

**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**MEDICINSKI FAKULTET**

**ANTE TONKIĆ, dr. med.**

**ULOGA FAKTORA RASTA I DIFERENCIJACIJE – 15 (GDF-15) U UPALNIM  
BOLESTIMA CRIJEVA**

**DOKTORSKA DISERTACIJA**

**U Splitu, 2024.**

**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**MEDICINSKI FAKULTET**

**ANTE TONKIĆ, dr. med.**

**ULOGA FAKTORA RASTA I DIFERENCIJACIJE – 15 (GDF-15) U UPALNIM  
BOLESTIMA CRIJEVA**

**DOKTORSKA DISERTACIJA**

**U Splitu, 2024.**

Ova doktorska disertacija izrađena je u sklopu istraživanja provedenog u Laboratoriju za kardiometabolička istraživanja Medicinskog fakulteta u Splitu i Zavoda za gastroenterologiju Kliničkog bolničkog centra Split.

Voditelj rada: izv. prof. dr. sc. Joško Božić

**Objavljeni znanstveni rad na kojem se temelji doktorska disertacija:**

Tonkić A, Kumrić M, Akrapović Olić, Rušić D, Živković PM, Šupe Domić D i sur. Growth differentiation factor-15 serum concentrations reflect disease severity and anemia in patients with inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol.* 2024;30:1899-910.

# Sadržaj

Popis oznaka i kratica .....	5
Zahvala.....	7
1. UVOD.....	8
1.1. Upalne bolesti crijeva.....	9
1.1.1. Epidemiologija i genetika upalnih bolesti crijeva .....	9
1.1.2. Patogeneza upalnih bolesti crijeva .....	11
1.1.3. Dijagnostika upalnih bolesti crijeva .....	16
1.1.4. Liječenje upalnih bolesti crijeva.....	23
1.1.5. Kirurško liječenje upalnih bolesti crijeva.....	26
1.2. GDF-15.....	27
1.2.1. Građa i funkcija GDF-15.....	27
1.2.2. GDF-15 u upalnim bolestima crijeva .....	28
1.2.3. Uloga GDF-15 u drugim bolestima .....	28
2. CILJ ISTRAŽIVANJA.....	32
3. ISPITANICI I POSTUPCI.....	34
3.1. Etička načela .....	35
3.2. Ispitanici .....	35
3.3. Klinički i laboratorijski postupci.....	35
3.4. Statistički postupci .....	38
4. REZULTATI.....	40
5. RASPRAVA .....	54
6. ZAKLJUČAK.....	60
7. SAŽETAK.....	62
8. SUMMARY .....	65
9. POPIS LITERATURE .....	68
10. ŽIVOTOPIS.....	88

## POPIS OZNAKA I KRATICA

ASCA – anti *Saccharomyces cerevisiae* protutijela (engl. *Anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies*)

CARD9 – protein 9 koji sadrži domenu regrutiranja kaspaze (engl. *Caspase recruitment domain-containing protein 9*)

CDEIS – endoskopski indeks težine Crohnove bolesti (engl. *Crohn's Disease Endoscopic Index of Severity*)

CRC – kolorektalni karcinom (engl. *colorectal carcinoma*)

CRP – C-reaktivni protein

CVD – kardiovaskularne bolesti (engl. *cardiovascular diseases*)

DMARD – antireumatici koji modificiraju tijek bolesti (engl. *disease-modifying antirheumatic drugs*)

GDF-15 – faktor rasta i diferencijacije 15 (engl. *growth differentiation factor 15*)

GWAS – cjelogenomsko asocijacijsko istraživanje (engl. *genome-wide association study*)

HDL – lipoprotein visoke gustoće (engl. *high density lipoproteins*)

IBD – upalne bolesti crijeva (engl. *inflammatory bowel diseases*)

IBS – sindrom iritabilnog kolona (engl. *irritable bowel syndrome*)

IFN- $\gamma$  – interferon gama

LDL – lipoprotein niske gustoće (engl. *low density lipoprotein*)

Mayo/DAI – Mayo indeks aktivnosti ulceroznog kolitisa (engl. *Mayo Score Disease Activity Index*)

