитих врста бактерија улази у састав ЦМ, Развој ЦМ почиње још у пренаталном периоду и зависи од исхране и навика мајке (пушење на пример), од начина порођаја (природним путем или царским резом) и касније у животу наставља да се формира у зависности од исхране, лекова, хемијских агенаса.

Стабилан састав ЦМ се формира од 1.-3. године живота, и касније се мења у склопу неких болести, драстичних промена у исхрани или услед примене антибиотика. ЦМ може директно или индиректно да утиче на физиологију домаћина ступањем у контакт са имуним, нервним и ендокриним системом домаћина. Да би ограничио контакт микроорганизама са имуним системом, домаћин је развио хемијску и физичку баријеру, тзв цревну баријеру, коју чине мукус и епителне ћелије. И поред тога бактерије ступају у контакт са домаћином и утичу на његов метаболизам. Продукти метаболизма одређених бактерија, као што су кратколанчане масне киселине (ацетат, пропионат, бутират), које настају ферментацијом влакана и угљених хидрата, позитивно утичу на интегритет цревне баријере (41,42). У најближем контакту са слузницом црева су анаеробне бактерије (*Bifidobacterium*, *Bacteroides*, и *Peptococcus*), које су у симбиози са домаћином и које утичу на имунитет црева и доводе до контролисане инфламације, која успева да спречи размножавање патогених бактерија. Условно патогене бактерије су факултативни аероби (*Enterococcus* и *Enterobacter*) које су безазлене у условима равнотеже, али у одређеним условима могу постати патогене. На крају имамо патогене бактерије (*Prtoeus* и *Pseudomonas*) које се у нормалним условима практично не налазе у цреву. Код болесника са УК је показано да постоји поремећај у саставу ЦМ, тзв. дисбиоза. Дисбиоза подразумева смањену разноврсност, поремећен састав микрофлоре, повећан број патогена или функционални поремећај (измењен метаболизам ЦМ без поремећаја у њеном саставу).

Још увек није потпуно разјашњено да ли је дисбиоза поремећај који настаје први и доводи до инфламације или упални процес црева доводи до дисбиозе. У нормалним условима урођени имунитет и цревна баријера спречавају размножавање штетних бактерија, а одржавају толеранцију ка коменсалним бактеријама. Код дисбиозе долази до размножавања патогених бактерија, оштећења цревне флоре и развоја имуног одговора који доприноси оштећењу цревне баријере и тако се ствара зачарани круг (43,44).

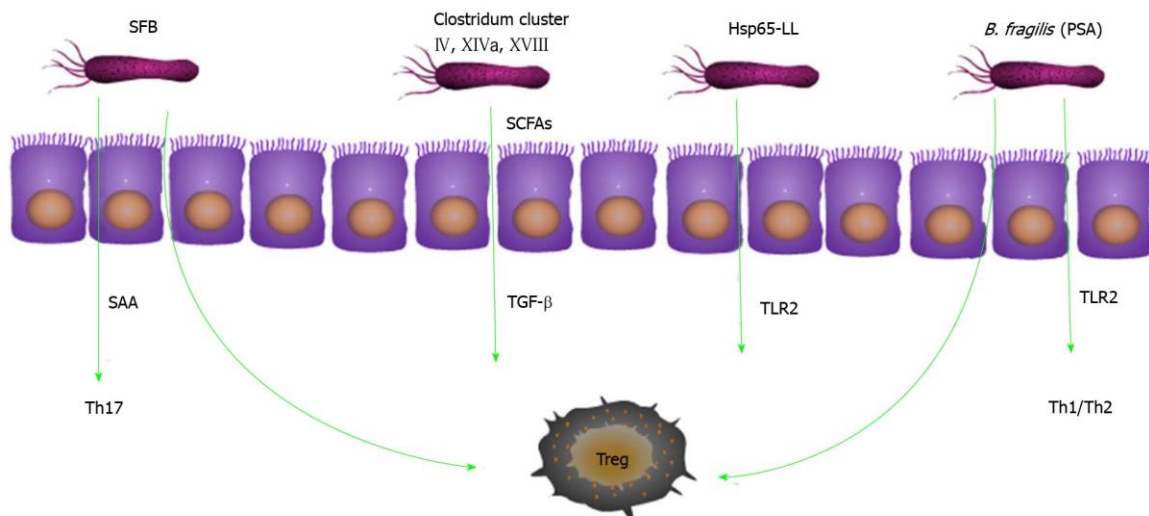
Упоредивана је ЦМ код болесника са ИБЦ и код здравих особа (идентификација врсте бактерија секвенционирањем 16S *rRNA* (*ribosomal RNA*) региона). Нађене су разлике у цревној флори, али покушај да се нађе једна бактерија или група бактерија која разликује микробиоту здраве особе и особе са ИБЦ није успела, али су ипак нађене неке разлике. Постоји превага Грам негативних у односу на Грам позитивне бактерије (делују антиинфламаторно). У УК је за око 25% смањена алфа разноликост бактерија. Постоји смањена алфа и бета разноликост. Болесници са ИБЦ имају мање бактерија из филума *Firmicutes* и *Bacteroidetes*, а више бактерија из филума *Proteobacteria* и *Actinobacteria*.

Више је заступљена породица *Enterobacteriaceae*, нарочито 2 врсте *Enterococcus* и *Escherichia coli*, и породица *proteobacteria* - *Escherichia sp.*, *Helicobacter sp.*, и *Campylobacter sp.*, а мање заступљени родови *Bifidobacterium*, *Prevotella*, *Coprococcus* и *Faecalibacterium prausnitzii*. *Faecalibacterium prausnitzii* (*Firmicutes*) чини 5% нормалне цревне флоре, а преко 10 пута је смањена код болесника са ИБЦ. *Faecalibacterium prausnitzii* и *Roseburia* стварају бутират који игра главну улогу у физиологији црева, одржава цревну баријеру и модулише имуни одговор (инхибира *NF-κB* сигнални пут).

Такође су смањене *Akkermansia muciniphila*, *Roseburia*, *Clostridium coccoides*, *Clostridium leptum clusters* и *Lactobacillus*, које чине 5% цревне микробиоте (45).

Prevotella је важна у одржавању цревне баријере, метаболизму угљених хидрата и продукцији витамина Б1. Фактори спољне средине могу утицати на састав микробиоте и тако и на развој ИБЦ. Није још сасвим јасно да ли је цревна дисбиоза епифеномен, тј. последица упале, или дисбиоза доводи до инфламације, али је доказано да неке бактерије делују проинфламаторно, тако што смањују антиинфламаторне факторе и на тај начин омогућавају превагу инфламаторних стимулуса (46). Болесници са УК имају смањену разноликост бактерија како у егзацербацији болести, тако и у ремисији. Докази да је ЦМ веома важна за настанак ИБЦ су: испитивања на анималним моделима који су „*germ free*“ су показала да није могући изазвати колитис; многи фактори средине као што су антибиотици и западњачка дијета доводе до промене у саставу ЦМ и повећавају инциденцу УК; већина гена који су везани за УК регулише однос између имуног система и ЦМ; податак да фекална трансплантација може увести болест у ремисију, што је нарочито показано у УК. Различите бактерије различито делују на ТЛ, неке доводе до диференцијације у регулаторне ТЛ, неке бактерије индукују *Th1* или *Th2* имуни одговор. Једна те иста бактерија, нпр. *Bacteroides fragilis* може да изазове *Th1* или *Th2* имуни одговор или доведе до диференцирања регулаторних ТЛ. На слици 2 је приказан однос бактерија и ТЛ (47).

Слика 2. Однос између цревне микробиоте и Улцерозног колитиса. Различите бактерије утичу на различиту диференцијацију Т ћелија. *SFB*, штапићасте бактерије; *Hsp65-LL*, *Lactococcus lactis* који ствара *heat shock protein65*; *B.fragilis*, *Bacteroides fragilis*; *SAA*, серум амилоид А, *SCFA*, краткочланчане масне киселине; *TLR*, *Toll-like receptor*; *TGF-β*, трансформишући фактор раста бета; *Treg*, регулаторни Т лимфоцит



За разлику од бактерија, однос између вирусних партикула и ИБЦ није у потпуности разјашњен. Показано је да је број вирусних партикула у мукози колона знатно повишен у активној фази УК, нарочито бактериофага (БФ). БФ су вируси који се умножавају користећи бактерије и на крају доводе до деградације бактерије и ослобађања бројних активних молекула који изазивају инфламацију у цреву. Постоје претпоставке да у ИБЦ долази до повећања броја БФ који уништавају коменсалне бактерије и омогућавају насељавање и размножавање патогених бактерија. У нормалним условима улога БФ је у регулацији бактеријске популације, антиинфламаторном и имуномодулаторном дејству (48,49).

1.3.3. Цревна баријера

Цревна баријера (ЦБ) је састављена од једног реда Ећ и базалне мембране, слоја мукуса који их облаже и припадајућих мезенхималних, дендритичних ћелија, лимфоцита и макрофага. На основу тога је ЦБ подељена на горњу – физичку баријеру (Ећ и мукус) и доњу – функционалну баријеру (ћелије имуног система). Ећ стварају мукус који их облаже и који представља важан део баријере. Ећ настају из стем ћелије (налазе се на дну крипти) и чине их различити подтипови: апсорптивне ћелије, гоблет ћелије, Панетове ћелије, М ћелије, ентероендокрине ћелије (стварају пептидне хормоне који су битни и за одржавање и реституцију баријере) (50). Диференцијација и пролиферација Ећ се одвијају активацијом *Wnt* и *Notch* сигналног пута. Оне су међу собом повезане са интерцелуларним везама које чине селективну баријеру - омогућава апсорпцију састојака хране и макромолекула, а спречава продор микроорганизама, али допушта комуникацију између микробиоте и имуног система црева што има важан утицај на развој имуног система. Ећ су повезане међусобом чврстим везама које се налазе на апикалном крају ћелија, и оне регулишу пропустљивост између ћелија. *TNF- α* (*tumor necrosis factor alfa*) и *interferon- γ* повећавају пропустљивост чврстих веза. Испод чврстих веза налази се адхерентна веза која је повезана са чврстим везама, а испод ње су ћелије повезане са дезмосомима. Чврсте везе чини следећи протеини - *occludin*, *claudin*, *JAM-A* (*junction adhesion molecule-A*) и *CAR* (*coxsackie adenovirus receptor*) који се налазе екстрацелуларно, а интрацелуларни део чине *zonula okcludens* протеини. За одржавање чврстих веза важан је *TGF- β* (*transforming growth factor*) који стварају *Th3* регулаторни ТЛ, што значи да поред улоге у супресији имуног одговора, регулаторни ТЛ су важни и за одржавање цревне баријере. Адхерентна веза је састављена из кадерина који представља трансмембрански део, који је повезан са катенином - интрацелуларним делом (51). Проинфламаторни цитокини доводе до апоптозе Ећ, повећавају пропустљивост између ћелија и доводе формирања ерозија и улцерација.

Мукус стварају гоблет ћелије и код "knockout" мишева за *Muc2* (структурни ген за мукус) мукусни слој је танак и долази до спонтаног развоја колитиса. Слој мукуса који се налази уз Ећ је густ, велике вискозности, садржи поред осталог и *trefoil* пептиде који су веома важни за функцију цревне баријере, без њих нема адекватне вискозности и реституције цревне баријере. Слој мукуса ка лумену црева је нешто мање вискозан и у њему има више бактерија. Гоблет ћелије такође стварају *IL-1* (има имуномодулаторну функцију) и испоручују антиген дендритичним ћелијама. Панетове ћелије стварају антимикробне пептиде (АП) - дефензине, који такође представљају део ЦБ. Поред стварања мукуса и АП, Ећ су важан покретач урођеног имунитета преко својих рецептора *TLR* (*Toll-like receptors*) и *NOD* (*nucleotide-binding oligomerization domain*) рецептора.

Преко *TLR-4* рецептора Ећ препознају липополисахарид, који је главни састојак ћелијског зида Грам – бактерија. Код мутације *TLR-4* гена долази до стимулације *NF- κ B* сигналног пута и развоја инфламације. Коменсалне бактерије модулирају функцију Ећ преко инхибиције *NF- κ B* сигналног пута. Важан медијатор оштећења ЦБ је *IL-13* кога има у изобиљу у крзну слузнице болесника са УК. Колико је ЦБ важна у настанку УК показују и полиморфизми гена који су важни за функционисање цревне баријере који су нађени код болесник са УК: *HNF4 α* (*the nuclear transcription factor, hepatocyte nuclear factor 4 α*) је најважнији ген за стварање чврстих веза између Ећ и код његове слабије експресије долази до дисфункције ЦБ и повећане пропустљивости; *CDH1* ген кодира Е кадериин који представља адхезивни молекул који је важан за пролиферацију и диференцијацију ћелија; *MEP1A* (*meprin 1A*) ген кодира *meprin* који улази у састав четкастог покрива Ећ. Епител дигестивниг тракта има велику могућност репарације - када дође до оштећења ЦБ долази до миграције и пролиферације стем ћелија што доводи

до реституције баријере. За брзу репарацију ЕЋ важан је епидермални фактор раста (52). *IL-22* је јединствени цитокин који делује на ЕЋ, стварају га *Th17* ћелије и *NK* ћелије и доводи до пролиферације и регенерације ЕЋ.

ЕЋ и Панетове ћелије стварају дефензине и бактериолитичке ензиме који штите мукозу и крипте које садрже интестиналне стем ћелије од инвазије микроорганизама. *Trefoil* пептиде стварају пехарасте ћелије а они учествују у стварању четкастог покрива ЕЋ, модулирају имуни одговор интестиналне мукозе, стабилизују мукусни слој и важни су за реституцију ЦБ. ЕЋ представљају непрофесионалне антиген презентујуће ћелије, које не експримирају класичне костимулаторне молекуле, већ *MICA*, *CD1d* преко којих могу у нормалним условима да стимулишу регулаторне *CD8+* ТЛ који доводе до феномена оралне толеранције (луминални антигени доводе до супресије имуног одговора). М ћелије немају на својој површини микровиле што им омогућава да буду у директном контакту са цревним садржајем и цревним антигенима. М ћелије преузете антигене преносе директно до ТЛ и Б лимфоцита који се налазе на базолатералној страни М ћелија. Сматра се да је код болесника са УК доминантан цитокин *IL-13* који доводи до оштећења цревне баријере, пре свега чврстих веза, повећаном експресијом *claudina 2*.

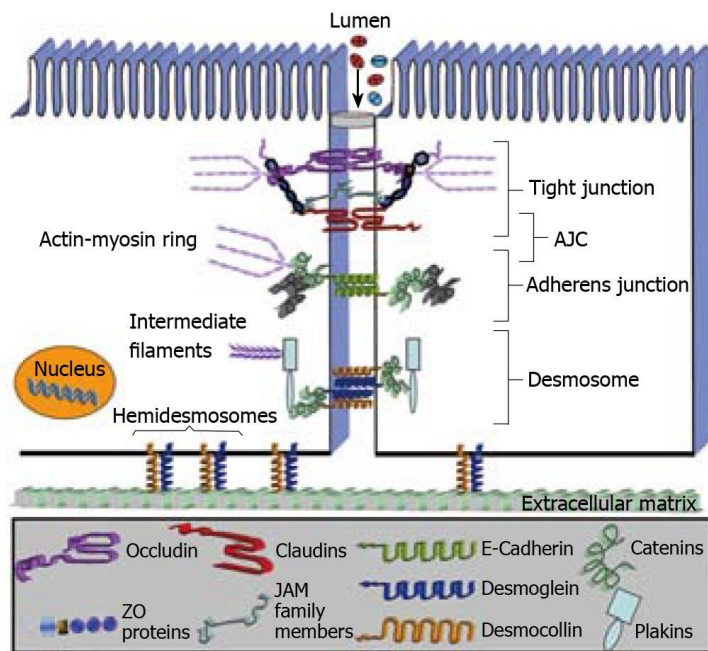
Сматра се да је губитак ЕЋ апоптозом преко *FAS* лиганда или преко *TNF-α* најважнији за слом ЦБ (53). Пропустљивост ЦБ је мерена преко пропустљивости за одређене молекуле или преко електричне проводљивости која рефлектује епителну пропустљивост за јоне. У експериментима је показано да мерење електричне проводљивости добро корелира са степеном оштећења цревне баријере и са патохистолошким налазом. Што је веће оштећење то је и већа електрична проводљивост.

У деловима колона где постоји мали степен инфламације или само апоптоза ЕЋ постоји мањи степен повећања електричне проводљивости у односу на нормално ткиво.

На местим где постоје криптапсици, ерозије или улцерације долази до значајног повећања електричне проводљивости, до 300%. Чак и на местима где нема видљивог оштећења слузнице колона или велике инфламације нађена је повећана електрична проводљивост која је добро корелирала са апоптозом ЕЋ, што је још једном потврдило да апоптоза ЕЋ представља важан фактор у оштећењу ЦБ (54).

На слици 3 приказане су везе између епителних ћелија црева.

Слика 3. Везе између епителних ћелија црева



1.3.4. Имуни систем црева

Однос између ЦМ и домаћина је користан за обе стране. ЦМ доводи до сазревања имуног система црева и развоја метаболизма стварањем витамина, разлагања угљених хидрата и краткочланчаних масних киселина (КМК). Са друге стране домаћин обезбеђује простор за развој ЦМ и обезбеђује јој неопходне нутриенте. Прву баријеру чине Ећ и мукус. Поред њих Панетове ћелије стварају антимикуробне пептиде: алфа дефензини, *RegIII* који представљају важан део баријере и значајно утичу на састав микробиоте. Ећ не представљају само физичку баријеру већ могу да представљају и антиген презентујуће ћелије и могу да покрену урођени имуни одговор, ставрањем цитокина и хемокина. Ећ преко *TLR* и *NOD2* рецептора препознају стране антигене и стварају цитокине и хемокине да би покренуле урођени имунитет (55). Посебна врста Ећ су М ћелије које се налазе изнад Пајерових плоча и директно презентују антиген лимфоцитима да би покренули имуни одговор. Имуни систем црева је сконцентрисан у 3 одељка - епител црева, крзно слузнице и Пајерове плоче (ПП). Између Ећ налазе се интраепителни лимфоцити (ИЕЛ) који утичу на састав цревне баријере, стварају *IL-22* када су активирани који је важан за пролиферацију Ећ. Дендритичне ћелије се налазе у крзну слузнице и пружају своје цитоплазматске продужетке између Ећ и представљају главне антиген презентујуће ћелије и тако усмеравају развој наивних Т лимфоцита (ТЛ).

У нормалним условима оне доводе до развоја регулаторних ТЛ који су битни за смиривање упале и спречавање аутоимуности. У крзну слузнице се налазе ТЛ и Б лимфоцити (БЛ) који покрећу стечени имуни одговор у цреву. Сазревање БЛ се одиграва у ПП, ту се незрели БЛ упознаје са својим антигеном и сазрева у активирани Б ћелије и плазмоците који стварају секреторни IgA који је важан део баријере (56,57). Однос између ЦМ и имуног система црева и системског имунитета је динамичан и зависи од фактора спољне средине, од којих је најважниј начин исхране.

Састав микробиоте није исти код мршавих и гојазних особа, код особа које имају ИБЦ/реуматоидни артритис/псоријазу/екзем у односу на здраве особе. Код здравих особа микробиота се састоји од 4 групе бактерије: *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* и *Actinobacteria* (58). Дисбиоза доводи до поремећаја равнотеже између регулаторних и проинфламаторних лимфоцита, што води настанку различитих болести за које се данас сматра да настају улсед цревне дисбиозе код генетски предиспонираних особа под утицајем фактора спољне средине. За развој УК није довољно да постоји само генетска предиспозиција јер су студије са монозиготним близанцима показале конкорданцу у само 16% случајева. То је указивало да фактори средине утичу на дисбиозу која доводи до упалног процеса у зиду црева и деструкције цревне баријере, што потом доводи и до поремећаја системског имуног одговора. Код болесника са ИБЦ долази до смањења коменсалних бактерија као што су *Firmicutes* и *Bacteroidetes*, а повећања броја *Proteobacteria* и *Actinobacteria* (59). Услед порећења састава ЦМ она више није стабилна и не може да се адаптира на промене из спољне средине и не може да се брани против других бактерија. Код болесника са ИБЦ долази до поремећаја у равнотежи КМК, које нису само извор хране за Ећ већ утичу и на развој регулаторних ТЛ. Липополисахарид из зида грам негативних бактерија може изазвати имуни одговор у цреву. *Bacteroides fragilis* доводи до развоја *Foxp3+* ТЛ који стварају антиинфламаторне цитокине. *Enterobacterium* стимулише БЛ да стварају секреторни IgA (60). Гастроинтестинални тракт представља најкомпликованији имуни орган у телу, где један ред епителних ћелија и ћелије урођеног имунитета сарађују са цревном микробиотом, на обострану корист. Цревна баријера је селективна, дозвољава пролаз нутритивних молекула а спречава пролаз микробних антигена. Ћелије које су део имуног система црева су јединствене по својој функцији и фенотипу, нпр. активација зрелих ТЛ не зависи од костимулаторних молекула, тј. они на својој површини немају *CD28*, који

везује *B7-1* и *B7-2* и обезбеђује други сигнал за активацију. Имуни систем црева функционише тако да у контакту са антигеном доводи углавном до толеранције, захваљујући регулаторним ТЛ. Без контакта са микробиотом нема правилног развоја имуног система црева. За диференцијацију *Th17* ТЛ неопходан је контакт са бактеријом *Candidatus arthromitus*. Развој цревне флоре је најинтензивнији у првих неколико година живота, када такође сазрева и имуни систем црева (61,62). *NKT* ћелије на својој површини имају маркер за *NK* ћелије и рестрикован Т ћелијски рецептор.

Постоји неколико подтипова, а за УК су најважније *iNKT* ћелије које се налазе у крзну слузнице и које луче *IL-13*. Оне експримирају *invariant TCR α* ланац који препознаје липидне антигене у склопу *CD1d*. Активација *iNKT* ћелија се одвија преко *CD1d* и *CD40/CD40L* костимулаторних молекула. Постоји и други пут активације *iNKT* преко цитокина *IL-12/IFN α* које стварају дендритичне ћелије након *TLR* стимулације липополисахаридом. Показано је да се у слузници мишева коју су "*germ-free*" накупљају *iNKT* ћелије, али ако дође колонизације са микроорганизмима долази до нестанка *iNKT* ћелија из слузнице што показује како микробиота утиче на упални процес (63,64, 65). Поједине бактерије из рода *Clostridium* су битне за развој *CD4CD25* регулаторних ТЛ.

Дијета такође утиче на развој имуног система црева. Састојци хране из породице купуса који делују као *AhR* (*aryl hydrocarbon receptor*) агонисти битни су за развој интраепителних лимфоцита који су на првој линији одбране. Када нема *AhR* лиганда нема развоја интраепителних лимфоцита и постоји изражена склоност ка упалном процесу.

Недостатак триптофана, витамина Д и А такође доводи до повећане склоности ка развоју колитиса (66,67). Гоблет ћелије стварају мукус који се у колону састоји од 2 слоја, гушћем слоју који је у директном контакту са ЕЋ, и спољашњег слоја који је мање густ.

Код генетске делеције *Muc2*, који кодира муцин, долази до спонтаног колитиса. У развоју УК такође дорпиносе стрес ендоплазматског ретикулума (СЕР) и поремећај аутофагије.

Код оба процеса долази до нагомилавања протеина у цитоплазми ћелије што је нарочито важно код секреторних ћелија, као што су Панетове ћелије (ПЋ), које се нормално не налазе у колону, али код инфламације долази до ПЋ метаплазије и присуства ПЋ у колону. Неколико СЕР удуржених гена су повезани са настанком ИБЦ: *ORMDL3*, *XBP166* и *AGR2* (68,69). У одбрани слузнице важну улогу имају макрофаги, дендритичне ћелије (ДЋ) и скорије откривене урођене лимфоидне ћелије (УЛЋ). У нормалним условима се у крзну слузнице највише налазе макрофаги са експресијом рецептора за хемокин *CX3CR1*. Код недостатка *CX3CR1* долази до смањеног броја макрофага у крзну слузнице и повећане транслокације бактерија преко цревне баријере и развоја тежег облика колитиса. У нормалним условима макрофаги у цреву не експримирају *CD14*, задржавају фагоцитну функцију и стварају *IL-10* који доводи до диференцијације регулаторних ТЛ, а врше супресију проинфламаторних дендритичних ћелија и диференцијације *Th17* лимфоцита. То значи да они спречавају развој изражене инфламације и инфлукс антигена кроз цревну баријеру (71). Код упалног просеца долази до присуства *CD14* позитивних макрофага који стимулишу инфламацију и стварају доста проинфламаторних цитокина *IL-23*, *TNF- α* , *IL-17*. *CD14* + макрофаги су највећи извор *TNF- α* у УК. Анти *TNF- α* антитела доводе до поновоног присуства *CD14* негативних макрофага, вероватно путем апоптозе *CD14* позитивних макрофага (72). ДЋ су доминантно антиген презентујуће ћелије које доводе до диференцијације наивних ТЛ. За развој хомеостазе црева најважније су *CD103* позитивне ДЋ које доводе до диференцијације регулаторних ТЛ. За разлику од њих, ДЋ које експримирају рецептор за Е кадериин имају проинфламаторне карактеристике, експримирају *TLR* и стварају *IL-6*

и *IL-23* након активације (73,74). УЛЋ су лимфоцити који немају ни Б ни Т ћелијски рецептор.

Ове ћелије су откривене у последњој декади и сматра се да играју фундаменталну улогу у цревној баријери, тако што утичу на ремоделовање ткива и упалу. Постоје 3 групе УЛЋ. Прва група ствара *IFN γ* и укључује и *NK* ћелије. Друга група ствара *Th2* цитокине, *IL-5*, *IL-13*, трећа група ствара *IL-17*, *IL-22*. Све 3 групе су сличне одговарајућим *T helper* лимфоцитима, редом *Th1*, *Th2* и *Th17*. Друга група УЛЋ ствара *IL-5* и *IL-13* који представљају цитокине типичне за УК. Није јасан однос УЛЋ тип 2 и *CD1d*-рестрикованих *iNKT* ћелија. Трећа група УЛЋ, које су *NCR* позитивне, је важна за развој ПП и одбрану слузнице и зову се гранична патрола, јер стварају *IL-22* чији се рецептор налази на ЕЋ и важан је за пролиферацију ЕЋ, а самим тим и за реституцију цревне баријере. *IL-22* делује заштитно на развој експерименталног колитиса. Међутим под дејством *IL-12*, *IL-23* из макрофага и ДЋ, трећа група УЛЋ поприма проинфламаторну улогу и стварају *IFN γ* који доводи до инфламације (75,76).

Осим поремећаја урођеног имунитета, код болесника са УК долази и до поремећаја стеченог имунитета. Долази до појаве *Th17* лимфоцита који стварају *IL-17*, који је у одрђеној концентрацији важан за одбрану од бактеријске и гљивичне инфекције, а у већој концентрацији у слузници црева се налази код болесника са ИБЦ. Број *Th17* ТЛ се повећава на рачун смањења регулаторних ТЛ, тј. ове 2 групе ћелија су у инверзном односу. *Th17* лимфоцити настају под дејством *IL-6*, *IL-23*, а реципрочно је смањен број регулаторних Т лимфоцита (77). *F. prausnitzii* је највише заступљена бактерија у цревној флори, од 6-20% од укупног броја бактерија, ствара бутират који делује као извор енергије за интестиналне ЕЋ, повећава продукцију *IL-10* који делује антиинфламаторно, доводи до сазревања регулаторних ТЛ, инхибира *NF-κB* сигнални пут и *IL-8*. Сви ти ефекти имају један циљ – доводе до толеранције на нивоу имуног система црева. Код болесника са УК присутан је мањи број ове бактерије, који се одржава на том нивоу и након патохистолошке ремисије болести.

Постоје 2 подтипа ове бактерије, тип 1 који је више заступљен код здравих особа од типа 2, и тип 2 који се више налази код особа са УК у односу на тип 1 (78). Од рода *Clostridia* 3 врсте су важне за УК: *C. difficile*, *Clostridium coccoides*, and *Clostridium leptum*.

За разлику од *C. difficile* која ствара токсин и доводи до псеудомембранозног колитиса и погоршава УК, друге 2 бактерије су део нормалне цревне флоре и такође дорпиносе развоју толеранције на нивоу имуног система црева (79). Родови *Bacteroides* и *Bifidobacterium*, такође спадају у нормалан састав цревне микрофлоре, делују на имуни систем тако што доводе до развоја регулаторних ТЛ и спречавају развој упалног процеса.

E. coli спада у коменсалне бактерије и повезана је са настанком и погоршањем УК. Број ове бактерије је значајно повећан код болесника са УК, али углавном у активној фази болести. За *Fusobacterium*, *Helicobacter pylori*, *Roseburia hominis*, *Listeria monocytogenes*, *Eubacterium rectale* још увек није разјашњена улога у настанку / прогресији УК. Показано је да Витамин Д утиче на састав цревне микробиоте, функционалност цревне баријере и на имуни систем црева-одговор на интестиналну микрофлору (80,81).

1.3.5. Фактори спољне средине

Познато је да је појава ИБЦ најчешћа у развијеним земљама, док је у земљама у развоју и неразвијеним земљама учесталост нижа, и поред присуства генетске предиспозиције, што само показује да генетска предиспозиција није довољна за настанак ИБЦ. Деца особа које мигрирају из земаља у развоју у развијене земље чешће развијају ИБЦ у односу на децу која остају у земљама у развоју, нарочито прва генерација деце, што опет показује да су фактори средине веома важни у настанку ИБЦ.

У неким земљама, као што су Индија и Кина, бележи се константан пораст броја оболелих од ИБЦ, што је повезано са индустријализацијом земље и променом у навикама у исхрани (82). Постоји више теорија које су покушале да објасне како фактори средине утичу на цревну микробиоту и имуни систем црева, а најприхваћенија је хипотеза о хигијени. По овој хипотези се пораст имунолошких поремећаја везује за смањено излагање цревним антигенима у раном детињству, због повећане хигијене и побољшаних санитарних услова. Због тога се касније у животу, приликом упознавања са новим антигенима развије неадекватан имуни одговор који доводи до развоја болести. Испитивани су следећи фактори у склопу ове хипотезе:

1) *Helicobacter pylori* – инфекција овом бактеријом се дешава рано у детињству, а мета анализа 23 студије је показала негативну корелацију *Helicobacter pylori* инфекције и учесталости ИБЦ, што је објашњено тиме да долази до појачане експресије *FOXP3* гена и развоја регулаторних ТЛ.

2) Величина породице и број деце. У већим породицама, где има више деце, већа је вероватноћа да ће дете доћи у контакт са различитим ентеричним антигенима и да ће доћи до правилног развоја имуног система црева, што смањује ризик за настанак УК.

Такође је показано да је пацијент са ИБЦ одгајан у породици са више старије деце.

3) развијеност друштва – подаци нису конзистентни, неке студије су показале да су ИБЦ чешће у насељенијим друштвима, а да развијеност друштва нема пресудан утицај на развој ИБЦ. Друге студије то нису потврдиле, неке су чак доказале супротно. У развијенијим друштвима веће је и аерозагађење што повећава ризик за настанак УК (83,84).

Специфични фактори ризика за ИБЦ:

1) Пушење је један од најраније описаних фактора ризика, недвосмислено је показано да пушачи имају мање шансе да развију УК, а непушачи и бивши пушачи имају веће шансе. Битан је и борј цигарета, зато код пасивног пушења нема тог заштитног ефекта на развој УК. Не зна се тачан механизам којим цигарете штите од УК, могуће је преко никотинских ацетилхолинских рецептора који се налазе на ЕТ и на ТЛ, смањење *TNF alpha* и *IL-8*, а повећање *IL-10*. Могуће је да никотин директно делује на ТЛ (85). Према неким подацима пушачи имају бољи одговор на одређену терапију него непушачи.

Пушачи имају блажи ток болести од непушача, мањи број хоспитализација, мање потребе за укључивањем кортикостероида, мањи ризик за релапс болести. Покушај коришћења никотина у терапијске сврхе за УК није успео, а и парадокс је да је у земљама са највећом инциденцом УК већа учесталост пушења него у земљама са мањом инциденцом УК. Особе које престану да пуше имају велики ризик за развој УК, нарочито у првој години од престанка пушења (86).

2) Апендектомија: постоји јасна негативна корелација између апендектомије и развоја УК, нарочито ако је апендектомија извршена пре 10. године живота. Апендикс служи као резервоар за бактерије, апендицитис је посредован Th1 имуним ћелијама, а у УК је посредован Th2 имуним ћелијама (87,88).

3) Орални контрацептиви: нема много података, али естроген у склопу оралних контрацептива може да повећа учесталост ИБЦ, више КБ, јер он појачава имуни одговор (89).

4) Дијета: начин исхране има велики утицај на развој ИБЦ. То је нарочито показано великим порастом инциденце ИБЦ у Азији напуштањем старог начина исхране и усвајањем тзв. западњачке дијете (смањен унос влакана, а повећан унос готове хране и хране са доста масти). Висок унос влакана, укључујући воће и поврће има заштитну улогу за настанак УК, мада подаци нису конзистентни. Повећан унос арахидонске киселине и линолеинске киселине повећава ризик од развоја УК, док омега 3 незасићене киселине делују протективно на развој УК. Висок унос масти, засићених и

мононезасићених, индустријски спремљене хране, има позитивну корелацију са развојем УК. Висок унос угљених хидрата и анималних протеина није јасно означен као фактор ризика за УК. Није још увек потврђено да ли одређена храна може довести до погоршања болести, након периода ремисије. Гојазне особе са УК имају већи ризик од колектомије него особе са нормалном телесном масом (90,91,92,93).

5) Антибиотици: повећано излагање антибиотцима у детињству ремети развој имуног система црева и развој толеранције према цревним микроорганизмима. Од групе антибиотика важнија је укупна доза коју је пацијент примио. Коришћење антибиотика у првој години живота код болесника са ИБЦ је 58% у односу на 39% код здраве популације (94).

6) Дојење: резултати нису јединствени, али дојење ипак смањује ризик за настанак УК (95).

7) Нестероидни анти-инфламаторни лекови (НСАИЛ) – њихово коришћење доводи до оштећења цревне баријере, повећања пропустљивости цревне баријере и самим тим повећане склоности ка развоју ИБЦ, више КБ. Регуларно узимање Аспирина 6 пута повећава ризик од настанка КБ али не УК. Битни су доза и време узимања НСАИЛ. Нема још увек много података о дејству НСАИЛ на особе са постављеном дијагнозом ИБЦ, али постоје студије на малом броју болесника које сугеришу да дужом употребом НСАИЛ код болесника са ИБЦ долази до погоршања болести (96,97).

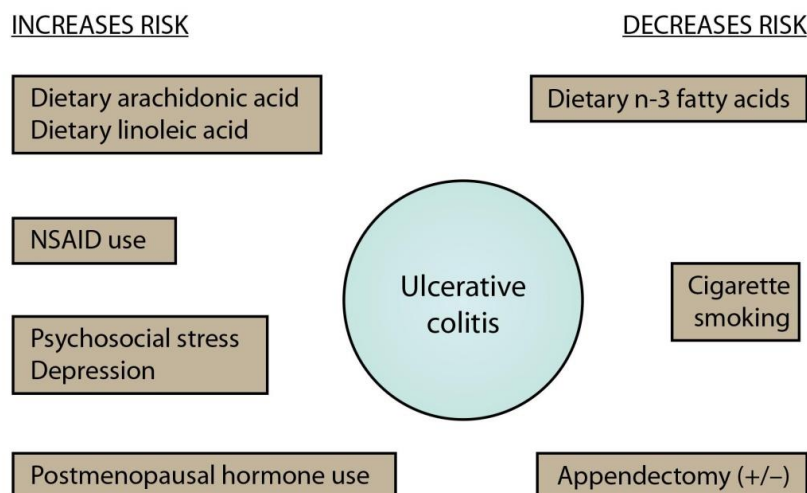
8) Паразити – инфестација паразитима има важну протективну улогу у настанку УК, јер паразити чине важан део цревне микорбиоте и доводе до стварања *IL-10* који делује антиинфламаторно, повећавају број регулаторних ТЛ, изазивају Th2 имуни одговор, што је супротно Th1 имуном одговору у УК (98,99).

9) *Clostridium difficile* инфекција је чешћа код особа са УК и повећава морбидитет и морталитет код тих болесника. Око 40% болесника који су хоспитализовани због погоршања УК је имало инфекцију са *Clostridium difficile*. Неке студије су показале да је ризик од колектомије код болесника са УК већи код погоршања болести и инфекције са *Clostridium difficile* (100).

10) Стрес, депресија, поремећај спавања: подаци нису конзистентни, али се сматра да и акутни и хронични стрес играју важну улогу у настанку ИБЦ. Депресија такође повећава ризик од настанка ИБЦ. Стрес игра важну улогу у погоршању УК и може довести до релапса болести и после дугог периода ремисије (101,102).

11) Витамин Д: поред свог дејства на метаболизам калцијума, фосфора витамин Д делује и на имунитет, нарочито на урођени имунитет, повећавајући број НК ћелија. Витамин Д остварује свој ефекат везивањем за витамин Д рецептор (ВДР) и испољава антиинфламаторно дејство. „*Knockout*“ мишеви за ВДР стварају више инфламаторних цитокина и имају већу склоност да развију колитис. Испитивање полиморфизма гена за рецептор за витамин Д је дало опречне резултате за настанак ИБЦ. Надокнада витамина Д доводи до смањења броја релапса УК (103,104,105). Фактори средине важни за настанак УК приказани су на слици 4.

Слика 4. Фактори средине важни за настанак Улцерозног колитиса



1.3.6. Цитокини у УК

Цитокини су секреторни протеини мале молекулске масе (најчешће до 80 *kDa*) који имају важну улогу у ћелијском расту, диференцијацији и активацији, регулишући и одређујући природу имуног одговора. Стварају их многе ћелије, један цитокин могу стварати више различитих ћелија и може имати више различитих функција (плејотропизам), више различитих цитокина може имати исту или сличну функцију, могу деловати синергистички или антагонистички, један цитокин може изазвати секрецију другог цитокина или може деловати на експресију цитокинских рецептора. Делују преко својих рецептора на циљним ћелијама (аутокринно, паракринно или путем крви) активацијом сигналних путева, и за разлику од хормона, луче су у малој концентрацији.

Веома су важни за функцију имуног система, инфламацију, репарацију, хематопоезу, пролиферацију. Структурно се могу поделити у 4 групе: хематопоетини, интерферони, хемокини, *TNF* група (106). У УК цитокине стварају највише ћелије имуног система црева. Имају кључну улогу у координацији имунских и неимунских ћелија у цреву и модификују акутни или хронични упали процес, локално (у крзну слузнице) и системски.

У УК долази до губитка толеранције на интралуминалне антигене и коменсалну флору и развоја имунолошког одговора који има кључну улогу у покретању, појачавању и одржавању болести. Цитокини имају важну улогу у ИБЦ – стварање упалних медијатора, *NO* (азот моноксид), леукотриена, фактора активације тромбоцита, активирају *NF-κB* пут, инхибирају апоптозу. Неки од њих делују преко *JAK-STAT* сигналног пута. Раније се сматрало да УК спада у *Th2* посредовану болест, тј. да у слузници црева и у крви доминирају *Th2* цитокини – *IL-4,5,13*. Међутим у последњој декади, након интензивних испитивања, дошло се до сазнања да УК карактерише атипични *Th2* и *Th9* имуни одговор (нема *IL-4*, а има *IL-13* и *IFN-γ*), а да однос између ефекторних и регулаторних ћелија утиче на цитокински профил. Тај однос зависи од активације Ећ, степена развоја урођеног имуног система, фазе упале – акутна или хронична, терапије (107).

1. *TNF-α* је типични проинфламаторни цитокин кога стварају макрофаги и АПћ, који доводи до стварања *IL-1β*, *IL-6* и експресије адхезивних молекула, инхибиције апоптозе, активира неутрофиле, макрофаге. Серумски ниво *TNF-α* корелира са *CRP*, *SE*, активношћу болести.

2. *IL-1 β* стварају моноклеарни фагоцити, ендотелне ћелије и многе друге ћелије, активира ТЛ тако што повећава експресију *IL-2R*, стимулише стварање реактаната акутне фазе упале у јетри. Поред тога има многе сличне функције као *TNF- α* и повишен је у серуму болесника са УК.
3. *IL-6* је проинфламаторни цитокин, ствара се у активној фази болести, стварају га многе ћелије, највише макрофаги у крзну слузнице. Најважнији је цитокин који доводи до стварања протеина акутне фазе упале, укључујући и *CRP*. Повишене вредности у серуму и ткиву колона су нађене код болесника са УК (108).
4. *IL-8* спада у група хемоатрактаната, стварају га многе ћелије и за разлику од других цитокина који делују на више ћелија, он делује на неутрофилне гранулоците и привлачи их на место инфламације. У одличној је позитивној корелацији са активношћу болести.
5. *IL-10* је антиинфламаторни цитокин кога стварају Т и В лимфоцити и доводи до смањења продукције *IL-1 β* , *IL-6* и *TNF- α* . Његова концентрација је повишена код болесника са УК, у крви и локално у дебелом цреву.
6. *IL-4* и *TGF- β* спадају у антиинфламаторне цитокине. Ниво *IL-4* је снижен у УК што указује на губитак равнотеже између про и анти инфламаторних цитокина у корист инфламаторних цитокина. *TGF- β* је инхибитор *Th1* и *Th2* диференцијације и активности НК ћелија, делује на многе ћелије, симулише фиброзу преко повећаног стварања екстрацелуларног матрикса. Важан је за диференцијацију *Th17* and *IL-9*–продукујућих *Th2* лимфоцита (*Th9* лимфоцити) и на тај начин има проинфламаторно дејство. Иако он на системском нивоу делује антиинфламаторно, на локланом нивоу он делује проинфламаторно, веома је важан за ткивну репарацију и сматра се да има битну улогу у зарастању слузнице у УК. Ниво *TGF- β* у УК је повишен, стварају га моноклеарне ћелије. У неким радовима је показано да је његов ниво у ткиву колона снижен, код УК (109).
7. Централну улогу у УК има *IL-13*, кога стварају моноклеарне ћелије у крзну слузнице и који је значајно повишен код тих болесника. Показано је да су главни извор *IL-13*, *iNKT* ћелије које експримирају *CD161* на својој површини, након антиген презентације од стране *CD1d* позитивних ћелија. Поред *iNKT* ћелија *IL-13* стварају и УЛЋ тип 2. Рецептори за *IL-13* се налазе на ЕЋ колона. *NKT CD161+* ћелије делују цитотоксично на ЕЋ што је посредовано преко *IL-13*, оштећују цревну баријеру, а *IL-13* доводи и до апоптозе ЕЋ колона и оштећења чврстих веза између ЕЋ, успорава репарацију слузнице, повећава цитотоксичност НК ћелија. На површини *NKT* ћелија се налази рецептор за *IL-23* и повишене вредности овог интерлеукина смањују концентрацију *IL-13*, мада није сасвим јасно којим путем и који улогу има *IL-23* у УК, осим да је важан за диференцијацију *Th17* лимфоцита.
8. Недавно је откривен *TL1A (TNF-like cytokine 1A)* који везујући се за *DR3* рецептор (*TNF- α* рецептор на ТЛ) (*TL1A/DR3* пут) обезбеђује костимулаторни сигнал за активацију ТЛ, што води пролиферацији ТЛ и инфламацији, а такође изазива апоптозу ЕЋ, преко *FAS/FASL* пута. Апоптозу блокира *DcR3 (decoy receptor 3)*, солубилна форма *DR3* чија је експресија повишена у активној фази УК и који постоји само у солубилној форми. *DcR3* се може наћи у крви и представља маркер активности болести, јер се не детектује у фази ремисије УК. Показана је повећана експресија *DR3* у крзну слузнице на лимфоцитима и *NKT* ћелијама. *TL1A/DR3* пут такође доводи до повећане продукције *IL-13* из *NKT* ћелија. *TNF- α* и *IL-1 α* доводе до повећаног стварања *TL1A*, а такође АПЋ стварају *TL1A* након стимулације од стране микробиоте, што је зависно од *TLR*. Доказани су и полиморфизми гена за *TL1A (tnfsf15)* и *DcR3 (tnfrsf6b)* који су удружени са повећаном инциденцом УК (110).
9. *IL-33* се везује за свој рецептор *ST2*, који се налази на површини ЕЋ, фибробласта, ендотелним ћелијама, ТЛ, БЛ. *IL-33/ ST2* доводи до повећаног стварања *Th2* цитокина,

IL-5 и *IL-13*. *IL-33* стварају *CD11+* моноцити, миофибробласти и адипоцити, након стимулације са *TNF- α* . *IL-33* делује проинфламаторно и координира између Ећ и лимфоцита. Вредности *IL-33* су повишене у УК, у крви и ткиву, заједно са *ST2*. Солубилна форма *ST2* је одличан маркер активности УК.