MIC-1 - makrofag inhibirajući citokin – 1

NAFLD – nealkoholna masna bolest jetre (engl. *nonalcoholic fatty liver disease*)

NAG-1 - gen induciran nesteroidnim protuupalnim lijekovima – 1 (engl. *nonsteroidal anti-inflammatory drug-activated gene*)

NOD2 – protein 2 koji sadrži domenu oligomerizacije koja veže nukleotide (engl. *nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2*)

pANCA – p antineutrofilna citoplazmatska protutijela (engl. *p antineutrophil cytoplasmatic antibodies*)

PASI – indeks težine i površine psorijaze (engl. *psoriasis area and severity index*)

PDF - faktor deriviran iz prostate (engl. *prostate derived factor*)

PLAB - placentalni protein morfogeneze kosti (engl. *placental bone morphogenetic protein*)

PSC – primarni sklerozirajući kolangitis (engl. *primary sclerosing cholangitis*)

PTPN22 – nerekceptor protein tirozin fosfataze tipa 22 (engl. *protein tyrosine phosphatase non-receptor type 22*)

SES-CD – jednostavni endoskopski indeks Crohnove bolesti (engl. *Simple Endoscopic Score for Crohn's Disease*)

TGF- $\beta$  – transformirajući čimbenik rasta beta (engl. *transforming growth factor beta*)

TNF $\alpha$  – tumorski faktor nekroze  $\alpha$  (engl. *tumor necrosis factor alpha*)

UCEIS – endoskopski indeks težine ulceroznog kolitisa (engl. *Ulcerative Colitis Endoscopic Index of Severity*)

## **Zahvala**

## **1. UVOD**



## 1.1. Upalne bolesti crijeva

### 1.1.1. Epidemiologija i genetika upalnih bolesti crijeva

Upalne bolesti crijeva (IBD) su kronične imunološki posredovane bolesti koje se obično manifestiraju u mlađoj životnoj dobi, a karakterizirane su periodima remisija i relapsa (1). Dva glavna oblika upalnih bolesti crijeva su Crohnova bolest i ulcerozni kolitis. Prevalencija upalnih bolesti crijeva najveća je u Europi i Sjevernoj Americi, i to izraženije u sjevernim područjima u odnosu na južna. Od drugog dijela proteklog stoljeća primjetan je trend povećanja incidencije upalnih bolesti crijeva, osobito u pedijatrijskoj populaciji, te izraženije povećanje incidencije u zemljama u razvoju koje su do tada imale vrlo niske stope incidencije ovih bolesti. Ove promjene ukazuju na značaj okolišnih čimbenika u modifikaciji ekspresije bolesti (2).

Incidencija ulceroznog kolitisa u Europi i Sjevernoj Americi kreće se između 0,6-24,3 na 100.000 ljudi, a incidencija u Aziji je značajno niža, od 0,1-6,3 na 100 000 ljudi. Incidencija Crohnove bolesti je vrlo slična, i kreće se od 0,3-20,2 na 100 000 ljudi u Sjevernoj Americi te 0-5,0 na 100 000 ljudi u Aziji (3). Ove bolesti češće se pojavljuju u bijelaca u odnosu na druge rase, te u Židova u odnosu na ostale etničke grupe. Osobito visok rizik unutar židovske populacije imaju Aškenazi Židovi srednjoeuropskog i istočnoeuropskog podrijetla. Upalne bolesti crijeva najčešće se pojavljuju u trećem i četvrtom desetljeću života, no bolest se može prezentirati u bilo kojoj životnoj dobi. Ulcerozni kolitis se najčešće dijagnosticira u trećem i četvrtom desetljeću života, dok se Crohnova bolest obično pojavljuje nešto ranije, u pravilu u drugom i trećem desetljeću života. U oko 25% pacijenata prezentira se prije dvadesete godine života.