10. *IL-36* је повишен у мукози болесника са УК, стварају га ТЛ и моноцити, појачава инфламацију, али и такође убрзава репарацију мукозе.

11. *IL-17* је повишен у серуму болесника и ткиву дебелог црева код болесника са УК, али значајно мање него у КБ. Стварају га *Th17 CD4* позитивни Т лимфоцити, чија улога у патогенези УК није до краја јасна. *Th17* лимфоцити су важни за процес инфламације и заштитни одговор на екстраћелијске патогене и они не стварају класичне *Th1/2* цитокине. За њихов настанак су битни *TGF- β* и *IL-6*, а обзиром да је и за регулаторне ТЛ битан *TGF- β* , постоји “јинг јанг” ефекат између ове две групе ТЛ, што зависи од fine равнотеже између *TGF- β* и *IL-6*. *IL-17* доводи до стварања проинфламаторних цитокина као што су *TNF- α* , *IL-1 β* и *IL-6*, хемокина и матрикс металопротеиназа. *IL-17* остварује свој ефекат преко својих рецептора и активирањем *NF- κ B* сигналног пута (111,112). У табели 1 су приказани најважнији цитокини у УК.

Табела 1. Главни цитокини у Улцерозном Колитису

Цитокини	Експресија у УК	Ћелијски извор	Значај у патогенези УК
<i>TNF-α</i>	↑	Макрофаги	Про-инфламторно, урођени имунитет
<i>IL-6</i>	↑	Макрофаги Дендритичне ћелије	Про-инфламторно, урођени имунитет, <i>Th17</i> пут
<i>IL-1β</i>	↑	Макрофаги	Про-инфламторно, урођени имунитет
<i>IL-5</i>	↑	<i>CD4+</i> Лимфоцити	<i>Th2</i> , про-инфламторно, стечени имунитет
<i>IL-13</i>	↑	<i>NKT (CD161+)</i>	<i>Th2</i> , про-инфламторно, дисрупција епителне баријере
<i>IL-17</i>	↑	<i>CD4+</i> Лимфоцити	<i>Th17</i> пут, про-инфламторно
<i>IL-18</i>	↑	Антиген презентејуће ћелије	Про- и анти-инфламаторно
<i>IL-8</i>	↑	Епителне ћелије	Хемотакса неутрофила
<i>IL-33</i>	↑	Епителне ћелије, моноцити, Миофибробласти, адипоцити	Индукција <i>Th2</i> цитокина
<i>TL1A</i>	↑	Антиген презентејуће ћелије, лимфоцити, плазма ћелије	Костимулација лимфоцита, про-инфламторно
<i>TNF-α</i> , tumor necrosis factor alfa; <i>IL</i> , interleukin; <i>TL1a</i> , <i>TNF</i> -like cytokine 1A; <i>NKT</i> – natural killer T cells; УК, улцерозни колитис.			

1.3.7. *P-selectin*

Миграција или рекрутмент леукоцита, у ткиво црева, доминантно у крзно слузнице, је централни и најважнији догађај у развоју упалног процеса у склопу УК. Да би инфламаторне ћелије могле да пређу из крви у мукозу црева, неопходни су адхезивни молекули који омогућавају контакт између леукоцита и тромбоцита са ендотелним ћелијама. Миграција запаљенских ћелија је вишестепени процес који обухвата котрљање, адхезију и трансендотелну миграцију (емиграција) леукоцита (113,114). У адхезивне молекуле спадају селектини и њихови рецептори/лиганди, интегрини и суперфамилија имуноглобулина. Постоје 3 различита селектина: *L-selectin* који се налази на леукоцитима, *P-selectin* и *E-selectin* који се налази на ендотелним ћелијама. *P-selectin* се налази само на површини активираних ендотелних ћелија и тромбоцитима. Ускладиштен је у алфа гранулама тромбоцита и *Weibel-Palade-ovim* телашцима у ендотелним ћелијама. Након активације тромбоцита долази до експресије *P-selectin-a* и стварња агрегата са леукоцитима, а након активације ендотелних ћелија долази до експресије *P-selectin-a*, за мање од 1 минута, и везивња за активираних гранулоците, моноците, лимфоците и *NK* ћелије, након чега започиње миграција. До експресије *P-selectin-a* доводе хистамин, тромбин, *ADP* (adenosine-diphosphate), *TNF-α*, слободни радикали, адреналин (115,116).

Након тога долази или до рециклирања *P-selectin-a* унутар ћелије или до његовог ослобађања са површине ћелије у плазму – солубилна форма (*sP-selectin*). У последње време регистроване су солубилне форме и других адхезивних молекула, које могу да служе и као маркер активности ИБЦ. Главни извор *sP-selectin-a* су тромбоцити, мање ендотелне ћелије. У нормалном цреву постоји само спорадична експресија *P-selectin-a* на површини ендотелних ћелија и то углавном у посткапиларним венулама са високим ендотелом. Такође је показано да код особа са УК, у делу црева које није захваћено болешћу и које се налази уз оболели део црева нема појачане експресије *P-selectin-a*. Што је израженија инфламација то је и експресија *P-selectin-a* већа, што показује да је његова експресија важна за рекрутмент леукоцита (117). Важност експресије *P-selectin-a* у миграцији леукоцита огледа се у томе што његову експресију прати експресија *ICAM-1* (*intercellular adhesion molecule-1*) који је важан за друге 2 фазе миграције, али његова експресија није тако драматична као експресија *P-selectin-a*. Такође је потврђена и повећана концентрација солубилне форме *ICAM-1*, што индиректно говори у прилог да је *sP-selectin* важан маркер активности УК. Селектини се везују за њихове лиганде на површини ћелија: *GlyCAM-1*, *CD34*, *podocalyxin-like protein 1 (PCLP1)*, *P-selectin glycoprotein ligand-1 (PSGL-1)*, *CD24*, и *E-selectin ligand-1 (ESL-1)*. Селектини су важни за прву фазу миграције – котрљање. Након тога интегрини и суперфамилија имуноглобулина су неопходни за адхезију и трансмембранску миграцију леукоцита. У Табели 2 су приказани најважнији адхезивни молекули и њихови лиганди (118,119).

Табела 2. Адхезивни молекули и њихови лиганди. *ICAM*, intercellular adhesion molecule; *VCAM*, vascular cell adhesion molecule; *MAdCAM*, mucosal addressin cell adhesion molecule; *ESL-1*, E-selectin ligand-1; *PSGL-1*, P-selectin glycoprotein ligand-1; *PECAM*, platelet-endothelial cell adhesion molecule; *PCLP1*, podocalyxin-like protein 1

Adhesion Molecule	Location	Expression		Ligand	Function
		Constitutive	Inducible		
<i>Selectin family</i>					
L-selectin	All leukocytes	Yes	No (shed on activation)	P-selectin, E-selectin, GlyCAM, CD34, MadCAM-1, PSGL-1, PCLP1	Rolling
P-selectin	Endothelial cells Platelets	Yes	Yes	L-selectin, PSGL-1, CD24	Rolling
E-selectin	Endothelial cells	No	Yes	PSGL-1, ESL-1, L-selectin	Rolling
<i>Integrin family</i>					
CD11a/CD18 (LFA-1, $\alpha_4\beta_2$)	All leukocytes	Yes	No	ICAM-1, ICAM-2	Adhesion, emigration
CD11b/CD18 (Mac-1, $\alpha_M\beta_2$)	Granulocytes, monocytes	Yes	Yes	ICAM-1	Adhesion, emigration
CD11c/CD18 $\alpha_x\beta_2$	Granulocytes, monocytes	Yes	Yes	Fibrinogen, C3b	Activation, Adhesion?
$\alpha_4\beta_1$ (VLA-4)	Lymphocytes, monocytes, activated granulocytes	Yes	Yes	VCAM-1, fibronectin	Adhesion
$\alpha_4\beta_7$	Lymphocytes	Yes	No	MadCAM-1, VCAM-1, fibronectin	Rolling, adhesion
<i>Immunoglobulin superfamily</i>					
ICAM-1 (CD54)	Endothelium, monocytes	Yes	Yes	CD11a/CD18, CD11b/CD18	Adhesion, emigration
ICAM-2 (CD102)	Endothelium	Yes	No	CD11a/CD18	Adhesion, emigration
VCAM-1 (CD106)	Endothelium	Yes	Yes	$\alpha_4\beta_1$, $\alpha_4\beta_7$	Adhesion, emigration
MAdCAM-1	Endothelium (gut)	Yes	Yes	$\alpha_4\beta_7$, L-selectin	Adhesion, emigration
PECAM-1 (CD31)	Endothelium, leukocytes, Platelets	Yes	No	PECAM-1, $\alpha_V\beta_3$?	Adhesion, emigration
VAP-1	Endothelium	Yes	Yes	?	Adhesion

Показано је на анималном моделу за УК и код људи, да је експресија *P-selectin-a* повећана и на тромбоцитима и на ендотелним ћелијама посткапиларних венула са високим ендотелом и да је повећана концентрација *sP-selectin-a* у крви, код људи. Такође су нађене повишене вредности *sPSGL-1* у крви код болесника са активним УК (120).

Блокадом *E-selectin-a* у терапијске сврхе, на анималном моделу за УК, нису добијени позитивни резултати. За разлику од тога, блокирањем *P-selectin-a* код *DSS colitisa* код мишева добијени су позитивни резултати у смислу смањења миграције леукоцита, смањења клиничког и птаохистолошког скорa код мишева. *P-selectin* има можда и најважнију улогу у миграцији запаљенских ћелија у инфламирану слузницу на почетку инфламације, јер код *knockout (KO)* мишева за *P-selectin* са нормалном функцијом *L-selectin-a* практично нема миграције запаљенских ћелија. Међутим код *KO P-selectin* или *PSGL-1* мишева који су третирани су са *TNF- α* ипак долази до миграције запаљенских ћелија што је вероватно посредовано са *L-selectin-om* (121). *P-selectin* је такође је важан и за одржавање и ширење инфламације у цреву. Примећен је један парадокс везано за *P-selectin*: након стимулације тромбоцита са *IL-8* који је медијатор инфламације (најважинији хемоатрактант за неутрофиле) долази до смањене експресије *P-selectin-a* на површини тромбоцита. *IL-8* се појачано ствара у инфламацији и повећава се број рецептора за *IL-8* на површини тромбоцита. *SP-selectin* који се ослобађа из тромбоцита може довести и до удаљених манифестација у склопу ИБЦ. Код болесника са УК у ремисији постоји повећана базална експресија *P-selectin-a* на површини тромбоцита у односу на здраве особе, нарочито код мушкараца, што није примећено код других запаљенских болести као што је Реуматоидни артритис. *SP-selectin* може служити као индикатор активације тромбоцита. Показано је да лечење болесника са УК помоћу

лекова као што је *Infliximab* или помоћу мезенхималних стем ћелија које имају антиинфламаторни ефекат доводи до значајног смањења *sP-selectin-a* у крви. Данас се сматра да је *sP-selectin* одличан маркер инфламације и да може служити као параметар за процену активности биолошке терапије у лечењу УК (122).

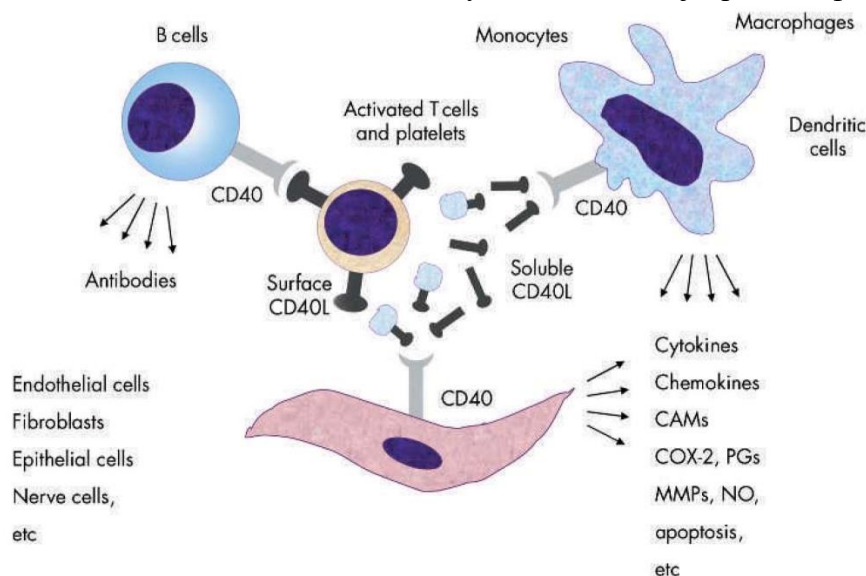
1.3.8. *sCD40L*

CD40 ligand (CD40L) је мембрански протеин који припада суперфамилији *TNF* и који се углавном налази на површини активираних ТЛ, а *CD40* је рецептор који припада суперфамилији *TNF* рецептора и који се налази на Б лимфоцитима, макрофагима и дендритичним ћелијама. *CD40L* је индуцибилан, док је *CD40* конститутивно експримиран на ћелијама, приликом активације ћелија долази до његове појачане експресије. *CD40L* није прави костимулаторни молекул за ТЛ, али је важан за лицензирање ДТ – након активације помоћних ТЛ они експримирају *CD40L* на својој површини који се веже за *CD40* на површини дендритичних ћелија и помаже да им појачају експресију костимулаторних молекула као што је *B7* и стварање *IL12* који доводи до Т ћелијске диференцијације, на тај начин дендритичне ћелије постају потентније у антиген презентацији. По истом принципу помоћнички ТЛ активира макрофаг – прво макрофаг делује као антиген презентујућа ћелија, потом активирани ТЛ ствара *IFN-γ* и експримира *CD40L* који се веже за *CD40* на површини макрофага и заједно доводе до појачане активације макрофага, који потом убијају фагоцитоване микробе (123). По истом принципу помоћнички ТЛ и БЛ делују један на другог. *IFN-γ*, који се ослобађа из ТЛ представља први корак у покретању *CD40/CD40L* пута, доводи до појачане експресије *CD40* на површини ендотелних и мезенхималних ћелија, за шта је потребно неколико дана. За то време те ћелије комуницирају са ТЛ што доводи до појачања инфламације.

Потом долази до интеракције између тромбоцита и ендотелних ћелија, долази до појачане експресије *CD40L* на површини тромбоцита, затим његовог цепања и стварања његове солубилне варијанте, *sCD40L*. Ендотелне ћелије експримирају више адхезивних молекула и хемокина, привлаче више *CD40L+* ТЛ који активирају ендотелне ћелије и тако се ствара зачарани круг који појачава инфламацију. *CD40/CD40L* пут поред тога што има велики значај у активацији имунских ћелија, има важну улогу и у активацији неимунских ћелија и патогенези многих хроничних и аутоимуних болести, а такође је показано да има значај у настанку УК. *CD40/CD40L* пут највероватније представља мост између инфламације и коагулације, тј. између имунских и неимунских ћелија у УК (124). Обзиром да се на површини тромбоцита налази и *CD40*, његовим везивањем за *sCD40L* долази до активације тромбоцита који потом луче многе биолошки активне супстанце. *CD40L* се налази и на површини активираних тромбоцита. *sCD40L* се везује за *CD40* на фибробластима, ендотелним ћелијама, ЕЋ, тромбоцитима и доводи до њихове активације и стварања хемокина, адхезивних молекула, *IL-8*, *MCP-1*, што указује на то да *CD40/CD40L* пут може покренути упални процес у цревима, који је посредован неимуним ћелијама. *CD40L+*ТЛ доводе до активације моноцита који стварају проинфламаторне цитокине, активације ендотелних ћелија које стварају хемокине и адхезивне молекуле који привлаче нове ТЛ и тако појачавају инфламацију, тј. доводе до зачараног круга (125).

Прекид *CD40/CD40L* пута, који је приказан на слици 5, може представљати нову терапијску опцију у лечењу УК, прекидајући интеракцију између самих имунских ћелија и имунских и неимунских ћелија, што је тестирано на анималним моделима за УК.

Слика 5. *CD40/CD40L, sCD40L* пут и његови плејотропни ефекти



CD40/CD40L пут доводи до протромботског стања тако што доводи до повећаног стварања ткивног фактора и смањене експресије тромбомодулина на ендотелним ћелијама. *sCD40L* је нађен повишен у плазми код многих хроничних инфламаторних болести, укључујући и УК. Тромбоцити код болесника са активним УК појачано експримирају *CD40L* и код тих болесника је нађен повишен *sCD40L* у плазми. Такође је показана појачана експресија *CD40* и *CD40L* у захваћеном ткиву колона.

Мезенхималне и ендотелне ћелије појачано експримирају *CD40* у мукози колона која је захваћена УК. Број *CD40L+* ТЛ и тромбоцита је повишен у мукози код УК. Познато је да се код болесника са УК јављају чешће тромбоемболијске компликације (ТЕ) него код других хроничних упалних болести, као што је реуматоидни артритис. Код болесника са УК и ТЕ компликацијама нађен је повишен *sCD40L* у плазми и доказано је да су доминантан извор *sCD40L* тромбоцити, а не ТЛ. *sCD40L* у УК представља маркер активације тромбоцита и хиперкоагулабилности, а настаје услед појачане експресије *CD40L* на површини тромбоцита и потом његовог цепања са површине тромбоцита (126). *CD40/CD40L* пут игра важну улогу у инфламацијом изазваној ангиогенези, која је битна у патогенези УК.

Након развоја инфламације и инфилтрације неутрофила у крзну слузнице под дејством *IL-8*, долази до повећаног стварања *VEGF* (*Vascular endothelial growth factor*) који је један од главних фактора ангиогенезе и ремоделовања крвних судова. На анималним моделима за УК је показано да је повишена концентрација *VEGF* полсецица активности *CD40/CD40L* пута. *VEGF* синтетишу моноцити/макрофаги, ендотелне ћелије, фибробласти (127).

1.3.9. Тромбоцити

Тромбоцити (Тр) спадају у најмање крвне ћелије, $3.0 \times 0.5 \mu\text{m}$, настају из Мегакариоцита у костној сржи, немају једро и имају важну улогу у хемостази и тромбози. Њихов животни век траје од 5-9 дана. Садрже 4 типа гранула, у којима се налази велики број биолошки активних молекула (густе грануле, α -грануле, пероксизоми, лизозоми). У почетку се сматрало да је улога у хемостази њихова једина улога, а данас се зна да утичу и на инфламацију, атеросклерозу, ангиогенезу, проток крви, важни су за зарастање рана, раст тумора и метастазирање малигнух тумора (128).

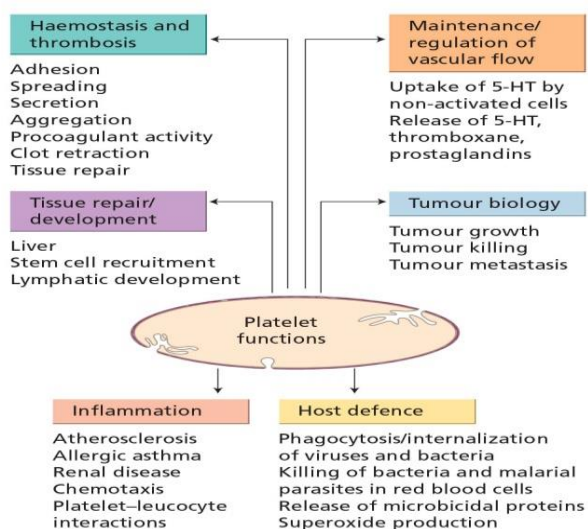
Када дође до оштећења зида крвног суда, Тр се вежу за огољени субендотелни матрикс и формирају хемостатски чеп чиме спречавају крварење из крвног суда. Када

дође до руптуре атеросклеротског плака они формирају тромб на месту руптуре и тако доводе до инфаркта миокарда или исхемијског цереброваскуларног инфаркта. Тр своју функцију остварују преко адхезије и агрегације.

Адхезија представља везивање Тр за субендотелни матрикс, што се остварује преко специфичних гликопротеина на површини Тр. Тр се веже за *von Willebrand factor* (*vWF*) који је вазан за колаген преко *GPIb/V/IX*. У условима споријег крвотока Тр се вежу директно за колаген у субендотелиуму преко *GPIa/IIa*. За обезбеђивање чврсте везе између Тр и субендотелног екстрацелуларног матрикса задужени су интегрини, а најважнији је *GPIIb/IIIa*. Након тога везивањем колагена и других агониста за рецепторе на површини Тр долази до њихове активације и промене облика, из дискоидног у облик са доста псеудоподија. Након активације долази до ослабањања великог броја медијатора из Тр гранула који доводе до рикрутмента Тр/крвних ћелија из циркулације, на васкуларни ендотел (129,130,131). Важан медијатор је *ADP* који делује преко *P2Y1*, *P2Y12* рецептора на Тр и поспешује агрегацију и Тр секрецију. Тр су важан извор серотонина који изазива вазоконстрикцију, делује прокоагулантно и активира Тр.

Након активације долази до експресије *P-selectin-a* на површини Тр. *P-selectin* и *CD40L* који се након активације Тр налазе на површини посредују у стварању агрегата са неутрофилима и моноцитима. Након активације долази до агрегације Тр – нагомилавања и везивања активираних Тр преко фибриногена и стварање хемостатског чепа (132,133). У агрегацији Тр најважнију улогу има интегрин *GPIIb/IIIa*, а премоштавање између 2 *GPIIb/IIIa* се остварује преко фибриногена. Када дође до активације Тр долази до значајног повећања броја *GPIIb/IIIa* комплекса на површини Тр и његове активације. У условима брзог крвотока, Тр се прво повезују међусобом преко *vWF* и *GPIb/V/IX*, а тек онда долази до активације *GPIIb/IIIa* и стабилизације агрегације. Након тога долази до тромбин изазваног формирања фибрина из фибриногена и формирања стабилног Тр чепа. Тромбин и колаген доводе до цепања *P-selectin-a* и *CD40L* са површине активираних Тр, који могу активирати моноците, ТЛ, ендотелне ћелије. На својој површини активирани Тр експримирају рецепторе за хемокине, цитокине и компоненте комплемента (134). На слици 6 приказане су функције Тр, а у табели 3 се могу видети најважнији агонисти и рецептори важни за функцију тромбоцита.

Слика 6. Функције Тр



Табела 3. Агонисти и рецептори важни за функцију тромбоцита

Platelet Function	Agonists, Ligands	Receptors
Initial and firm adhesion	vWF	GPIb/V/IX
	TSP1	GPIb/V/IX, CD36
	Collagen	$\alpha_2\beta_1$, GPVI, CD36
	Fibrinogen	$\alpha_{IIb}\beta_3$
	Fibronectin	$\alpha_5\beta_1$ ⁷³
	Vitronectin	$\alpha_v\beta_3$ ⁷⁷
	Laminin	$\alpha_6\beta_1$ ⁷⁴
	High shear stress	GPIb/V/IX
Activation and amplification	Thrombin	PAR1, PAR4, GPIb/V/IX
	ADP	P2Y ₁ , P2Y ₁₂
	TxA ₂	TP α , TP β
	Epinephrine	α_{2A}
	Serotonin	5-HT _{2A}
	MMP-2, MMP-1 ^{75,76}	?
	Immune complexes	Fc γ IIa
	Complement factors	C1q, C3a, C5a receptors
	Plasmin	?
	Streptokinase	?
Aggregation/amplification and stabilization	Fibrin	Activated $\alpha_{IIb}\beta_3$
	vWF	Activated $\alpha_{IIb}\beta_3$, GPIb/V/IX
	TSP-1 ⁷⁷	Activated $\alpha_{IIb}\beta_3$, CD36, IAP
	Fibronectin	Activated $\alpha_{IIb}\beta_3$
	sCD40L	Activated $\alpha_{IIb}\beta_3$
	Gas6	Axl ^{78,79}
	SDF-1, TARC, MDC	CXCR4, CCR4 ⁸⁰⁻⁸²

У етиопатогенези УК важну улогу имају ћелије имунског система, али се све више даје на значај неимунским ћелијама, као што су ендотелне ћелије, мезенхималне ћелије и Тр.

У болесника са УК постоји дисфункција Тр, који поред улоге у хемостазу имају и проинфламаторну улогу и представљају везу између инфламације и коагулације и између урођеног и стеченог имунског система. Доказани су многи поремећаји Тр у УК: поремећај броја и запремине Тр, појачана активација и агрегација, поремећај у броју и садржају гранула, појава Тр-Тр и Тр-леукоцитних агрегата, честа појава мукозалних микроваскуларних тромбоза. У УК су доказани пораст броја Тр и смањење средње вредности запремине Тр (постоји инверзна корелација између запремине Тр и активности болести), што се дешава због инфламације али може бити изазвано и сидеропенијском анемијом. Тр се активирају у мезентеријалној циркулацији под дејством неколико инфламаторних медијатора: субендотелни колаген, арахидонска киселина, ADP, тромбин, цитокини из активираних леукоцита (135,136). Приликом активације они ослабаћају велики број активних молекула из својих гранула (преко 300): тромбоцитни фактор 4, фибриноген, vWF, протеин С, хистамин, простагландин Е2, тромбоцитни фактор раста, тромбоксан А2, TGF- β , ангиогени фактори и фактори раста, β -тромбоглобулин, P-selectin, хемокини, RANTES, MCP-3, IL-8, IL-1 β , IL-7 и други. Ти молекули делују на леукоците, ендотелне ћелије и појачавају инфламацију.

Везивањем P-selectin-a са PSGL-1 рецептором долази до формирања Тр-Тр/Тр-леукоцитних агрегата и појачаног стварања ткивног фактора од стране ендотелних ћелија (137, 138). Преко sCD40L, Тр активирају ћелије имунског система, ендотелне ћелије и мезенхималне ћелије. sCD40L је веома је важан за инфламацију, тромбозу, ангиогенезу.

sCD40L стимулише ендотелне ћелије да стварају *IL-8* који је најважнији хемоатрактант за неутрофилне гранулоците који појачано експримирају *VCAM-1* и *ICAM-1*, што им омогућава миграцију леукоцита. Спонтана агрегација Тр је јединствена за УК и није виђена у другим болестима, присутна је и у мирној и активној фази болести, код преко 30% болесника. Поред спонтане постоји и појачана агрегација Тр након стимулације са адреналином, колагеном и *ADP*. Број Тр микропартикула је повећан у УК и одлично корелира са активношћу болести (139). *CD40L* позитивни Тр смањују активност и број регулаторних ТЛ (*CD4+CD25+FoxP3+*) у крви код болесника са УК, који су важни за развој имуне толеранције (140). Код ИБЦ постоји хиперкоагулабилно стање и склоност ка тромбози, услед активације коагулације, инхибиције тромболизе и дисфункције Тр. Најважнији цитокин који доводи до поремећаја хемостазе је *IL6* који доводи до тромбоцитозе, појачане активације Тр, стварања Тр-леукоцитних агрегата и њихово везивање за ендотелне ћелије преко *CD40L* на површини Тр. У УК је повећан број Тр-леукоцитних агрегата, али не постоји корелација између броја Тр-леукоцитних агрегата и параметара за процену активноти УК, али постоји позитивна корелација са бројем Тр и концентрацијом *sP-selectin-a*. Тр-леукоцитни агрегати су активнији од самих леукоцита, леукоцити у оквиру агрегата стварају више активних радикала и појачано се везују за ендотелне ћелије (141). Тр-леукоцитни агрегати након везивања за ендотелне ћелије додатно активирају Тр, који луче *VEGF*, и фибробласте, који стварају фибробластни фактор раста, и заједно доводе до ангиогенезе за коју се смтра да има важну улогу развоју УК (142). Тр-леукоцитни агрегати нису специфични за ИБЦ и могу се наћи и у другим хроничним инфламаторним болестима. Тр-Тр агрегати су такође важни у патогенези болести, могу довести до исхемије на нивоу микроциркулације мукозе црева и представљају важан фактор у настанку УК. Патохистолошка испитивања су доказала да је један од најранијих поремећаја у мукози црева код болесника са ИБЦ појава тромбоцитних микротромбова, због појачаног стварања ткивног фактора, што није нађено у нормалном цреву. Показано је да следећи тромбоцитни параметри, заједно са *CRP* и леукоцитима, могу бити параметри за процену активности болести: *MPV* (средња вредност запремине Тр), борј Тр, ширина дистрибуције Тр, *PCT* (однос броја и запремине Тр). *MPV* и *PCT* показују негативну корелацију са активношћу болести (143). У крви болесника са УК је повишен *vWF* који представља маркер ендотелне дисфункције. Код болесника са УК честе су артеријске и венске тромбозе, за које се сматра да су важне и за етиопатогенезу УК. Према великој студији *Talbota-a* и сарадника инциденца тромбоза је 1.3% од укупног броја, док су друге студије навеле већу инциденцу – 7%, док је приликом обдукције нађена инциденца 39% (144). Чешће се јављају венске тромбозе од артеријских, нарочито дубоких вена ногу и у плућној циркулацији. Ризик за развој дубоких венских тромбоза (ДВТ) је 3х већи него у општој популацији и не може се објаснити генетским факторима. Такође је повишен ризик за настанак постоперативних венских тромбоза.

Фактори ризика за настанак венских тромбоза су: активна болест, компликована болест, терапија са кортикостероидима, операција, трудноћа, претходна венска тромбоза, млађа животна доб. Артеријске тромбозе се јављају углавном након операција, ређе спонтано. Најчешће су захваћене церебралне, коронарне, ретиналне, каротидне, спланхничке артерије. Примећено је да је код болесника са хемофилијом или *vWF* болешћу, учесталост УК нижа него у општој популацији, као да склоност ка крварењу делује протективно на развој УК, а код болесника са урођеном склоношћу ка тромбози као што је *factor V Leiden* није нађена повећана инциденца УК у односу на општу популацију (145). Склоност ка тромбози и тромбоемболијским компликација се не види у другим хроничним инфламаторним болестима, као што је реуматоидни артритис нити у другим цревним болестима као што је целијакија. Инфламација и коагулација су 2

процеса који утичу један на други и налазе се у равнотежи. Инфламација може да покрене коагулацију, а коагулација може да појача инфламацију (146). У УК се могу наћи повишени V и VIII фактори коагулације, *vWF*, фибриноген, Д димер, тромбин-антитромбин комплекс, протромбински фрагмент 1+2, тромбомодулин; снижене вредности и поремећане функције протеина Ц и С, антитромбина и смањена функција тромболитичког система: снижен ткивни активатор плазминогена (*t-PA*), високи нивои инхибитора активатора плазминогена тип 1 (*PAI-1*) и тромбином активирани инхибитора фибринолизе (*TAFI*), висок ниво плазмин-антиплазмин комплекса и повишен број и активност Тр.

Антитромбин поред тога што делује као антикоагуланс делује и антиинфламаторно, делујући на ендотелне ћелије да стварају простациклин, а да не стварају инфламаторне медијаторе (147). Сви ови поремећаји у коагулацији се дешавају у интестиналној и системској циркулацији, и могу се наћи и када је болест у ремисији.

Највероватније инфламација доводи до активације ендотелних ћелија које активирају коагулацију и Тр, а инхибирају фибринолизу (148). Најважнији цитокини који доводе до ендотелне дисфункције су *IL-1* и *TNF- α* , након чега долази до експресије адхезивних молекула (*ICAM-1*, *VCAM-1*, *PECAM-1*) на њиховој површини као и *CD40*.

Долази до контакта леукоцита и Тр са ендотелом, њихове активације што води оштећењу ендотела, адхезији и агрегацији Тр, што води тромбози. Оштећен ендотел ствара вазоконстрикторе који доприносе исхемији ткива, експримира адхезивне молекуле. *P-selectin*, *sCD40L* и тромбоцитне микропартикуле имају централну улогу у развоју хиперкоагулабилности у инфламацији (149). Централно место у хемостази има тромбин који поред тога потенцира инфламацију својим дејством на моноците, фибробласте и епителне ћелије који појачано стварају *IL-6* и *IL-8*. Повећано стварање тромбина у УК је повезано највише са слабијом функцијом природних антикоагуланаса, нарочито тромбомодулин-протеин Ц система. У нормалним условима на ендотелу су присутни тромбомодулин и рецептор за протеин Ц, који у присуству тромбина везују и активирају протеин Ц, који представља главни природни антикоагуланс код човека, нарочито у микроциркулацији. У УК је смањена експресија тромбомодулина и рецептора за протеин Ц на ендотелу што резултује смањеном стварању активног протеина Ц. Давање активног протеина Ц мишевима са *DSS* колитисом доводи до значајног смањења инфламације. У лечењу венских и артеријских тромбоза највише се користи нискомолекуларни хепарин, ређе нефракционисани хепарин. Хепарин треба укључити у терапију и као примарну превенцију код болесника са факторима ризика, као што су активна болест и операција (150). У лечењу УК може се користити леукоцитафереза и показано је да је степен смањења броја Тр овом методом предиктивни фактор ефикасности ове терапије, а не степен смањења броја леукоцита, као што би се очекивало обзиром да се леукоцитаферезом примарно смањује број Ле (151).

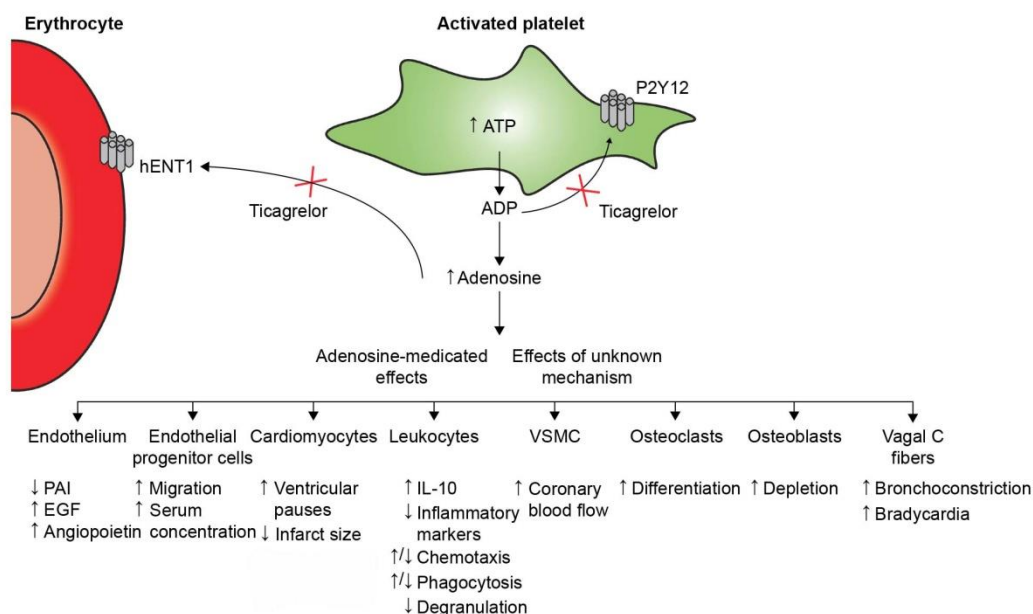
1.3.10. Ticagrelor

Ticagrelor (*Brilique*[®]) је орални антитромбоцитни лек који реверзибилно блокира *ADP* зависну агрегацију Тр, тако што блокира *P2Y₁₂* рецептор на површини Тр. *ADP* се ослобађа из Тр након активације Тр и веже се за *P2Y₁₂* и *P2Y₁* на површини Тр. Након активације Тр они луче *ADP* који се веже за своје рецепторе и повећава активност Тр, агрегацију, секрецију и прокоагулантну активност. *Ticagrelor* је активан лек који брзо испољава своје дејство, већ 30 минута након узимања лека инхибира агрегацију Тр (152,153). Поред њега у антитромбоцитне лекове спадају: *Aspirin* који иреверзибилно инактивира циклооксигеназу и тиме спречава конверзију арахидонске киселине у простагландине и потом тромбоксан *A2* и простациклин *I2*; *Dipyridamole* који реверзибилно инхибира фосфодиестеразу и тиме повећава циклични аденозин моно

фосфат и тиме смањује активност Тр; тиенопиридински деривати (*Klopidogrel*, *Ticagrelor*, *Ticlopidine*, и *Prasugrel*) који инхибирају *ADP* зависну агрегацију Тр, једино је *Ticagrelor* активан лек, остали захтевају конверзију у јетри истварање активних метаболита; гликопротеински инхибитори (*Abciximab*, *Eptifibatide* и *Tirofiban*) који инхибирају *GPIIb/IIIa*, интегрин који представља завршни пут у агрегацији Тр његовим везивањем за фибриноген и *vWF*; антагонисти протеазом-активиран рецептор-1 (*Vorapaxar*) и остали: *Cilostazol* (154). Главни метаболит *Ticagrelor-a* који се ствара у јетри има исто дејство као и сам лек. Полуживот *Ticagrelor-a* је 7 сати, а активног метаболита 9 сати. *Ticagrelor* је јединствен антиромбоцитни лек, који брзо испољава своје дејство, потентнији је у односу на друге *P2Y₁₂* инхибиторе и његов ефекат не зависи много од генетских полиморфизама, што је важно на пример за *Klopidogrel*. Лек *Ticagrelor* је индикован за превенцију атеротромботских догађаја код пацијената са акутним коронарним синдромом или код пацијената који су раније прележали инфаркт миокарда и имају ризик за атеротромботске догађаје. Такође смањује тромбозу стента код болесника код којих је током акутног коронарног синдрома уграђен коронарни стент.

Контраиндикације за лек су: активно крварење, претходно интракранијално крварење, тешко оштећење јетре. Главна нежељена дејства су: повишен ризик од крварења, брадикардија, диспнеја, дијареја, повећање концентрације креатинина и мокраћне киселине (155). Уобичајена доза је 180 *mg* дневно као инцијална појединачна доза, а затим се наставља у дози од 90 *mg* 2 пута дневно. *Ticagrelor* је јачи *P2Y₁₂* инхибитор од *clopidogrel-a* и има израженије антиинфламаторно дејство. *P2Y₁₂* рецептор има есенцијалну улогу у појачању активности Тр након дејства разних агониста. Након активације долази до ослабањања бројних медијатора тромбозе и инфламације из α гранула Тр. Инхибицијом *P2Y₁₂* рецептора долази до смањеног ослобањања медијатора из α гранула и смањене експресије *P-selectina* и *CD40L* на површини Тр. Крајњи ефекат је смањена комуникација између Тр и леукоцита што се сматра да је главни механизам којим *P2Y₁₂* инхибитори смањују инфламацију. Инхибицијом *P2Y₁₂* долази до смањеног ослобањања проинфламаторних цитокина из α гранула Тр и смањеног формирања Тр-леукоцитних агрегата, а самим тим и смањене активности моноцита и макрофага, што резултује смањеном концентрацијом проинфламаторних цитокина и смањеној експресији адхезивних молекула. *P2Y₁₂* рецептори су нађени и на другим ћелијама као што су дендритичне ћелије, васкуларне глаткоммишићне ћелије, тако да инхибирањем *P2Y₁₂* рецептора на овим ћелијама *Ticagrelor* испољава свој додатни ефекат. Инхибирањем преузимања аденозина преко инхибиције *equilibrative nucleoside transporter (ENT)1* долази до нагомилавања аденозина у екстрацелуларном простору, чиме овај лек испољава своје плејотропне ефекте али и такође неке нежељене ефекте, као што је диспнеја. Аденозин утиче на урођени имуни систем и инфламацију. На слици 7 приказани су плејотропни ефекти *Ticagrelor-a*.

Слика 7. Плејотропни ефекти *Ticagrelor-a*. *PAI*, plasminogen activation inhibitor; *EGF*, endothelial growth factor; *IL-10*, interleukin 10; *hENT1*, human equilibrative nucleoside transporter 1; *ATP*, adenosine triphosphate; *ADP*, adenosine diphosphate; *VSMC*, vascular smooth muscle cells.