U pedijatrijskoj populaciji najveća incidencija je u adolescenciji, ali u otprilike petine pedijatrijskih pacijenata bolest se prezentira prije desete godine života (4,5). Najznačajniji rizični faktor za razvoj upalne bolesti crijeva je genetska predispozicija, iako svega 10% pacijenata ima pozitivnu obiteljsku anamnezu. Čini se da je uloga genetike u razvoju bolesti izraženija u Crohnoj bolesti nego u ulceroznom kolitisu (6). Ukoliko jedan od roditelja ima IBD, rizik nastanka bolesti u djeteta je 2-13 puta veći u odnosu na opću populaciju. Rizik nastanka bolesti u djece čija oba roditelja boluju od IBD je vrlo visok i iznosi i do 36% (7). U britanskoj studiji na blizancima stopa konkordance za Crohnovu bolest iznosila je 65% za jednojajčane blizance i 9,1% za dvojajčane blizance, dok je konkordanca za ulcerozni kolitis iznosila 17,6% za jednojajčane i 9,4% za dvojajčane blizance (8). Novija istraživanja sugeriraju da se stopa incidencije IBD u

zapadnim zemljama stabilizirala (ili se čak smanjuje), no prevalencija je i dalje visoka zato što većinom pogađa mladu populaciju, uz nisku smrtnost (9).

Prvi identificirani genetski faktor povezan s razvojem IBD bila je mutacija nukleotid oligomerizacijske domene koja sadrži gen za protein 2 (NOD2). Genetska istraživanja na cijelom genomu (GWAS) do danas su identificirala preko 200 genetskih lokusa povezanih s razvojem IBD, od toga je 30 lokusa povezano s razvojem i Crohnove bolesti i ulceroznog kolitisa (10,11). Unatoč velikom broju identificiranih genetskih lokusa povezanih s upalnim bolestima crijeva, one čine tek manji dio ukupnog rizika za razvoj bolesti. Dva gena imaju suprotne učinke na Crohnovu bolest i ulcerozni kolitis. PTPN22 i NOD2 geni povezani su s povećanim rizikom za razvoj Crohnove bolesti no smanjuju rizik od ulceroznog kolitisa (12). Određene genske mutacije povezane su s povećanim rizikom samo u nekim populacijama. Primjer su neke NOD2 varijante koje u Europljana povećavaju rizik razvoja Crohnove bolesti, dok u azijskim populacijama s istim genetskim varijantama nema povećanog rizika. Rizični geni kontroliraju različite procese u organizmu, kao što su urođeni imunološki odgovor, održavanje funkcije intestinalne barijere i epitelnog cijeljenja, antimikrobna aktivnost, te održavanje ravnoteže između različitih populacija T limfocita. Istraživanja ukazuju i na povezanost određenih genskih varijanti s pojavom ekstraintestinalnih manifestacija upalnih bolesti crijeva. Primjerice, nekoliko HLA varijanti povećava rizik od razvoja primarnog sklerozirajućeg kolangitisa (PSC). Druge varijante povezuju se s razvojem artritisa, a HLA-B27 s ankilozantnim spondilitisom u sklopu upalne bolesti crijeva (13-15). U manjeg broja pacijenata IBD se može razviti u vrlo ranoj dobi, čak i u prvih nekoliko mjeseci života. Tijek ovog tipa bolesti je u pravilu agresivniji, sa zahvaćanjem kolona u cijelosti, i često je refraktoran na terapiju. Smatra se da u ovih pacijenata genetska komponenta ima značajno veću ulogu u razvoju bolesti u odnosu na većinu ostalih IBD pacijenata. Do sada je identificirano preko 80 monogenskih mutacija povezanih s razvojem IBD u vrlo ranoj dobi (16).

Upalne bolesti crijeva često se pojavljuju s drugim autoimunim bolestima što ukazuje na zajedničku genetsku predispoziciju. Većina do sada identificiranih lokusa koji povećavaju rizik od razvoja IBD također je povezana s drugim autoimunim bolestima. Neki od rizičnih alela povezani su s infektivnim bolestima. Primjer su infekcije s *M. tuberculosis* i *M. leprae*. Druge genske varijante nalazimo i u pacijenata s imunodeficijencijama (17). Osim rizičnih gena, identificirani su i određene varijante koje imaju protektivni učinak i smanjuju rizik

od razvoja IBD, kao što su IL-23 i CARD9 varijante. Ove mutacije s protektivnim učinkom predstavljaju potencijalnu metu budućih istraživanja kako bi se razvile ciljane terapijske metode (18).