Улога Тр у патогенези астме и ринитса је позната од раније. Блокирањем $P2Y_{12}$ рецептора доводи до смањења упале и смањеног оштећења ткива преко неколико механизма: блокира се ослобађање бројних медијатора из α гранула, смањењем ослабања бројних фактора раста из Тр, мањим стварањем костимулаторних молекула чиме Тр повезују урођени и стечени имуни систем и смањују стварање Тр-леукоцитних агрегата, који имају важну улогу у патогенези УК. Док је за $P2Y_{12}$ инхибиторе доказана антиинфламаторна улога, за $GPIIb/IIIa$ инхибиторе то није јасно показано (156). На анималном моделу за абдоминалу сепсу је доказано да *Ticagrelor* спречава оштећење плућа и смањује активност и накупљање неутрофила у плућима (157). Испитиван је и антиинфламаторни ефекат *Ticagrelor-a* у сепси, код добровољаца којима је убризган интравенски ендотоксин *e.coli*. Једној групи болесника је дат *Ticagrelor*, а другој групи *Klopidogrel*. Показано је да су у групи која је користила *Ticagrelor* значајније били снижени *D dimer*, *IL-6*, *TNF- α* , *IL-8*, а повишен *IL-10* у односу на групу која је користила *Klopidogrel* и групу која није добила ниједан од ова два лека (158). Испитиван је и антиинфламаторни ефекат *Klopidogrel-a* на анималном моделу за УК и КБ, и показано да смањује активност неутрофила и има повољан ефекат на клинички ток болести код експерименталних животиња (159). Највећа студија о ефикасности *Ticagrelor-a* и предности у односу на *Klopidogrel* је *PLATO* студија, у којој је показано да болесници са акутним коронарним синдромом са или без *ST* сегмент елевације, који су лечени са *Ticagrelor-om* у односу на болеснике који су лечени *Klopidogrel-om*, имају значајно мању укупну смртност од васкуларних догађаја, инфаркта миокарда и можданог удара без повећања укупног значајнијег крварења. Резултати ове студије су указивали да *Ticagrelor* поред ефекта на $P2Y_{12}$ рецептор вероватно неким другим механизмом остварује свој ефекат и делује на имунитет (160). Објављени су и резултати који нису показали разлику између *Ticagrelor-a* и *Klopidogrel-a* у антиинфламаторном дејству, као што је *DISPERSE 2* студија. У овој студији је показано да болесници са акутним коронарним синдромом без *ST* сегмент елевације, који су лечени *Ticagrelor-om* или *Klopidogrel-om* имају исте вредности *CRP*, *IL-6*, *sCD40L* и *mijleoperoksidaze* у крви, након месец дана лечења, уз напомену да су вредности *CRP* и *IL-6* значајно смањене у односу на почетне вредности

(161). У току је студија у којој се испитује ефекат *Ticagrelor-a* у односу на ефекат *Klopidogrel-a*, на *sCD40L*, *sPselektin* и *CRP* у крви, код болесника са акутним инфарктом миокарда након перкутане коронарне интервенције (162).

2. ХИПОТЕЗЕ И ЦИЉЕВИ

2.1. Хипотезе студије

1. Концентрације *CRP*, *sCD40L*, *sP-selectin-a*, *IL-6*, *IL-13* и *TNF- α* у серуму и концентрација фекалног калпротектина у столици су значајно ниже у групи болесника који су примали *Ticagrelor* поред стандардне терапије у односу на групу која је лечена само стандардном терапијом.
2. Вредност *Hgb* у серуму је значајно виша у групи болесника који су примали *Ticagrelor* поред стандардне терапије у односу на групу која је лечена само стандардном терапијом.
3. Зарастање слузнице изражено кроз *Nancy score*, је израженије код болесника који су примали *Ticagrelor* поред стандардне терапије у односу на групу која је лечена само стандардном терапијом.

2.2. Циљеви студије

1. Анализирати социо-демографске карактеристике (пол, старост, индекс телесне масе и пушачки статус) код свих болесника и безбедност болесника, посебно у групи која је примала лек *Ticagrelor*. Пратиће се појава сваког манифестног крварења, пре свега на кожи и слузницама, али и свако другог неочекиваног крварења (пример: у паренхиматозним органима).
2. Анализирати налазе колоноскопије и патохистолошке налазе - *Nancy score*, код свих болесника из обе групе на почетку студије и унутар 3 месеца након терапије.
3. Испитати утицај лека *Ticagrelor* на концентрације *CRP*, *Hgb*, *Tr*, *sCD40L*, *sP-selectin-a*, *IL-6*, *IL-13*, *TNF- α* , *IFN γ* , *IL-17A*, *IL-17F*, *IL-21*, *IL-22*, *IL-4*, *IL-5*, *IL-2*, *IL-9*, *IL-10* у крви 7. и 30. дана након терапије.
4. Испитати утицај лека *Ticagrelor* на концентрацију фекалног калпротектина 7. и 30. дана након терапије

3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД ИСТРАЖИВАЊА

3.1. Безбедност примене антиагрегационе терапије на анималном моделу за УК

За ово истраживање добијена је сагласност Министарства пољопривреде и заштите животне средине Републике Србије - Управа за ветерину, као и сагласност свих начелника организационих јединица у којима је спроведено истраживање.

Као увод у докторат спроведено је испитивање безбедности примене антиагрегационе терапије на анималном моделу за улцерозни колитис – *DSS (dextran sulfate sodium) colitis*. Коришћени су инбредне сорте мишева *C57BL/6*, просечне телесне масе 20-24 грама, код којих је изазван улцерозни колитис помоћу 3.5% *DSS*, просечне молекуларне масе 35000 – 55000, који су мишеви пили *ad libitum*, током 5 дана. Након тога су мишеви подељени у 3 експерименталне групе, свака група са по 10 мишева: прва група (*DSS*) није примала никакав лек током 4 дана, друга група (*PO*) је добијала *Ticagrelor*, 50 mg/g, преко гастричне сонде током 4 дана и трећа група (*IP*) је примала *Eptifibatide*, 150 µg, интраперитонеално (еквивалент интравенском давању) током 4 дана. Постојала је и контролна (*K*) група коју су представљали здрави мишеви (10 мишева). Праћени су следећи параметри: крварење, број тромбоцита, ниво хемоглобина и хематокрит.

Одређивана је крвна слика пре давања лека (*DSS1, PO1 и IP1*) и један дан након последње дозе лека (*DSS2, PO2 и IP2*). Након завршетка студије сви преживели мишеви су обдуковани да би се утврдило постојање крварења у паренхиматозним органима, интракранијално или у серозним шупљинама. Све време је праћена телесна маса, хематохемија и скор индекс активности болести (*DAI score*).

3.2. Безбедност и ефикасност примене антиагрегационе терапије код болесника са УК

За ово истраживање добијена је сагласност Етичког одбора Војномедицинске академије као и сагласност свих начелника организационих јединица у којима је спроведено истраживање.

Истраживање ће бити реализовано по типу двоструко слепо, рандомизоване, проспективне клиничке студије са паралелним дизајном.

3.2.1. Популација која је анализирана

Истраживање је спроведено у Клиници за Гастроентерологију и хепатологију, Институту за медицинску биохемију, Институту за Патологију и Институту за медицинска истраживања Војномедицинске академије.

Истраживање је спроведено на пацијентима који се хоспитално лече у Клиници за Гастроентерологију и хепатологију Војномедицинске академије, због дијагностикованог улцерозног колитиса у погоршању, средње тешке форме.

3.2.2. Узорковање

У истраживање су укључени пацијенти код којих је постављена дијагноза средње тешке форме улцерозног колитиса и код којих је дошло до погоршања болести. Укупно је укључено 40 пацијената, оба пола, старости од 18-60 година.

Укључни критеријуми:

1. стабилна терапија са пер ос препаратима месалазина/Сулфасалазином/Пентазом током 3 месеца

2. локална терапија са препаратима месалазина (чепићи и/или клизме) током месец дана

Искључни критеријуми:

1. склоност ка крварењу (INR > 1,3, aPTT > 50sec, Tr < 100000/ml),
2. васкуларни догађај у последња 3 месеца (инфаркт миокарда, цереброваскуларни инсульт, тромбоемболизам),
3. већа хируршка интервенција у последња 3 месеца,
4. жене током трудноће или дојења
5. Hgb < 100g/L
6. цревна инфекција са *C. difficile* или неком другом бактеријом
7. већа траума у последња 3 месеца
8. васкуларна анеуризма
9. малигнитет
10. малигна хипертензија
11. хроничне болести срца, јетре, бубрега и плућа.
12. употреба антиагрегационе/антикоагулантне терапије или препарата ацетилсалицилне киселине, витамин Д и
13. учешће у другој студији

Пацијенти ће бити рандомизовани у две једнаке групе:

1. група - пацијенти ће бити лечени стандардном терапијом која се заснива на примени кортикостероида – *Prednison* 40mg qd са постепеним смањењем дозе и *Imuranom*, уз плацебо.
2. група - пацијенти ће бити лечени стандардном терапијом уз примену *Ticagrelora*, 90 mg једном дневно, током 90 дана.

3.2.3. Варијабле које се мере у студији

Свим пацијентима је пре укључења у студију, по принципима добре клиничке праксе, узета анамнеза и урађен физикални преглед. Праћене су следеће варијабле: пол, старост, пушачки статус, телесна маса и висина, индекс телесне масе.

Хематолошки и биохемијски параметри:

1. Основни хематолошки и биохемијски профил: комплетна крвна слика, уреа, креатинин, глукоза, албумин, калијум, холестерол, триглицериди, *AST*, *ALT*, магнезијум, *CRP* у узорку венске крви; сви параметри су одређивани на почетку испитивања, 7. и 30. дана након почетка терапије.
2. *sCD40L*, *sP-selectin*, *IL-6*, *IL-13*, *TNF-α*, *IFN γ*, *IL-17A*, *IL-17F*, *IL-21*, *IL-22*, *IL-4*, *IL-5*, *IL-2*, *IL-9*, *IL-10* у узорку венске крви на почетку испитивања, 7. и 30. дана од почетка испитивања у свакој групи пацијената појединачно.

Функција тромбоцита: одређивана је *ADP* зависна агрегација тромбоцита на почетку студије, 7. и 30. дана након почетка испитивања у групи болесника који примају *Brilique*.

Колоноскопија: урађена је колоноскопија на почетку студије и унутар 3 месеца од почетка испитивања, код свих пацијената. Праћено је присуство ерозија, улцерација, васкуларна шара, вулнерабилност слузнице, узете су биопсије и одређен *Nancy score (NS)*, уз помоћ кога се може пратити брзина и степен оздрављења слузнице након терапије. Поређен је *NS* пре започињања терапије и након контролне колоноскопије између пацијената унутар групе и *Nancy score* након контролне колоноскопије пацијената који су примала испитивани лек и пацијената који су лечени стандардном терапијом.

Фекални калпротектин: одређивана је концентрација фекалног калпротектина на почетку студије, 7. и 30. дана након почетка испитивања, у узорку столице.

3.2.3.1. Хематолошке и биохемијске анализе

У Институту за биохемију Војномедицинске академије су анализирани основни хематолошки и биохемијски профил: комплетна крвна слика, уреа, креатинин, глукоза, албумин, калијум, холестерол, триглицериди, *AST*, *ALT*, магнезијум, *CRP*. У Институту за медицинска истраживања Војномедицинске академије су анализирани *sCD40L*, *sP-selectin*, *IL-6*, *IL-13*, *TNF- α* , *IFN γ* , *IL-17A*, *IL-17F*, *IL-21*, *IL-22*, *IL-4*, *IL-5*, *IL-2*, *IL-9*, *IL-10* у серуму.

Проточном цитометријом је анализирана крвна слика, за ћелијске елементе. Анализа је рађена на апарату *Advia 120*, чији је произвођач *Siemens*. Крвна слика је анализирана из пуне крви, као антикоагуланс је коришћен *K2ЕДТА* (1,8 *mg* по *ml* крви). Фотометријски је одређивана концентрација хемоглобина.

Спектрофотометријском методом, су мерене серумске вредности уреа, креатинина, албумина, глукозе, холестерола, триглицерида, *AST*, *ALT*, магнезијума.. Анализе су рађене на апарату *ADVIA 1800, Dimension RxL Max* чији је произвођач *Siemens*. Директном потенциометријом су анализирани серумске вредности калијума на истом апарату, истог произвођача. *Particle enhanceo turbidimetric immunoassay (PETIA)* је коришћена као метода за одређивање серумске концентрације Ц-реактивног протеина (*CRP*).

Узети узорци крви за одређивање *sCD40L* и *sPselectin-a* су до момента анализе чувани на -80°C . За одређивање *sCD40L/sPselectin* је коришћен комерцијални имуноензимски тест. Примењивана је метода *ELISA*.

Одређивање *IL-6*, *IL-13*, *TNF- α* , *IFN γ* , *IL-17A*, *IL-17F*, *IL-21*, *IL-22*, *IL-4*, *IL-5*, *IL-2*, *IL-9*, *IL-10* у крви: из узорака периферне крви, након спонтане коагулације током најмање 30 минута, серум је издвојен центрифугирањем на 1000 x *g* током 10 минута. Узорци серума замрзнути су најпре на -20 а затим на -80 степени Целзијусове скале и тако чувани до одређивања концентрације цитокина која је извршена у једном акту. Концентрације цитокина *IL-6*, *IL-13*, *TNF- α* , *IFN γ* , *IL-17A*, *IL-17F*, *IL-21*, *IL-22*, *IL-4*, *IL-5*, *IL-2*, *IL-9*, *IL-10* у узорцима серума, одређене су коришћењем комерцијалног сета за проточну цитофлуориметрију (*Human Th1/Th2/Th9/Th17/Th22 13plex Kit*) на проточном цитофлуориметру *Beckman Coulter FC500*. Измерене вредности изражене су у пикограмима по милилитру серума (*pg/ml*).

3.2.3.2. Агрегабилност тромбоцита у крви ће је одређена помоћу апарата *Multiplate® platelet function analyzer (Dynabyte Medical Multiplate®, Manual version V.060403EN, Software V.2.01.b3)*. Код свих болесника одређивана је агрегабилност тромбоцита на почетку студије, а само код болесника који примају *Ticagrelor*, одређивана је *ADP* зависна агрегација тромбоцита и 7. и 30. дана од почетка испитивања.

3.2.3.3. Колоноскопија је урађена на клиници за Гастроентерологију и хепатологију ВМА, на одељењу функцијске дијагностике. Приликом сваке колоноскопије узете се биопсије, а ПХН ће је урађен на Институту за Патологију ВМА. Одређиван је *NS*:

Градус 0 - хистолошки нема значајније хроничне инфламације, нема активности, нема улцерације

Градус 1 - присутна је хронична инфламација, нема активности, нема улцерације

Градус 2 - присутна је блага активна болест, нема улцерације

Градус 3 - присутна је умерено активна болест, нема улцерације

Градус 4 - присутна је изражена активна болест, са улцерацијама.

3.2.3.4. Фекални калпротектин

Одређен је *POCT* методом. Узорак фецеса је стављен у уређај за прикупљање (*Roche Diagnostics, West Sussex, UK*) који се испоручује са комплетом, уз додатак 4 ml екстракционог пуфера. После затварања уређаја и мућкања током 1 минута, узорак је разблажен 1:16 са екстракционим пуфером, и центрифугиран на 3000 g током 5 минута. Разблажени узорак (60 μ L) се обложи моноклонским антикалпротектин антителима. Потом се дода друго моноклонско антикалпротектин антитело коњуговано на колоиде злата, у узорак. После 12-минутне инкубације на собној температури, резултат се читава користећи *Quantum Blue[®] Reader*.

3.2.4. Терапијски протокол

Код свих болесника урађене су лабораторијске анализе крви, преглед столице на токсин *C.difficile* и фекални калпротектин. Потом је код свих болесника урађена колоноскопија и узете биопсије за патолошкохистолошки налаз и одређивање *NS-a*. Затим су сви болесници рандомизовани у једну од две групе. Пре било какве активности сви болесници су потписали информисани пристанак, а претходно им је објашњено о каквом се ипитивању ради, који лек се даје, колико траје испитивање, који су могуће нежељени ефекти терапије и одговорено на сва њихова питања. На Клинику за Гастроентерологију и хепатологију ВМА је достављен пакет са 40 бочица нумерисаних бројевима од 1 до 40 као и запечаћена коверта са шифрарником који се састоји од две колоне. У првој колони се налазио редни број бочице, а у другој ознака П - за плацебо или Л - за лек. Нумерисање бочица као и испис шифрарника и његово затварање у коверту су се одвијали изван Клинике од стране особе која није била у контакту ни са пацијентима ни са лекарима који су спровели истраживање - студију.

Такође, пацијенти су добијали редни број од 1-40 по редоследу пријављивања, и сваки пацијент је добио бочицу са редним бројем који је одговарао његовом редном броју. Број бочица са терапијом је био једнак броју испитаника. Бочице су биле идентичне и нумерисане редним бројевима. У циљу спровођења рандомизованог двоструко слепог испитивања вршила се процедура обележавања бочица са терапијом и обележавања пацијената редним бројем од 1 до 40. Сваки пацијент из студије је добио свој редни број (1 до 40) и одговарајућу налепницу / наруквицу са својом сликом и ознаком испод слике: «ИСТРАЖИВАЊЕ». Пацијенти су добили број насумично, по редоследу пријављивања. Сваки пацијент је био лечен на идентичан начин. Сваки пацијент је узимао искључиво терапију са редним бројем која одговара њему, узимањем *Prednison 40mg* дневно са постепеним смањењем дозе како је описано касније и узимањем терапије из нумерисаних бочица које су садржале или *Ticagrelor 90 mg* или плацебо. С обзиром да се шифрарник са редним бројем бочице и ознаком да ли се у њој налази плацебо или *Ticagrelor* налазио у запечаћеној коверти, ни особље, ни пацијенти до завршетка студије нису знали ко је користио *Ticagrelor*, а ко се налазио само на стандардној терапији. Све бочице су чуване на идентичном месту и под идентичним условима у орману са ознаком «НЕ ДИРАЈ - ИСТРАЖИВАЊЕ У ТОКУ». Протокол давања терапије се састојао у томе да свакога дана у 8.0 часова сваки пацијент добија истовремено *Prednison 40mg* дневно од стране сестре или лекара. У 8.10 часова сваки пацијент је добио бочицу која је одговарала његовом редном броју (са леком или плацебом). Контролу давања терапије вршио је ментор.

Једна група (стандардна група) је лечена стандардном терапијом уз Плацебо. Стандарна терапија је подразумевала оралну примену *Imuran-a 2 mg* на килограм телесне масе уз додатак *Prednison-a*, у почетној дози од 40 mg дневно 7 дана, са постепеним смањењем дозе за 5 mg недељно до дозе од 20 mg дневно. Након 3 месеца терапије са *Prednison-om*, постепено је *Prednison* искључен из терапије.

Друга група је поред стандардне терапије користила *Brilique* таблете, 90 mg дневно, 3 месеца. Препоручено је да се лек пије ујутру у исто време.

Након 7 и 30 дана од почетка испитивања, болесници су долазили на центар да донесу узорак столице за одређивање фекалног калпротектина и да дају крв на лабораторијске анализе и за одређивање функције тромбоцита (само код групе која је користила *Brilique*). У периоду од месец дана па до истека 90 дана од почетка испитивања, код свих болесника је поновљена колоноскопија и узете биопсије за патолошкохистолошки налаз и одређивање *Nancy score-a*. Одлучено је да период лечења траје 3 месеца да би се пратила безбедност примене лека, а и потребно је време за промене на хистолошком нивоу. Све време је поред анализе крви и столице по протоколу праћена и безбедност болесника. Свим болесницима је наложено да воде дневник о појави модрица по кожи, појачаном ректалном крварењу или било ком другом облику крварења, вредностима пулса, осећају гушења и било којим другим новонасталим тегобама.

3.2.5. Статистичка обрада података

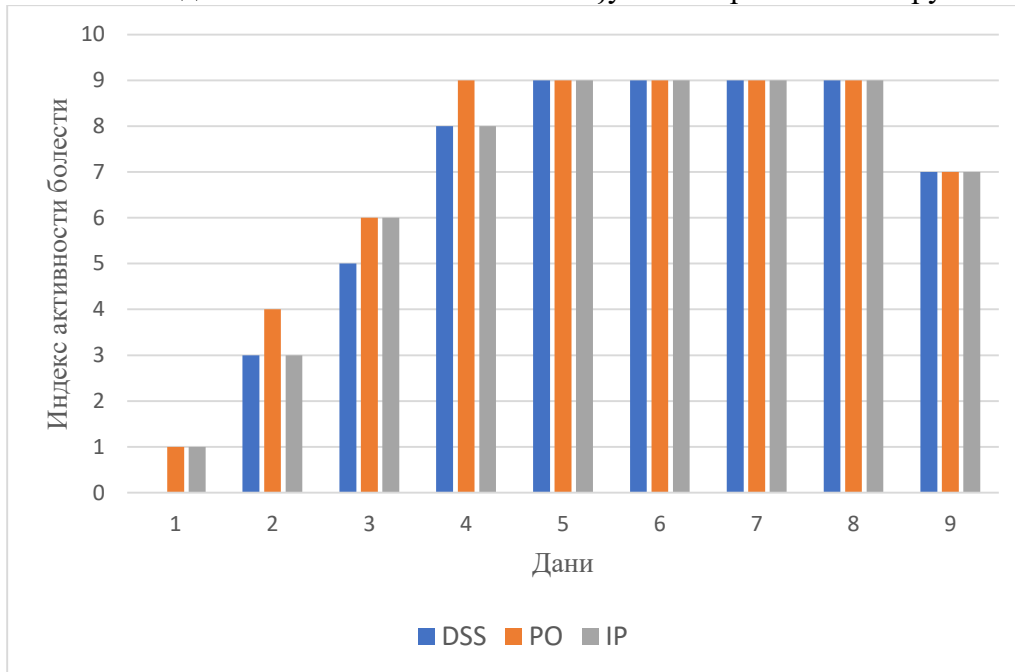
Статистичка обрада података је одрађена у статистичком компјутерском програму, *PASW Statistics*, верзија 18. Све континуалне варијабле су представљене у облику средње вредности \pm стандардне девијације или медијане са интеркварталним распоном (25-75. перцентил), док је за разлике у континуалним варијаблама коришћен Студентов Т тест за независне или зависне узроке или *Mann-Whitny* тест или *Wilcoxon* тест, у зависности од нормалности расподеле, која је испитана *Kolmogorov-Smirnov* тестом. Код више од три категорије података рађен је *Friedman* тест јер се радило о подацима који не испуњавају критеријуме за нормалну расподелу података. Корелација између варијабли од интереса (непрекидних и дихотомних варијабли), је урађена уз помоћ *Spearman's rho* коефицијента корелације ранга (*Spearman's rank-order correlation*), а величина корелације је процењена према Кохеновим критеријумима где се коефицијент корелације већи од 0,50 сматра изузетно јаком корелацијом, од 0,30-0,49 средње јаком корелацијом, док је мањи од 0,29 слаба корелација. Такође је рађена и униваријантна логистичка регресија а вредности су приказане уз помоћ унакрсног односа шанси (*OR*) са 95% интервалом поверења. Као статистичка значајност, рачунато је $p < 0,05$.

4. РЕЗУЛТАТИ

4.1. Безбедност примене антиагрегационе терапије на анималном моделу за УК

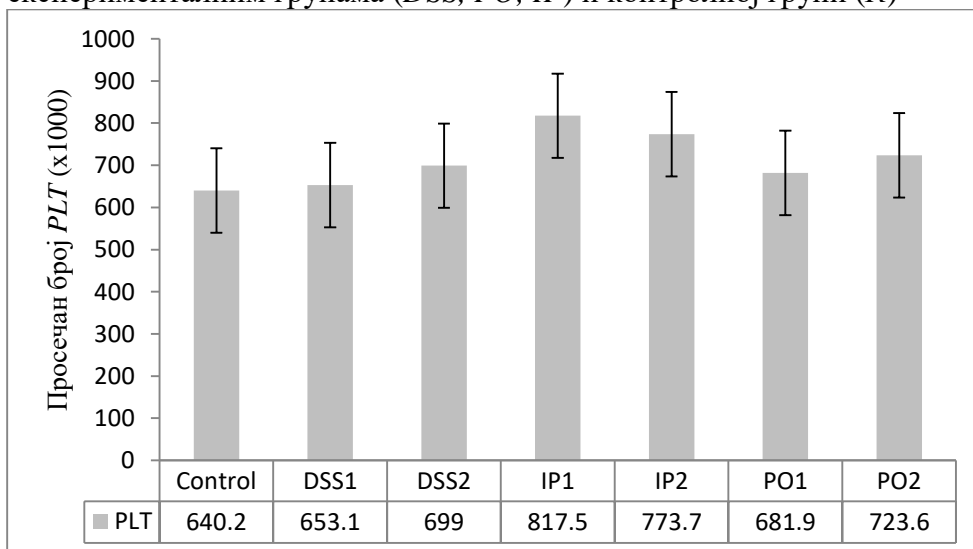
Без значајне разлике вредности *DAI score* између експерименталних група (Kruskal-Wallis test; $p = 0.925$) (слика 8).

Слика 8. Индекс активности болести између 3 експерименталне групе



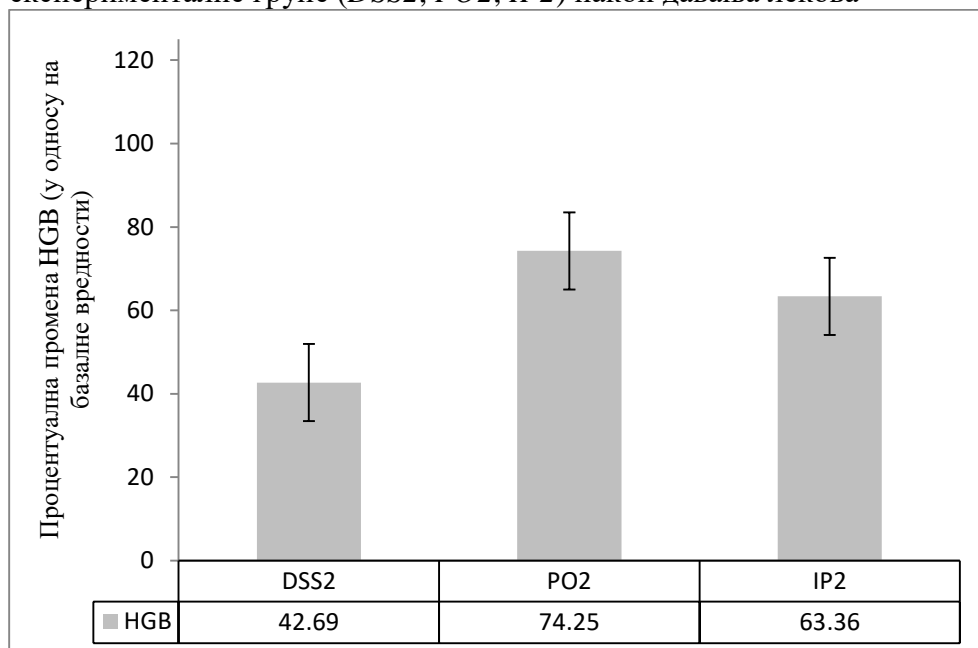
Није било значајне разлике у броју тромбоцита између све три групе, нити између експерименталних група и контролне групе, како на почетку, тако и на крају давања лекова (слика 9).

Слика 9. Број тромбоцита (*PLT*) по групама, на почетку и на крају давања лекова у експерименталним групама (*DSS*, *PO*, *IP*) и контролној групи (*K*)

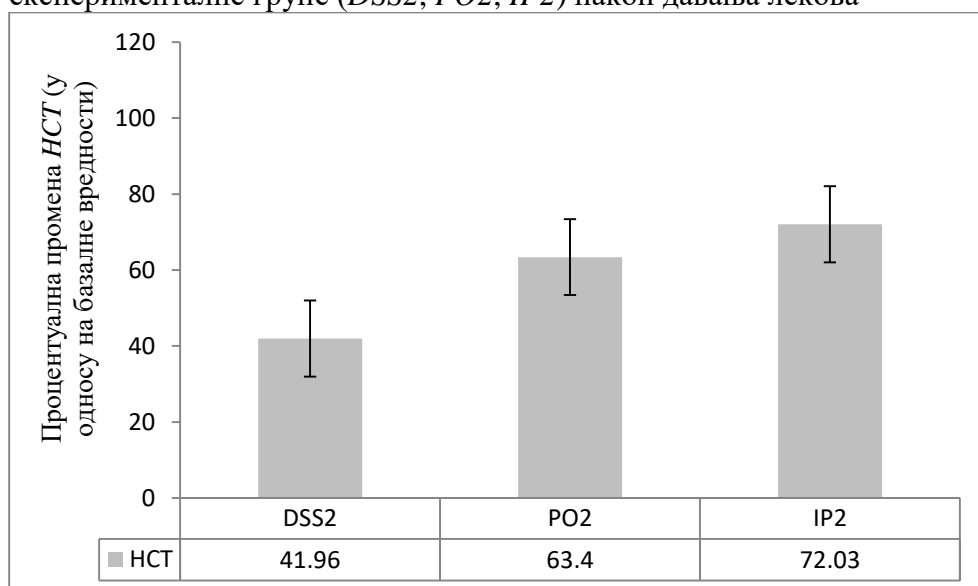


Није нађена значајна разлика између вредности хемоглобина, хематокрита и броја тромбоцита између три експерименталне групе (Kruskal-Wallis test: *hemoglobin*, $p = 0.369$; *hematokrit*, $p = 0.104$; *trombociti*, $p = 0.307$), слике 10,11,12.

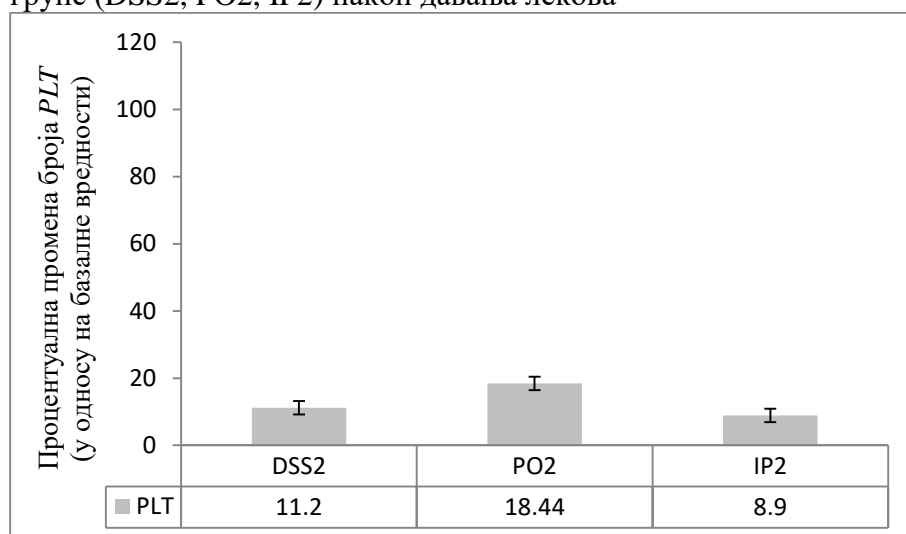
Слика 10. Процентуалне промене вредности хемоглобина (*Hgb*) између 3 експерименталне групе (*DSS2*, *PO2*, *IP2*) након давања лекова



Слика 11. Процентуалне промене вредности хематокрита (*HCT*) између 3 експерименталне групе (*DSS2*, *PO2*, *IP2*) након давања лекова



Слика 12. Процентуалне промене броја тромбоцита (PLT) између 3 експерименталне групе (DSS2, PO2, IP2) након давања лекова



Након обдукције мишева није нађено крварење у паренхиматозним органима, интракранијално нити у серозним шупљинама.

4.2. Безбедност и ефикасност примене антиагрегационе терапије код болесника са УК

У студију је укупно укључено и праћено 40 болесника са средње тешком формом улцерозног колитиса у погоршању. Болесници су подељени у 2 групе, једна је лечена стандардном терапијом а друга стандардном терапијом уз додатак лека *Brilique* који су болесници примали током 3 месеца. Свим болесницима који су узимали *Brilique* је објашњено да имају повећан ризик за крварење и наложено да воде дневник о појави модрица по кожи, појачаном ректалном крварењу или било ком другом облику крварења и да прате пулс - бар једном дневно да измере пулс. Из групе болесника која је узимала *Brilique*, 6 болесника је пријавило да је имало највише 3 модрице, до 2 цм у пречнику, на доњим екстремитетима. Након 7-10 дана је долазило до потпуног повлачења модрица по кожи. Није пријављен ниједан други вид крварења, гушења, брадикардије, нити је било појачаног ректалног крварења нити било којих других новонасталих тегоба. Након 3 месеца *Brilique* је искључен из терапије. Болесници су због нежељених ефеката, праћени још 3 месеца након прекида терапије *Brilique-om*, али није пријављен ниједан нежељени ефекат

4.2.1. Социодемографске и антропометријске карактеристике пацијената

У студију је укупно било укључено 27 мушкараца (67,5%) и 13 жена (32,5%), од тога у стандардној групи је било 16 мушкараца (80%) и 4 жене (20%), док је у групи пацијената који су примали *Brilique* било 11 мушкараца (55%) и 9 жена (45%). Ови резултати су приказани у табели 4.

Табела 4. Пол пацијената

Протокол	Мушкарци	Жене	р вредност*
<i>Brilique</i>	11 (55,0%)	9 (45,0%)	0,091

Стандардни	16 (80,0%)	4 (20,0%)	
------------	------------	-----------	--

* *Chi-square test*

Просечна старост у у стандардној групи износила је 36 година, а у групи пацијената који су примали *Brilique* износила је 42 године (табела 5).

Табела 5. Старост пацијената

Протокол	Сви	Мушкарци	Жене	р вредност*
<i>Brilique</i>	35,65±9,48	32,82±8,26	39,11±10,18	0,144
Стандардни	42,30±14,93	40,94±15,01	47,75±15,35	0,429
р вредност*	0,101	0,116	0,249	

* *Independent Samples Test*

Индекс телесне масе (ИТМ) је износио од 22,5 – 26,4 у групи пацијената која је узимала *Brilique* а од 23,1 – 27,6 у стандардној групи.

У стандардној групи је било 18 непушача и 2 пушача, док је у групи пацијената која је примала *Brilique* било 19 непушача и 1 пушач. Значи укупно 3 пушача у обе гурпе пацијената. Еволуција болести у стандардној групи је износила 5 година у просеку, а у групи болесника који су примали *Brilique* је износила 4 године у просеку.

Сви болесници су за терапију улцерозног колитиса, до почетка испитивања, а након тога су престали, користили оптималне дозе препарата месалазина или *Pentasa* таблете или *Sulfasalazin* таблете, уз локалну терапију: месалазински чепићи и клизме.

У групи пацијената који су користили *Brilique* било је 11 болесника са проктосигмоидитисом (55%), 3 са левостраним УК (15%) и 6 болесника са екстензивним УК (30%), *Mayo score (MS)* 2 -15 болесника (75%), *MS* 3 - 2 болесника (10%) и *MS* 1 - 3 болесника (15%). У стандардној групи је укључено 2 болесника са проктосигмоидитисом (10%), 9 са левостраним УК (45%) и 9 болесника са екстензивним УК (45%), *MS* 2 - 14 болесника (70%), *MS* 3 6 болесника (30%).

4.3. Основни биохемијски параметри

Анализирани су основни биохемијски параметри на почетку студије, 7 и 30 дана након почетка испитивања, код свих болесника.

Ниво хемоглобина, на почетку студије, у групи пацијената која је примала *Brilique* износио је од 102-168 g/L, просечна вредност 130,85 g/L, а у стандардној групи пацијената је износио 113-141 g/L, просечна вредност 126,15 g/L. Није било статистички значајне разлике између група (*Independent samples t test*, $p = 0,417$). Након 7 дана од почетка испитивања просечне вредности хемоглобина су биле без веће разлике у односу на почетни ниво. Након 30 дана дошло је до минималног пораста просечних вредности хемоглобина у обе групе, али без статистички значајне разлике између група. Није нађена статистички значајна разлика у нивоу хемоглобина током трајања испитивања унутар група.

Број **тромбоцита** (референтни опсег 160- 370 × 10¹²/L) је само код 7 болесника (17,5%) био повишен на првом мерењу (на почетку студије) и то код 6 болесника који су формирали стандардну групу (409, 651, 396, 395, 440, 500 × 10¹²/L) и 1 болесника из

групе пацијената који примала *Brilique* ($440 \times 10^{12}/L$). Код свих болесника је дошло до нормализације броја тромбоцита након 7 дана, осим код 1 болесника из стандардне групе ($634 \times 10^{12}/L$), где је до нормализације броја Тр дошло након месец дана. Сви су имали благи пораст броја Тр - за 15%, осим болесника који није нормализовао број Тр након 7 дана - пораст за 44%.

Одређиване су вредности урее, креатинина, глукозе, албумина, калијума, холестерола, триглицерида, *AST*, *ALT*, магнезијума у венској крви: на почетку испитивања, 7 и 30 дана након почетка испитивања. Све вредности наведених параметара су у сва 3 мерења, у обе групе, биле у референтном опсегу.

4.4. *CRP* је коришћен као параметар инфламације.

На почетку студије нешто ниже вредности *CRP* су имали болесници који су примали *Brilique*, али без статистички значајне разлике између група. Након 7 дана од почетка терапије дошло је до пада *CRP* у стандардној групи, а *CRP* у групи која је примала *Brilique* је био без промене, али није било статистички значајне разлике између група. Након 30 дана дошло је до снижења *CRP* у обе групе, нешто је нижи био *CRP* код болесника који су примали *Brilique*, али без статистички значајне разлике између група. Постојало је статистички значајно снижење *CRP* у стандардној групи, након 30 дана од почетка лечења у односу на почетак испитивања, дошло је до снижења *CRP* са $6,00 \text{ mg/L}$ ($3,00\text{-}16,00$) на $2,00 \text{ mg/L}$ ($1,00\text{-}5,00$). Такође постојало је статистички значајно снижење *CRP* у групи која је примала *Brilique*, након 30 дана од почетка испитивања, у односу на почетак испитивања, дошло је до снижења *CRP* са $3,00 \text{ mg/L}$ ($2,00\text{-}11,00$) на $1,00 \text{ mg/L}$ ($1,00\text{-}3,75$) (табела 6).

Табела 6. Вредности *CRP*(*mg/L*)

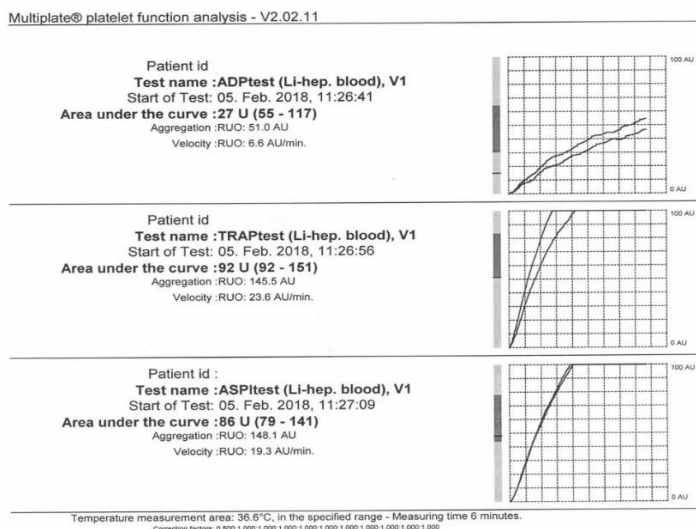
Протокол	<i>CRP</i> (0)	<i>CRP</i> (7)	<i>CRP</i> (30)	р вредност*
<i>Brilique</i>	3,00 (2,00-11,00)	3,00 (1,00-6,50)	1,00 (1,00-3,75)	0,001
Стандардни	6,00 (3,00-16,00)	3,00 (2,00-9,25)	2,00 (1,00-5,50)	<0,001
р вредност#	0,256	0,547	0,277	

* *Friedman Test*; # *Mann-Whitney U test*

4.5. Агрегабилност тромбоцита

Агрегабилност тромбоцита је одређивана на почетку студије код свих испитаника који су након тога подељени према протоколу у две групе. Одређивани су *ADP* тест, *TRAP* тест (тромбин рецептор активациони пептид) и *ASPI* тест (тест са арахидонском киселином). Сви болесници су имали нормалну агрегабилност тромбоцита. Након 7 и 30 дана од почетка примене протокола, одређивана је *ADP* зависна агрегабилност тромбоцита само у групи која је користила *Brilique*. Код тих болесника нађено је значајно смањење *ADP* зависне агрегације тромбоцита, што је и очекивано након примене лека. Испитивана је агрегабилност након 4 сата и након 24 сата од примене лека, и у оба случаја је нађена смањена агрегабилност тромбоцита (Слика 13).

Слика 13. Агрегација Тр, 4 сата након давања *Brilique-a*



Смањење је било израженије након 4 сата. После 30 дана од примене протокола, одређивана је *ADP* зависна агрегабилност тромбоцита код болесника који су узимали *Brilique*, након 1 дана, и добијена је нормална агрегабилност.

4.6. *sCD40L* и *sPselektin*

4.6.1. *sCD40L* је изабран јер представља један од маркера активације тромбоцита и хиперкоагулабилности.

На почетку студије нађене су повишене вредности *sCD40L* код свих испитаника који ће формирати две групе, али без статистички значајне разлике између група. Након 7 дана дошло је до снижења вредности *sCD40L* у обе групе (оних који су примали само стандардну терапију и оних који су уз ову терапију добијали и *Brilique*). Није било статистички значајне разлике унутар група и између група. Након 30 дана запажен је пад *sCD40L* у обе групе, али без статистичке значајности између група. У групи која је користила *Brilique* нађена је вредност 2045,50 pg/ml (1092,00-3223,25), што је представљало статистички значајно смањење (*p* вредност 0,022) у односу на вредност на почетку студије 3256,00 pg/ml (2091,25-3597,00). У стандардној групи је нађена вредност 2049,00 pg/ml (1041,75-3263,00), али без статистички значајне разлике у односу на почетак студије 2945,00 pg/ml (1367,00-3838,00) (табела 7).

Табела 7. Вредности *sCD40L* (pg/ml)

Протокол	<i>sCD40L</i> (0)	<i>sCD40L</i> (7)	<i>sCD40L</i> (30)	<i>p</i> вредност*
<i>Brilique</i>	3256,00 (2091,25-3597,00)	3003,00 (1942,25-3663,75)	2045,50 (1092,00-3223,25)	0,022
Стандардни	2945,00 (1367,00-3838,00)	2733,50 (1448,75-3986,50)	2049,00 (1041,75-3263,00)	0,086
<i>p</i> вредност#	0,565	0,445	1,000	

* *Friedman Test*; # *Mann-Whitney U test*

4.6.2. sP-selectin представља поуздан маркер инфламације, активације тромбоцита и ендотелних ћелија.