### **1.1.2. Patogeneza upalnih bolesti crijeva**

Osnovni mehanizam razvoja upalnih bolesti crijeva je prekid homeostaze između crijevne barijere, crijevnog mikrobioma i imunološkog odgovora organizma. Promjene u bilo kojem od ovih sustava, kao što su oštećenje intestinalne barijere ili izmijenjen imunološki odgovor, mogu doprinijeti pojavi bolesti. Intestinalna barijera sprječava ulaz antigena iz crijevnog lumena u krvotok. To se postiže mehaničkim spojevima između stanica, imunoregulatornim funkcijama stanica crijevnog epitela, kao i lučenjem antimikrobnih tvari te sluzi koju luče vrčaste stanice crijeva (19,20). Određeni geni čije su mutacije povezane s razvojem IBD imaju ulogu u održavanju cjelovitosti crijevne barijere. Primjeri su mutacije CDH1 lokusa što dovodi do disfunkcionalnih vrčastih stanica i neadekvatnog uklanjanja patogenih bakterija iz crijevnog lumena. Druge mutacije odnose se na gene koji su odgovorni za integritet međustaničnih spojeva, kao što su PTPN2 i GNA12. Mutacije transkripcijskih faktora kao što je HNF4A, koji reguliraju regeneraciju crijevnog epitela, također su povezane s povećanim rizikom razvoja bolesti (21,22).

Osim samog crijevnog epitela, sluz s glikoproteinima i antimikrobnim peptidima predstavlja još jedan sloj crijevne barijere. Crijevnu sluz proizvode vrčaste stanice koje se nalaze u crijevnom epitelu. Panethove stanice koje se nalaze u crijevnim kriptama proizvode antimikrobne peptide. Razlikujemo dva sloja crijevne sluzi, vanjski i unutarnji. U zdravih ljudi vanjski sloj sadrži normalnu crijevnu floru, dok u unutarnjem sloju nema bakterija. Nasuprot tome, u značajnom dijelu pacijenata oboljelih od upalnih bolesti crijeva mogu se naći bakterije i u unutarnjem sloju sluzi uslijed prekida kontinuiteta sluzne barijere (23). Genske mutacije koje dovode do poremećene funkcije Panethovih stanica također povećavaju rizik od razvoja upalne bolesti crijeva. Primjer su mutacije u NOD2 i ATG16L1 genima (24). Uz navedene, niz drugih gena povezan je s narušenom funkcijom crijevne barijere. Analizom rizika baziranom na 128 gena uključenih u funkciju crijevne barijere pokazalo se da su pacijenti oboljeli od IBD imaju značajno veći rizik u odnosu na zdravu populaciju. Čini se da posebno važnu ulogu u patogenezi bolesti imaju MUC1 i MUC4 geni. Također, istraživanja su pokazala da se ekspresija disreguliranih gena uključenih u homeostazu crijevne barijere može normalizirati nakon sanacije upalnog procesa

(25). Još uvijek nije do kraja razjašnjeno pitanje dovodi li poremećena ekspresija ovih gena do razvoja upalnih bolesti crijeva, ili je poremećena ekspresija samo posljedica postojećeg upalnog procesa. Kod nekih IBD pacijenata utvrđena je smanjena aktivnost antiproteaznih molekula koje inače inhibiraju rast bakterija i imaju ulogu u očuvanju crijevne barijere i sprečavanju imunološke reakcije na fiziološku crijevnu floru. Poznato je da poremećaji u signaliziranju putem TGF $\beta$  mogu dovesti do razvoja IBD. Novija istraživanja pokazala su da je TGF $\beta$  obitelj uključena u regulaciju ekspresije proteina važnih u održavanju međustaničnih spojeva crijevne barijere (26,27).