На почетку студије нађене су повишене вредности *sP-selectin-a* у крви код свих испитаника: 81,50 ng/ml у групи пацијената која је примала *Brilique* уз стандардну терапију, односно 80,50 ng/ml у групи испитаника који ће примати само стандардну терапију уз *Placebo*. Није било статистички значајне разлике у вредности *sP-selectin-a* између ове две групе. Након 7 дана уочено је снижење вредности *sP-selectin-a* у обе групе, 76,50 ng/ml у групи пацијената која је користила *Brilique*, односно 79,50 ng/ml у стандардној групи, али без статистички значајне разлике између група. Након 30 дана и даље се детектовао пад *sP-selectin-a* у обе групе, 67,00 ng/ml групи болесника који су примали *Brilique*, односно 72,00 ng/ml у стандардној групи, али без статистички значајне разлике између група. Није било ни статистички значајне разлике унутар група (табела 8).

Табела 8. Вредности *sP-selectin-a*(ng/ml)

Протокол	<i>sPsel</i> (0)	<i>sPsel</i> (7)	<i>sPsel</i> (30)	<i>p</i> вредност*
<i>Brilique</i>	81,50 (44,50-177,00)	76,50 (51,00-173,50)	67,00 (37,25-144,75)	0,115
Стандардни	80,50 (33,00-173,00)	79,50 (64,50-156,75)	72,00 (41,50-96,00)	0,118
<i>p</i> вредност#	0,779	0,820	0,799	

* *Friedman Test*; # *Mann-Whitney U test*

4.7. Биомаркери у серуму – одређиване су концентрације оних цитокина у серуму болесника, за које је показано на основу досадашњих резултата других аутора да имају значајну улогу у патогенези УК.

4.7.1. *IL-6*

На почетку испитивања одређене су вредности *IL-6* код свих испитиваних пацијената. Није било статистички значајне разлике између испитаних болесника који су према експерименталном дизајну подељени у две групе. Након 7 дана од почетка примене протокола испитивања дошло је до пораста вредности *IL-6* у обе групе: у стандардној групи са 70,00 pg/ml (30,75-115,75) на 148,00 pg/ml (71,50-284,50), а у групи која је користила *Brilique* са 102,50 pg/ml (48,00-221,75) на 104,00 pg/ml (27,50-245,00), али без статистички значајне разлике између група. Након 30 дана од почетка испитивања дошло је до пада вредности *IL-6* у односу на 7. дан у обе групе, али без статистички значајне разлике између група. Вредност у стандардној групи је била 88,50 pg/ml (19,25-343,00) и постојао је статистички значајан пораст у односу на вредности на почетку студије ($p=0,003$). Вредност *IL-6* у групи која је уз стандардну терапију користила *Brilique* је износила 79,00 pg/ml (22,00-225,00) што је представљало смањење у односу на вредности на почетку студије 102,50 pg/ml (48,00-221,75), али без статистички значајне разлике (табела 9 и графикон 1).

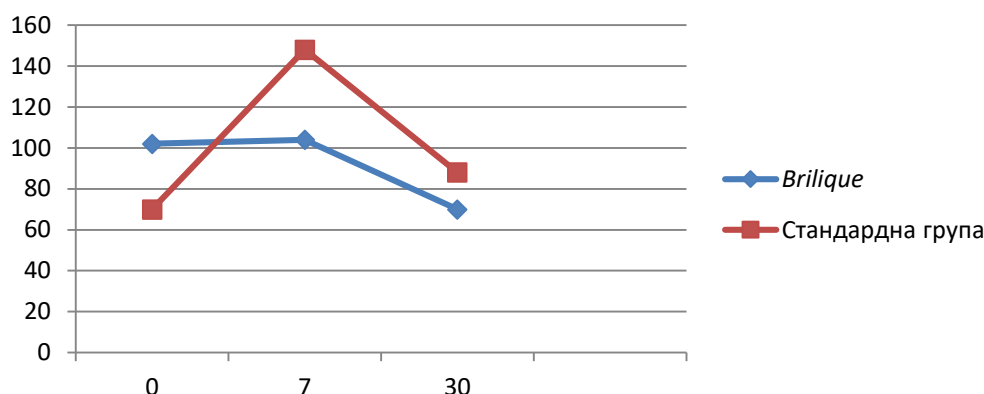
Табела 9. Вредности *IL-6* (pg/ml)

Протокол	<i>IL-6</i> (0)	<i>IL-6</i> (7)	<i>IL-6</i> (30)	<i>p</i> вредност*
<i>Brilique</i>	102,50 (48,00-221,75)	104,00 (27,50-245,00)	79,00 (22,00-225,00)	0,786
Стандардни	70,00 (30,75-115,75)	148,00 (71,50-284,50)	88,50 (19,25-343,00)	0,003

р вредност#	0,256	0,192	0,758	
-------------	-------	-------	-------	--

* *Friedman Test*; # *Mann-Whitney U test*

Графикон 1. Вредности *IL-6*



4.7.2. *IL-13*

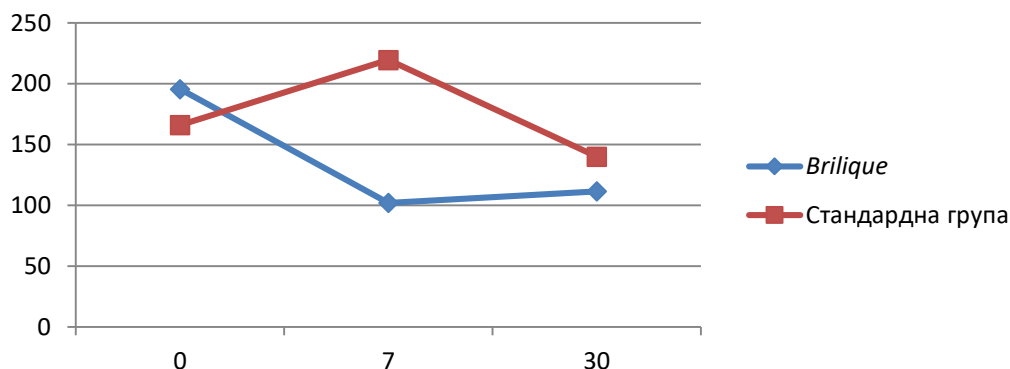
Није било статистички значајне разлике у детектованим вредностима *IL-13* код тестираних испитаника који су на почетку испитивања према експерименталном дизајну подељени у две групе. Након 7 дана од почетка испитивања дошло је до пада *IL-13* у групи која је користила *Brilique* са 195,50 pg/ml (4,75-323,75) на 102,00 pg/ml (0,25-301,25), а у стандардној групи долази до пораста *IL-13* са 166,00 pg/ml (22,50-342,50) на 219,50 pg/ml (36,75-322,50). Након 30 дана од почетка испитивања дошло је до пада вредности *IL-13* у обе групе. Измерене вредности су биле ниже од вредности на почетку испитивања, али без статистички значајне разлике унутар и између група (табела 10 и графикон 2).

Табела 10. Вредности *IL-13* (pg/ml)

Протокол	<i>IL-13</i> (0)	<i>IL-13</i> (7)	<i>IL-13</i> (30)	р вредност*
<i>Brilique</i>	195,50 (4,75-323,75)	102,00 (0,25-301,25)	111,50 (5,50-182,75)	0,500
Стандардни	166,00 (22,50-342,50)	219,50 (36,75-332,50)	140,00 (22,75-220,00)	0,293
р вредност#	0,698	0,096	0,602	

* *Friedman Test*; # *Mann-Whitney U test*

Графикон 2. Вредности *IL-13*



4.7.3. *TNF- α*

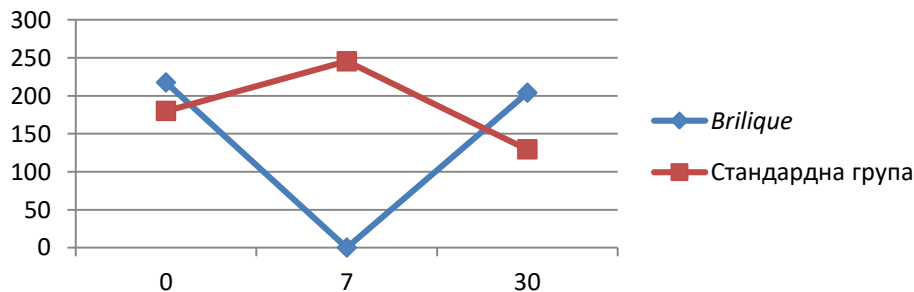
Није било статистички значајне разлике у детектованим вредностима *TNF- α* између две групе пацијената које су подељене према експерименталном дизајну. Након 7 дана од почетка терапије дошло је до пада вредности *TNF- α* , у групи која је користила *Brilique*, на вредности испод нивоа детекције, а у стандардној групи долази до пораста вредности на 245,00 *pg/ml* (161,50-362,25), у поређењу са вредностима на почетку студије, без статистички значајне разлике између група. Након 30 дана од почетка испитивања дошло је до пораста вредности *TNF- α* на приближно исте концентрације као на почетку студије 204,00 *pg/ml* (0,00-452,00) у групи која је користила *Brilique*, док се у стандардној групи регистровао пад на вредности 129,50 *pg/ml* (0,00 -392,00) које су биле ниже од оних на почетку испитивања 180,00 *pg/ml* (0,00-319,00), односно након 7 дана, без статистички значајне разлике између група (табела 11 и графикон 3).

Табела 11. Вредности *TNF- α* (*pg/ml*)

Протокол	<i>TNF-α</i> (0)	<i>TNF-α</i> (7)	<i>TNF-α</i> (30)	<i>p</i> вредност*
<i>Brilique</i>	217,50 (0,00-296,75)	0,00 (0,00-273,50)	204,00 (0,00-452,00)	0,573
Стандардни	180,00 (0,00-319,00)	245,50 (161,50-362,25)	129,50 (0,00-392,00)	0,607
<i>p</i> вредност#	0,678	0,102	0,947	

* *Friedman Test*; # *Mann-Whitney U test*

Графикон 3. Вредности *TNF- α*



4.7.4. *IFN- γ*

На почетку испитивања детектоване вредности *IFN- γ* код свих испитаника су биле испод нивоа детекције. Након 7 дана од почетка примене протокола дошло је до пораста вредности *IFN- γ* на 261,00 *pg/ml* (0,00-1073,00) у групи која је примала стандардну терапију, док су и даље вредности у групи која је узимала *Brilique* биле ниске. Након 30 дана од почетка испитивања дошло је да пораста вредности *IFN- γ* у групи која је узимала *Brilique* 12,00 *pg/ml* (0,00-110,00), док су се у стандардној групи бележиле немерљиве вредности. Све време без статистички значајне разлике између група (табела 12).

Табела 12. Вредности *IFN- γ* (*pg/ml*)

Протокол	<i>IFN-γ</i> (0)	<i>IFN-γ</i> (7)	<i>IFN-γ</i> (30)	<i>p</i> вредност*
<i>Brilique</i>	0,00 (0,00-264,00)	0,00 (0,00-233,50)	12,00 (0,00-110,00)	0,516

Стандардни	0,00 (0,00-71,00)	261,00 (0,00-1073,00)	0,00 (0,00-358,00)	0,085
<i>p</i> вредност#	0,670	0,095	0,583	

* *Friedman Test*; # *Mann-Whitney U test*

4.7.5. IL-17A

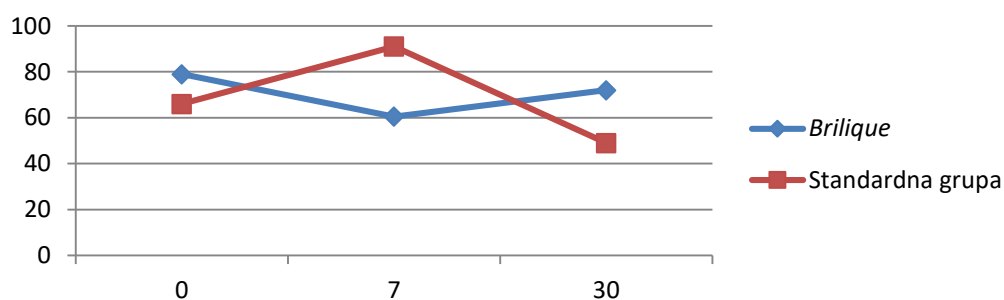
На почетку испитивања у групи која ће наставити да прима само стандардну терапију нађене су вредности 66,00 *pg/ml* (52,00-98,00), а у групи која је примала *Brilique* на почетку је концентрација овог цитокина износила 79,00 *pg/ml* (0,00-147,00). Није било статистички значајне разлике. Након 7 дана од почетка испитивања, дошло је до пада *IL-17A* у групи која је узимала *Brilique* на 60,50 *pg/ml* (0,00-130,75), а у стандардној групи је дошло до пораста на 91 *pg/ml* (70,00-132,00). Након 30 дана од почетка испитивања бележио се мањи пораст у групи која је узимала *Brilique*, а пад у стандардној групи. Све време није забележена статистичка значајна разлика унутар група и између група (табела 13 и графикон 4).

Табела 13. Вредности *IL-17A* (*pg/ml*)

Протокол	<i>IL-17A</i> (0)	<i>IL-17A</i> (7)	<i>IL-17A</i> (30)	<i>p</i> вредност*
<i>Brilique</i>	79,00 (0,00-147,00)	60,50 (0,00-130,75)	72,00 (0,00-122,25)	0,776
Стандардни	66,00 (52,00-98,00)	91,00 (70,00-132,00)	49,00 (0,00-186,00)	0,176
<i>p</i> вредност#	0,583	0,066	0,640	

* *Friedman Test*; # *Mann-Whitney U test*

Графикон 4. Вредности *IL-17A*



Просечне вредности цитокина у *M-Brilique* групи и стандардној групи након 7 дана од почетка испитивања су приказане у табели 14.

Табела 14. Вредности цитокина у *M-Brilique* групи

Групе	<i>TNF-α</i>	<i>IL-17A</i>	<i>IL-21</i>	<i>IL-22</i>
<i>M-Brilique</i>	0,00	49,00	157,50	49,00
Стандардна	245,50	91,00	240,00	145,00
<i>p</i> вредност	0,006	0,004	0,0025	0,004

4.7.6. IL-17F

На почетку испитивања у групи која ће наставити да прима само стандардну терапију нађене су вредности 21,00 *pg/ml* (0,00-189,00), а у групи која је примала *Brilique* на

почетку испитивања је детектована концентрација овог цитокина износила 7,50 pg/ml (0,00-264,25). Није било статистички значајне разлике. Након 7 дана од почетка испитивања дошло је до пораста вредности *IL-17F* у групи која је примала *Brilique* и практично немерљивих вредности у стандардној групи, али опет без статистички значајне разлике између група. Након 30 дана од почетка испитивања у обе групе су нађене немерљиве вредности *IL-17F* (табела 15).

Табела 15. Вредности *IL-17F* (pg/ml)

Протокол	<i>IL-17F</i> (0)	<i>IL-17F</i> (7)	<i>IL-17F</i> (30)	<i>p</i> вредност*
<i>Brilique</i>	7,50 (0,00-264,25)	50,50 (0,00-287,50)	0,00 (0,00-0,00)	0,054
Стандардни	21,00 (0,00-189,00)	0,00 (0,00-56,00)	0,00 (0,00-86,00)	0,279
<i>p</i> вредност#	0,699	0,157	0,403	

* *Friedman Test*; # *Mann-Whitney U test*

4.7.7. *IL-21*

На почетку испитивања у групи која ће наставити да прима само стандардну терапију нађене су вредности *IL-21* 162,00 pg/ml (115,00-235,00) а у групи која је примала *Brilique* на почетку је детектована концентрација овог цитокина износила 200,00 pg/ml (122,00-304,00). Није било статистички значајне разлике. Након 7 дана од почетка праћења дошло је до пада вредности *IL-21* у групи која је примала *Brilique* и пораста у стандардној групи, али без статистички значајне разлике унутар група и између група. Након 30 дана од почетка праћења регистроване су вредности 162,00 pg/ml (115,00-359,00) у групи која је примала *Brilique* и 158,00 pg/ml (2,00-257,00) у стандардној групи - без статистички значајне разлике између група и унутар групе (табела 16).

Табела 16. Вредности *IL-21*(pg/ml)

Протокол	<i>IL-21</i> (0)	<i>IL-21</i> (7)	<i>IL-21</i> (30)	<i>p</i> вредност*
<i>Brilique</i>	200,00 (122,00-304,00)	156,50 (35,00-252,25)	162,00 (115,00-359,50)	0,195
Стандардни	162,00 (115,00-235,00)	240,00 (161,00-308,00)	158,00 (2,00-257,00)	0,336
<i>p</i> вредност#	0,359	0,060	0,451	

* *Friedman Test*; # *Mann-Whitney U test*

4.7.8. *IL-22* је цитокин важан за одржавање цревне баријере.

Вредност *IL-22* на почетку испитивања у групи која ће наставити да прима само стандардну терапију износила је 67,00 pg/ml (54,00-122,00) док је у групи пацијената која је примала *Brilique* износила 76,50 pg/ml (46,50-211,75). Није нађена статистички значајна разлика између група. Након 7 дана од почетка испитивања дошло је до

лаганог пада вредности *IL-22* у групи пацијената који су узимали *Brilique*, док се у стандардној групи регистровао пораст. Након 30 дана од почетка испитивања регистрован је мањи пораст *IL-22* у групи пацијената која је узимала *Brilique* док је у стандардној групи верификован пад. Све време без статистички значајне разлике између група и унутар група (табела 17).

Табела 17. Вредности *IL-22* (*pg/ml*)

Протокол	<i>IL-22</i> (0)	<i>IL-22</i> (7)	<i>IL-22</i> (30)	<i>p</i> вредност*
<i>Brilique</i>	76,50 (46,50-211,75)	61,50 (0,00-190,00)	74,50 (47,25-204,75)	0,378
Стандардни	67,00 (54,00-122,00)	145,00 (65,00-278,00)	59,00 (0,00-153,00)	0,175
<i>p</i> вредност#	0,640	0,054	0,451	

* *Friedman Test*; # *Mann-Whitney U test*

4.7.9. *IL-5*

Код испитиваних болесника, на почетку студије у групи која је примала *Brilique* нађена концентрација *IL-5* је износила 8,00 *pg/ml* (0,00-149,25). У групи која је примала само стандардну терапију, 7 дана након почетка испитивања, детектована концентрација овог цитокина износила је 19,00 *pg/ml* (0,00-181,00). Остале вредности су биле испод нивоа детекције (табела 18).

Табела 18. Вредности *IL-5* (*pg/ml*)

Протокол	<i>IL-5</i> (0)	<i>IL-5</i> (7)	<i>IL-5</i> (30)	<i>p</i> вредност*
<i>Brilique</i>	8,00 (0,00-149,25)	0,00 (0,00-72,00)	0,00 (0,00-71,25)	0,420
Стандардни	0,00 (0,00-191,00)	19,00 (0,00-181,00)	0,00 (0,00-18,00)	0,086
<i>p</i> вредност#	0,761	0,133	0,528	

* *Friedman Test*; # *Mann-Whitney U test*

4.7.10. *IL-2*

Нађене су следеће вредности *IL-2* на почетку студије: 69,00 *pg/ml* (14,25-93,50) у групи болесника која је примала *Brilique* и 56,00 *pg/ml* (13,00-73,00) у групи која ће наставити да прима само стандардну терапију, без статистички значајне разлике међу групама. Након 7 дана од почетка испитивања у групи болесника која је узимала *Brilique* дошло је до пада *IL-2* на 42,00 *pg/ml*, а у стандардној групи до пораста на 78,00 *pg/ml*, што је било статистички значајно, *p* вредност 0.04. Након 30 дана дошло је до пада *IL-2* у стандардној групи на 21,00 *pg/ml* (0,00-78,00) и пораста у групи болесника која је

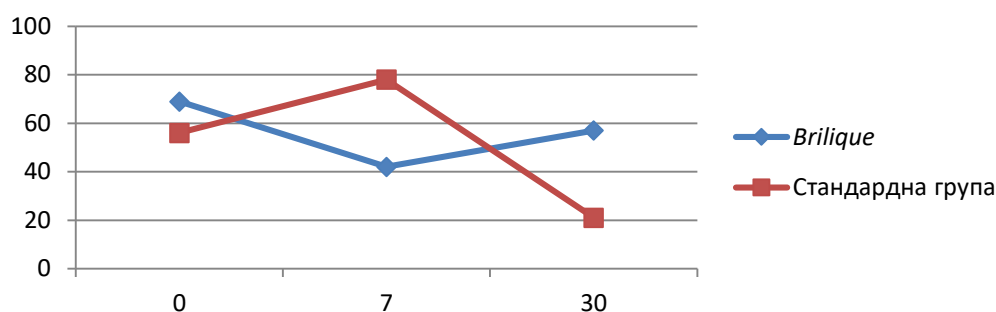
узимала *Brilique* на 57,00 pg/ml (20,75-97,50), без статистички значајне разлике између група и унутар групе (табела 19 и графикон 5).

Табела 19. Вредности *IL-2* (pg/ml)

Протокол	<i>IL-2</i> (0)	<i>IL-2</i> (7)	<i>IL-2</i> (30)	<i>p</i> вредност*
<i>Brilique</i>	69,00 (14,25-93,50)	42,00 (2,25-88,50)	57,00 (20,75-97,50)	0,267
Стандардни	56,00 (13,00-73,00)	78,00 (55,00-110,00)	21,00 (0,00-78,00)	0,159
<i>p</i> вредност#	0,227	0,040	0,476	

* *Friedman Test*; # *Mann-Whitney U test*

Графикон 5. Вредности *IL-2*



4.7.11. *IL-9*

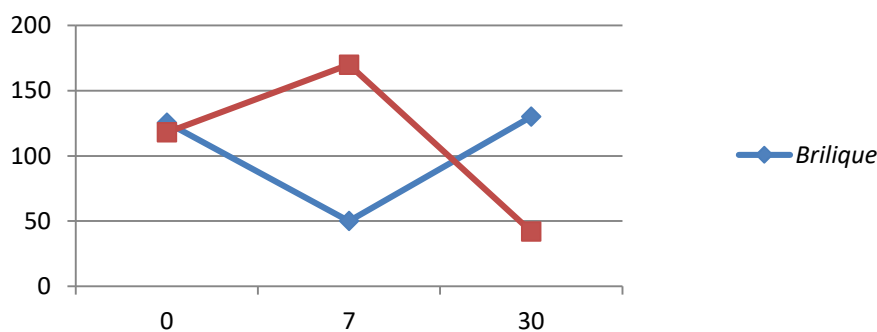
Нађене су следеће вредности *IL-9* на почетку студије, 125,00 pg/ml (0,00-265,00) у групи пацијената која је примала *Brilique* и 118,00 pg/ml (54,00-304,00) у групи која ће наставити да прима само стандардну терапију, без статистички значајне разлике. Након 7 дана од почетка примене ових протокола дошло је до пада *IL-9* у групи пацијената која је узимала *Brilique* на 50,00 pg/ml, а до пораста на 170,00 pg/ml у стандардној групи, без статистички значајне разлике између група и унутар група. Након 30 дана од почетка испитивања регистрован је пораст *IL-9* у групи пацијената која је узимала *Brilique* на 130,00 pg/ml (10,00-355,00) и пад на 42,00 pg/ml (0,00-440,00) у стандардној групи. Није било статистички значајне разлике између група и унутар група (табела 20).

Табела 20. Вредности *IL-9* (pg/ml)

Протокол	<i>IL-9</i> (0)	<i>IL-9</i> (7)	<i>IL-9</i> (30)	<i>p</i> вредност*
<i>Brilique</i>	125,50 (0,00-265,00)	50,00 (0,00-279,25)	130,00 (10,00-355,00)	0,353
Стандардни	118,00 (54,00-304,00)	170,00 (75,00-244,00)	42,00 (0,00-440,00)	0,120
<i>p</i> вредност#	0,670	0,113	0,690	

* *Friedman Test*; # *Mann-Whitney U test*

Графикон 6. Вредности IL-9



4.7.12. IL-10

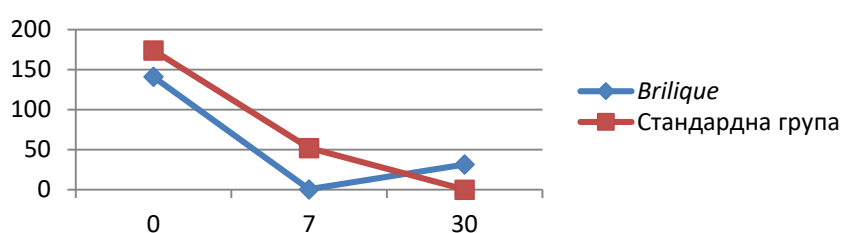
На почетку студије у обе групе нађене су следеће вредности овог цитокина, 141,00 pg/ml (3,25-316,75) у групи која је примала *Brilique*, а 174,00 pg/ml (0,00-440,00) у групи која ће наставити да прима само стандардну терапију. Након 7 дана од почетка испитивања дошло је до пада *IL-10* у обе групе. Након 30 дана од почетка примене протокола дошло је до пораста *IL-10* у групи која је користила *Brilique* али на вредности ниже него на почетку студије, док су у стандардној групи вредности биле испод нивоа детекције. Није било статистички значајне разлике између група и унутар група (табела 21 и графикон 7).

Табела 21. Вредности IL-10 (pg/ml)

Протокол	IL-10 (0)	IL-10 (7)	IL-10 (30)	p вредност*
<i>Brilique</i>	141,00 (3,25-316,75)	0,50 (0,00-24,75)	31,50 (0,00-197,25)	0,018
Стандардни	174,00 (0,00-440,00)	52,00 (0,00-262,00)	0,00 (0,00-113,00)	0,139
p вредност#	1,000	0,060	0,227	

* *Friedman Test*; # *Mann-Whitney U test*

Графикон 7. Вредности IL-10



4.7. У наредном делу резултата вредности *CRP*, *sCD40L*, *sPselektina* и цитокина су дате као медијана (интерквартални распон 25-75 перцентил). Резултати су приказани као промене разлике вредности између група, потом је израчуната медијана разлика вредности седмог и нултог дана, 30 и нултог дана, а затим су израчунате процентуалне промене разлике вредности.

4.8.1. CRP

Након 7 дана дошло је до смањења у просеку за 34% у групи која је користила *Brilique* односно 55% у стандардној групи, а након 30 дана дошло је до снижења у просеку за

60% у групи која је користила *Brilique* односно 65% у стандардној групи. Није било статистички значајне разлике између група (табела 22).

Табела 22. Процентуална промена разлике *CRP*

<i>CRP</i>			
7 дана - 0 дан			
Протокол	Повећање / Смањење Број пацијената	Разлика вредности (7 дана минус 0 дан)	Процентуална промена
<i>Brilique</i>	14 (70%) / 6 (30%)	-1,00 (-7,75-0,00)	-34,52 (-52,07-24,44)
Стандардни	17 (85%) / 3 (15%)	-2,50 (-7,75--0,25)	-55,34 (-61,01--8,85)
<i>p</i> вредност	0,449*	0,429#	0,221#
<i>CRP</i>			
30 дана - 0 дан			
Протокол	Повећање / Смањење Број пацијената	Разлика вредности (30 дана минус 0 дан)	Процентуална промена
<i>Brilique</i>	16 (80%) / 4 (20%)	-1,50 (-9,00--1,00)	-59,81 (-81,05--28,99)
Стандардни	18 (90%) / 2 (10%)	-5,00 (-10,00--1,00)	-65,02 (-84,35--52,27)
<i>p</i> вредност	0,658*	0,369#	0,547#

* *Chi-square test*; # *Mann-Whitney U test*

4.8.2. *sCD40L*

У обе групе, након 7 дана дошло је до повећања концентрације *sCD40L* у просеку за 15% у групи која је користила *Brilique* односно 4% у стандардној групи, а након 30 дана дошло је до снижења у просеку за 40% у групи која је користила *Brilique* односно 26% у стандардној групи. Није било статистички значајне разлике између група (табела 23).

Табела 23. Процентуална промена разлике *sCD40L*

<i>sCD40L</i>			
7 дана - 0 дан			
Протокол	Повећање / Смањење Број пацијената	Разлика вредности (7 дана минус 0 дан)	Процентуална промена
<i>Brilique</i>	12 (60%) / 8 (40%)	196,00 (-398,25-1165,25)	15,44 (-19,76-53,54)
Стандардни	11 (55%) / 9 (45%)	114,00 (-882,00-454,75)	4,03 (-24,53-18,31)
<i>p</i> вредност	1,000*	0,512#	0,583#
<i>sCD40L</i>			
30 дана - 0 дан			
Протокол	Повећање / Смањење Број пацијената	Разлика вредности (30 дана минус 0 дан)	Процентуална промена
<i>Brilique</i>	4 (20%) / 16 (80%)	-551,00 (-2381,00--120,50)	-25,87 (-61,83--5,30)
Стандардни	6 (30%) / 14 (70%)	-1032,00 (-1897,50-525,50)	-40,46 (-49,02-31,42)
<i>p</i> вредност	0,715*	0,968#	0,718#

* *Chi-square test*; # *Mann-Whitney U test*

4.8.3. sPselectin

У групи која је користила *Brilique* након 7 дана је дошло до смањења концентрације sPselectin-a у просеку за 0,5%, а у стандардној групи до повећања за 8,67%. Након 30 дана дошло је до снижења у просеку за 21% у групи која је користила *Brilique* односно повећања у просеку за 0,6% у стандардној групи. Није показана статистички значајна разлика између група (табела 24).

Табела 24. Процентуална промена разлике sPselectin-a

sPsel			
7 дана - 0 дан			
Протокол	Повећање / Смањење Број пацијената	Разлика вредности (7 дана минус 0 дан)	Процентуална промена
<i>Brilique</i>	10 (50%) / 10 (50%)	2,00 (-34,75-25,75)	-0,52 (-38,25-60,40)
Стандардни	10 (50%) / 10 (50%)	7,50 (-33,75-34,50)	8,67 (-30,90-218,28)
<i>p</i> вредност	1,000*	0,738#	0,414#
sPsel			
30 дана - 0 дан			
Протокол	Повећање / Смањење Број пацијената	Разлика вредности (30 дана минус 0 дан)	Процентуална промена
<i>Brilique</i>	7 (35%) / 13 (65%)	-25,00 (-44,50-29,75)	-20,89 (-58,25-69,77)
Стандардни	10 (50%) / 10 (50%)	0,00 (-31,25-19,00)	0,60 (-25,01-83,75)
<i>p</i> вредност	0,522*	0,620#	0,355#

* *Chi-square test*; # *Mann-Whitney U test*

4.8.4. IL-6

У групи која је користила *Brilique* након 7 дана је дошло до смањења концентрације IL-6 у просеку за 25%, а у стандардној групи до повећања за 96%, што је било статистички значајно, *p* вредност 0,024. Након 30 дана дошло је до смањења концентрације овог цитокина у просеку за 35% у групи која је користила *Brilique*, а у стандардној групи до повећања за 23%, што није било статистички значајно (табела 25).

Табела 25. Процентуална промена разлике IL-6

IL-6			
7 дана - 0 дан			
Протокол	Повећање / Смањење Број пацијената	Разлика вредности (7 дана минус 0 дан)	Процентуална промена
<i>Brilique</i>	10 (50%) / 10 (50%)	-13,50 (-181,75-124,75)	-25,23 (-75,55-113,04)
Стандардни	3 (15%) / 17 (85%)	76,00 (20,75-155,50)	96,01 (30,23-341,67)
<i>p</i> вредност	0,043*	0,063#	0,024#
IL-6			
30 дана - 0 дан			
Протокол	Повећање / Смањење Број пацијената	Разлика вредности (30 дана минус 0 дан)	Процентуална промена
<i>Brilique</i>	12 (60%) / 8 (40%)	-30,00 (-126,50-124,50)	-35,48 (-82,72-206,09)
Стандардни	8 (40%) / 12 (60%)	20,00 (-26,50-106,00)	22,94 (-78,10-221,65)

<i>p</i> вредност	0,343*	0,174#	0,792#
-------------------	--------	--------	--------

* *Chi-square test*; # *Mann-Whitney U test*

4.8.5. IL-13

У групи која је примала *Brilique* дошло је након 7 дана до смањења концентрације *IL-13* у просеку за 44%, а у стандардној групи до повећања за 29%, што је било статистички значајно, *p* вредност 0,071. Након 30 дана дошло је до смањења у обе групе, у просеку за 27% у групи која је користила *Brilique*, односно за 37% у групи која је добијала само стандардну терапију што није било статистички значајно (табела 26).

Табела 26. Процентуална промена разлике *IL-13*

<i>IL-13</i>	7 дана - 0 дан		
Протокол	Повећање / Смањење Број пацијената	Разлика вредности (7 дана минус 0 дан)	Процентуална промена
<i>Brilique</i>	15 (75%) / 5 (25%)	-1,50 (-175,75-39,75)	-44,44 (-80,79-19,29)
Стандардни	8 (40%) / 12 (60%)	23,50 (-113,50-106,75)	29,26 (-47,11-100,00)
<i>p</i> вредност	0,055*	0,211#	0,071#
<i>IL-13</i>	30 дана - 0 дан		
Протокол	Повећање / Смањење Број пацијената	Разлика вредности (30 дана минус 0 дан)	Процентуална промена
<i>Brilique</i>	11 (55%) / 9 (45%)	-12,00 (-281,50-106,25)	-26,98 (-89,75-96,80)
Стандардни	14 (70%) / 6 (30%)	-33,00 (-142,50-19,25)	-36,83 (-87,35-5,08)
<i>p</i> вредност	0,514*	0,947#	0,594#

* *Chi-square test*; # *Mann-Whitney U test*

4.8.6. TNF- α

Након 7 дана је дошло до снижења концентрације *TNF- α* у просеку за 100% у групи која је примала *Brilique*, односно до снижења у просеку за 13,5% у стандардној групи, што је било статистички значајно, *p* вредност 0,05. Након 30 дана дошло је до снижења концентрације овог цитокина у просеку за 64% у групи која је користила *Brilique* односно повећања у просеку за 4,5% у стандардној групи, што није било статистички значајно (табела 27).

Табела 27. Процентуална промена разлике *TNF- α*

<i>TNF-α</i>	7 дана - 0 дан		
Протокол	Повећање / Смањење Број пацијената	Разлика вредности (7 дана минус 0 дан)	Процентуална промена
<i>Brilique</i>	13 (65%) / 7 (35%)	-28,50 (-283,00-142,75)	-100,00 (-100,00--10,56)
Стандардни	11 (55%) / 9 (45%)	-5,50 (-82,00-291,25)	-13,53 (-37,93-8,48)
<i>p</i> вредност	0,747*	0,192#	0,050#
<i>TNF-α</i>	30 дана - 0 дан		
Протокол	Повећање / Смањење Број пацијената	Разлика вредности (30 дана минус 0 дан)	Процентуална промена

<i>Brilique</i>	12 (60%) / 8 (40%)	-18,00 (-273,50-259,75)	-63,65 (-100,00-26,42)
Стандардни	11 (55%) / 9 (45%)	1,00 (-61,00-56,75)	4,51 (-86,82-25,60)
<i>p</i> вредност	1,000*	0,355#	0,287#

* *Chi-square test*; # *Mann-Whitney U test*

4.8.7. IL-17A

У групи која је користила *Brilique* дошло је након 7 дана до смањења концентрације *IL-17A* у просеку за 52%, а у стандардној групи до повећања за 32%, што је било статистички значајно, *p* вредност 0,005. Након 30 дана дошло је до смањења концентрације овог цитокина у обе групе, у просеку за 72% у групи која је користила *Brilique*, односно за 13% у стандардној групи, што није било статистички значајно (табела 28).

Табела 28. Процентуална промена разлике *IL-17A*

<i>IL-17A</i>	7 дана - 0 дан		
Протокол	Повећање / Смањење Број пацијената	Разлика вредности (7 дана минус 0 дан)	Процентуална промена
<i>Brilique</i>	11 (55%) / 9 (45%)	-2,00 (-103,75-69,75)	-52,31 (-100,00-8,85)
Стандардни	12 (60%) / 8 (40%)	25,00 (-20,00-87,00)	32,26 (-28,99-261,71)
<i>p</i> вредност	1,000*	0,066#	0,005#
<i>IL-17A</i>	30 дана - 0 дан		
Протокол	Повећање / Смањење Број пацијената	Разлика вредности (30 дана минус 0 дан)	Процентуална промена
<i>Brilique</i>	12 (60%) / 8 (40%)	-15,00 (-147,00-104,00)	-72,00 (-100,00-1,91)
Стандардни	17 (85%) / 3 (15%)	-4,00 (-52,00-49,00)	-13,26 (-100,00-164,62)
<i>p</i> вредност	0,157*	0,502#	0,369#

* *Chi-square test*; # *Mann-Whitney U test*

4.8.9. IL-17F

У групи која је користила *Brilique* дошло је након 7 дана до повећања концентрације овог цитокина у просеку за 34%, а у стандардној групи до снижења за 55%, што је било статистички значајно, *p* вредност 0,038. Након 30 дана дошло је до смањења у обе групе, у просеку за 100%, што није било статистички значајно (табела 29).

Табела 29. Процентуална промена разлике *IL-17F*

<i>IL-17F</i>	7 дана - 0 дан		
Протокол	Повећање / Смањење Број пацијената	Разлика вредности (7 дана минус 0 дан)	Процентуална промена
<i>Brilique</i>	10 (50%) / 10 (50%)	22,50 (-54,50-161,50)	34,05 (-26,04-163,05)
Стандардни	17 (85%) / 3 (15%)	0,00 (-113,00-0,00)	-55,28 (-194,83-0,00)
<i>p</i> вредност	0,043*	0,197#	0,038#
<i>IL-17F</i>	30 дана - 0 дан		

Протокол	Повећање / Смањење Број пацијената	Разлика вредности (30 дана минус 0 дан)	Процентуална промена
<i>Brilique</i>	16 (80%) / 4 (20%)	-7,00 (-264,25-0,00)	-100,00 (-100,00-100,00)
Стандардни	18 (90%) / 2 (10%)	-21,00 (-71,00-0,00)	-100,00 (-100,00--78,30)
<i>p</i> вредност	0,658*	0,640#	0,525#

* *Chi-square test*; # *Mann-Whitney U test*

4.8.10. IL-21

У групи која је користила *Brilique* дошло је након 7 дана до смањења концентрације *IL-21* у просеку за 63%, а у стандардној групи до повећања за 36%, што је било статистички значајно, *p* вредност 0,014. Након 30 дана дошло је до смањења у просеку за 19,5% у групи која је користила *Brilique*, а у стандардној групи дошло је до повећања за 1,85%, што није било статистички значајно (табела 30).

Табела 30. Процентуална промена разлике *IL-21*

<i>IL-21</i>		7 дана - 0 дан	
Протокол	Повећање / Смањење Број пацијената	Разлика вредности (7 дана минус 0 дан)	Процентуална промена
<i>Brilique</i>	13 (65%) / 7 (35%)	-96,50 (-217,00-110,25)	-62,79 (-81,39-53,87)
Стандардни	13 (65%) / 7 (35%)	66,00 (-63,00-259,00)	36,46 (-25,51-512,21)
<i>p</i> вредност	1,000*	0,104#	0,014#
<i>IL-21</i>		30 дана - 0 дан	
Протокол	Повећање / Смањење Број пацијената	Разлика вредности (30 дана минус 0 дан)	Процентуална промена
<i>Brilique</i>	11 (55%) / 9 (45%)	-18,00 (-122,00-191,50)	-19,52 (-75,00-72,27)
Стандардни	14 (70%) / 6 (30%)	3,00 (-113,00-109,00)	1,85 (-95,92-173,48)
<i>p</i> вредност	0,514*	0,887#	0,774#

* *Chi-square test*; # *Mann-Whitney U test*

4.8.11. IL-22

У групи која је користила *Brilique* дошло је након 7 дана до снижења концентрације *IL-22* у просеку за 70%, а у стандардној групи до повећања за 76%, што је било статистички значајно, *p* вредност 0,029. Након 30 дана дошло је до смањења концентрације овог цитокина у обе групе, у просеку за 30% у групи која је користила *Brilique*, односно за 7,8% у стандардној групи што није било статистички значајно (табела 31).

Табела 31. Процентуална промена разлике *IL-22*

<i>IL-22</i>		7 дана - 0 дан	
Протокол	Повећање / Смањење Број пацијената	Разлика вредности (7 дана минус 0 дан)	Процентуална промена
<i>Brilique</i>	13 (65%) / 7 (35%)	-34,50 (-173,00-75,00)	-69,91 (-100,00-156,96)

Стандардни	11 (55%) / 9 (45%)	51,00 (9,00-218,00)	76,12 (6,62-198,44)
<i>p</i> вредност	0,747*	0,023#	0,029#
<i>IL-22</i>	30 дана - 0 дан		
Протокол	Повећање / Смањење Број пацијената	Разлика вредности (30 дана минус 0 дан)	Процентуална промена
<i>Brilique</i>	13 (65%) / 7 (35%)	-23,50 (-100,00-69,00)	-29,87 (-79,30-4,91)
Стандардни	16 (80%) / 4 (20%)	-5,00 (-59,00-53,00)	-7,81 (-100,00-60,92)
<i>p</i> вредност	0,479*	0,761#	0,817#

* *Chi-square test*; # *Mann-Whitney U test*

4.8.12. *IL-2*

У групи која је користила *Brilique* дошло је након 7 дана до снижења концентрације *IL-2* у просеку за 60%, а у стандардној групи до повећања за 43%, што је било статистички значајно, *p* вредност 0,005. Након 30 дана дошло је до смањења концентрације овог цитокина у обе групе, у просеку за 31% у групи која је користила *Brilique*, односно за 2,5% у стандардној групи што није било статистички значајно (табела 32).

Табела 32. Процентуална промена разлике *IL-2*

<i>IL-2</i>	7 дана - 0 дан		
Протокол	Повећање / Смањење Број пацијената	Разлика вредности (7 дана минус 0 дан)	Процентуална промена
<i>Brilique</i>	14 (70%) / 6 (30%)	-23,00 (-60,50-16,50)	-59,56 (-100,00--6,92)
Стандардни	12 (60%) / 8 (40%)	35,50 (-3,00-56,50)	43,08 (-9,08-219,16)
<i>p</i> вредност	0,740*	0,007#	0,005#
<i>IL-2</i>	30 дана - 0 дан		
Протокол	Повећање / Смањење Број пацијената	Разлика вредности (30 дана минус 0 дан)	Процентуална промена
<i>Brilique</i>	11 (55%) / 9 (45%)	-5,00 (-53,75-35,00)	-31,09 (-72,38-62,42)
Стандардни	16 (80%) / 4 (20%)	-0,50 (-52,75-24,75)	-2,50 (-92,31-418,82)
<i>p</i> вредност	0,177*	0,833#	0,900#

* *Chi-square test*; # *Mann-Whitney U test*

4.8.13. *IL-9*

У групи која је користила *Brilique* дошло је након 7 дана до снижења концентрације *IL-9* у просеку за 71%, а у стандардној групи до повећања за 51%, што је било статистички значајно, *p* вредност 0,05. Након 30 дана дошло је до повећања концентрације овог цитокина у просеку за 14% у групи која је користила *Brilique*, односно смањења у просеку за 61% у стандардној групи што није било статистички значајно (табела 33).

Табела 33. Процентуална промена разлике *IL-9*

<i>IL-9</i>	7 дана - 0 дан
-------------	----------------

Протокол	Повећање / Смањење Број пацијената	Разлика вредности (7 дана минус 0 дан)	Процентуална промена
<i>Brilique</i>	11 (55%) / 9 (45%)	0,00 (-222,75-96,75)	-70,93 (-100,00-55,78)
Стандардни	13 (65%) / 7 (35%)	41,00 (-134,00-130,00)	51,25 (-52,42-280,71)
<i>p</i> вредност	0,747*	0,555#	0,050#
<i>IL-9</i>			
30 дана - 0 дан			
Протокол	Повећање / Смањење Број пацијената	Разлика вредности (30 дана минус 0 дан)	Процентуална промена
<i>Brilique</i>	9 (45%) / 11 (55%)	37,50 (-116,50-133,25)	14,06 (-61,71-70,53)
Стандардни	16 (80%) / 4 (20%)	-16,00 (-258,00-269,00)	-60,70 (-100,00-95,54)
<i>p</i> вредност	0,050*	0,670#	0,369#

* *Chi-square test*; # *Mann-Whitney U test*

4.8.14. *IL-10*

У обе групе, након 7 дана дошло је до снижења концентрације *IL-10*, у просеку за 100,00% у групи која је користила *Brilique*, односно 69,00% у стандардној групи, што није било статистички значајно. Након 30 дана дошло је до снижења у обе групе, у просеку за 78% у групи која је користила *Brilique*, односно у просеку за 100% у стандардној групи, што није било статистички значајно (табела 34).

Табела 34. Процентуална промена разлике *IL-10*

<i>IL-10</i>		7 дана - 0 дан	
Протокол	Повећање / Смањење Број пацијената	Разлика вредности (7 дана минус 0 дан)	Процентуална промена
<i>Brilique</i>	16 (80%) / 4 (20%)	-101,50 (-316,50--0,25)	-100,00 (-100,00--92,67)
Стандардни	15 (75%) / 5 (25%)	0,00 (-267,00-132,00)	-68,63 (-95,92-122,15)
<i>p</i> вредност	1,000*	0,183#	0,066#
<i>IL-10</i>			
30 дана - 0 дан			
Протокол	Повећање / Смањење Број пацијената	Разлика вредности (30 дана минус 0 дан)	Процентуална промена
<i>Brilique</i>	13 (65%) / 7 (35%)	-14,50 (-254,00-163,50)	-77,68 (-100,00-129,19)
Стандардни	18 (90%) / 2 (10%)	-1,00 (-318,00-0,00)	-99,84 (-100,00--70,73)
<i>p</i> вредност	0,130*	0,359#	0,194#

* *Chi-square test*; # *Mann-Whitney U test*

4.9. Фекални калпротектин (*F-kal*) је сурогат маркер цревне упале.

На почетку студије нађене су високе вредности *F-kal* у столицу у обе групе, 1250,00 µg/g столице (705,00-2740,00) у групи која је примала прима *Brilique*, а 1690,00 µg/g столице (611,00-3246,00) у стандардној групи. Након 7 дана дошло је до пада *F-kal* у обе групе, без статистички значајне разлике. Након 30 дана дошло је до статистички значајног пада *F-kal* у обе групе, 281,50 µg/g столице (114,50-468,75) у групи која је

користила *Brilique* и 421 $\mu\text{g/g}$ столице (115,50-958,25) у стандардној групи, у односу на вредности на почетку студије, али без статистички значајне разлике између група (табела 35).

Табела 35. Вредности *F-kal*

Протокол	<i>F-kal</i> (0)	<i>F-kal</i> (7)	<i>F-kal</i> (30)	p вредност*
<i>Brilique</i>	1250,00 (705,00-2740,00)	652,00 (411,00-1059,50)	281,50 (114,50-468,75)	<0,001
Стандардни	1690,00 (611,00-3246,00)	1059,50 (456,50-1527,75)	421,00 (115,50-958,25)	<0,001
p вредност#	0,885	0,134	0,383	

* *Friedman Test*; # *Mann-Whitney U test*

Ако се вредности прикажу као медијана разлика вредности (интерквартилни распон 25-75 перцентил) и потом вредности изразе у процентима, добију се резултати приказани у табели 36.

Табела 36. Процентуална промена разлике *F-kal*

<i>F-kal</i>	7 дана - 0 дан		
Протокол	Повећање / Смањење Број пацијената	Разлика вредности (7 дана минус 0 дан)	Процентуална промена
<i>Brilique</i>	19 (95%) / 1 (5%)	-589,00 (-1577,25--228,50)	-46,21 (-54,99--27,01)
Стандардни	16 (80%) / 4 (20%)	-459,50 (-1483,50--125,50)	-38,02 (-60,84--19,85)
p вредност	0,339*	0,461#	0,445#
<i>F-kal</i>	30 дана - 0 дан		
Протокол	Повећање / Смањење Број пацијената	Разлика вредности (30 дана минус 0 дан)	Процентуална промена
<i>Brilique</i>	18 (90%) / 2 (10%)	-1130,00 (-1917,50--411,25)	-83,55 (-91,34--43,74)
Стандардни	17 (85%) / 3 (15%)	-1024,00 (-2985,75--324,25)	-79,61 (-92,02--54,06)
p вредност	1,000*	1,000#	1,000#

* *Chi-square test*; # *Mann-Whitney U test*

У обе групе, након 7 дана дошло је до снижења концентрације *F-kal*, у просеку за 46,00% у групи која је користила *Brilique*, односно 38,00% у стандардној групи, што није било статистички значајно. Након 30 дана дошло је до снижења концентрације овог маркера у обе групе, у просеку за 83% у групи која је користила *Brilique*, односно у просеку за 80% у стандардној групи, што није било статистички значајно.

4.10. Nancy score

На почетку испитивања просечна вредност *NS* у обе групе је износила 3. На контролној колоноскопији (*NSI*) је дошло до статистички значајног пада *NSI* у обе групе, без

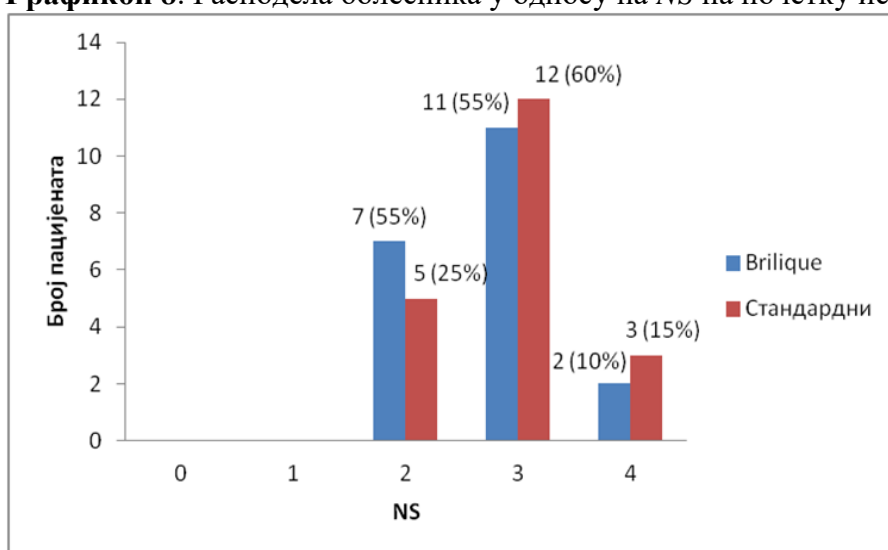
статистички значајне разлике између група (табела 37). На графикону 8 приказана је дистрибуција пацијената у односу на *NS* где се види да су групе хомогене. На графикону 9 је приказана дистрибуција пацијената у односу на *NS1*.

Табела 37. *NS* на почетку студије и након контролне колоноскопије

Протокол	<i>NS</i>	<i>NS1</i>	<i>p</i> вредност*
<i>Brilique</i>	3,00 (2,00-3,00)	1,00 (0,00-2,00)	<0,001
Стандардни	3,00 (2,25-3,00)	1,00 (1,00-2,00)	<0,001
<i>p</i> вредност#	0,512	0,277	

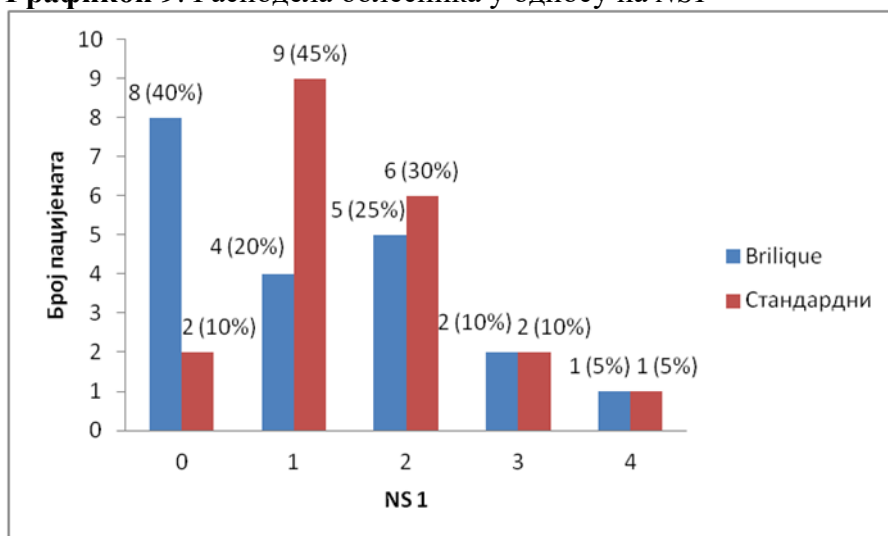
* *Wilcoxon Signed Ranks Test*; # *Mann-Whitney U test*

Графикон 8. Расподела болесника у односу на *NS* на почетку испитивања



Chi-square test; $p=0,749$

Графикон 9. Расподела болесника у односу на *NS1*



Chi-square test; $p=0,230$

NS скор је зависна варијабла, а остали маркери служе као предиктори промене овог скорa на основу вредности у тренутку започињања лечења. Ни један од маркера се није показао значајним као предиктор промене овог скорa (табела 38).

Табела 38. Бинарна логистичка регресија на целом узорку

Промена <i>NS</i>	Униваријантна	
	<i>OR</i> (95% <i>CI</i>)	<i>p</i> вредност
Протокол	0,444 (0,072-2,760)	0,384
Старост	0,949 (0,874-1,030)	0,212
Пол	1,045 (0,166-6,604)	0,962
<i>sPsel</i> (0)	0,999 (0,981-1,017)	0,888
<i>sCD40L</i> (0)	1,000 (0,999-1,000)	0,383
<i>IL-6</i> (0)	0,990 (0,975-1,006)	0,231
<i>IL-13</i> (0)	1,000 (0,994-1,005)	0,866
<i>TNF-α</i> (0)	0,998 (0,994-1,003)	0,443
<i>CRP</i> (0)	0,964 (0,871-1,066)	0,471
<i>F-kal</i> (0)	1,000 (0,999-1,000)	0,483
<i>INF-γ</i> (0)	1,000 (0,998-1,001)	0,668
<i>IL-17A</i> (0)	0,997 (0,988-1,006)	0,466
<i>IL-17F</i> (0)	1,000 (0,993-1,007)	0,977
<i>IL-21</i> (0)	0,999 (0,996-1,002)	0,644
<i>IL-22</i> (0)	0,999 (0,994-1,004)	0,742
<i>IL-5</i> (0)	0,996 (0,988-1,005)	0,404
<i>IL-2</i> (0)	0,997 (0,983-1,010)	0,621
<i>IL-9</i> (0)	0,999 (0,993-1,006)	0,827
<i>IL-10</i> (0)	1,003 (0,998-1,008)	0,205

4.11. Корелације

Табела 39. Корелација између *IL-17A* и *IL-21* у групи која је користила *Brilique*

		<i>IL-21</i> 7.дан	<i>IL-21</i> 30.дан
<i>IL-17A</i> 7.дан	<i>r</i> коефицијент	0.873	
	<i>p</i> вредност	< 0.01	
<i>IL-17A</i> 30.дан	<i>r</i> коефицијент		0.815
	<i>p</i> вредност		< 0.01

Табела 40. Корелација између *IL-17A* и *IL-21* у стандардној групи

		<i>IL-21</i> 7.дан	<i>IL-21</i> 30.дан
<i>IL-17A</i> 7.дан	<i>r</i> коефицијент	0.727	
	<i>p</i> вредност	0.011	
<i>IL-17A</i> 30.дан	<i>r</i> коефицијент		0.779
	<i>p</i> вредност		0.005

Табела 41. Корелација између *IL-17A* и *TNF- α* у групи која је користила *Brilique*

		<i>TNF-α</i> 7.дан	<i>TNF-α</i> 30.дан
<i>IL-17A</i> 7.дан	<i>r</i> коефицијент	0.892	
	<i>p</i> вредност	< 0.01	
<i>IL-17A</i> 30.дан	<i>r</i> коефицијент		0.856
	<i>p</i> вредност		< 0.01

Табела 42. Корелација између *IL-13* и *TNF- α* у групи која је користила *Brilique*

		<i>TNF-α</i> 7.дан
<i>IL-13</i> 7.дан	<i>r</i> коефицијент	0.483
	<i>p</i> вредност	0.031

Табела 43. Корелација између *IL-17A*, *IL-21* и *IL-22* у групи која је користила *Brilique*

		<i>IL-17A</i> 7.и 30. дан	<i>IL-21</i> 7. и 30.дан
<i>IL-22</i> 7.дан	<i>r</i> коефицијент	0.914	0.885
	<i>p</i> вредност	< 0.01	< 0.01
<i>IL-22</i> 30.дан	<i>r</i> коефицијент	0.809	0.927
	<i>p</i> вредност	< 0.01	< 0.01

Табела 44. Корелација између *IL-17A*, *IL-21* и *IL-22* у стандардној групи

		<i>IL-17A</i> 7. и 30.дан	<i>IL-21</i> 7. и 30.дан
<i>IL-22</i> 7.дан	<i>r</i> коефицијент	0.764	0.864
	<i>p</i> вредност	0.006	0.001
<i>IL-22</i> 30.дан	<i>r</i> коефицијент	0.864	0.956
	<i>p</i> вредност	0.001	< 0.01

4.12. Додаци

Слика 14. *Brilique* Таблета

Плацебо таблета



5. ДИСКУСИЈА

УК је хронична упална болест црева, непознате етиологије, која се карактерише појавом ерозија и улцерација на слузници црева. Јавља се код особа оба пола, а нешто чешће оболевају мушкарци (21). Најчешће се јавља у другој и трећој деценији живота, а постоји и други пик јављања болести у шестој и седмој деценији живота (24).

Претпоставља се да настаје услед неадекватног одговора имуног система црева на цревну микробиоту код генетски предиспонираних особа. Веома важни су и фактори средине. За настанак и одржавање инфламације важне су ћелије имунског система али и Тр, који одржавају и појачавају инфламацију. У Западној Европи и Северној Америци је инциденца болести иста последњих 10 година, али се бележи велики пораст инциденце УК у земљама у развоју - источна Европа, Азија, Јужна Америка, што је доста повезано са променом начина живота, пре свега исхране - прихватање тзв. западне дијете (смањен унос влакана, а повећан унос готове хране са доста масти и шећера) (23,24). Пушење има заштитни утицај на настанак УК, пушачи имају блажи ток болести, ређе компликације и хоспитализације и ређе захтевају примену КС.

Претпоставља се да се тај ефекат остварује преко никотина, не зна се тачно којим механизмом, али се зна да никотин доводи до повећаног стварања мукуса у колону, смањује стварање *TNF- α* , *IL-1 β* , *IL-8* локално у слузници колона, смањује пермеабилност слузнице колона, доводи до поремећаја микроциркулације, повећава стварање слободних кисеоничних радикала (85). Лечење ове болести је комплексно и захтева поред примене лекова и промену начина живота, пре свега начина исхране. С обзиром да се јавља најчешће код младих људи, који су радно способни правовремено и адекватно лечење добијају још више на значају. УК је системска болест, која има своје компликације, а најважније су токсични мегаколон, перфорација црева, постоперативне компликације, примарни склерозирајући холангитис, плућна тромбоемболија, колоректални карцином (21, 22).

С обзиром да Тр имају важну улогу у хемостази, а да појава тромбоцитних микротромбова у малим крвним судовима у слузници колона представља прве патолошке промене које се виђају код болесника са УК, да Тр представљају проинфламаторне ћелије које ослобађају из својих гранула велики број биолошки активних супстанци које повећавају степен инфламације и активирају леукоците што још више појачава инфламацију, одлучили смо да спроведмо испитивање о безбедности и значају примене лека који делује на Тр и смањује њихову агрегабилност и функцију, код болесника са УК.

Изабран је лек *Brilique*, јединствен антитромбоцитни лек, који након 30 минута испољава своје дејство тако што реверзибилно блокира *ADP* зависну агрегацију Тр блокирајући *P2Y₁₂* рецептор на површини Тр. Истовремено, овај лек смањујући агрегабилност Тр смањује и њихову активност (152,153). Спровели смо проспективну, рандомизовану, двоструко слепу студију о безбедности и ефекту примене лека *Brilique* код болесника са средње тешком формом УК, који су у погоршању. Ово је, по сазнању аутора, прва клиничка студија до сада, која испитује безбедност и ефекат примене антиагрегационе терапије - *Brilique*, код болесника са средње тешком формом УК.

5.1. Социодемографске и антропометријске карактеристике пацијената

У нашу студију укључено је укупно 40 болесника, од тога 27 мушкараца (67.5%) и 13 жена (32.5%). И у студијама других аутора који су испитивали учесталост УК, број мушкараца је био већи (21,22). У стандардној групи је било 16 мушкараца (80%) и 4 жене (20%), док је у групи пацијената који су примали *Brilique* било 11 мушкараца (55%) и 9 жена (45%).

Просечна старост у стандардној групи износила је 36 година, а у групи пацијената који су примали *Brilique* износила је 42 године.

Укупно је било 3 пушача, у стандардној групи 2 пушача и 1 пушач у групи пацијената која је примала *Brilique*. Већи број непушача је у складу са налазима других аутора да пушеће делује као заштитни фактор за настанак УК (85).

ИТМ је износио од 22.5 - 26.4 у групи пацијената која је узимала *Brilique*, а од 23.1 - 27.6 у стандардној групи.

5.2. Основни биохемијски параметри

Вредности урее, креатинина, глукозе, албумина, калијума, холестерола, триглицерида, *AST*, *ALT*, магнезијума су у сва 3 мерења, у обе групе, били у референтном опсегу, што се и очекивало, с обзиром да се ради о болесницима са средње тешком формом УК без других болести.

Ниво **хемоглобина**, у групи пацијената која је примала *Brilique* износио је од 102-168 g/L, просечна вредност 130,85 g/L, а у стандардној групи је износио 113-141 g/L, просечна вредност 126,15 g/L. Без статистички значајне разлике између група (*Independent samples t test*, *p* вредност 0,417). Након 7 дана од почетка испитивања просечне вредности хемоглобина су биле без веће разлике у односу на почетни ниво. Након 30 дана долази до минималног пораста просечних хемоглобина у обе групе, али без статистички значајне разлике између група. Није нађена статистички значајна разлика у нивоу хемоглобина током трајања испитивања унутар групе. Можемо да закључимо да група болесника која је користила *Brilique* није имала израженије ректално крварење јер је користила испитивани лек, што је представљало један од могућих нежељених ефеката лека.

Број **тромбоцита** (референтни опсег $160-370 \times 10^{12}/L$) је само код 7 болесника (17.5%) био повишен и то код 6 болесника из стандардне групе (409, 651, 396, 395, 440, $500 \times 10^{12}/L$) и 1 болесника из групе која је примала *Brilique* ($440 \times 10^{12}/L$). Након 7 дана сви болесници су нормализовали број тромбоцита, осим код 1 болесника из стандардне групе ($634 \times 10^{12}/L$), где је до нормализације броја Тр дошло након месец дана. Од ових 7 болесника, сви су имали благи пораст броја Тр - за 15% у односу на референтне вредности, осим болесника који није нормализовао број Тр након 7 дана - пораст за 44%. Није забележена тромбоцитопенија ни код једног болесника, што је био потенцијални нежељени ефекат примене *Brilique*-а.

CRP је реактант акутне фазе упале, његове повишене вредности у крви нађене су у склопу бројних акутних и хроничних упалних болести. Синтетише се у јетри под дејством *IL-6*, мање под дејством *IL-1 β* и *TNF- α* (137). На почетку испитивања просечна вредност *CRP* код болесника који су примали *Brilique* је износила 3mg/L, а у стандардној групи 6mg/L, без статистички значајне разлике. Ови подаци су у складу са подацима из литературе да око 50% болесника са УК има лако повишен *CRP* и то углавном болесници који имају екстензивни облик болести или левострани колитс (0-15 mg/L), а знатно повишен *CRP* (> 45 mg/L) је прогностички фактор за тежи облик болести и оперативно лечење (137). Након 7 дана долази до пада просечних вредности *CRP* у стандардној групи на 3,00 mg/L, док се у групи која је користила *Brilique* вредности одржавају на истом нивоу. Након 30 дана долази до пада просечних вредности на 1,00 mg/L групи која је користила *Brilique* односно 2,00 mg/L у стандардној групи. У обе групе дошло је до статистички значајног снижења просечних вредности *CRP* у односу на почетне вредности, *Mann-Whitney U test* (*p* вредност 0,001). Без статистички значајне разлике између група.

5.3. sCD40L

CD40/CD40L пут представља важан механизам у патогенези УК. CD40L се налази на површини активисаних CD4 + ТЛ и на активираним Тр, док се CD40 налази на површини великог броја имунских ћелија, ендотелним ћелијама, Тр и бројним другим неимунских ћелијама (123). CD40L и у мембранској и у солубилној форми се везује за CD40 молекулу. Ова интеркација (CD40L/ sCD40L) је праћена активацијом ћелија које испољавају CD40. Сматра се да CD40/CD40L пут представља важан костимулаторни систем који учествује у регулацији имунског одговора и инфламације, а представља и важну интеракцију између имунских и неимунских ћелија (125). У болесника са УК повећана је експресија CD40 и CD40L на ћелијама у колону и повишена је концентрација sCD40L у крви. Главни извор sCD40L у крви су активирани Тр. Полазећи од наведеног, sCD40L би могао да представља параметар активације тромбоцита и сурогат маркер цревне инфламације (126, 127).

Нормалне просечне вредности вредности sCD40L код особа са ИТМ мањим од 25 износе 380 pg/ml, са ИТМ између 20 и 25 износи 620 pg/ml, са ИТМ између 25 и 30 износи 940 pg/ml, без разлике између група (205). У раду Y Allanore и сарадника приказане су просечне вредности sCD40L које износе 79 pg/ml, код људи (206). Nerea Varo и сарадници су публиковали рад у коме су просечне вредности sCD40L код здравих особа износиле 520 pg/ml (207). Jérémie Sellam су приказали нешто другачије просечне вредности код здравих људи у опсегу 133.6 ± 4.8 pg/ml (208).

Просечне вредности sCD40L су биле повишене у обе групе испитаника на почетку испитивања: 3256,00 pg/mL у групи која је корситила Brilique односно 2945,00 pg/mL у стандардној групи, без статистички значајне разлике између група. Након 7 дана прати се тренд снижења просечних вредности sCD40L у обе групе, што је настављено и након 30 дана: 2045,50 pg/mL у групи која је користила Brilique односно 2049,00 pg/mL у стандардној групи, без статистички значајне разлике између група. Просечна вредност sCD40L је у групи пацијената који су користили Brilique значајно нижа након 30 дана у односу на почетне вредности (Friedman Test, p вредност 0,022).

Ако се вредности изразе у процентуалној промени разлике вредности, након 7 дана у односу на почетне вредности се види да је у групи која је корситила Brilique дошло до повећања у просеку за 15%, а у стандардној групи до повећања у просеку за 4%. Ако се израчуна медијана разлика вредности sCD40L тридесетог и нултог дана и потом разлика изрази у процентима, добиће се снижење у просеку за 26% у групи која је користила Brilique, односно снижење у просеку за 40% у стандардној групи. Без статистички значајне разлике између група.

Нема корелације између броја Тр и вредности sCD40L у плазми. Нема корелације између CRP и вредности sCD40L у плазми.

У поређењу са резултатима других аутора добијене су сличне вредности. У раду Ioannis E. и сарадника нађене су повишене вредности sCD40L у плазми болесника са активним УК 1416.8 ± 483.9 pg/ml (медијана 1262.1, ранг 839.6 - 3345.4), што је слично вредностима које су добијене код наших болесника на почетку испитивања (163).

Слични резултати су објављени и у чланку S.Danese-a и сарадника, где су нађене повишене вредности sCD40L код болесника са левостраним колитисом, медијана нешто мања од 1500 pg/ml (164). Интересантне резултате су презентовали O. Ludwiczek и сарадници који су публиковали чланак у коме су просечне вредности (медијана) sCD40L дате у односу на лекове које користе: без терапије 1310 pg/ml, терапија са аминосалицилатима 1610 pg/ml, терапија са аминосалицилатима и стероидима 3070 pg/ml, терапија са стероидима 1410 pg/ml, а терапија са Azathioprin-om 3110 pg/ml (165). Просечне вредности наших болесника на почетку испитивања су сличне просечним

вредностима болесника који су примали аминонсалицилате и стероиде у горе поменутом чланку.

Daniel J. Brotman и сарадници су публиковали рад у коме су показали да краткотрајно давање глукокортикоида нема ефекат на *sCD40L* код здравих особа (209). Обзиром да је за испољавање дејства *Azathioprin-a* потребно од 3-6 месеци, можемо закључити да он није имао утицај на просечне вредности *sCD40L* и инфламацију код наших болесника.

Сличан дизајн нашем истраживању имали су други аутори који су истраживали *sCD40L* и улогу овог молекула код кардиолошких болесника. У раду *Rabih R. Azar-a* и коаутора, праћен је *sCD40L* у 2 наврата (у интервалу од 8 недеља), код болесника који имају стабилну коронарну болест: једна група је примала *Aspirin + Placebo* (59 pg/mL vs 55 pg/mL), а друга група *Aspirin + Clopidogrel* (64 pg/mL vs 53 pg/mL), показано је да долази до снижења у другој групи, али тек након 8 недеља (166). *Thomas Heitzer* и коаутори су приказали вредности *sCD40L* у 2 групе болесника у размаку од 5 недеља, једна група је примала *Aspirin*, а друга *Clopidogrel*, и поново су просечне вредности биле испод 100 pg/mL, а дошло је до смањења просечних вредности само у групи која је узимала *Clopidogrel* (167). *Hon-Kan Yip* и сарадници су приказали 2 вредности *sCD40L* код болесника са нестабилном ангином пекторис, пре и након дилатације стенозе коронарне артерије са пласирањем стента (размак је 21 дан) (168). Дошло је до пада просечних вредности *sCD40L* са 1541 ± 939 pg/mL на 527 ± 287 pg/mL. На основу ових резултата се може закључити да и поред тога што су просечне вредности *sCD40L* код кардиолошких болесника са исхемијском болести срца ниже него код УК и да постоји мање изражена инфламација него код УК, није дошло до нормализације просечних вредности *sCD40L* у периоду у коме су праћене (што износи више од месец дана). На основу тога претпостављамо да је потребно одређено време да се снизи *sCD40L* у плазми болесника са УК уз одговарајућу терапију, вероватно дуже од месец дана, што је била максимална дужина праћења код наших испитаника. На основу свега наведеног закључујемо да су на вредности *sCD40L* код наших болесника утицали и степен инфламације и лекови који су коришћени за лечење УК. На почетку студије можемо рећи да најважнији утицај има степен инфламације. Након 7 дана присутан је и ефекат *Prednison-a* у дози од 40 mg дневно и *Brilique-a*. Након 30 дана присутан је ефекат *Prednison-a* у дози од 25 mg и *Brilique-a*. *Prednison* делује индиректно на *sCD40L* тако што смањује инфламацију. У групи пацијената који су користили *Brilique* имамо и ефекат *Brilique-a*, што се огледа у томе да у тој групи постоји значајна разлика између вредности након 30 дана и на почетку студије, што није забележено у стандардној групи. Вероватно када би се користила стандардна доза *Brilique-a* 90 mg два пута дневно, и снижење *sCD40L* у крви код болесника са УК би било брже и израженије.

5.4. *sPselektin*

Pselektin је адхезивни молекул који је експримиран на површини активираних Тр и ендотелних ћелија. Важан је за хомотипску агрегацију Тр и хетеротипску агрегацију Тр и Ле. Настали ћелијски комплекси су активнији од појединачних ћелија. Појачана експресија *Pselektin-a* на ендотелним ћелијама је веома важна за миграцију Ле (113,114).

Ослобађањем *Pselektin-a* са површине Тр и Ле настаје *sPselektin*, а Тр представљају најважнији извор *sPselektin-a* у крви. Ако нема инфламације нема ни појачане експресије *Pselektin-a* на површини Тр и Ле, тако да *sPselektin* представља један од маркера инфламације и активације Тр (115,117).

Просечне вредности *sPselektin-a* код здравих људи износе 23.0 ± 1.0 ng/ml (*Jérémie Sellam* и сарадници), 36 ± 9 ng/ml (*Sridhar Kamath* и коаутори) и 12.9 ± 0.51 ng/ml

(Giuseppe Cella и коаутори) (208, 214, 212). Покзано је да високе дозе *Dexamethason-a* (синтетски глукостероид) повећавају ниво *sPselektin-a* код здравих особа (210). Код болесника у септичком шоку, измерене су повишене просечне вредности *sPselektin-a*, које су остале непромњене, тј. повишене, и након 3 дана од терапије са *hydrocortison-om* (211). Подаци PLATO студије су показали да код болесника са акутним коронарним синдромом, долази до значајног снижења просечних вредности *sCD40L* (са 390 на 350 *pg/ml*) и *sPselektin-a* (са 33.5 на 29.1 *ng/ml*), након месец дана терапије са *Brilique-om* (213).

Код наших болесника нађене су лако повишене вредности *sPselektin-a* на почетку испитивања и то у групи која је примала *Brilique* 81,50 *ng/ml* (44,50-177,00), а у стандардној групи 80,50 *ng/ml* (33,00-173,00). Након 7 и 30 дана бележи се лагани пад просечних вредности *sPselektin-a*, у групи која је примала *Brilique* 76,50 *ng/ml* односно 67,00 *ng/ml*, а у стандардној групи 79,50 *ng/ml* односно 72,00 *ng/ml*. Без статистички значајне разлике између група.

Промене вредности *sPselektin-a* можемо приказати као процентуалне промене разлике вредности *sPselektin-a*. Медијана разлика вредности *sPselektin-a* седмог и нултог дана је показала да је у групи која је користила *Brilique* дошло до снижења за 2 *pg/ml*, а у стандардној групи дошло је до повећања апсолутних вредности за 7,5 *pg/ml*.

Ако се ова разлика изрази у процентима, онда се види да је у групи која је користила *Brilique* дошло до снижења у просеку за 0,52%, а у стандардној групи је дошло до повећања у просеку за 9% што није статистички значајно. Ако се израчуна медијана разлика вредности *sPselektin-a* тридесетог и нултог дана и потом разлика изрази у процентима, показано је снижење у просеку за 21% у групи која је користила *Brilique* односно повећање у стандардној групи у просеку за 0,60%, што није статистички значајно. Овакав ефекат *Brilique-a* је у складу са његовим инхибиторним деловањем на експресију *Pselektin-a* (213).

Просечне вредности *sPselektin-a* које смо ми детектовали у серуму испитаника на почетку студије су сличне просечним вредностима које су нашли аутори. *J. P. Fägerstam* и сарадници су у свом раду изнели просечне вредности *sPselektin-a* код болесника са УК у релапсу 50 ± 5.3 *ng/ml* (169). *Michael Göke* и сарадници су приказали нешто веће вредности *sPselektin-a* код болесника са УК 385 ± 42 *ng/ml*, што вероватно одговара израженијој инфламацији колона (170). *Ku M* и сарадници су објавили рад у коме су одређивали ниво *sPselektin-a* код болесника који треба да започну лечење са *infliximab-om*, а непосредно пре примене лека, нађене су вредности 313 ± 50 *ng/ml* (171).

Нема корелације између броја Тр и вредности *sPselektin-a* у плазми и нема корелације између *CRP* и *sPselektin-a* у плазми, код наших испитаника.

На основу изнетих резултата код наших испитаника и поређењем са резултатима других аутора, можемо да закључимо да просечне вредности *sPselektin-a* зависе од степена инфламације и терапије која је коришћена у лечењу УК. На почетку студије највећи утицај на просечне вредности *sPselektin-a* има степен инфламације. Након 7 дана, постоји и додатни ефекат лекова који су коришћени: *Prednison* и *Brilique*. С обзиром да лекови доводе смањења инфламације долази и до пада *sCD40L* и *sPselektin-a* у крви. Након 30 дана долази до додатног снижења ових биомаркера, услед дејства терапије. Просечна вредност *sPselektin-a* код болесника у групи која је користила *Brilique*, на почетку испитивања је нешто виша у односу на стандардну групу, а након 30 дана је нижа у односу на стандардну групу, али без статистички значајне разлике.

Имајући на уму све напред наведено, један од циљева наших будућих истраживања биће да одредимо концентрације *sPselektin-a* у болесника са УК у додатним временским интервалима, након примене пуне дозе *Brilique-a*.

5.5. Цитокини

Цитокини су протеини мале молекулске масе, важни су за регулацију ћелијског раста и диференцијацију ћелија, нарочито у имуном систему. Делују преко својих рецептора, могу деловати другачије на различите ћелије, различити цитокини могу деловати слично на исту ћелију, могу деловати различито у присуству другог цитокина - синергистички или антагонистички (215). Због тога је важно правилно тумачење њихових вредности, најбоље је тумачити их уз анализу постојећих литературних података за дату болест и тумачити међусобно деловање више цитокина. Оштећење ткива у УК настаје услед активације бројних имунских и неимунских ћелија, а цитокини представљају кључне медијаторе у њиховом односу (234). На концентрацију цитокина у крви у нашој студији могу да утичу инфламација и лекови: почетне вредности зависе највише од степена инфламације, након 7 дана поред степена инфламације утичу и лекови које узима пацијент: *Prednison* који је узиман у дози од 40 mg дневно и *Brilique*, а након 30 дана утичу инфламација и наведени лекови, једино је разлика у дози *Prednison-a* – 25 mg дневно. Овде треба напоменути да је дејство *Prednison-a* на концентрацију цитокина дозно зависно, што је показано у раду *Martijn D. de Kruif* и коаутора, где су показали да дозе *Prednisolon-a* од 30 mg и 10 mg дневно, доводе до снижења *TNF- α* , *IL-6* и *IL-8* у крви хуманих модела за сепсу, у дозно зависном обрасцу: доза од 30 mg је довела да највећег снижења, а доза од 10 mg до мањег снижења, док дозе испод 10 mg нису имале ефекат на концентрацију цитокина у крви (265).

5.5.1. *IL-6*

IL-6 је цитокин, који има вишеструко деловање, доминантно проинфламацијско. Доводи до пролиферације ТЛ, спречава њихову апоптозу у слузници колона, делује на јетру и доводи до стварања протеина акутне фазе упале, доводи до пролиферације Б лимфоцита, један је од неопходних фактора за диференцијацију *Th17* лимфоцита из наивних ТЛ. Поред своје инфламаторне улоге он има и улогу у репарацији, делујући на епителне ћелије црева (172). Вредности *IL-6* су повишене код свих болесника са УК у ткиву колона и одлично корелирају са степеном инфламације, и у ткиву колона је то најзаступљенији цитокин. Међутим, у серуму пацијената са УК просечне вредности *IL-6* нису повишене код свих болесника, у поређењу са здравим људима: 5-15 pg/ml (216), 6.4 pg/ml код мушкараца и 5.8 pg/ml код жена (217). Сумарно, код свих болесника са УК, повишене су код око 60% пацијената, и тада одлично корелирају са степеном инфламације колона. Овај цитокин у слузници колона болесника са УК највише продукују моноцити и ТЛ (109). Потенцијални је предиктор за одговор на кортикостероиде и *infiximab* (173,174).

Код наших болесника нађене су повишене просечне вредности *IL-6*, у односу на здраву популацију, на почетку испитивања и то 102,50 pg/ml, у групи болесника која је користила *Brilique*, односно 70,00 pg/ml у стандардној групи.

Поредећи ове налазе са налазима других аутора нашли смо да су наше вредности више. Наиме, *Susanna Nikolaus* и коаутори су нашли да су просечне вредности *IL-6* код болесника са активним УК у распону од 3-195 pg/ml (175). *Manuel Luis Rodriguez-Peralvarez* и коаутори су показали да су просечне вредности *IL-6* код оболелих од УК ниже - 15.5 pg/ml (9.6-38.2) (176). Ниже просечне вредности, у поређењу са онима које смо ми нашли, приказали су *Dorota Mankowska-Wierzbicka* са сарадницима 15.0 pg/ml (177). *Y R Mahida* и коаутори су објавили да су код 2 болесника са УК нашли вредности *IL-6*, 20 односно 80 pg/ml (178). *Y. Nishida* и коаутори су показали да *IL-6* може да служи као предиктор за одговор на *infiximab*, а као гранична вредност *IL-6* је дата 5.66 pg/ml (174). *Margarita L. Martinez-Fierro* и коаутри су приказали ниже вредности *IL-6*, у односу на наше резултате, 14.4±3.4 pg/ml (179).

7 дана од почетка испитивања долази до пораста просечних вредности *IL-6* у групи болесника која је користила *Brilique* на 104,00 *pg/ml* и нешто већег пораста у стандардној групи на 148,00 *pg/ml*. Након 30 дана од почетка испитивања долази до снижења просечних вредности *IL-6* у групи болесника која је користила *Brilique* на 79,00 *pg/ml*, што је испод просечних вредности на почетку испитивања, и у стандардној групи на 88,50 *pg/ml* - што је нешто изнад почетних вредности, али без статистички значајне разлике између група након 7 и након 30 дана од почетка испитивања. Да би се боље приказале промене вредности *IL-6* између група, приказане су процентуалне промене разлике вредности *IL-6*. Медијана разлика вредности *IL-6* седмог и нултог дана је показала да је у групи која је користила *Brilique* дошло до смањења за 13 *pg/ml*, а у стандардној групи дошло је до повећања апсолутних вредности за 76 *pg/ml*. Ако се ова разлика изрази као проценат, онда се види да је у групи која је користила *Brilique* дошло до смањења у просеку за 25%, а у стандардној групи је дошло до повећања у просеку за 96% што је статистички значајно (*Mann-Whitney U test*, *p* вредност 0.024).

Ако се израчуна медијана разлика вредности *IL-6* тридесетог и нултог дана и потом разлика изрази у процентима, добиће се смањење у просеку за 35% у групи која је користила *Brilique* и повећање у стандардној групи у просеку за 23%, што није статистички значајно.

G. Rogler и коаутори су објавили рад у коме су измерили просечне вредности *IL-6* у серуму код људи, код болесника са УК који преко 7 дана примају *Prednisolon* и код болесника са УК који преко 4 недеље не примају кортикостероиде (218). Показали су да болесници са УК имају значајно повишене вредности *IL-6* у односу на здраву популацију али да нема значајне разлике између 2 групе болесника са УК. На основу наведеног закључује се да је потребно време да се нормализује ниво *IL-6* у серуму код болесника са УК. И код наших болесника није дошло до нормализације нивоа *IL-6* у серуму након 30 дана од почетка лечења. На вредности *IL-6* у серуму утичу степен инфламације, *Prednison* и *Brilique*. Разлика у нивоу овог цитокина у серуму се може објаснити антиинфламаторним ефектом *Brilique-a*. Можемо да закључимо да је 7 дана након започињања наше студије утврђена статистички значајна разлика у вредностима *IL-6* између две испитиване групе. И 30 дана након почетка студије просечне вредности *IL-6* у групи која је користила *Brilique* су ниже него у стандардној групи, али без значајне разлике. Завршена је клиничка студија фазе два о примени потпуно хуманизованог антитела на *IL-6*, PF-04236921, код болесника који се лече од Кронове болети, која је показала ефикасност примењеног лека (219)

5.5.2. *IL-13*

IL-13 је један од најважнијих ефекторских цитокина у УК, стварају га највише *iNKT* ћелије. Спада у групу проинфламаторних цитокина, а делује на епителне ћелије, има цитотоксично дејство и доводи до нарушавања цревне баријере. Ниво *IL-13* у серуму не корелира са степеном тежине УК (107). И поред његове важне улоге у патогенези УК, клиничке студије у које су испитивале ефикасност анти *IL-13* антитела (*Anrukinzumab*, *Tralokinumab*) нису показале повољан клинички ефекат (182,183).

Међутим, показано је да важан механизам деловања *TNF-α* након његовог везивања за *TNFR1*, представља повећана експресија гена за *IL-13Ra2*, тј. рецептора за *IL-13*, који је независан од *IL-4Rα* (главни рецептор за *IL-13*), што потврђује да *IL-13* има веома важну улогу у патогенези УК, с обзиром да је анти *TNF-α* терапија довела до револуције у лечењу ових болесника. Садашња испитивања су усмерена ка терапији усмереној на *IL-13* независно од *IL-4* сигналног пута (181). Нормалне просечне вредности *IL-13* у серуму здравих особа су 58.25 *pg/ml*, односно 15.88 ± 6.71 *pg/ml* (220, 221).

Код наших болесника на почетку испитивања нађене су умерено повишене просечне вредности *IL-13*, у односу на здраву популацију, 195,50 *pg/ml* у групи пацијената који су примали *Brilique*, односно 166,00 *pg/ml* у стандардној групи. Нешто веће просечне вредности у односу на наше болеснике са УК, 683,850 *pg/ml* приказали су *Dr. Mayada Noori Iqbal* и коаутори, код болесника са УК (180). Знатно ниже вредности у односу на наше болеснике са УК, приказали су *Margarita L. Martinez-Fierro* и сарадници 5.42 ± 1.3 *pg/ml* (179). *Mihai Virgil Boldeanu* са сарадницима, је показао да су код болесника са средње тешким УК просечне вредности *IL-13* у серуму 64.62 ± 31.15 *pg/ml*, и оне су више него код болесника са тешком формом УК и здравих контрола (221).

Након 7 дана долази до снижења просечних вредности на 102,00 *pg/ml* у групи пацијената који су примали *Brilique*, а до пораста у стандардној групи на 219,50 *pg/ml*. Без статистички значајне разлике између група, али постоји нумеричка значајност.

Након 30 дана долази до лаког пораста просечних вредности на 111,50 *pg/ml*, али опет ниже од почетних вредности, док се у стандардној групи бележи пад просечних вредности на 140,00 *pg/ml*, што је ниже него на почетку студије. Нема статистички значајне разлике између група, али опет постоји нумеричка значајност.

Да би се боље приказале промене вредности *IL-13* између група, приказане су процентуалне промене разлике вредности *IL-13*. Медијана разлика вредности *IL-13* седмог и нултог дана је показала да је у групи која је користила *Brilique* дошло до смањења за 1,5 *pg/ml*, а у стандардној групи дошло је до повећања апсолутних вредности за 23,5 *pg/ml*.

Ако се ова разлика изрази као проценат, онда се види да је у групи која је користила *Brilique* дошло до смањења у просеку за 44%, а у стандардној групи је дошло до повећања у просеку за 29% што није статистички значајно. Ако се израчуна медијана разлика вредности *IL-13* тридесетог и нултог дана и потом разлика изрази у процентима, добиће се смањење у просеку за 27% у групи која је користила *Brilique* и смањење у стандардној групи у просеку за 37%, што није статистички значајно.

На основу свега наведеног може се закључити је да постоји нумерички значајна нижа вредност *IL-13* код пацијената који су примали *Brilique* у односу на пацијенте у стандардној групи, 7. и 30. дана након почетка испитивања. Потребно је даље испитивање да би се закључило да ли би постојала и статистички значајна разлика да је дата права доза *Brilique-a* 90 *mg* 2 пута дневно уместо 90*mg* дневно, колико је износила у у нашој студији.

5.5.3. *TNF-α*

TNF-α је типичан цитокин са проинфламацијским деловањем и веома је важан за патогенезу УК. Нађене су повишене вредности у ткиву колона, серуму и столици код болесника са УК. Поред *IL-6* то је цитокин који одлично корелира са степеном активности болести. Терапија у чијој основи се налази блокирање деловања *TNF-α* се показала успешном у лечењу великог броја пацијената који болују од УК (110,176). Нормалне вредности *TNF-α* су од 0-16 *pg/ml* (216), 11.2 ± 7.31 *pg/ml* (222), 5.11-7.23 *pg/mL* (223) објављене у радовима *Alescu M* и сарадника и *Li G* и коаутора.

Нађене су повишене просечне вредности *TNF-α* код наших болесника, у односу на здраву популацију, на почетку испитивања и то код пацијената који су примали *Brilique* 217,50 *pg/ml*, односно 180,00 *pg/ml* у стандардној групи. Уколико упредимо ове налазе са доступним подацима из литературе можемо закључити да се ради о умереном повећању. *Jeffrey S. Hyams* и коаутори су приказали ниже просечне вредности *TNF-α* код болесника са активним благим УК 47.9 *pg/ml* и 45.2 *pg/ml* код средње тешког и тешког УК (184).

Високе вредности $TNF-\alpha > 1000 \text{ pg/ml}$ објавили су *H.Meringer* и коаутори, код болесника који проглашени као *non responderi* на *infliximab* (185). *Margarita L. Martinez-Fierro* и сарадници објавили су ниже вредности од наших код болесника са УК $97.0 \pm 25.95 \text{ pg/ml}$ (179). Знатно ниже вредности приказали су *Nesina Avdagić* са коауторима 29.53 pg/ml код болесника са активним УК (186). Код болесника са рефрактерним паучитисом, код којих је индикована терапија са *infliximab-om* и који већ примају одређену терапију, која је укључивала и стероиде, *Motoi Uchino* и сарадници су приказали вредности $TNF-\alpha 49.0 \pm 89.7 \text{ pg/ml}$ (187). *Dorota Mankowska-Wierzbicka* и коаутори су приказали вредности $TNF-\alpha 25.0 \text{ pg/ml}$ (177).

У нашој студији, након 7 дана долази до пада просечних вредности $TNF-\alpha$ у групи која је користила *Brilique* на немерљиве вредности $0,00 \text{ pg/ml}$ и пораста у стандардној групи на $245,00 \text{ pg/ml}$, без статистички значајне разлике.

Након 30 дана долази до пораста вредности $TNF-\alpha$ у групи која је користила *Brilique* на $204,00 \text{ pg/ml}$ и пада у стандардној групи на $129,50 \text{ pg/ml}$, без статистички значајне разлике.

Да би се боље приказале промене вредности $TNF-\alpha$ између група, приказане су процентуалне промене разлике вредности $TNF-\alpha$. Медијана разлика вредности $TNF-\alpha$ седмог и нултог дана је показала да је у групи која је користила *Brilique* дошло до смањења за $28,5 \text{ pg/ml}$, а у стандардној групи дошло је до смањења апсолутних вредности за $5,5 \text{ pg/ml}$. Ако се ова разлика изрази у процентима, онда се види да је у групи која је користила *Brilique* дошло до смањења у просеку за 100%, а у стандардној групи је дошло до смањења у просеку за 13,5% што је статистички значајно (*Mann-Whitney U test*, p вредност 0.05). Ако се израчуна медијана разлика вредности $TNF-\alpha$ тридесетог и нултог дана и потом разлика изрази у процентима, добиће се смањење у просеку за 64% у групи која је користила *Brilique* и повећање у стандардној групи у просеку за 4,5%, што није статистички значајно.

Aniruddha Agarwal и сарадници су приказали вредности $TNF-\alpha$ у серуму код болесника са туберкулозним хориодитисом, пре и након терапије са туберкулостатикима и *Prednisolon-om* у дози 1 mg/Kg TM (са постепеним смањењем дозе за 4-6 недеља).

Показано је да након 7 дана од почетка терапије долази до мањег пораста просечних вредности $TNF-\alpha$ у серуму, са 91.60 ± 213 на $105.09 \pm 35 \text{ pg/ml}$. Након 3 недеље забележен је пад вредности $TNF-\alpha$ у серуму, али је још увек изнад нормалних вредности, а за 6 недеља просечне вредности $TNF-\alpha$ у серуму су се практично нормализовале. Аутори рада закључују да после иницијалног пораста долази до постепеног снижавања вредности $TNF-\alpha$ у серуму у периоду од 6 недеља (224).

Barabara Rybacka-Chabros и коаутори су пратили ниво $TNF-\alpha$ код болесника са активном туберкулозом, код 2 групе болесника. Обе групе су примале туберкулостатике, а само једна је примала и *Prednison 20 mg* дневно.

Након 14 дана долази до пада просечних вредности $TNF-\alpha$ у обе групе, али је просечна вредност $TNF-\alpha$ у групи која је примала *Prednison* значајно мања. Након 4 недеље у обе групе се бележи пад $TNF-\alpha$, без значајне разлике, али су вредности и даље повишене у односу на здраве контроле (225). На основу наведених резултата радова поменутих аутора можемо да закључимо *Prednison* делује инхибиторно на стварање $TNF-\alpha$ и да је потребно време да би се нормализовале вредности $TNF-\alpha$ у крви, дуже од 4 недеље. Образац промена концентрација $TNF-\alpha$ који је наведен у раду *Aniruddha Agarwal* одговара промени просечних вредности $TNF-\alpha$ које су забележене у нашој стандардној групи. Разлика у просечним вредностима $TNF-\alpha$ између групе која је користила *Brilique* и стандардне групе, се може објаснити антиинфламаторним ефектом *Brilique-a*.

Потребна су даља испитивања да би се закључило да ли би постојала и статистички значајна разлика након 30 дана да је дата права доза *Brilique-a* 90 mg 2 пута дневно уместо 90mg дневно, колико је износила у нашој студији.

Нађена је умерена позитивна корелација између просечних вредности *IL-13* и *TNF- α* , 7 дана након почетка лечења, у групи пацијената који су користили *Brilique* (*Spearman's rho* 0,483, *p* 0,031).

5.5.4. *IFN γ*

IFN γ је типични *Th1* цитокин, а раније се сматрало да је УК типична *Th2* болест. Међутим, временом се схватило да је УК атипична *Th2* болест, а *Th1* цитокини се могу наћи и код УК, нарочито у почетку болести. Као што је и случај са *IL6*, који се може наћи повишен у серуму код неких болесника са УК, отприлике код 60% болесника, његове највеће концентрације су нађене на почетку болести. Код одређених болесника могу се наћи повишене вредности *IFN γ* , што није случај код наших болесника. Нађене су ниске или немерљиве вредности *IFN γ* у крви код наших болесника.

5.5.5. *IL-17A*

Од раније је познат допринос *Th17 CD4+* ТЛ у патогенези УК. Те ћелије стварају *IL-17A*, проинфламаторни цитокин, који је веома важан за патогенезу УК, а чије се повишене концентрације налазе код свих болесника са УК у ткиву колона где постоји инфламација, а немерљиве су у делу колона које није захваћено инфламацијом (112). Ниво *IL-17A* је такође повишен у серуму болесника са УК (232). Овај цитокин делује тако што активира ендотелне ћелије које онда стварају хемокине, пре свега *IL-8* (привлачи неутрофиле), на макрофаге који стварају цитокине - *IL-6*, а делује и на епителне ћелије које стварају факторе раста - гранулоцитни фактор раста (188). Међутим у одређеним околностима овај цитокин може деловати и антиинфламаторно (234). Показано је да код болесника са новодијагностикованим УК вредности *IL-17A* у серуму одлично корелирају са степеном инфламације, екстензивношћу болести и предикцијом тока болести у наредне 3 године, што није доказано са ткивним концентрацијама *IL-17A*, у слузници колона (231).

Просечне вредности *IL-17A* у здравој популацији износе 7.4 ± 3.76 pg/mL (222), 10.29 ± 1.87 pg/mL (226), 17.1 ± 10.4 pg/ml (227).

Код наших болесника нађене су повишене просечне вредности *IL-17A* у односу на здраву популацију, на почетку испитивања, $79,00$ pg/mL у групи пацијената која је узимала *Brilique* и $66,00$ pg/mL у стандардној групи.

У поређењу са вредностима *IL-17A* које су приказали други аутори, наше вредности су умерено повишене. У раду Јасне Ајдуковић и коаутора, приказане су просечне вредности *IL-17A* 100 pg/mL, док су у чланку *S Fujino* и коаутора приказане просечне вредности 30 pg/mL, код болесника са активним УК (189,190). *Dorota Mankowska-Wierzbicka* и сарадници су публиковали просечне вредности 17,5 pg/mL код болесника са УК (177). *Margarita L. Martinez-Fierro* и коаутори су приказали веће просечне вредности *IL-17A* код УК - 354.0 ± 70.1 pg/mL (179).

Након 7 дана долази до снижења просечних вредности *IL-17A* у групи пацијената која је узимала *Brilique* на $60,50$ pg/mL и пораста просечних вредности у стандардној групи на $91,00$ pg/mL. Није нађена статистички значајна разлика између група.

Након 30 дана долази до пораста просечних вредности *IL-17A* у групи пацијената која је узимала *Brilique* на $72,00$ pg/mL (испод почетних вредности) и снижења просечних вредности у стандардној групи на $49,00$ pg/mL (испод почетних вредности). Није нађена статистички значајна разлика између група.

Да би се боље приказале промене вредности *IL-17A* између група, приказане су процентуалне промене разлике вредности *IL-17A*. Медијана разлика вредности *IL-17A* седмог и нултог дана је показала да је у групи која је користила *Brilique* дошло до смањења за 2 *pg/ml*, а у стандардној групи дошло је до повећања апсолутних вредности за 25 *pg/ml*. Ако се ова разлика изрази као проценат, онда се види да је у групи која је користила *Brilique* дошло до смањења у просеку за 52%, а у стандардној групи је дошло до повећања у просеку за 32% што је статистички значајно (*Mann-Whitney U test*, *p* вредност 0.005). Ако се израчуна медијана разлика вредности *IL-17A* тридесетог и нултог дана и потом разлика изрази у процентима, добиће се смањење у просеку за 72% у групи која је користила *Brilique* и смањење у стандардној групи у просеку за 13%, што није статистички значајно.

У групи пацијената која је користила *Brilique*, након 7 и 30 дана, нађена је високо позитивна корелација између просечних вредности *IL-17A* и *TNF- α* (*Spearman's rho* 0,892, *p* < 0,01 након 7 дана, односно *Spearman's rho* 0,856, *p* < 0,01 након 30 дана). На основу наведених корелација можемо претпоставити да *Brilique* делује на механизам у продукцији ова два цитокина који је заједнички за оба цитокина.

На основу горе наведеног можемо закључити да је постојала статистички значајна разлика, након 7 дана од почетка испитивања, у нивоу *IL-17A* у крви између 2 групе и да то може представљати антиинфламаторни ефекат *Brilique-a* код болесника са УК услед смањеног ослобађања цитокина са проинфламаторним деловањем из гранула Тр, обзиром да *IL-17A* има важну улогу у патогенези УК (228). За *Prednison* је показано да делује инхибиторно на стварање *IL-1*, *IL-6* и *TNF- α* , а обзиром да је *IL-6* поред *TGF- β* и *IL-23* неопходан за диференцијацију *Th17* ТЛ, овај лек у ствари повећава стварање регулаторних ТЛ, чији је број смањен у УК, тј успоставља равнотежу између *Th17* ТЛ и регулаторних ТЛ (229, 230). Лагани пораст просечних вредности *IL-17A* у стандардној групи након 7 дана (без значајне разлике у односу на просечне вредности на почетку студије) се може објаснити тиме да је потребно време за инхибиторно дејство *Prednison-a* на продукцију *IL-17A*, док се смањење у групи пацијената која је узимала *Brilique* може објаснити деловањем испитиваног лека.

Након испитивања мреже цитокина у УК до сада, издвојене су 2 групе болесника, комбиновањем *IL-17A* и *IL-13* у ткиву, које се разликују у односу на клиничку слику и цревну микрофлору (191). Ова 2 цитокина не утичу један на други и независни су у односу на друге цитокине који су испитивани у УК. Једна група болесника има повишен *IL-17A* и повишен *IL-13*, а друга група болесника има повишен *IL-17A* и низак *IL-13*. *IL-17A* указује на то да је присутна болест, а *IL-13* одређује подтип. Ми смо слично урадили са нашим болесницима, користећи просечне вредности ова два цитокина у серуму.

Идентификовали смо 10 болесника који су користили *Brilique* да припадају групи која има повишена оба цитокина (модификована *Brilique* група (*M-Brilique*)) и 4 болесника (друга група) који имају повишен *IL-17A* и низак *IL-13*.

У *M-Brilique* групи, нађена је статистички значајно нижа просечна вредност следећих цитокина (све вредности су у *pg/mL*) у односу на стандардну групу, након 7 дана од почетка лечења: *TNF- α* 0 vs 245,50, *p* вредност 0.006; *IL-17A* 49 vs 91, *p* вредност 0.004; *IL21* 157,50 vs 240,00, *p* вредност 0.024; *IL22* 49,00 vs 145,00, *p* вредност 0.004. Разлика између *M-Brilique* и стандардне групе, у просечним вредностима наведених цитокина, је већа него између групе болесника која је користила *Brilique* и стандардне групе, што значи да је у *M-Brilique* групи *Brilique* највише испољио свој антиинфламаторни ефекат, тј. смањио дегранулацију Тр и ослобађање цитокина са проинфламацијским деловањем.

5.5.6. *IL-17F*

О улози *IL-17F* у патогенези УК се зна мање него о *IL-17A*. И њега стварају *Th17 CD4+* ТЛ, и повећана је експресија *IL-17F iRNK* у слузници колона болесника са УК (234). С обзиром да терапија усмерена ка *IL-17A* није дала очекиване резултате, покушано је са двојном блокадом - блокадом *IL-17A* и *IL-17F* и показано је да се може превенирати настанак УК на анималном моделу (трансфер *CD4+CD25* – ТЛ код миша се тешком комбинованом имуном дефицијенцијом) (192). У току је клиничка студија која процењује ефекат *Vimekizumab-a*, антитела на *IL-17A* и *IL-17F*, код људи оболелих од средње тешког до тешког УК.

Просечне вредности *IL-17F* у популацији износе 9.56 ± 3.20 pg/mL (226), 14.68 ± 6.15 pg/mL (227).

Нема доступних подата о концентрацији овог цитокина у крви болесника са УК. Код наших болесника нашли смо просечне вредности у крви $7,50$ pg/mL у групи пацијената која је користила *Brilique*, односно $21,00$ pg/mL у стандардној групи. Након 7 дана од почетка студије долази до пораста просечних вредности на $50,50$ pg/mL у групи пацијената која је користила *Brilique*, односно снижења на немерљиве вредности $0,00$ pg/mL у стандардној групи.

Након 30 дана од почетка студије у обе групе региструју се немерљиве вредности $0,00$ pg/mL. Без статистички значајне разлике између група.

Да би се боље приказала разлика између група израчунате су процентуалне промене разлике вредности *IL-17F*. Медијана разлика вредности *IL-17F* седмог и нултог дана је показала да је у групи која је користила *Brilique* дошло до повећања за $22,50$ pg/ml, а у стандардној групи дошло је до смањења апсолутних вредности за 0 pg/ml. Ако се ова разлика изрази у процентима, онда се види да је у групи која је користила *Brilique* дошло до повећања у просеку за 34%, а у стандардној групи је дошло до смањења у просеку за 55% што је статистички значајно (*Mann-Whitney U test*, *p* вредност 0.038). Ако се израчуна медијана разлика вредности *IL-17F* тридесетог и нултог дана и потом разлика изрази у процентима, добиће се смањење у просеку за 100% у обе групе, што није статистички значајно. Према сазнању аутора ово је прво истраживање концентрације *IL-17F* у серуму код болесника са УК.

Yoichiro Iboshi и сарадници су објавили рад у коме су мерили који од цитокина, у ткиву колона, најбоље корелира са ендоскопским скором активност у УК, тј. степеном инфламације. Показали су да повишен однос *IL-17A / IL-17F* најбоље корелира са степеном инфламације у УК (233). Због ових сазнања, урађене су и клиничке студије у којима је испитивано деловање блокатора овог цитокина. Завршена је клиничка студија фазе два, *ENTRANCE*, која је показала ефикасност лека *vidofludimus*, у лечењу болесника са УК. То је мали молекул који делује инхибиторно на стварање *IL-17A* и *IL-17F* (235).

5.5.7. *IL-21*

IL-21 спада у цитокине чија улога у патогенези УК није до краја разјашњена. Стварају га доминантно *CD4+* ТЛ и *NKT* ћелије које се налазе у слузници колона. Поред тога што делује на многе ћелије имунског система он делује и на неимунске ћелије, пре свега фибробласте и интестиналне епителне ћелије и представља важан спој између та два система. Веома је важан за диференцијацију *Th17 CD4+* ТЛ, њихову пролиферацију и стварање *IL-17* (188), за диференцијацију БЛ у плазма ћелије (239).

Нађене су повишене концентрације *IL-21* у ткиву колона и у серуму болесника са УК. Доказано је да терапија која је усмерена ка *IL-21* у УК доводи да смањења *IL-17* на анималним моделима и очекује се да ће терапија која доводи до смањења *IL-21* у будућности имати велики клинички значај (172).

Просечне вредности *IL-21* код здравих особа износе 74 ± 132 pg/ml (236), 28 pg/mL (237), 50.6 pg/mL (238).

Ми смо код наших болесника нашли повишене просечне вредности *IL-21* у крви, у односу на просечне вредности код здравих људи, 200 pg/mL у групи пацијената која је користила *Brilique*, односно 162 pg/mL у стандардној групи.

Поредећи ове налазе са налазима других аутора, можемо рећи да су они у сагласности. *Jian Ge* и коаутори су у свом чланку приказали просечне вредности *IL-21* код болесника са УК 129.6 ± 97.1 pg/ml, односно 72.0 ± 29.0 pg/ml у контролној групи (193).

Након 7 дана од почетка испитивања, долази до пада просечних вредности *IL-21* у крви на $156,6$ pg/mL у групи пацијената која је користила *Brilique*, односно до пораста на 240 pg/mL у стандардној групи. Без статистички значајне разлике између група.

Након 30 дана од почетка испитивања долази до лаког пораста вредности *IL-21* у крви на $162,00$ pg/mL у групи пацијената која је користила *Brilique* (испод почетних вредности), односно до снижења на 158 pg/mL у стандардној групи (испод почетних вредности). Без статистички значајне разлике између група.

Потом су израчунате процентуалне промене разлике вредности *IL-21*. Медијана разлика вредности *IL-21* седмог и нултог дана је показала да је у групи која је користила *Brilique* дошло до смањења за 96.5 pg/ml, а у стандардној групи дошло је до повећања апсолутних вредности за 66 pg/ml. Ако се ова разлика изрази у процентима, онда се види да је у групи која је користила *Brilique* дошло до смањења у просеку за 63%, а у стандардној групи је дошло до повећања у просеку за 36% што је статистички значајно (*Mann-Whitney U test*, *p* вредност 0.014). Ако се израчуна медијана разлика вредности *IL-21* тридесетог и нултог дана и потом разлика изрази у процентима, добиће се смањење у просеку за 20% у групи која је користила *Brilique* односно повећање у стандардној групи у просеку за 1,8%, што није статистички значајно.

Након 7 дана вероватно је дошло до испољавања само ефекта испитиваног лека на просечне вредности *IL-21*, док је за ефекат *Prednolin-a* потребно време. Након 30 дана дошло је и до испољавања ефекта оба лека која су коришћена.

Показано је да глукортикоиди доводе до снижења *IL-21* у серуму, код болесника са мијастенијом гравис. У два наврата су мерени нивои *IL-21* у серуму, пре започињања терапије са глукокортикоидима и након 6 недеља терапије. Дошло је снижења просечних вредности *IL-21* у серуму, са 86.94 ± 14.47 pg/ml на 35.84 ± 16.13 pg/ml, које су и даље повишене у односу на просечне вредности код здравих контрола 16.65 ± 6.65 pg/ml (240).

Можемо закључити да је потребно време, више од 6 недеља, да се просечне вредности *IL-21* врате у нормални опсег након терапије глукокортикоидима.

Обзиром да је *IL-21* веома важан за диференцијацију *Th17 CD4+* ТЛ и ставарање *IL-17A* који има важну улогу у настанку УК, а спречава настанак субпопулације *Th17 CD4+* ТЛ која ствара *IFN γ* , можемо приметити да вредности *IL-21* и *IL-17A* у серуму наших болесника имају исти тренд смањења односно повећања у обе групе. Постоји изражена позитивна корелација између просечних вредности *IL-17A* и *IL-21* 7. дана од почетка испитивања у групи пацијената која је користила *Brilique* (*Spearman's rho* 0,873, *p* < 0,01) и стандардној групи (*Spearman's rho* 0,727, *p*=0,011) и 30. дана од почетка испитивања у групи пацијената која је користила *Brilique* (*Spearman's rho* 0,815, *p* < 0,01) и стандардној групи (*Spearman's rho* 0,779, *p*=0,005). Треба истаћи да након 7 дана од почетка испитивања долази до статистички значајног процентуалног снижења просечних вредности оба цитокина у крви, у односу на почетак испитивања, у групи која је користила *Brilique* у односу на стандардну групу. На основу тога можемо закључити да се ту највероватније ради о антиинфламаторном ефекту *Brilique-a*, односно смањеном ослобађању проинфламаторних цитокина из Тр и смањене активације Ле (228).

5.5.8. IL-22

IL-22 је цитокин кога стварају бројне ћелије имунског система као што су *Th17 CD4 + TЛ*, *Th22 CD4 + TЛ*, дендритичне ћелије, а јединствен је по томе што делује на епителне ћелије у цреву, хепатоците и кератиноците. Он подстиче репарацију епителних ћелија, самим тим обнавља цревну баријеру и делује протективно на нивоу црева. Међутим ако се нађе у повећаној концентрацији, заједно са *IL23*, може деловати и проинфламаторно.

Више концентрације *IL-22* у ткиву колона, су нађене у Кроновој болести, него у УК (194,195). Просечне вредности *IL-22* код здравих особа, у серуму, износе $1.77 \pm 1.61 \text{ pg/ml}$ (241), 4.6 pg/ml (242), 55.6 pg/ml (243). Код наших болесника, на почетку испитивања, нађене су умерено повишене просечне вредности *IL-22* у односу на здраву популацију, $76,50 \text{ pg/ml}$ у групи пацијената који су примали *Brilique*, односно $67,00 \text{ pg/ml}$ код болесника у стандардној групи. Након 7 дана од почетка испитивања, долази до смањења просечних вредности *IL-22* у групи пацијената који су примали *Brilique* на $61,50 \text{ pg/ml}$, односно до пораста у стандардној групи на $145,00 \text{ pg/ml}$. Након 30 дана долази до пораста просечних вредности *IL-22* на $74,50 \text{ pg/ml}$, нешто испод вредности на почетку студије, у групи која је користила *Brilique*, док се у стандардној групи бележи пад на вредности на $59,00 \text{ pg/ml}$, које су ниже него вредности на почетку студије. Без статистички значајне разлике између група.

Wenyu Jiang и коаутори су измерили повишене просечне вредности *IL-22* у серуму код болесника са УК, који нису лечени и не примају никакве лекове $108.5 \pm 20.5 \text{ pg/ml}$ код 40 болесника (20 болесника са средње тешком, 12 са благом и 8 са тешком формом болести). Показано је да су просечне вредности *IL-17*, *IL-21* и *IL-22* повишене код болесника са УК и да одлично корелирају са степеном инфламације и хистолошким степеном активности болести (244). Код наших болесника постоји изражена позитивна корелација између просечних вредности *IL-17*, *IL-21* и *IL-22*, након 7 и 30 дана у обе испитиване групе.

У раду *Sudarshan Seshadri* и коаутора је показано да глукокортикоиди делују инхибиторно на продукцију *IL-22* (245). *Jiang Cao* и коаутори су показали да код болесника са имуном тромбоцитопенијом, долази до снижења концентрација *IL-22* у крви након 4 дана терапије са високим дозама *Dexamethasone-a*, крв је узимана пре терапије и 28 дана од почетка терапије (246). Показано је да *Dexamethasone* доводи до смањене продукције *IL-22*, *in vitro* од стране мононуклеарних ћелија, на основу чега је претпостављено да је то главни механизам настанка инфективних компликација у Кроновој болести, након терапије са кортикостероидима, тј. да снижење *IL-22* у крви болесника са Кроновом болести представља нежељени ефекат (247).

Да би боље приказали промене вредности *IL-22* између група, ми смо приказали процентуалне промене разлике вредности *IL-22*. Медијана разлика вредности *IL-22* седмог и нултог дана је показала да је у групи која је користила *Brilique* дошло до смањења за $34,5 \text{ pg/ml}$, а у стандардној групи дошло је до повећања апсолутних вредности за 51 pg/ml .

Ако се ова разлика изрази као проценат, онда се види да је у групи која је користила *Brilique* дошло до смањења у просеку за 70%, а у стандардној групи је дошло до повећања у просеку за 76% што је статистички значајно (*Mann-Whitney U test*, *p* вредност 0.029). Ако се израчуна медијана разлика вредности *IL-22* тридесетог и нултог дана и потом разлика изрази у процентима, добиће се смањење у просеку за 30% у групи која је користила *Brilique* и повећање у стандардној групи у просеку за 8%, што није статистички значајно.

Један од могућих разлога овог резултата је да је након 7 дана дошло до испољавања ефекта *Brilique-a* на ниво *IL-22* у крви, а након тога је испољен и ефекат *Prednison-a*.

У току је клиничка студија о процени ефикасности и безбедности *UTTR1147A* (рекомбинантни фузиони протеин *IL-22* и *Fc IgG4*) код болесника са УК (196) чији је циљ да утврди ефикасност примене *IL-22* код болесника са УК.

5.5.9. *IL-4* и *IL-5*

Код наших болесника нађене су ниже вредности ових цитокина у крви у односу на вредности које су нашли други аутори, код болесника са УК.

IL-4 спада у антиинфламаторне цитокине, важан је за диференцијацију наивних *CD4+* ТЛ у *Th2* лимфоците и у радовима других аутора нађене су његове ниске вредности у крви болесника са УК. У раду *Margarita L. Martinez-Fierro* и коаутора приказане су просечне вредности *IL-4* код болесника са УК 8.2 ± 1.5 pg/ml, а у контролној групи 7.4 ± 1.16 pg/ml (179).

IL-5 је типичан *Th2* цитокин и други аутори су приказали ниске вредности овог цитокина у крви болесника са УК. *Margarita L. Martinez-Fierro* и коаутори су приказали просечне вредности *IL-5* 11.6 ± 2.1 pg/ml код болесника са УК, а у контролној групи 10.6 ± 1.8 pg/ml (179).

5.5.10. *IL-2*

IL-2 спада у групу *Th1* цитокина и представља фактор раста за ТЛ. Повишене вредности овог цитокина су нађене у мукози колона и серуму болесника са УК (197). *IL-2* је важан за патогенезу УК, што показује и податак да је започета клиничка студија о примени *IL-2* субкутано (100 пута ниже дозе него код лечења карцинома) код болесника са УК, која је планирана да се заврши крајем ове године. Претпоставка је да *IL-2* дат субкутано, доводи до експанзије и активације регулаторних ТЛ, а испитиван је у 11 болести, а једна од њих је и УК (256).

Просечне вредности *IL-2* код здравих особа износе 30.3 ± 2.4 pg/ml (248), 14 ($9.4-15.9$) pg/ml (249), 21.1 ± 2.68 pg/ml (250). Код наших болесника нађене су повишене просечне вредности *IL-2* у серуму, у односу на просечне вредности код здравих особа, 69.00 pg/ml у групи пацијената који су користили *Brilique*, односно 56.00 pg/ml у стандардној групи. Поредићи налазе са налазима других аутора можемо закључити да су вредности код наших болесника лако повишене. *Ebrahimpour S* и аутори су приказали просечне вредности *IL-2* код болесника са УК 40.71 ± 6.04 pg/ml и 37.24 ± 6.54 pg/ml код здравих контрола (198). У раду *Margarita L. Martinez-Fierro* и сарадника приказане су просечне вредности *IL-2* 45.2 ± 9.8 pg/ml код пацијената са УК (179). Ниже просечне вредности приказали су у свом раду *Dorota Mankowska-Wierzbicka* и сарадници - 6.0 pg/ml (177).

Након 7 дана долази до пада просечних вредности *IL-2* у групи пацијената који су користили *Brilique* на 42 pg/ml, односно пораста на 78.00 pg/ml у стандардној групи, што представља статистички значајну разлику (*Mann-Whitney U test*, *p* вредност 0,04).

Након 30 дана долази до пораста просечних вредности *IL-2* на 57.00 pg/ml у групи пацијената који су користили *Brilique* које су испод почетних вредности, и пада на 21.00 pg/ml у стандардној групи, које су такође испод почетних вредности. Без статистички значајне разлике између група.

Потом су израчунате процентуалне промене разлике вредности *IL-2*. Медијана разлика вредности *IL-2* седмог и нултог дана је показала да је у групи која је користила *Brilique* дошло до смањења за 23 pg/ml, а у стандардној групи дошло је до повећања апсолутних вредности за $35,5$ pg/ml. Ако се ова разлика изрази у процентима, онда се

види да је у групи која је косрителила *Brilique* дошло до смањења у просеку за 60%, а у стандардној групи је дошло до повећања у просеку за 43% што је статистички значајно (*Mann-Whitney U test*, *p* вредност 0.005). Ако се израчуна медијана разлика вредности *IL-2* тридесетог и нултог дана и потом разлика изрази у процентима, добиће се смањење у просеку за 31% у групи која је користила *Brilique* односно снижење у стандардној групи у просеку за 2,5%, што није статистички значајно.

Одлучили смо се за одређивање нивоа *IL-2* код наших болесника јер постоји могућност да ће терапија УК са *IL-2* имати клинички значај - чекају се резултати клиничке студије која је у току. Примена лека *Basiliximab* у комбинацији са кортикостероидима се показала ефикасним у лечењу болесника са стероид резистентним УК (251). Овај ефекат *Basiliximab-a* се објашњава тиме да је главни цитокин који доводи до резистенције на кортикостероиде управо *IL-2*, тако да се његовом блокадом супримира тај ефекат. *IFN γ* има супротан ефекат на терапију кортикостероидима у односу на на *IL-2* (252), а овај цитокин је нађен у ниским концентрацијама код наших болесника. Овим се може објаснити нешто спорији пад проинфламаторних цитокина након 7 дана, код наших болесника у стандардној групи.

Клиничка студија која је процењивала ефекат хуманизованог антитела на *IL-2* рецептор - *Daclizumab* (199), код болесника са средње тешким УК, није имала повољан ефекат. Једно од објашњења за то је да је коришћена ниска доза кортикостероида, јер је *Daclizumab* даван заједно са кортикостероидима.

5.5.11. *IL-9*

IL-9 ствара посебан подтип *CD4+* ТЛ тзв. *Th9* лимфоцити. *IL-9* делује углавном на ћелије имуног система, епителне ћелије колона и маст ћелије и има улогу у патогенези УК. *IL-9* слаби цревну баријеру тако што смањује стварање оклудина, а такође и спречава зарастање рана на слузници. Потенцијални је негативни предиктивни фактор за „*musoal healing*“ у дебелом цреву. Нађене су повишене концентрације *IL-9* у слузници колона и крви болесника са УК (200, 201, 253).

Просечне вредности *IL-9* код здравих особа износе 23.3 (16.3–31.3) *pg/ml* (253). Код наших болесника нашли смо, на почетку испитивања, повишене просечне вредности *IL-9* у крви у односу на здраве особе, 125,50 *pg/ml* у групи пацијената који су користили *Brilique*, односно 118,00 у стандардној групи.

Malgorzata Matusiewicz и коаутори су приказали ниже вредности *IL-9* у крви код болесника са УК 32.7 *pg/mL* (27-38.9), односно 9 *pg/mL* код здравих особа (201). *Margarita L. Martinez-Fierro* (179) и коаутори су приказали следеће вредности *IL-9* код УК 89.8 \pm 312.8 *pg/mL*.

Ми смо показали да након 7 дана долази до пада просечних вредности *IL-9* у групи пацијената који су користили *Brilique* на 50 *pg/ml*, односно пораста на 170,00 *pg/ml* у стандардној групи, што није статистички значајно.

Након 30 дана долази до пораста просечних вредности *IL-9* на 130,00 *pg/ml* у групи пацијената који су користили *Brilique*, и пада на 42,00 *pg/ml* у стандардној групи, које су испод почетних вредности. Без статистички значајне разлике између група.

Показано је да *Dexamethasone* делује инхибиторно на продукцију *IL-9* од стране хуманих ТЛ у крви (254). Инхалациони кортикостероиди доводе смањења концентрације *IL-9* у серуму код болесника са бронхијалном астмом (255).

Потом су израчунате процентуалне промене разлике вредности *IL-9*. Израчуната је медијана разлика вредности *IL-9* седмог и нултог дана, изражена у процентима, одакле се види да је у групи која је косрителила *Brilique* дошло до смањења у просеку за 71%, а у стандардној групи је дошло до повећања у просеку за 51% што је статистички значајно (*Mann-Whitney U test*, *p* вредност 0.05) . Ако се израчуна медијана разлика вредности *IL-*

9 тридесетог и нултог дана и потом разлика изрази у процентима, добиће се повећање у просеку за 14% у групи која је користила *Brilique* односно снижење у стандардној групи у просеку за 61%, што није статистички значајно.

5.5.12. *IL-10*

IL-10 је антиинфламаторни и имуносупресивни цитокин, који делује инхибиторно на антиген презентацију и стварање проинфламаторних и *Th2* цитокина. Нађене су повишене концентрације овог цитокина у ткиву колона и крви болесника са УК. Главни извор *IL-10* су *CD4 + ТЛ*. *IL-10* делује тако што смањује продукцију *IL-1 α* , *IL-1 β* , *IL-6*, *IL-8*, *TNF- α* од стране моноцита у периферној крви, интестиналних макрофага и лимфоцита (259). Клиничке студије које су подразумевале примену *IL-10* у УК, било преко генетски модификованих бактерија које стварају *IL-10* или микросфера које садрже *IL-10*, нису имале клинички значај (202, 260), али је показано да су безбедне. Могући разлог је тај да нису постигнуте одговарајуће концентрације *IL-10* у слузници колона (261). У току је клиничка студија фазе 2, о примени *Dekavil-a* (фузиони шротетин између *IL-10* и васкуларног антитела *F8*, који доводи *IL-10* на место инфламације) у Реуматоидном артритису, а након завршетка студије процениће се има ли основе о покретању клиничке студије о примени овог лека у УК (262). У току је и клиничка студија фазе 2а, о субкутаној примени *IL-10* код болесника са УК, који нису одреаговали на *Infliximab*, уз наставак примене *Infliximab-a* (263).

Просечне вредности *IL-10* код здравих особа износе 2.3 ± 2.5 pg/ml (248), 12.6 (8.5–16.7) pg/ml (249), 7.1 pg/ml (4.8-9.8) (257), 2.57 ± 0.31 pg/ml (258).

Нађене су повишене просечне вредности *IL-10* у односу на здраву популацију, пре почетка испитивања, код наших болесника, $141,00$ pg/ml у групи пацијената која је користила *Brilique*, односно 174 pg/ml у стандардној групи.

Margarita L. Martinez-Fierro и сарадници су приказали ниже просечне вредности *IL-10* у крви код болесника са УК 15.03 ± 15.8 pg/ml, *Dorota Mankowska-Wierzbicka* и коаутори 7.4 (0.0-35.8) pg/ml (179,177). *T. Kucharzik* и коаутори су приказали више вредности 144 ± 34 pg/ml. Такође је показано да терапија са кортикостероидима не утиче на концентрацију *IL-10*, а да се концентрације овог цитокина у крви смањују након развоја ремисије код болесника са УК (203, 264).

Након 7 дана долази у обе групе до пада просечних вредности *IL-10*, у групи пацијената која је користила *Brilique* на $0,50$ pg/ml, односно на $52,00$ pg/ml у стандардној групи, што није статистички значајно.

Показано је да болесници са Кроновом болешћу који повољно реагују на примену кортикостероида имају више вредности *IL-10* у крви, а ниже вредности *IL-10* у крви су нађене код пацијената који не одговарају на кортикостероиде. Такође је показано да нема разлике у концентрацији *IL-10* у крви код болесника који се лечени кортикостероидима или другом терапијом, иако се сматра да је важан механизам дејства кортикостероида повећање *IL-10* у крви, мада је то доказано само *in vitro*, а није сигурно доказано *in vivo*. Такође је показано да вредности *IL-10* у крви не падају одмах кад дође до клиничке ремисије, већ остају мало дуже повишене (тзв. одложено повећање), што је показано и за *IL-6* (260).

Ми смо показали да након 30 дана долази до пораста просечних вредности *IL-10* у групи пацијената која је користила *Brilique* на $31,50$ pg/ml, које су ниже од просечних вредности пре почетка лечења, односно пада на немерљиве вредности $0,00$ pg/ml у стандардној групи, што није статистички значајно.

Ако вредности прикажемо као процентуалну промену разлика вредности *IL-10*, израчунамо медијану разлика вредности и потом то прикажемо у процентима, добићемо да је након 7 дана од почетка лечења дошло до снижења у просеку за 100% у групи

пацијената која је користила *Brilique*, односно снижења у просеку за 69% у стандардној групи, што није статистички значајно. Ако израчунамо медијану разлика вредности *IL-10* тридесетог и нултог дана и потом се разлика изрази у процентима, добиће се снижење у просеку за 78% у групи која је користила *Brilique* односно снижење у стандардној групи у просеку за 100%, што није статистички значајно.

Код наших болесника није забележен пораст *IL-10* у крви, након примене терапије кортикостероидима, што се подудара са литературним подацима. Нема значајне разлике између вредности *IL-10* у крви између група, што се поново подудара са литературним подацима.

Учињена је корелација *IL-10* са *IL-6*, *IL-17A* и *TNF- α* , обзиром да је показано да ти цитокини добро корелирају са степеном инфламације.

У групи која је користила *Brilique*, након 7 дана нађена је висока позитивна корелација између просечних вредности *IL-10* и *TNF- α* (*Spearman's rho* 0.897, $p < 0.01$) и између просечних вредности *IL-10* и *IL-17A* (*Spearman's rho* 0.816, $p < 0.01$), а након 30 дана нађена је висока позитивна корелација између просечних вредности *IL-10* и *TNF- α* (*Spearman's rho* 0.517, p вредност 0.02) и између просечних вредности *IL-10* и *IL-17A* (*Spearman's rho* 0.508, $p < 0.022$).

У стандардној групи је након 7 дана нађена висока позитивна корелација између просечних вредности *IL-10* и *IL-17A* (*Spearman's rho* 0.807, p вредност 0.003), а након 30 дана нађена је висока позитивна корелација између просечних вредности *IL-10* и *TNF- α* (*Spearman's rho* 0.873, $p < 0.01$) и између *IL-10* и *IL-17A* (*Spearman's rho* 0.728, p вредност 0.011).

Као закључак након приказаних високих позитивних корелација између *IL-10* и *IL-17A*, *TNF- α* можемо закључити да иако постоји само нумерички значајна разлика вредности између две испитиване групе то може указивати на корист од примене лека *Brilique* код болесника са УК, јер су цитокини са којим је *IL-10* у корелацији, најважнији маркери степена инфламације односно активности УК.

5.6. Фекални калпротектин

F-kal је протеини који се налази највише у цитоплазми неутрофила и врло је важан за праћење болесника са УК. Добро корелира са степеном инфламације у цревима и са ендоскопским скоровима за степен активности УК. Гранична вредност *F-kal* је 250 to 300 $\mu\text{g/g}$, изнад које код пацијента постоји инфламација у колону (113).

Код наших пацијената нађене су повишене просечне вредности *F-kal* у обе групе, 1250,00 $\mu\text{g/g}$ у групи која је користила *Brilique*, односно 1690,00 $\mu\text{g/g}$ у стандардној групи. Без статистички значајне разлике између група. Након 7 дана долази до пада просечних вредности *F-kal* у обе групе, 652,00 $\mu\text{g/g}$ у групи пацијената која је користила *Brilique* односно 1059,00 $\mu\text{g/g}$ у стандардној групи, што није статистички значајно. Након 30 дана долази до већег снижења просечних вредности *F-kal* у обе групе, 281,50 $\mu\text{g/g}$ у групи пацијената која је користила *Brilique*, односно 421,00 $\mu\text{g/g}$ у стандардној групи, што није статистички значајно. Нађена је статистички значајно мања просечна вредност *F-kal* након 30 дана у односу на просечне вредности на почетку студије, у обе групе (*Mann-Whitney U test*, p вредност $< 0,001$), што индиректно значи да је постоји мањи степен упале у цревима, што представља повољан ефекат примењене терапије.

Ако вредности прикажемо као процентуалну промену разлика вредности *F-kal*, након 7 дана од почетка лечења дошло је до снижења у просеку за 46% у групи пацијената која је користила *Brilique*, односно снижења у просеку за 38% у стандардној групи, што није статистички значајно. Затим израчунамо медијану разлика вредности *F-kal* тридесетог и нултог дана и ту разлику изразимо у процентима, добиће се снижење у

просеку за 83% у групи која је користила *Brilique*, односно снижење у стандардној групи у просеку за 80%, што није статистички значајно.

5.7. Nancy score

NS служи за хистолошку процену степена активности УК. Неопходан је у праћењу и правилној процени активности болести код болесника са УК (204).

Просечна вредност *NS* код наших болесника износила је 3,00 у обе групе. На контролној колоноскопији, након примене терапије, у обе групе дошло је снижења просечне вредности *NSI* у обе групе на 1,00. Нема разлике између група, али постоји статистички значајна разлика, унутар обе групе, између *NSI* и *NS* (*Wilcoxon Signed Ranks Test*, $p < 0,001$).

Ако се погледа расподела болесника након контролне колоноскопије на основу *NSI* може се видети да 60% болесника из групе која је користила *Brilique* и 55% болесника из стандардне групе има *NSI* 0 или 1, што практично значи да немају или имају минималну инфламацију, што је одличан резултат и представља добар ефекат терапије.

Учињена је бинарна логистичка регресија на целом узорку да би се проценило да ли постоји предиктор промене *NS*, на основу вредности у тренутку пре почетка лечења, али се ни један од испитиваних маркера није показао као предиктор промене *NS*.

Ово је по сазнању аутора прва клиничка студија која је процењивала ефекат и безбедност примене *Brilique-a* у УК, односно примену антиагрегационе терапије код болесника са УК. На основу резултата добијених током испитивања примене антиагрегационе терапије на анималном моделу за УК, доказано је да је примена лека *Brilique* безбедна, што је и објављено у раду С. Петровић-а и коаутора (266). Осим модрица по кожи доњих екстремитета код 6 болесника, које су се повукле након 7-10 дана, није забележено никакво друго крварење, тромбоцитопенија, брадикардија или диспнеја, што су најважнији могући нежељени ефекти *Brilique-a*. На основу претходно изнетих резултата и дискусије можемо закључити да је примена лека *Brilique* код болесника са средње тешком формом УК безбедна.

Укључено је укупно 40 болесника, највише са левостраним УК и проктосигмоидитисом, са *NS* 2 или 3. У обе групе долази до пада *CRP* и *F-kal* након месец дана терапије (стандардна терапија + *placebo* vs стандардна терапија + *Brilique*) што указује да је терапија била ефикасна. Након лечења дошло је до клиничког и ендоскопског побољшања код преко 50% болесника, у току 3 месеца од почетка лечења. Ако се погледа расподела болесника у односу на *NSI* може се закључити да 50% болесника има *NSI* 0 или 1 што представља добар ефекат лечења. Међутим између ове 2 групе болесника постоје и значајне разлике, пре свега у вредностима измерених цитокина.

У раду *Dorota Mankowska-Wierzbicka* и коаутора је показано да су *IL-6*, *IL-17A*, *TNF- α* најважнији цитокини чије концентрације у серуму корелирају са степеном инфламације тј. степеном тежине УК (177).

У нашој клиничкој студији долази до снижења разлика вредности управо та 3 цитокина у крви, након 7 дана од почетка испитивања.

Након 7 дана дошло је до значајно нижих разлика вредности *IL-6*, *TNF- α* , *IL-17A*, *IL-21*, *IL-22*, *IL-9* у групи болесника који су примали *Brilique* у односу на стандардну групу. Нађене су и нумерички ниже разлике вредности *IL-13* у групи болесника који су примали *Brilique* у односу на стандардну групу. Поред тога нађене су и значајно ниже просечне вредности *IL-2* у групи болесника који су примали *Brilique* у односу на стандардну групу, 7 дана након од почетка испитивања.

Показано је да постоји висока позитивна корелација просечних вредности *IL-17A* и *TNF- α* у крви након 7 и 30 дана од почетка лечења, и између просечних вредности *IL-*

21 и *IL-17A* након 7 и 30 дана дана од почетка лечења, између *IL-13* и *TNF- α* 7 дана након почетка лечења, и између *IL-10* и *TNF- α* , *IL-17A* 7 и 30 дана након почетка лечења. Као што је приказано, дошло је до значајних промена у вредностима цитокина који потичу од стране урођеног имунитета - *IL-6*, *Th1* - *TNF- α* , *Th9* - *IL-9*, *Th17* - *IL-21*, *IL-17A*, *IL-22*. Од цитокина *Th2* групе једино постоји умерено позитивна корелација између просечних вредности *IL-13* и *TNF- α* након 7 дана лечења. Промене у вредностима наведених цитокина су праћене снижењем *sCD40L* и *sPselektin-a* у крви, који представљају маркере активације Тр и инфламације, на основу чега се претпоставља да постоји и смањење активности Тр. Тренд снижења *sCD40L* и *sPselektin-a* у крви је спорији него што је очекивано, али је то зависно и од дозе *Brilique-a* која је коришћена (90 mg дневно) и од периода праћења. Код свих болесника који су примали *Brilique* показано је да је смањена *ADP* зависна агрегација Тр користећи *Multiplate® platelet function analyzer*. Можемо закључити да смањење наведених цитокина корелира са смањеном функцијом Тр.

Alessia Butera и сарадници су поделили УК на 2 групе, на основу *IL-17A* и *IL-13* у мукози колона, једна група има повишена оба цитокина а друга повишен *IL-17A*, а снижен *IL-13* (191). И ми смо слично урадили са нашим болесницима у групи која је примала *Brilique*, користили смо концентрације наведених цитокина у серуму, и добили у групи која има повишена оба цитокина, укупно 10 болесника. Код тих болесника добили смо још израженији ефекат, јер ту је дошло до статистички значајног снижења просечних вредности *TNF- α* , *IL-17A*, *IL -21*, *IL-22*, *IL-2* након 7 дана у односу на стандардну групу.

Циљ овог истраживања је био да се испитају безбедност и ефикасност примене *Brilique-a* у средње тешком УК. За процену деловања лека испитивани су цитокини у крви за које је доказано да корелирају са степеном инфламације болести. *Brilique* је лек који смањује *ADP* зависну агрегацију Тр, али и дегранулацију Тр, тј. ослобађање разних биолошки активних супстанци које укључују и цитокине и инхибира *NF- κ B* сигнални пут и на тај начин смањује инфламацију (267, 268).

Стандардна доза *Brilique-a* је 90 mg 2 пута дневно. У овом случају, одлучили смо се за дупло мању дозу - 90 mg дневно, јер УК не представља званичну индикацију за примену овог лека и није раније коришћен у овој индикацији. Узимајући у обзир наведене чињенице и опасност од појачаног ректалног крварења услед примене лека који инхибира агрегацију Тр, одлучили смо да *Brilique* употребимо у дози од 90 mg дневно.

На основу свега наведеног можемо закључити да је код болесника са средње тешком формом УК у погоршању дошло до испољавања антиинфламаторног ефекта лека *Brilique*, што се манифестовало смањењем концентрација *IL-2*, *IL-6*, *IL-9*, *TNF- α* , *IL-17A*, *IL-21*, *IL-22*, у крви код болесника који су користили *Brilique*. Вероватно би ефекат био израженији и дуже трајао да је коришћена стандардна доза лека, 90mg 2 пута дневно.

6. ЗАКЉУЧЦИ

На основу изнетих резултата могу се извести следећи закључци:

1. Ово је по сазнању аутора прва клиничка студија која је процењивала безбедност и ефекат примене *Brilique-a* у улцерозном колитису, односно примену антиагрегационе терапије код болесника са улцерозним колитисом.
2. Примена лека *Brilique* код болесника са средње тешком формом улцерозног колитиса у погоршању је безбедна.
3. Није нађена значајна разлика вредности *CRP*, *sCD40L*, *sP-selectin-a* између испитиваних група, 7. и 30. дана од почетка испитивања.
4. Није нађена значајна разлика вредности *Hgb* и *Tr* између испитиваних група, 7. и 30. дана од почетка испитивања.
5. Није нађена значајна разлика између вредности *Nancy score-a*, на почетној колоноскопији и на контролној колоноскопији.
6. Није нађена значајна разлика између вредности фекалног калпротекина, 7. и 30. дана од почетка испитивања.
7. Након 7 дана дошло је до значајно нижих разлика вредности *TNF- α* , *IL-6*, *IL-9*, *IL-17A*, *IL-21*, *IL-22* у групи болесника која је примала *Brilique* у односу на стандардну групу.
8. Нађене су значајно ниже просечне вредности *IL-2* у групи болесника који су примали *Brilique* у односу на стандардну групу, 7 дана након почетка студије.
9. Промене у вредностима *IL-2*, *TNF- α* , *IL-6*, *IL-9*, *IL-17A*, *IL-21*, *IL-22* су праћене снижењем *sCD40L* и *sPselectin-a* у крви и смањеном *ADP* зависном агрегацијом тромбоцита па можемо закључити да смањење наведених цитокина корелира са смањеном функцијом *Tr*.
10. Постоји висока позитивна корелација између просечних вредности *IL-17A* и *TNF- α* у крви након 7 и 30 дана од почетка лечења и између просечних вредности *IL-21* и *IL-17A* у крви након 7 и 30 дана од почетка лечења у групи болесника који су примали *Brilique*.
11. Постоји висока позитивна корелација између просечних вредности *IL-13* и *TNF- α* 7 дана након почетка лечења, и између *IL-10* и *TNF- α* , *IL-17A* 7 и 30 дана након почетка лечења у групи болесника који су примали *Brilique*.
12. На основу свега наведеног можемо закључити да је код болесника са средње тешком формом УК у погоршању дошло до испољавања антиинфламаторног ефекта лека *Brilique*.

7. ЛИТЕРАТУРА

1. Lim ML, Wallace MR. Infectious diarrhea in history. *Infect Dis Clin North Am.* 2004 Jun;18(2):261-74.
2. Francois Joseph Victor Broussais (1772–1838). System of physiological medicine JAMA 209 1969 1523.
3. Wilks S. Morbid appearances in the intestines of Miss Bankes Lond Med Gaz 2 1859 264–265.
4. Allchin WH. A Discussion on "Ulcerative Colitis.": Introductory Address. *Proc R Soc Med.*1909;2(Med Sect):59-75.
5. Lockhart-Mummery J.P. A discussion on ulcerative colitis *Proc R Soc Med* 2 1909 92–94.
6. Hawkins HP. An Address ON THE NATURAL HISTORY OF ULCERATIVE COLITIS AND ITS BEARING ON TREATMENT. *Br Med J.* 1909 Mar 27;1(2517):765-70.
7. Lewisohn R. Segmental enteritis *Surg Gynecol Obstet* 66 1938 215–222.
8. Hewitt J.H. Howard W.T. Chronic ulcerative colitis with polyps: a consideration of the so-called colitis polyposa (Virchow) *Arch Intern Med* 15 1915 714–723.
9. WANGENSTEEN OH, TOON RW. Primary resection of the colon and rectum with particular reference to cancer and ulcerative colitis. *Am J Surg.* 1948 Feb;75(2):384-404.
10. Helmholtz H.F. Chronic ulcerative colitis in childhood *Arch Pediatr Adolesc Med* 26 1923 418–430.
11. Cattell RB. CLOSURE OF ILEOSTOMY IN ULCERATIVE COLITIS. *Ann Surg.* 1942 Jun;115(6):956-68.
12. Wright A.D. Ulcerative colitis complicated by polyarthritis treated by total colectomy *Proc R Soc Med* 35 1942 189–190.
13. WARREN S, SOMMERS SC. Pathogenesis of ulcerative colitis. *Am J Pathol.* 1949 Jul;25(4):657-79.
14. Sullivan AJ, Chandler CA. Ulcerative Colitis of Psychogenic Origin: A Report of Six Cases. *Yale J Biol Med.* 1932 Jul;4(6):779-96.
15. Wittkower E. Ulcerative Colitis: Studies of Personality. *Br Med J.* 1938 Dec 31;2(4069):1356-60.
16. SLOAN WP Jr, BARGEN JA, GAGE RP. Life histories of patients with chronic ulcerative colitis: a review of 2,000 cases. *Gastroenterology.* 1950 Sep;16(1):25-38.
17. TRUELOVE SC, WITTS LJ. Cortisone in ulcerative colitis; final report on a therapeutic trial. *Br Med J.* 1955 Oct 29;2(4947):1041-8.
18. SVARTZ M. The treatment of 124 cases of ulcerative colitis with salazopyrine and attempts of desensibilization in cases of hypersensitiveness to sulfa. *Acta Med Scand.* 1948;131(Suppl 206):465-72.
19. BEAN RH. The treatment of chronic ulcerative colitis with 6-mercaptopurine. *Med J Aust.* 1962 Oct 13;49(2):592-3.
20. Hanauer SB. Update on the etiology, pathogenesis and diagnosis of ulcerative colitis. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol.* 2004 Nov;1(1):26-31.
21. da Silva BC, Lyra AC, Rocha R, Santana GO. Epidemiology, demographic characteristics and prognostic predictors of ulcerative colitis. *World J Gastroenterol.* 2014 Jul 28;20(28):9458-67.
22. Cosnes J, Gower-Rousseau C, Seksik P, Cortot A. Epidemiology and natural history of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology.* 2011 May;140(6):1785-94.
23. Bernstein CN, Wajda A, Svenson LW, MacKenzie A, Koehoorn M, Jackson M, Fedorak R, Israel D, Blanchard JF. The epidemiology of inflammatory bowel disease in Canada: a population-based study. *Am J Gastroenterol.* 2006 Jul;101(7):1559-68.

24. Ng SC, Shi HY, Hamidi N, Underwood FE, Tang W, Benchimol EI, Panaccione R, Ghosh S, Wu JCY, Chan FKL, Sung JJY, Kaplan GG. Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies. *Lancet*. 2018 Dec 23;390(10114):2769-2778.
25. Henriksen M, Jahnsen J, Lygren I, Vatn MH, Moum B. Are there any differences in phenotype or disease course between familial and sporadic cases of inflammatory bowel disease? Results of a population-based follow-up study. *Am J Gastroenterol* 2007; **102**: 1955-1963.
26. Ramos GP, Papadakis KA. Mechanisms of Disease: Inflammatory Bowel Diseases. *Mayo Clin Proc*. 2019 Jan;94(1):155-165.
27. Marchukov D, Misselwitz B. [Insights into the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Diseases: Genetics and Microbiota]. *Ther Umsch*. 2019 Jan;75(5):273-279.
28. Peng LL, Wang Y, Zhu FL, Xu WD, Ji XL, Ni J. IL-23R mutation is associated with ulcerative colitis: A systemic review and meta-analysis. *Oncotarget*. 2017 Jan 17;8(3):4849-4863.
29. Sarlos P, Kovesdi E, Magyari L, Banfai Z, Szabo A, Javorhazy A, Melegh B. Genetic update on inflammatory factors in ulcerative colitis: Review of the current literature. *World J Gastrointest Pathophysiol*. 2014 Aug 15;5(3):304-21.
30. Song R, Li Y, Hao W, Wang B, Yang L, Xu F. Identification and analysis of key genes associated with ulcerative colitis based on DNA microarray data. *Medicine (Baltimore)*. 2018 May;97(21):e10658.
31. Telesco SE, Brodmerkel C, Zhang H, Kim LL, Johanns J, Mazumder A, Li K, Baribaud F, Curran M, Strauss R, Paxson B, Plevy S, Davison T, Knight L, Dibben S, Schreiber S, Sandborn W, Rutgeerts P, Siegel CA, Reinisch W, Greenbaum LE. Gene Expression Signature for Prediction of Golimumab Response in a Phase 2a Open-Label Trial of Patients With Ulcerative Colitis. *Gastroenterology*. 2018 Oct;155(4):1008-1011.e8.
32. Muro M, López-Hernández R, Mrowiec A. Immunogenetic biomarkers in inflammatory bowel diseases: role of the IBD3 region. *World J Gastroenterol*. 2014 Nov 7;20(41):15037- 48.
33. Yarani R, Mirza AH, Kaur S, Pociot F. The emerging role of lncRNAs in inflammatory bowel disease. *Exp Mol Med*. 2018 Dec 6;50(12):161.
34. Li Z, Wang Y, Zhu Y. Association of miRNA-146a rs2910164 and miRNA-196 rs11614913 polymorphisms in patients with ulcerative colitis: A meta-analysis and review. *Medicine (Baltimore)*. 2018 Sep;97(39):e12294.
35. Jenke AC, Zilbauer M. Epigenetics in inflammatory bowel disease. *Curr Opin Gastroenterol*. 2012 Nov;28(6):577-84.
36. Xia SL, Lin DP, Lin QR, Sun L, Wang XQ, Hong WJ, Lin ZJ, Du CC, Jiang Y. A Case-Control Study on Association of Ulcerative Colitis with FCGR2A Gene Polymorphisms in Chinese Patients. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2018 Oct;22(10):607-614.
37. Sadr M, Moazzami B, Soleimanifar N, Elhamian N, Rezaei A, Ebrahimi Daryani N, Rezaei N. Single Nucleotide Polymorphisms of PTPN22 Gene in Iranian Patients with Ulcerative Colitis. *Fetal Pediatr Pathol*. 2019 Jan 12:1-6.
38. Zhu H, Huang S, Yue M, Chen W, Lu C, Lou X, Li C, Shan G, Chen H, Xu X, Xu G, Chen L. Dysregulated Up-Frameshift Protein 1 Promotes Ulcerative Colitis Pathogenesis Through the TNFR1-NF-κB/MAPKs Pathway. *Dig Dis Sci*. 2018 Oct;63(10):2593-2603.
39. Turpin W, Goethel A, Bedrani L, Croitoru M, Mcdm K. Determinants of IBD Heritability: Genes, Bugs, and More. *Inflamm Bowel Dis*. 2018 May 18;24(6):1133-1148.
40. Missaghi B, Barkema HW, Madsen KL, Ghosh S. Perturbation of the human microbiome as a contributor to inflammatory bowel disease. *Pathogens*. 2014 Jun 30;3(3):510-27.
41. Contijoch EJ, Britton GJ, Yang C, Mogno I, Li Z, Ng R, Llewellyn SR, Hira S, Johnson

- C, Rabinowitz KM, Barkan R, Dotan I, Hirten RP, Fu SC, Luo Y, Yang N, Luong T, Labrias PR, Lira S, Peter I, Grinspan A, Clemente JC, Kosoy R, Faith JJ. Gut microbiota density influences host physiology and is shaped by host and microbial factors. *Elife*. 2019 Jan 22;8. pii: e40553.
42. Pei LY, Ke YS, Zhao HH, Wang L, Jia C, Liu WZ, Fu QH, Shi MN, Cui J, Li SC. Role of colonic microbiota in the pathogenesis of ulcerative colitis. *BMC Gastroenterol*. 2019 Jan 14;19(1):10.
 43. Al-Bayati L, Nayeri Fasaei B, Merat S, Bahonar A. Longitudinal Analyses of Gut-Associated Bacterial Microbiota in Ulcerative Colitis Patients. *Arch Iran Med*. 2018 Dec 1;21(12):578-584.
 44. Shen ZH, Zhu CX, Quan YS, Yang ZY, Wu S, Luo WW, Tan B, Wang XY. Relationship between intestinal microbiota and ulcerative colitis: Mechanisms and clinical application of probiotics and fecal microbiota transplantation. *World J Gastroenterol*. 2018 Jan 7;24(1):5-14.
 45. Chassaing B, Darfeuille-Michaud A. The commensal microbiota and enteropathogens in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology*. 2011 May;140(6):1720-28.
 46. Wang ZK, Yang YS, Chen Y, Yuan J, Sun G, Peng LH. Intestinal microbiota pathogenesis and fecal microbiota transplantation for inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 2014 Oct 28;20(40):14805-20.
 47. Liang J, Sha SM, Wu KC. Role of the intestinal microbiota and fecal transplantation in inflammatory bowel diseases. *J Dig Dis*. 2014 Dec;15(12):641-6.
 48. Dalal SR, Chang EB. The microbial basis of inflammatory bowel diseases. *J Clin Invest*. 2014 Oct;124(10):4190-6.
 49. Łusiak-Szelachowska M, Weber-Dąbrowska B, Jończyk-Matysiak E, Wojciechowska R, Górski A. Bacteriophages in the gastrointestinal tract and their implications. *Gut Pathog*. 2017 Aug 10;9:44.
 50. Roda G, Sartini A, Zambon E, Calafiore A, Marocchi M, Caponi A, Belluzzi A, Roda E. Intestinal epithelial cells in inflammatory bowel diseases. *World J Gastroenterol*. 2010 Sep 14;16(34):4264-71.
 51. Laukoetter MG, Nava P, Nusrat A. Role of the intestinal barrier in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 2008 Jan 21;14(3):401-7.
 52. Coskun M. Intestinal epithelium in inflammatory bowel disease. *Front Med (Lausanne)*. 2014 Aug 25;1:24.
 53. Okamoto R, Watanabe M. Role of epithelial cells in the pathogenesis and treatment of inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol*. 2016 Jan;51(1):11-21.
 54. Gitter AH, Wullstein F, Fromm M, Schulzke JD. Epithelial barrier defects in ulcerative colitis: characterization and quantification by electrophysiological imaging. *Gastroenterology*. 2001 Dec;121(6):1320-8.
 55. Chen WX, Ren LH, Shi RH. Enteric microbiota leads to new therapeutic strategies for ulcerative colitis. *World J Gastroenterol*. 2014;20(42):15657-15663.
 56. Cader MZ, Kaser A. Recent advances in inflammatory bowel disease: mucosal immune cells in intestinal inflammation. *Gut*. 2013 Nov;62(11):1653-64.
 57. Gaboriau-Routhiau V, Rakotobe S, Lecuyer E, et al. The key role of segmented filamentous bacteria in the coordinated maturation of gut helper T cell responses. *Immunity* 2009;31:677–89.
 58. Shi N, Li N, Duan X, Niu H. Interaction between the gut microbiome and mucosal immune system. *Mil Med Res*. 2017 Apr 27;4:14.
 59. Kau AL, Ahern PP, Griffin NW, Goodman AL, Gordon JI. Human nutrition, the gut microbiome and the immune system. *Nature*. 2011;474:327–36.

60. Round JL, Mazmanian SK. Inducible Foxp3⁺ regulatory T-cell development by a commensal bacterium of the intestinal microbiota. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107:12204–9.
61. Ebert EC, Roberts AI. Costimulation of the CD3 pathway by CD28 ligation in human intestinal lymphocytes. *Cellular Immunol* 1996;171:211–16.
62. Lécuyer E, Rakotobe S, Lengliné-Garnier H, et al. Segmented filamentous bacterium uses secondary and tertiary lymphoid tissues to induce gut IgA and specific T helper 17 cell responses. *Immunity*. 2014;40(4):608–620. doi:10.1016/j.immuni.2014.03.00963. Juno JA, Keynan Y, Fowke KR. Invariant NKT cells: regulation and function during viral infection. *PLoS Pathog*. 2012;8(8):e1002838.
64. Fuss IJ, Heller F, Boirivant M, et al. Nonclassical CD1d-restricted NK T cells that produce IL-13 characterize an atypical Th2 response in ulcerative colitis. *J Clin Invest* 2004;113:1490–7.
65. Lawson V. Turned on by danger: activation of CD1d-restricted invariant natural killer T cells. *Immunology* 2012;137:20–7.
66. Kiss EA, Vonarbourg C, Kopfmann S, et al. Natural aryl hydrocarbon receptor ligands control organogenesis of intestinal lymphoid follicles. *Science* 2011;334:1561–5.
67. Li Y, Innocentin S, Withers DR, et al. Exogenous stimuli maintain intraepithelial lymphocytes via aryl hydrocarbon receptor activation. *Cell* 2011; 147:629–40.
68. Schulenburg H, Kurz CL, Ewbank JJ. Evolution of the innate immune system: the worm perspective. *Immunol Rev* 2004;198:36–58.
69. Kim DH, Ewbank JJ. Signaling in the innate immune response. *WormBook*. 2018;2018:1-35. Published 2018 Aug 14.
70. Smith PD, Smythies LE, Mosteller-Barnum M, et al. Intestinal macrophages lack CD14 and CD89 and consequently are down-regulated for LPS- and IgA-mediated activities. *J Immunol* 2001;167:2651–6.
71. Smythies LE, Sellers M, Clements RH, et al. Human intestinal macrophages display profound inflammatory anergy despite avid phagocytic and bacteriocidal activity. *J Clin Invest* 2005;115:66–75.
72. Geissmann F, Auffray C, Palframan R, et al. Blood monocytes: distinct subsets, how they relate to dendritic cells, and their possible roles in the regulation of T-cell responses. *Immunol Cell Biol* 2008;86:398–408.
73. Niess JH, Brand S, Gu X, et al. CX3CR1-mediated dendritic cell access to the intestinal lumen and bacterial clearance. *Science* 2005;307:254–8.
74. Walker JA, Barlow JL, McKenzie ANJ. Innate lymphoid cells—how did we miss them? *Nat Rev Immunol* 2013;13:75–87.
75. Spits H, Cupedo T. Innate lymphoid cells: emerging insights in development, lineage relationships, and function. *Annu Rev Immunol* 2012;30:647–75.
76. Yang XO, Chang SH, Park H, et al. Regulation of inflammatory responses by IL-17F. *J Exp Med* 2008;205:1063–75.
77. O'Connor W Jr, Kamanaka M, Booth CJ, et al. A protective function for interleukin 17A in T cell-mediated intestinal inflammation. *Nat Immunol* 2009;10:603–9.
78. Varela E, Manichanh C, Gallart M, et al. Colonisation by *Faecalibacterium prausnitzii* and maintenance of clinical remission in patients with ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2013;38(2):151–161.
79. Atarashi K, Tanoue T, Oshima K, Suda W, Nagano Y, Nishikawa H, Fukuda S, Saito T, Narushima S, Hase K, Kim S, Fritz JV, Wilmes P, Ueha S, Matsushima K, Ohno H, Ollé B, Sakaguchi S, Taniguchi T, Morita H, Hattori M, Honda K. Treg induction by a rationally selected mixture of *Clostridia* strains from the human microbiota. *Nature* 2013; 500: 232–236.

80. Ventura M, Turrone F, Lugli GA, van Sinderen D. Bifidobacteria and humans: our special friends, from ecological to genomics perspectives. *J Sci Food Agric* 2014; 94: 163-168.
81. Shen J, Zuo ZX, Mao AP. Effect of probiotics on inducing remission and maintaining therapy in ulcerative colitis, Crohn's disease, and pouchitis: meta-analysis of randomized controlled trials. *Inflamm Bowel Dis* 2014; 20: 21-35.
82. Molodecky NA, Kaplan GG. Environmental risk factors for inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Hepatol (N Y)*. 2010 May;6(5):339-46.
83. Ananthakrishnan AN. Environmental risk factors for inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Hepatol (N Y)*. 2013 Jun;9(6):367-74.
84. Abegunde AT, Muhammad BH, Bhatti O, Ali T. Environmental risk factors for inflammatory bowel diseases: Evidence based literature review. *World J Gastroenterol*. 2016 Jul 21;22(27):6296-317.
85. Bastida G, Beltrán B. Ulcerative colitis in smokers, non-smokers and ex-smokers. *World J Gastroenterol*. 2011;17(22):2740–2747. doi:10.3748/wjg.v17.i22.2740
86. Mahid SS, Minor KS, Soto RE, Hornung CA, Galandiuk S. Smoking and inflammatory bowel disease: a meta-analysis. *Mayo Clin Proc* 2006; 81: 1462-1471.
87. Mizoguchi A, Mizoguchi E, Chiba C, Bhan AK. Role of appendix in the development of inflammatory bowel disease in TCR-alpha mutant mice. *J Exp Med* 1996; 184: 707-715.
88. Andersson RE, Olaison G, Tysk C, Ekblom A. Appendectomy and protection against ulcerative colitis. *N Engl J Med* 2001; 344: 808-814.
89. Kane SV, Reddy D. Hormonal replacement therapy after menopause is protective of disease activity in women with inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 1193-1196.
90. Chapman-Kiddell CA, Davies PS, Gillen L, Radford-Smith GL. Role of diet in the development of inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 137-151.
91. Ma X, Torbenson M, Hamad AR, Soloski MJ, Li Z. High-fat diet modulates non-CD1d-restricted natural killer T cells and regulatory T cells in mouse colon and exacerbates experimental colitis. *Clin Exp Immunol* 2008; 151: 130-138.
92. Rodríguez-Cabezas ME, Gálvez J, Camuesco D, Lorente MD, Concha A, Martínez-Augustin O, Redondo L, Zarzuelo A. Intestinal anti-inflammatory activity of dietary fiber (*Plantago ovata* seeds) in HLA-B27 transgenic rats. *Clin Nutr* 2003; 22: 463-471.
93. Ananthakrishnan AN, Khalili H, Konijeti GG, Higuchi LM, de Silva P, Korzenik JR, Fuchs CS, Willett WC, Richter JM, Chan AT. A prospective study of long-term intake of dietary fiber and risk of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2013; 145: 970-977.
94. Shaw SY, Blanchard JF, Bernstein CN. Association between the use of antibiotics and new diagnoses of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 2133-2142.
95. Klement E, Cohen RV, Boxman J, Joseph A, Reif S. Breastfeeding and risk of inflammatory bowel disease: a systematic review with meta-analysis. *Am J Clin Nutr* 2004; 80: 1342-1352.
96. Bonner GF, Fakhri A, Vennamaneni SR. A long-term cohort study of nonsteroidal anti-inflammatory drug use and disease activity in outpatients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2004; 10: 751-757.
97. Meyer AM, Ramzan NN, Heigh RI, Leighton JA. Relapse of inflammatory bowel disease associated with use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Dig Dis Sci* 2006; 51: 168-172.
98. Weinstock JV, Elliott DE. Helminths and the IBD hygiene hypothesis. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15: 128-133.
99. Ramanan D, Bowcutt R, Lee SC, Tang MS, Kurtz ZD, Ding Y, Honda K, Gause WC,

- Blaser MJ, Bonneau RA, Lim YA, Loke P, Cadwell K. Helminth infection promotes colonization resistance via type 2 immunity. *Science* 2016; 352: 608-612.
100. Jodorkovsky D, Young Y, Abreu MT. Clinical outcomes of patients with ulcerative colitis and co-existing *Clostridium difficile* infection. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 415-420.
 101. Sternberg EM, Chrousos GP, Wilder RL, Gold PW. The stress response and the regulation of inflammatory disease. *Ann Intern Med* 1992; 117: 854-866 .
 102. Timmer A, Preiss JC, Motschall E, Rücker G, Jantschek G, Moser G. Psychological interventions for treatment of inflammatory bowel disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2011; (2): CD006913.
 103. Del Pinto R, Pietropaoli D, Chandar AK, Ferri C, Cominelli F. Association Between Inflammatory Bowel Disease and Vitamin D Deficiency: A Systematic Review and Meta-analysis. *Inflamm Bowel Dis* 2015; 21: 2708-2717.
 104. Narula N, Marshall JK. Management of inflammatory bowel disease with vitamin D: beyond bone health. *J Crohns Colitis* 2012; 6: 397-404.
 105. Ulitsky A, Ananthakrishnan AN, Naik A, Skaros S, Zadvornova Y, Binion DG, Issa M. Vitamin D deficiency in patients with inflammatory bowel disease: association with disease activity and quality of life. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2011; 35: 308-316.
 106. Commins SP, Borish L, Steinke JW. Immunologic messenger molecules: cytokines, interferons, and chemokines. *J Allergy Clin Immunol.* 2010 Feb;125(2 Suppl 2):S53-72.
 107. Bamias G, Kaltsa G, Ladas SD. Cytokines in the pathogenesis of ulcerative colitis. *Discov Med.* 2011 May;11(60):459-67. Review.
 108. Strober W, Fuss IJ. Proinflammatory cytokines in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology.* 2011 May;140(6):1756-1767.
 109. Giulia Roda, Margherita Marocchi, Alessandro Sartini, and Enrico Roda. Cytokine Networks in Ulcerative Colitis. *Ulcers*, vol. 2011, Article ID 391787, 5 pages, 2011.
 110. Guan Q, Zhang J. Recent Advances: The Imbalance of Cytokines in the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease. *Mediators Inflamm.* 2017;2017:4810258.
 111. Nemeth ZH, Bogdanovski DA, Barratt-Stopper P, Paglinco SR, Antonioli L, Rolandelli RH. Crohn's Disease and Ulcerative Colitis Show Unique Cytokine Profiles. *Cureus.* 2017 Apr 19;9(4):e1177.
 112. Pearl DS, Shah K, Whittaker MA, Nitch-Smith H, Brown JF, Shute JK, Trebble TM. Cytokine mucosal expression in ulcerative colitis, the relationship between cytokine release and disease activity. *J Crohns Colitis.* 2013 Jul;7(6):481-9.
 113. Matowicka-Karna J. Markers of inflammation, activation of blood platelets and coagulation disorders in inflammatory bowel diseases. *Postepy Hig Med Dosw (Online).* 2016 Apr 13;70:305-12. Review.
 114. Schürmann GM, Bishop AE, Facer P, Vecchio M, Lee JC, Rampton DS, Polak JM. Increased expression of cell adhesion molecule P-selectin in active inflammatory bowel disease. *Gut.* 1995 Mar;36(3):411-8.
 115. Fägerstam JP, Whiss PA, Ström M, Andersson RG. Expression of platelet P-selectin and detection of soluble P-selectin, NPY and RANTES in patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Res.* 2000 Sep;49(9):466-72.
 116. Fägerstam JP, Whiss PA. Higher platelet P-selectin in male patients with inflammatory bowel disease compared to healthy males. *World J Gastroenterol.* 2006 Feb 28;12(8):1270-2.
 117. Göke M, Hoffmann JC, Evers J, Krüger H, Manns MP. Elevated serum concentrations of soluble selectin and immunoglobulin type adhesion molecules in patients with inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol.* 1997 Aug;32(4):480-6.
 118. Panés, Julián, Mireia Peñalva and Josep María Piqué. New therapeutic targets in Inflammatory Bowel Disease (IBD): Cell Adhesion Molecules. *Inmunología.* Vol. 22 /

Núm 2/ Abril-Junio 2003: 203-214

119. Ajdukovic J, Salamunic I, Hozo I, Despalatovic BR, Simunic M, Bonacin D, Puljiz Z, Trgo G, Sundov Z, Tonkic A. Soluble P-selectin glycoprotein ligand - a possible new target in ulcerative colitis. *Bratisl Lek Listy*. 2015;116(3):147-9.
120. Vainer B, Nielsen OH. Changed colonic profile of P-selectin, platelet-endothelial cell adhesion molecule-1 (PECAM-1), intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), ICAM-2, and ICAM-3 in inflammatory bowel disease. *Clin Exp Immunol*. 2000 Aug;121(2):242-7.
121. Boldyreva ON. [The role of adhesion molecules for assessing the effectiveness of biological treatment of patients with inflammatory bowel disease]. *Eksp Klin Gastroenterol*. 2012;(5):119-25.
122. Parfenov AI, Boldyreva ON, Ruchkina IN, Knyazev OV, Sagynbaeva VE, Shcherbakov PL, Khomeriki SG, Lazebnik LB, Konoplyannikov AG. [Value of adhesion molecules for evaluating the efficiency of therapy for ulcerative colitis and Crohn's disease]. *Ter Arkh*. 2014;86(2):32-8.
123. Senhaji N, Kojok K, Darif Y, Fadainia C, Zaid Y. The Contribution of CD40/CD40L Axis in Inflammatory Bowel Disease: An Update. *Front Immunol*. 2015 Oct 16;6:529.
124. Danese S, Sans M, Fiocchi C. The CD40/CD40L costimulatory pathway in inflammatory bowel disease. *Gut*. 2004 Jul;53(7):1035-43. Review.
125. Danese S, Katz JA, Saibeni S, Papa A, Gasbarrini A, Vecchi M, Fiocchi C. Activated platelets are the source of elevated levels of soluble CD40 ligand in the circulation of inflammatory bowel disease patients. *Gut*. 2003 Oct;52(10):1435-41.
126. Koutroubakis IE, Theodoropoulou A, Xidakis C, Sfiridaki A, Notas G, Kolios G, Kouroumalis EA. Association between enhanced soluble CD40 ligand and prothrombotic state in inflammatory bowel disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2004 Nov;16(11):1147-52.
127. Danese S, Scaldaferrri F, Vetrano S, Stefanelli T, Graziani C, Repici A, Ricci R, Straface G, Sgambato A, Malesci A, Fiocchi C, Rutella S. Critical role of the CD40 CD40-ligand pathway in regulating mucosal inflammation-driven angiogenesis in inflammatory bowel disease. *Gut*. 2007 Sep;56(9):1248-56.
128. Jurk K, Kehrel BE. Platelets: physiology and biochemistry. *Semin Thromb Hemost*. 2005;31(4):381-92. Review.
129. Yan SL, Russell J, Granger DN. Platelet activation and platelet-leukocyte aggregation elicited in experimental colitis are mediated by interleukin-6. *Inflamm Bowel Dis*. 2014 Feb;20(2):353-62.
130. Voudoukis E, Karmiris K, Koutroubakis IE. Multipotent role of platelets in inflammatory bowel diseases: a clinical approach. *World J Gastroenterol*. 2014 Mar 28;20(12):3180-90.
131. Nieswandt B, Pleines I, Bender M. Platelet adhesion and activation mechanisms in arterial thrombosis and ischaemic stroke. *J Thromb Haemost*. 2011 Jul;9 Suppl 1:92-104.
132. Scaldaferrri F, Lancellotti S, Pizzoferrato M, De Cristofaro R. Haemostatic system in inflammatory bowel diseases: new players in gut inflammation. *World J Gastroenterol*. 2011 Feb 7;17(5):594-608.
133. Matowicka-Karna J. Markers of inflammation, activation of blood platelets and coagulation disorders in inflammatory bowel diseases. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2016 Apr 13;70:305-12. Review.
134. Harris NR, Carter PR, Watts MN, Zhang S, Kosloski-Davidson M, Grisham MB. Relationship among circulating leukocytes, platelets, and microvascular responses during induction of chronic colitis. *Pathophysiology*. 2011 Sep;18(4):305-11.
135. Tekelioğlu Y, Uzun H. Circulating platelet-leukocyte aggregates in patients with inflammatory bowel disease. *J Chin Med Assoc*. 2013 Apr;76(4):182-5.
136. Irving PM, Macey MG, Shah U, Webb L, Langmead L, Rampton DS. Formation of

- platelet-leukocyte aggregates in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2004 Jul;10(4):361-72.
137. Cioffi M, Rosa AD, Serao R, Picone I, Vietri MT. Laboratory markers in ulcerative colitis: Current insights and future advances. *World J Gastrointest Pathophysiol*. 2015 Feb 15;6(1):13-22.
 138. Danese S, Scaldaferrri F, Papa A, Pola R, Sans M, Gasbarrini G, Pola P, Gasbarrini A. Platelets: new players in the mucosal scenario of inflammatory bowel disease. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2004 Sep-Oct;8(5):193-8. Review.
 139. Danese S, Motte Cd Cde L, Fiocchi C. Platelets in inflammatory bowel disease: clinical, pathogenic, and therapeutic implications. *Am J Gastroenterol*. 2004 May;99(5):938-45. Review.
 140. Moura R, Tjwa M. Platelets suppress Treg recruitment. *Blood*. 2010 Nov 18;116(20):4035-7.
 141. Polińska B, Matowicka-Karna J, Kemonia H. Assessment of the influence of the inflammatory process on the activation of blood platelets and morphological parameters in patients with ulcerative colitis (colitis ulcerosa). *Folia Histochem Cytobiol*. 2011;49(1):119-24.
 142. Rutella S, Vetrano S, Correale C, Graziani C, Sturm A, Spinelli A, De Cristofaro R, Repici A, Malesci A, Danese S. Enhanced platelet adhesion induces angiogenesis in intestinal inflammation and inflammatory bowel disease microvasculature. *J Cell Mol Med*. 2011 Mar;15(3):625-34.
 143. Öztürk ZA, Dag MS, Kuyumcu ME, Cam H, Yesil Y, Yilmaz N, Aydinli M, Kadayifci A, Kepekci Y. Could platelet indices be new biomarkers for inflammatory bowel diseases? *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2013 Feb;17(3):334-41.
 144. Zeos P, Kouklakis G, Saibil F. Inflammatory bowel disease and thromboembolism. *World J Gastroenterol*. 2014 Oct 14;20(38):13863-78.
 145. Zitomersky NL, Verhave M, Trenor CC 3rd. Thrombosis and inflammatory bowel disease: a call for improved awareness and prevention. *Inflamm Bowel Dis*. 2011 Jan;17(1):458-70.
 146. Yoshida H, Granger DN. Inflammatory bowel disease: a paradigm for the link between coagulation and inflammation. *Inflamm Bowel Dis*. 2009 Aug;15(8):1245-55.
 147. Danese S, Papa A. PAI-1 and TAFI in inflammatory bowel disease: the yin and yang of the fibrinolytic system. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2008 Sep;20(9):826-8.
 148. Shen J, Ran ZH, Zhang Y, Cai Q, Yin HM, Zhou XT, Xiao SD. Biomarkers of altered coagulation and fibrinolysis as measures of disease activity in active inflammatory bowel disease: a gender-stratified, cohort analysis. *Thromb Res*. 2009 Feb;123(4):604-11.
 149. Vrij AA, Rijken J, van Wersch JW, Stockbrügger RW. Coagulation and fibrinolysis in inflammatory bowel disease and in giant cell arteritis. *Pathophysiol Haemost Thromb*. 2003 Mar-Apr;33(2):75-83.
 150. Scaldaferrri F, Sans M, Vetrano S, Graziani C, De Cristofaro R, Gerlitz B, Repici A, Arena V, Malesci A, Panes J, Grinnell BW, Danese S. Crucial role of the protein C pathway in governing microvascular inflammation in inflammatory bowel disease. *J Clin Invest*. 2007 Jul;117(7):1951-60.
 151. Takemoto K, Kuriyama M, Kato J, Suzuki H, Ishikawa S, Hiraoka S, Yamamoto K. Ratio of platelet reduction is an early predictive factor for the effectiveness of leukocytapheresis for ulcerative colitis patients. *Ther Apher Dial*. 2009 Feb;13(1):6-13.
 152. Dobesh PP, Oestreich JH. Ticagrelor: pharmacokinetics, pharmacodynamics, clinical efficacy, and safety. *Pharmacotherapy*. 2014 Oct;34(10):1077-90.
 153. Kubisa MJ, Jezewski MP, Gasecka A, Siller-Matula JM, Postuła M. Ticagrelor - toward more efficient platelet inhibition and beyond. *Ther Clin Risk Manag*. 2018 Jan

- 17;14:129-140.
154. Ji X, Hou M. Novel agents for anti-platelet therapy. *J Hematol Oncol.* 2011 Nov 4;4:44.
155. Thomas MR, Storey RF. Effect of P2Y12 inhibitors on inflammation and immunity. *Thromb Haemost.* 2015 Aug 31;114(3):490-7.
156. Pitchford SC. Novel uses for anti-platelet agents as anti-inflammatory drugs. *Br J Pharmacol.* 2007 Dec;152(7):987-1002.
157. Rahman M, Gustafsson D, Wang Y, Thorlacius H, Braun OÖ. Ticagrelor reduces neutrophil recruitment and lung damage in abdominal sepsis. *Platelets.* 2014;25(4):257-63.
158. Thomas MR, Outteridge SN, Ajjan RA, Phoenix F, Sangha GK, Faulkner RE, Ecob R, Judge HM, Khan H, West LE, Dockrell DH, Sabroe I, Storey RF. Platelet P2Y12 Inhibitors Reduce Systemic Inflammation and Its Prothrombotic Effects in an Experimental Human Model. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2015 Dec;35(12):2562-70.
159. Patel SH, Rachchh MA, Jadav PD. Evaluation of anti-inflammatory effect of anti-platelet agent-clopidogrel in experimentally induced inflammatory bowel disease. *Indian J Pharmacol.* 2012 Nov-Dec;44(6):744-8.
160. Wallentin L, Becker RC, Budaj A, Cannon CP, Emanuelsson H, Held C, Horrow J, Husted S, James S, Katus H, Mahaffey KW, Scirica BM, Skene A, Steg PG, Storey RF, Harrington RA; PLATO Investigators, Freij A, Thorsén M. Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med.* 2009 Sep 10;361(11):1045-57.
161. Husted S, Storey RF, Harrington RA, Emanuelsson H, Cannon CP. Changes in inflammatory biomarkers in patients treated with ticagrelor or clopidogrel. *Clin Cardiol.* 2010 Apr;33(4):206-12.
162. Li Z, Li Y, Zhang T, Miao W, Su G. Comparison of the influence of ticagrelor and clopidogrel on inflammatory biomarkers and vascular endothelial function for patients with ST-segment elevation myocardial infarction receiving emergency percutaneous coronary intervention: study protocol for a randomized controlled trial. *Trials.* 2016 Feb 11;17:75.
163. Cipollone F, Mezzetti A, Porreca E, et al. Association between enhanced soluble CD40L and prothrombotic state in hypercholesterolemia: effects of statin therapy. *Circulation.* 2002;106(4):399-402.
164. Matowicka-Karna J. Markers of inflammation, activation of blood platelets and coagulation disorders in inflammatory bowel diseases. *Postepy Hig Med Dosw (Online).* 2016;70:305-312. Published 2016 Apr 13.
165. Ludwiczek O, Kaser A, Tilg H. Plasma levels of soluble CD40 ligand are elevated in inflammatory bowel diseases. *Int J Colorectal Dis.* 2003 Mar;18(2):142-7. Epub 2002 Sep 5.
166. Azar RR, Kassab R, Zoghbi A, Aboujaoudé S, El-Osta H, Ghorra P, Germanos M, Salamé E. Effects of clopidogrel on soluble CD40 ligand and on high-sensitivity C-reactive protein in patients with stable coronary artery disease. *Am Heart J.* 2006 Feb;151(2):521.
167. Vavuranakis M, Latsios G, Aggelis D, et al. Randomized comparison of the effects of ASA plus clopidogrel versus ASA alone on early platelet activation in acute coronary syndromes with elevated high-sensitivity C-reactive protein and soluble CD40 ligand levels. *Clin Ther.* 2006;28(6):860-871.
168. Yip HK, Wu CJ, Yang CH, Chang HW, Fang CY, Hung WC, Hang CL. Serial changes in circulating concentrations of soluble CD40 ligand and C-reactive protein in patients with unstable angina undergoing coronary stenting. *Circ J.* 2005 Aug;69(8):890-5.
169. Fägerstam JP, Whiss PA, Ström M, Andersson RG. Expression of platelet P-selectin and detection of soluble P-selectin, NPY and RANTES in patients with inflammatory bowel

- disease. *Inflamm Res.* 2000 Sep;49(9):466-72.
170. Göke M, Hoffmann JC, Evers J, Krüger H, Manns MP. Elevated serum concentrations of soluble selectin and immunoglobulin type adhesion molecules in patients with inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol.* 1997 Aug;32(4):480-6.
171. M Ku, J Rivera-Nieves, P-0023: Soluble P-selectin: A potential serum biomarker for Inflammatory Bowel Disease and useful guide for Infliximab therapy, *Inflammatory Bowel Diseases*, Volume 14, Issue suppl_3, 1 December 2008, Page 17.
172. Friedrich M, Pohin M, Powrie F. Cytokine Networks in the Pathophysiology of Inflammatory Bowel Disease. *Immunity.* 2019 Apr 16;50(4):992-1006.
173. Wine E, Mack DR, Hyams J, Otley AR, Markowitz J, Crandall WV, Leleiko N, Muise AM, Griffiths AM, Turner D. Interleukin-6 is associated with steroid resistance and reflects disease activity in severe pediatric ulcerative colitis. *J Crohns Colitis.* 2013 Dec;7(11):916-22.
174. Y Nishida, S Hosomi, T Yukawa, K Otani, Y Nagami, F Tanaka, K Taira, N Kamata, H Yamagami, T Tanigawa, T Watanabe, Y Fujiwara, P733 Serum interleukin-6 level predicts future outcomes of infliximab for ulcerative colitis, *Journal of Crohn's and Colitis*, Volume 12, Issue supplement_1, 1 February 2018, Page S482.
175. Nikolaus S, Waetzig GH, Butzin S, Ziolkiewicz M, Al-Massad N, Thieme F, Lövgren U, Rasmussen BB, Reinheimer TM, Seegert D, Rosenstiel P, Szymczak S, Schreiber S. Evaluation of interleukin-6 and its soluble receptor components sIL-6R and sgp130 as markers of inflammation in inflammatory bowel diseases. *Int J Colorectal Dis.* 2018 Jul;33(7):927-936.
176. Rodríguez-Perálvarez ML, García-Sánchez V, Villar-Pastor CM, González R, Iglesias-Flores E, Muntane J, Gómez-Camacho F. Role of serum cytokine profile in ulcerative colitis assessment. *Inflamm Bowel Dis.* 2012 Oct;18(10):1864-71.
177. Mańkowska-Wierzbicka D, Swora-Cwynar E, Poniedziałek B, Adamski Z, Dobrowolska A, Karczewski J. Usefulness of selected laboratory markers in ulcerative colitis. *Eur Cytokine Netw.* 2015 Apr-Jun;26(2):26-37. PubMed PMID: 26463466.
178. Mahida YR, Kurlac L, Gallagher A, Hawkey CJ. High circulating concentrations of interleukin-6 in active Crohn's disease but not ulcerative colitis. *Gut.* 1991;32(12):1531-1534.
179. Martínez-Fierro ML, Garza-Veloz I, Rocha-Pizaña MR, Cardenas-Vargas E, Cid-Baez MA, Trejo-Vazquez F, Flores-Morales V, Villela-Ramirez GA, Delgado-Enciso I, Rodriguez-Sanchez IP, Ortiz-Castro Y. Serum cytokine, chemokine, and growth factor profiles and their modulation in inflammatory bowel disease. *Medicine (Baltimore).* 2019 Sep;98(38):e17208.
180. Mayada Noori Iqbal, Mays Alaa Abdulhussien, Midean Ali Hussien (2016); Serum levels of IL-13 and PAF in ulcerative colitis patients *Int. J. of Adv. Res.* 4 (1). 1297-1310] (ISSN 2320-5407).
181. Hoving JC. Targeting IL-13 as a Host-Directed Therapy Against Ulcerative Colitis. *Front Cell Infect Microbiol.* 2018;8:395. Published 2018 Nov 6. doi:10.3389/fcimb.2018.00395
182. Reinisch W, Panés J, Khurana S, Toth G, Hua F, Comer GM, Hinz M, Page K, O'Toole M, Moorehead TM, Zhu H, Sun Y, Cataldi F. Anrukinzumab, an anti-interleukin 13 monoclonal antibody, in active UC: efficacy and safety from a phase IIa randomised multicentre study. *Gut.* 2015 Jun;64(6):894-900.
183. Danese S, Rudziński J, Brandt W, Dupas JL, Peyrin-Biroulet L, Bouhnik Y, Kleczkowski D, Uebel P, Lukas M, Knutsson M, Erlandsson F, Hansen MB, Keshav S. Tralokinumab for moderate-to-severe UC: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase IIa study. *Gut.* 2015 Feb;64(2):243-9.
184. Hyams JS, Treem WR, Eddy E, Wyzga N, Moore RE. Tumor necrosis factor-alpha is not

- elevated in children with inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1991 Feb;12(2):233-6.
- 185.H Meringer, N Maharshak, Y Ron, H Yanai, S Cohen-Kedar, I Dotan, P637 High faecal and serum tumour necrosis factor- α levels are associated with non-response to infliximab in patients with ulcerative colitis, *Journal of Crohn's and Colitis*, Volume 12, Issue supplement_1, 1 February 2018, Page S432.
- 186.Avdagić N, Babić N, Šeremet M, Delić-Šarac M, Drače Z, Denjalić A, Nakaš-Ićindić E. Tumor necrosis factor-alpha serum level in assessment of disease activity in inflammatory bowel diseases. *Med Glas (Zenica).* 2013 Aug;10(2):211-6.
- 187.Uchino M, Ikeuchi H, Bando T, et al. Association between serum tumor necrosis factor-alpha level and the efficacy of infliximab for refractory pouchitis after restorative proctocolectomy in patients with ulcerative colitis. *J Anus Rectum Colon.* 2018;1(4):106–111.
- 188.Ahluwalia B, Moraes L, Magnusson MK, Öhman L. Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease and mechanisms of biological therapies. *Scand J Gastroenterol.* 2018 Apr;53(4):379-389.
- 189.Ajduković J, Tonkić A, Salamunić I, Hozo I, Simunić M, Bonacin D. Interleukins IL-33 and IL-17/IL-17A in patients with ulcerative colitis. *Hepatogastroenterology.* 2010 Nov-Dec;57(104):1442-4.
- 190.Fujino S, Andoh A, Bamba S, et al. Increased expression of interleukin 17 in inflammatory bowel disease. *Gut.* 2003;52(1):65–70.
- 191.Alessia Butera, Monica Di Paola, Francesco Vitali, Daniela De Nitto, Francesco Covotta, Francesco Borrini, Roberta Pica, Carlotta De Filippo, Duccio Cavalieri, Alessandro Giuliani, Annamaria Pronio, Monica Boirivant, IL-13 mRNA Tissue Content Identifies Two Subsets of Adult Ulcerative Colitis Patients With Different Clinical and Mucosa-Associated Microbiota Profiles, *Journal of Crohn's and Colitis*, , jjz154.
- 192.McLean LP, Cross RK, Shea-Donohue T. Combined blockade of IL-17A and IL-17F may prevent the development of experimental colitis. *Immunotherapy.* 2013 Sep;5(9):923-5.
- 193.Ge J, Zhang X, Liu J, Fu Z, Shi X, Li Q, Liu J, Zhu Q. Elevated expression of interleukin-21 and its correlation to T-cell subpopulation in patients with ulcerative colitis. *Cent Eur J Immunol.* 2015;40(3):331-6.
- 194.Mizoguchi A, Yano A, Himuro H, Ezaki Y, Sadanaga T, Mizoguchi E. Clinical importance of IL-22 cascade in IBD. *J Gastroenterol.* 2018 Apr;53(4):465-474.
- 195.Li LJ, Gong C, Zhao MH, Feng BS. Role of interleukin-22 in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol.* 2014;20(48):18177–18188.
- 196.Stefanich EG, Rae J, Sukumaran S, Lutman J, Lekkerkerker A, Ouyang W, Wang X, Lee D, Danilenko DM, Diehl L, Loyet KM, Herman A. Pre-clinical and translational pharmacology of a human interleukin-22 IgG fusion protein for potential treatment of infectious or inflammatory diseases. *Biochem Pharmacol.* 2018 Jun;152:224-235.
- 197.Yue, W.-J & Liu, Y. & Xu, W. & Dong, L. & Luo, X.-T & Jiang, W.-R & Sun, X. & Zhong, L. & Liu, J. (2012). The expressions of IL-2, IL-4, IL-17 and IL-10 in ulcerative colitis (UC) mucosa and its relation with disease activity. *Fudan University Journal of Medical Sciences.* 39. 454-459+488. 10.3969/j.issn.1672-8467.2012.05.003.
- 198.Ebrahimpour S, Shahbazi M, Khalili A, Tahoori MT, Zavarani Hosseini A, Amari A, Aghili B, Abediankenari S, Mohammadzad H, Mohammadnia-Afrouzi M. Elevated levels of IL-2 and IL-21 produced by CD4+ T cells in inflammatory bowel disease. *J Biol Regul Homeost Agents.* 2017 Apr-Jun;31(2):279-287.
- 199.Van Assche G, Sandborn WJ, Feagan BG, Salzberg BA, Silvers D, Monroe PS, Pandak WM, Anderson FH, Valentine JF, Wild GE, Geenen DJ, Sprague R, Targan SR,

- Rutgeerts P, Vexler V, Young D, Shames RS. Daclizumab, a humanised monoclonal antibody to the interleukin 2 receptor (CD25), for the treatment of moderately to severely active ulcerative colitis: a randomised, double blind, placebo controlled, dose ranging trial. *Gut*. 2006 Nov;55(11):1568-74. Epub 2006 Apr 7.
- 200.Linglin Tian, Yuan Li, Jian Zhang, Ruqi Chang, Jianhong Li, Lijuan Huo; IL-9 promotes the pathogenesis of ulcerative colitis through STAT3/SOCS3 signaling. *Biosci Rep* 21 December 2018; 38 (6).
- 201.Matusiewicz M, Neubauer K, Bednarz-Misa I, Gorska S, Krzystek-Korpacka M. Systemic interleukin-9 in inflammatory bowel disease: Association with mucosal healing in ulcerative colitis. *World J Gastroenterol*. 2017 Jun 14;23(22):4039-4046.
- 202.Li MC, He SH. IL-10 and its related cytokines for treatment of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 2004;10(5):620–625.
- 203.Kucharzik T, Stoll R, Lügering N, Domschke W. Circulating antiinflammatory cytokine IL-10 in patients with inflammatory bowel disease (IBD). *Clin Exp Immunol*. 1995 Jun;100(3):452-6.
- 204.Marchal-Bressenot A, Scherl A, Salleron J, *et al*. A practical guide to assess the Nancy histological index for UC. *Gut* 2016;65:1919-1920.
- 205.Unek IT, Bayraktar F, Solmaz D, Ellidokuz H, Sisman AR, Yuksel F, Yesil S. The levels of soluble CD40 ligand and C-reactive protein in normal weight, overweight and obese people. *Clin Med Res*. 2010 Jul;8(2):89-95.
- 206.Allanore Y, Borderie D, Meune C, Lemaréchal H, Weber S, Ekindjian OG, Kahan A. Increased plasma soluble CD40 ligand concentrations in systemic sclerosis and association with pulmonary arterial hypertension and digital ulcers. *Ann Rheum Dis*. 2005 Mar;64(3):481- 3.
- 207.Varo N, de Lemos JA, Libby P, Morrow DA, Murphy SA, Nuzzo R, Gibson CM, Cannon CP, Braunwald E, Schönbeck U. Soluble CD40L: risk prediction after acute coronary syndromes. *Circulation*. 2003 Sep 2;108(9):1049-52.
- 208.Sellam J, Proulle V, Jünger A, Ittah M, Miceli Richard C, Gottenberg JE, Toti F, Benessiano J, Gay S, Freyssinet JM, Mariette X. Increased levels of circulating microparticles in primary Sjögren's syndrome, systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis and relation with disease activity. *Arthritis Res Ther*. 2009;11(5):R156.
- 209.Brotman DJ, Girod JP, Posch A, Jani JT, Patel JV, Gupta M, Lip GY, Reddy S, Kickler TS. Effects of short-term glucocorticoids on hemostatic factors in healthy volunteers. *Thromb Res*. 2006;118(2):247-52.
- 210.Jilma B, Cvitko T, Winter-Fabry A, Petroczi K, Quehenberger P, Blann AD. High dose dexamethasone increases circulating P-selectin and von Willebrand factor levels in healthy men. *Thromb Haemost*. 2005 Oct;94(4):797-801.
- 211.Leone M, Boutière-Albanèse B, Valette S, Camoin-Jau L, Barrau K, Albanèse J, Martin C, Dignat-George F. Cell adhesion molecules as a marker reflecting the reduction of endothelial activation induced by glucocorticoids. *Shock*. 2004 Apr;21(4):311-4.
- 212.Cella G, Sbarai A, Mazzaro G, Vanzo B, Romano S, Hoppensteadt T, Fareed J. Plasma markers of endothelial dysfunction in chronic obstructive pulmonary disease. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2001 Jul;7(3):205-8.
- 213.Lowenstern A, Storey RF, Neely M, Sun JL, Angiolillo DJ, Cannon CP, Himmelmann A, Huber K, James SK, Katus HA, Morais J, Siegbahn A, Steg PG, Wallentin L, Becker RC; PLATO Investigators. Platelet-related biomarkers and their response to inhibition with aspirin and p2y(12)-receptor antagonists in patients with acute coronary syndrome. *J Thromb Thrombolysis*. 2017 Aug;44(2):145-153.
- 214.Kamath S, Blann AD, Caine GJ, Gurney D, Chin BS, Lip GY. Platelet P-selectin levels in

- relation to plasma soluble P-selectin and beta-thromboglobulin levels in atrial fibrillation. *Stroke*. 2002 May;33(5):1237-42.
215. Commins SP, Borish L, Steinke JW. Immunologic messenger molecules: cytokines, interferons, and chemokines. *J Allergy Clin Immunol*. 2010 Feb;125(2 Suppl 2):S53-72.
216. Alecu M, Geleriu L, Coman G, Gălăţescu L. The interleukin-1, interleukin-2, interleukin-6 and tumour necrosis factor alpha serological levels in localised and systemic sclerosis. *Rom J Intern Med*. 1998 Jul-Dec;36(3-4):251-9.
217. Fernandez-Real JM, Vayreda M, Richart C, Gutierrez C, Broch M, Vendrell J, Ricart W. Circulating interleukin 6 levels, blood pressure, and insulin sensitivity in apparently healthy men and women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001 Mar;86(3):1154-9.
218. Rogler G, Meinel A, Lingauer A, Michl J, Zietz B, Gross V, Lang B, Andus T, Schölmerich J, Palitzsch KD. Glucocorticoid receptors are down-regulated in inflamed colonic mucosa but not in peripheral blood mononuclear cells from patients with inflammatory bowel disease. *Eur J Clin Invest*. 1999 Apr;29(4):330-6.
219. Danese S, Vermeire S, Hellstern P, Panaccione R, Rogler G, Fraser G, Kohn A, Desreumaux P, Leong RW, Comer GM, Cataldi F, Banerjee A, Maguire MK, Li C, Rath N, Beebe J, Schreiber S. Randomised trial and open-label extension study of an anti-interleukin-6 antibody in Crohn's disease (ANDANTE I and II). *Gut*. 2019 Jan;68(1):40-48.
220. Davoodi P, Mahesh PA, Holla AD, Vijayakumar GS, Jayaraj BS, Chandrashekara S, Ramachandra NB. Serum levels of interleukin-13 and interferon-gamma from adult patients with asthma in Mysore. *Cytokine*. 2012 Nov;60(2):431-7.
221. Boldeanu MV, Siloşi I, Ghiluşi M, Cojocaru M, Biciuşcă V, Avrămescu CS, Cojocaru IM, Ciurea T, Albu DF, Siloşi CA. Investigation of inflammatory activity in ulcerative colitis. *Rom J Morphol Embryol*. 2014;55(4):1345-51.
222. Arican O, Aral M, Sasmaz S, Ciragil P. Serum levels of TNF-alpha, IFN-gamma, IL-6, IL-8, IL-12, IL-17, and IL-18 in patients with active psoriasis and correlation with disease severity. *Mediators Inflamm*. 2005 Oct 24;2005(5):273-9.
223. Li G, Wu W, Zhang X, Huang Y, Wen Y, Li X, Gao R. Serum levels of tumor necrosis factor alpha in patients with IgA nephropathy are closely associated with disease severity. *BMC Nephrol*. 2018 Nov 14;19(1):326.
224. Agarwal A, Deokar A, Sharma R, Singh N, Aggarwal K, Sharma S, Singh R, Sharma A, Sharma K, Agrawal R, Bansal R, Gupta V. Longitudinal analysis of serum cytokine profile among patients with tubercular multifocal serpiginoid choroiditis: a pilot study. *Eye (Lond)*. 2019 Jan;33(1):129-135.
225. Rybacka-Chabros, Barbara & Pietrzak, Aldona & Milanowski, Janusz & Chabros, Paweł. (2014). Influence of prednisone on serum level of tumor necrosis factor alpha, interferon gamma and interleukin-1 beta, in active pulmonary tuberculosis. *Polish Journal of Public Health*. 124. 10.2478/pjph-2014-0009.
226. Gan Y, Zhao X, He J, Liu X, Li Y, Sun X, Li Z. Increased Interleukin-17F is Associated with Elevated Autoantibody Levels and More Clinically Relevant Than Interleukin-17A in Primary Sjögren's Syndrome. *J Immunol Res*. 2017;2017:4768408.
227. Gomaa, AhmedF & Wahba, MohammedO & Hafez, Raghda & Eldaly, OmarMohamed & Badran, ShahendaGamal. (2019). Assessment of the role of interleukin 17A and interleukin 17F in chronic hepatitis C virus infection in Egyptian patients. *The Egyptian Journal of Internal Medicine*. 31. 199. 10.4103/ejim.ejim_119_18.
228. Mansour A, Bachelot-Loza C, Nessler N, Gaussem P, Gouin-Thibault I. P2Y(12) Inhibition beyond Thrombosis: Effects on Inflammation. *Int J Mol Sci*. 2020 Feb 19;21(4).
229. Banuelos J, Cao Y, Shin SC, Lu NZ. Immunopathology alters Th17 cell glucocorticoid

- sensitivity. *Allergy*. 2017 Mar;72(3):331-341.
- 230.Lee SH, Kwon JE, Cho ML. Immunological pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Intest Res*. 2018 Jan;16(1):26-42.
- 231.Ohman L, Dahlén R, Isaksson S, Sjöling A, Wick MJ, Sjövall H, Van Oudenhove L, Simrén M, Strid H. Serum IL-17A in newly diagnosed treatment-naive patients with ulcerative colitis reflects clinical disease severity and predicts the course of disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2013 Oct;19(11):2433-9.
- 232.Fujino S, Andoh A, Bamba S, Ogawa A, Hata K, Araki Y, Bamba T, Fujiyama Y. Increased expression of interleukin 17 in inflammatory bowel disease. *Gut*. 2003 Jan;52(1):65-70.
- 233.Iboshi Y, Nakamura K, Fukaura K, Iwasa T, Ogino H, Sumida Y, Ihara E, Akiho H, Harada N, Nakamuta M. Increased IL-17A/IL-17F expression ratio represents the key mucosal T helper/regulatory cell-related gene signature paralleling disease activity in ulcerative colitis. *J Gastroenterol*. 2017 Mar;52(3):315-326.
- 234.Montealeone I, Pallone F, Montealeone G. Th17-related cytokines: new players in the control of chronic intestinal inflammation. *BMC Med*. 2011 Nov 15;9:122.
- 235.Herrlinger KR, Diculescu M, Fellermann K, Hartmann H, Howaldt S, Nikolov R, Petrov A, Reindl W, Otte JM, Stoyanov S, Strauch U, Sturm A, Voiosu R, Ammendola A, Dietrich B, Hentsch B, Stange EF. Efficacy, safety and tolerability of vedolizumab in patients with inflammatory bowel disease: the ENTRANCE study. *J Crohns Colitis*. 2013 Sep;7(8):636-43.
- 236.Kang KY, Kim HO, Kwok SK, Ju JH, Park KS, Sun DI, Jhun JY, Oh HJ, Park SH, Kim HY. Impact of interleukin-21 in the pathogenesis of primary Sjögren's syndrome: increased serum levels of interleukin-21 and its expression in the labial salivary glands. *Arthritis Res Ther*. 2011;13(5):R179.
- 237.Chao PZ, Hsieh MS, Lee FP, Chen SY, Cheng CW, Chang HW, Lin YT, Ting LL, Lin YF, Chen CH. Serum level of interleukin-21 is elevated in chronic rhinosinusitis. *Am J Rhinol Allergy*. 2015 Jan-Feb;29(1):e1-6.
- 238.Mizutani H, Tamagawa-Mineoka R, Nakamura N, Masuda K, Katoh N. Serum IL-21 levels are elevated in atopic dermatitis patients with acute skin lesions. *Allergol Int*. 2017 Jul;66(3):440-444.
- 239.Yu J, He S, Liu P, et al. Interleukin-21 promotes the development of ulcerative colitis and regulates the proliferation and secretion of follicular T helper cells in the colitides microenvironment. *Mol Med Rep*. 2015;11(2):1049-1056.
- 240.Li Y, Rauniyar VK, Yin WF, Hu B, Ouyang S, Xiao B, Yang H. Serum IL-21 levels decrease with glucocorticoid treatment in myasthenia gravis. *Neurol Sci*. 2014 Jan;35(1):29-34.
- 241.Hofny, EmanR & Morsy, Hanan & Hasaball, Ashraf & Twisy, Howida. (2017). Serum level of interleukin-22 in patients with psoriasis and its correlation with disease severity. *Journal of Current Medical Research and Practice*. 2. 133. 10.4103/JCMRP.JCMRP_27_16.
- 242.de Oliveira PS, Cardoso PR, Lima EV, Pereira MC, Duarte AL, Pitta Ida R, Rêgo MJ, Pitta MG. IL-17A, IL-22, IL-6, and IL-21 Serum Levels in Plaque-Type Psoriasis in Brazilian Patients. *Mediators Inflamm*. 2015;2015:819149.
- 243.Bayrak Degirmenci P, Aksun S, Altin Z, Bilgir F, Arslan IB, Colak H, Ural B, Solakoglu Kahraman D, Diniz G, Ozdemir B, Kırmaz C. Allergic Rhinitis and Its Relationship with IL-10, IL-17, TGF- β , IFN- γ , IL 22, and IL-35. *Dis Markers*. 2018 Mar 6;2018:9131432.
- 244.Jiang W, Su J, Zhang X, Cheng X, Zhou J, Shi R, Zhang H. Elevated levels of Th17 cells and Th17-related cytokines are associated with disease activity in patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Res*. 2014 Nov;63(11):943-50.

- 245.Seshadri S, Pope RL, Zenewicz LA. Glucocorticoids Inhibit Group 3 Innate Lymphocyte IL-22 Production. *J Immunol*. 2018 Aug 15;201(4):1267-1274.
- 246.Cao J, Chen C, Li L, Ling-yu Z, Zhen-yu L, Zhi-ling Y, Wei C, Hai C, Sang W, Kai-lin X. Effects of high-dose dexamethasone on regulating interleukin-22 production and correcting Th1 and Th22 polarization in immune thrombocytopenia. *J Clin Immunol*. 2012 Jun;32(3):523-9.
- 247.Ziesché E, Scheiermann P, Bachmann M, Sadik CD, Hofstetter C, Zwissler B, Pfeilschifter J, Mühl H. Dexamethasone suppresses interleukin-22 associated with bacterial infection in vitro and in vivo. *Clin Exp Immunol*. 2009 Sep;157(3):370-6.
- 248.Ceyhan BB, Enc FY, Sahin S. IL-2 and IL-10 levels in induced sputum and serum samples of asthmatics. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2004;14(1):80-5.
- 249.Kleiner G, Marcuzzi A, Zanin V, Monasta L, Zauli G. Cytokine levels in the serum of healthy subjects. *Mediators Inflamm*. 2013;2013:434010.
- 250.Kasumagić-Halilovic E, Cavaljuga S, Ovcina-Kurtovic N, Zecevic L. Serum Levels of Interleukin-2 in Patients with Alopecia Areata: Relationship with Clinical Type and Duration of the Disease. *Skin Appendage Disord*. 2018 Oct;4(4):286-290.
- 251.Creed TJ, Probert CS, Norman MN, Moorghen M, Shepherd NA, Hearing SD, Dayan CM; BASBUC INVESTIGATORS. Basiliximab for the treatment of steroid-resistant ulcerative colitis: further experience in moderate and severe disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2006 May 15;23(10):1435-42.
- 252.Creed TJ, Lee RW, Newcomb PV, di Mambro AJ, Raju M, Dayan CM. The effects of cytokines on suppression of lymphocyte proliferation by dexamethasone. *J Immunol*. 2009 Jul 1;183(1):164-71.
- 253.Shohan M, Elahi S, Shirzad H, Rafieian-Kopaei M, Bagheri N, Soltani E. Th9 Cells: Probable players in ulcerative colitis pathogenesis. *Int Rev Immunol*. 2018;37(4):192-205.
- 254.Holz LE, Jakobsen KP, Van Snick J, Cormont F, Sewell WA. Dexamethasone inhibits IL-9 production by human T cells. *J Inflamm (Lond)*. 2005 Apr 20;2:3.
- 255.Yu QN, Guo YB, Li X, Li CL, Tan WP, Fan XL, Qin ZL, Chen D, Wen WP, Zheng SG, Fu QL. ILC2 frequency and activity are inhibited by glucocorticoid treatment via STAT pathway in patients with asthma. *Allergy*. 2018 Sep;73(9):1860-1870.
- 256.Rosenzwajg M, Lorenzon R, Cacoub P, Pham HP, Pitoiset F, El Soufi K, Ribet C, Bernard C, Aractingi S, Banneville B, Beaugerie L, Berenbaum F, Champey J, Chazouilleres O, Corpechot C, Fautrel B, Mekinian A, Regnier E, Saadoun D, Salem JE, Sellam J, Seksik P, Dagueneil-Nguyen A, Doppler V, Mariau J, Vicaut E, Klatzmann D. Immunological and clinical effects of low-dose interleukin-2 across 11 autoimmune diseases in a single, open clinical trial. *Ann Rheum Dis*. 2019 Feb;78(2):209-217.
- 257.Sarris AH, Kliche KO, Pethambaram P, Preti A, Tucker S, Jackow C, Messina O, Pugh W, Hagemester FB, McLaughlin P, Rodriguez MA, Romaguera J, Fritsche H, Witzig T, Duvic M, Andreeff M, Cabanillas F. Interleukin-10 levels are often elevated in serum of adults with Hodgkin's disease and are associated with inferior failure-free survival. *Ann Oncol*. 2009 Apr;20(4):433-40.
- 258.Othman MS, Aref AM, Mohamed AA, Ibrahim WA. Serum Levels of Interleukin-6 and Interleukin-10 as Biomarkers for Hepatocellular Carcinoma in Egyptian Patients. *ISRN Hepatol*. 2013 Sep 15;2013:412317.
- 259.Schreiber S, Heinig T, Thiele HG, Raedler A. Immunoregulatory role of interleukin 10 in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 1995 May;108(5):1434-44.
- 260.Marlow GJ, van Gent D, Ferguson LR. Why interleukin-10 supplementation does not work in Crohn's disease patients. *World J Gastroenterol*. 2013 Jul 7;19(25):3931-41.
- 261.Braat H, Peppelenbosch MP, Hommes DW. Interleukin-10-based therapy for

- inflammatory bowel disease. *Expert Opin Biol Ther.* 2003;3(5):725-731.
262. Giuffrida P, Cococcia S, Delliponti M, Lenti MV, Di Sabatino A. Controlling Gut Inflammation by Restoring Anti-Inflammatory Pathways in Inflammatory Bowel Disease. *Cells.* 2019 Apr 30;8(5). pii: E397.
263. ClinicalTrials.gov. Efficacy, Safety and Tolerability of PF-06687234 as Add-on Therapy to Infliximab in Active UC Subjects Not in Remission. Available from: [https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03269695?term=IL- 10&cond=Ulcerative +Colitis&draw=2&rank=10](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03269695?term=IL-10&cond=Ulcerative+Colitis&draw=2&rank=10) (Accessed: 14/04/2020).
264. Mitsuyama K, Tomiyasu N, Takaki K, Masuda J, Yamasaki H, Kuwaki K, Takeda T, Kitazaki S, Tsuruta O, Sata M. Interleukin-10 in the pathophysiology of inflammatory bowel disease: increased serum concentrations during the recovery phase. *Mediators Inflamm.* 2006;2006(6):26875.
265. de Kruif MD, Lemaire LC, Giebelen IA, van Zoelen MA, Pater JM, van den Pangaart PS, Groot AP, de Vos AF, Elliott PJ, Meijers JC, Levi M, van der Poll T. Prednisolone dose-dependently influences inflammation and coagulation during human endotoxemia. *J Immunol.* 2007 Feb 1;178(3):1845-51.
266. Petrovic S, Vasiljevska M, Obradovic S, et al. Antiplatelet agents'-ticagrelol and eptifibatide-safety in experimental colitis in mice. *Turk J Gastroenterol* 2020; 31(6): 451-8.
267. Jia Z, Huang Y, Ji X, Sun J, Fu G. Ticagrelor and clopidogrel suppress NF- κ B signaling pathway to alleviate LPS-induced dysfunction in vein endothelial cells. *BMC Cardiovasc Disord.* 2019 Dec 30;19(1):318.
268. Husted S, Storey RF, Harrington RA, Emanuelsson H, Cannon CP. Changes in inflammatory biomarkers in patients treated with ticagrelor or clopidogrel. *Clin Cardiol.* 2010 Apr;33(4):206-12.

БИОГРАФИЈА

Асистент др Станко Петровић рођен 14.10.1973. године у Зајечару (Србија). Основну и средњу школу је завршио са одличним успехом. Медицински факултет Универзитета у Београду завршио је децембра 1999. године са просечном оценом 8.94. Обавезни лекарски стаж завршио је у КБЦ Бежанијска Коса у Београду. Специјализацију из Интерне медицине завршио је у Војномедицинској академији у Београду - завршни испит положио је септембра 2005. са одличном оценом, а јуна 2016. године завршио је и последипломске студије облика уже специјализације из гастроентерологије и хепатологије. Од 14.11.2005. запослен је у Клиници за Гастроентерологију и хепатологију ВМА.

Школске 2009/10. године уписао је Академске докторске студије из клиничке и експерименталне интерне медицине - ендокринологија, на Медицинском факултету у Крагујевцу. Усмени докторски испит положио је 2010. године са оценом 10.

Члан је Гастроентеролошке секције Српског лекарског друштва, Гастроентеролошког Ендоскопског удружења Србије. Аутор је и коаутор више стручних радова у домаћим и иностраним часописима.

Од 04.04.2016. године изабран је у звање асистента за ужу научну област интерна медицина подобласт гастроентерологија на Медицинском факултету Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду. Обучен је за самостално извођење горње и доње ендоскопије, ендоскопског ултразвука, ендоскопске ретроградне холангиопанкреатографије и биопсије јетре.

Усавршавања:

2008. године је био учесник ендоскопске радионице у Бугарској.

2007. године је био учесник ендоскопске радионице у Мађарској.

2007. године је похађао курс из ентералне исхране у организацији ЕСПЕН-а у Београду.

Ендоскопска радионица - БУЛЕНДО, у Бугарској 2008. године

Обука за линеарни ендоскопски ултразвук у Немачкој 2012. године

Обука за преглед ендо видеокапсулом у Хамбургу 2016. година

Обука за ЕРЦП и холангиоскопију у Јерусалиму 2018. година

Обука за линеарни ендоскопски ултразвук и ЕРЦП у Марсеју 2017. и 2018. године

Учествовао је у више клиничких студија као истраживач сарадник: метастатски колоректални карцином, хепатоцелуларни карцином, улцерозни колитис (RPC01-3101/3102), Кронова болест (GED-0301-CD-002, RPC01-3202, RPC01-3203, RPC01-3204) и као главни истраживач - В7541007 (улцерозни колитис).

БИБЛИОГРАФИЈА

Рад у међународном часопису (M23):

1. **Stanko Petrović**, Radoje Doder, Perišić Nenad, Marijana Petrović, Irina Brčerević. Erdheim-Chester disease – A case report. *Vojnosanit Pregl* (in press) UDC: 616.381-02::616.15-021 DOI: 10.2298/VSP151012112P
2. Petrovic S, Vasiljevska M, Obradovic S, et al. Antiplatelet agents' -ticagrelol and eptifibatide-safety in experimental colitis in mice. *Turk J Gastroenterol* 2020; 31(6): 451-8.
3. Pandrc MS, **Petrović S**, Kostovski V, Petrović M, Zarić M. The importance of IgG4 in the predictive model of thyroiditis. *Endocrinol Diabetes Metab Case Rep*. 2015; 2015: 150038.
4. Sarac M, Marjanovic I, Bezmarevic M, Zoranovic U, **Petrovic S**, Mihajlovic M. An aortoduodenal fistula as a complication of immunoglobulin G4-related disease. *World J Gastroenterol*. 2012; 18(42): 6164-7.
5. Stanisić M, Hrvacević R, Paunić Z, **Petrović S**. Nephronophthisis and medullary cystic kidney disease complex. *Vojnosanit Pregl*. 2005; 62(9): 683-8. Serbian.
6. Irina Brčerević, Radoje Doder, Nenad Perišić, **Stanko Petrović**, Jasna Jović, Dejan Hristović, Zoran Đorđević, Olga Tasić Radić. Autoimmune pancreatitis type 1 and type 2 cases report. *Vojnosanit Pregl*. (rad je prošao recenziju i čeka na štampanje).
7. Grdinić A, Stajić Z, Grdinić AG, Vucinić Z, Krstić VR, Drobnjak D, Bogdanović P, Djurić P, Stevanović A, Rakonjac M, **Petrović S**, Gudelj O, Matunović R. The importance of sleep apnea index determination using 24 h ECG analysis in patients with heart rhythm disorders. *Vojnosanit Pregl*. 2014; 71(11):1049-54.
8. Petrović M, **Petrović S**, Obrenčević K, Vavić N, Jovanović D, Maksić Đ, Rančić N, Dragović T, Obradović S, Pilčević D, Tadić J, Vukomanović-Đurđević B, Ignjatović LJ, Mijušković M, Čukić Z. Haemorrhagic fever with renal syndrome and diabetes mellitus – case report. *MD- Medical Data* 2016; 8(1): 047-050.
9. Roganović B, Obradović S, Micić A, **Petrović S**. Hereditary hemorrhagic telangiectasia associated with inherited thrombophilia – A case report. *Vojnosanit Pregl* (rad je prošao recenziju, čeka se štampanje).

Поглавље у књизи M42 (M45):

Stanko Petrović. Kardiogeni šok. U: Mijat Prcović i saradnici. Srčana slabost. Beograd: Uprava za školstvo i obuku GŠ VJ, Vojnomedicinska akademija; 2002.p. 252-270.

Образац 1

ИЗЈАВА АУТОРА О ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, Станко Петровић, изјављујем да докторска дисертација под насловом:

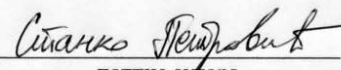
Процена сигурности и ефекта примене антиагрегационе терапије код болесника са средње тешком формом улцерозног колитиса

која је одбрањена на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу представља *оригинално ауторско дело* настало као резултат сопственог истраживачког рада.

Овом Изјавом такође потврђујем:

- да сам *једини аутор* наведене докторске дисертације,
- да у наведеној докторској дисертацији *нисам извршио/ла повреду* ауторског нити другог права интелектуалне својине других лица,
- да умножени примерак докторске дисертације у штампаној и електронској форми у чијем се прилогу налази ова Изјава садржи докторску дисертацију истоветну одбрањеној докторској дисертацији.

У Крагујевцу, 6.9.2020. године,


потпис аутора

ИЗЈАВА АУТОРА О ИСКОРИШЋАВАЊУ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, Станко Петровић,

- дозвољавам
 не дозвољавам

Универзитетској библиотеци у Крагујевцу да начини два трајна умножена примерка у електронској форми докторске дисертације под насловом:

Процена сигурности и ефекта примене антиагрегационе терапије код болесника са средње тешком формом улцерозног колитиса

која је одбрањена на Факултету медицинских наука

Универзитета у Крагујевцу, и то у целини, као и да по један примерак тако умножене докторске дисертације учини трајно доступним јавности путем дигиталног репозиторијума Универзитета у Крагујевцу и централног репозиторијума надлежног министарства, тако да припадници јавности могу начинити трајне умножене примерке у електронској форми наведене докторске дисертације путем *преузимања*.

Овом Изјавом такође

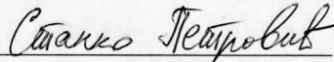
- дозвољавам
 не дозвољавам¹

¹ Уколико аутор изабере да не дозволи припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци, то не искључује право припадника јавности да наведену докторску дисертацију користе у складу са одредбама Закона о ауторском и сродним правима.

припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од следећих *Creative Commons* лиценци:

- 1) Ауторство
- 2) Ауторство - делити под истим условима
- 3) Ауторство - без прерада
- 4) Ауторство - некомерцијално
- 5) Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима
- 6) Ауторство - некомерцијално - без прерада²

У Крагујевцу _____, 6.9.2020. године,


потпис аутора

² Молимо ауторе који су изабрали да дозволе припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци да заокруже једну од понуђених лиценци. Детаљан садржај наведених лиценци доступан је на: <http://creativecommons.org/>