Što se tiče uloge imunološkog sustava u patogenezi IBD, smatra se da ključnu ulogu igra urođeni imunitet. U prilog tome govori činjenica da se IBD češće javljaju u osoba s određenim poremećajima urođenog imunološkog sustava, odnosno u osoba s primarnim imunodeficijencijama. Urođeni imunitet predstavlja prvu liniju obrane organizma od antigena prisutnih u lumenu crijeva. To je nespecifični odgovor imunološkog sustava na prisutnost patogena, a sastoji se od više različitih tipova stanica, kao što su makrofagi, monociti, NK stanice, dendritičke stanice, limfoidne stanice i stanice crijevnog epitela. Funkcija urođenog imuniteta u crijevima je obrana od patogena i istovremeno očuvanje tolerancije imunološkog sustava na fiziološki crijevni mikrobiom (28,29). Stanice urođenog imunološkog sustava detektiraju crijevni mikrobiom putem prepoznavanja molekularnih uzoraka povezanih s patogenima (PAMP – *pathogen-associated molecular pattern*). Nakon što antigen dođe u kontakt s makrofagom ili antigen prezentirajućom stanicom, prepoznaje se u suradnji s HLA II molekulama koje se nalaze na površini dendritičkih stanica i makrofaga, što aktivira urođeni imuni odgovor. Poznato je da pacijenti oboljeli od Crohnove bolesti imaju neadekvatnu funkciju urođenog imuniteta (30).

Do sada je identificirano više gena koji su osobito povezani s poremećajima funkcije urođenog imunološkog sustava. NOD2 je prva genetska varijanta koja je povezana s razvojem Crohnove bolesti. Glavna funkcija ovog gena je intracelularna detekcija peptidoglikana muramil dipeptida (MDP) u staničnim stijenkama bakterija (31). Nakon aktivacije NOD2, dolazi do kaskadne reakcije i produkcije upalnih citokina kao što su TNF $\alpha$  i IL-1 $\beta$ . Procjenjuje se da su NOD2 varijante prisutne u oko 30% ljudi europskog podrijetla, ali sama genetska predispozicija nije dovoljna za razvoj bolesti. Recesivno nasljeđivanje NOD2 varijanti povezano je s razvojem IBD u vrlo ranoj životnoj dobi (32,33). Još jedan gen koji je uključen u patogenezu IBD putem poremećaja urođenog imuniteta je CARD9 (*Caspase recruitment domain-containing protein 9*).

To je protein koji također prepoznaje mikrobnе uzorke i potom aktivira različite signalne putove što dovodi do oslobađanja upalnih citokina. CARD9 je od osobite važnosti u prepoznavanju gljivičnih antigena, te poremećaji u CARD9 signalnom putu mogu povećati rizik od razvoja mukokutane kandidijaze. CARD9 može povećati sklonost razvoju upale u crijevu i putem djelovanja na mikrobiom. Varijante CARD9 povezane su s većim rizikom od razvoja Crohnove bolesti. Određene rijetke varijante CARD9 imaju protektivni učinak i mogu značajno smanjiti rizik razvoja bolesti (34-37).

Stecheni imunitet također je važan dio patogeneze IBD, a najveću ulogu unutar stečenog imuniteta imaju CD4<sup>+</sup> pomoćnički T limfociti (Th stanice). Th1 i Th17 limfociti imaju ulogu u razvoju Crohnove bolesti. Crijevna mukoza pacijenata oboljelih od Crohnove bolesti sadrži povećane koncentracije TNF- $\alpha$  i interferona (IFN)- $\gamma$  koji se luče kao odgovor na aktivaciju CD4<sup>+</sup> Th1 stanica. TNF- $\alpha$  i IFN- $\gamma$  su proupalni citokini koji pridonose oštećenju epitela crijeva, a IFN- $\gamma$  povećava crijevnu propusnost (38). Između ulceroznog kolitisa i Crohnove bolesti postoje razlike u vrsti imunološkog odgovora i citokina koji dominiraju u patogenezi bolesti. U pacijenata oboljelih od Crohnove bolesti dominira pojačano lučenje IL (interleukina)-2, IL-8, IFN- $\gamma$  i TNF- $\alpha$ . U patogenezi ulceroznog kolitisa veći značaj ima Th-2 posredovani imunološki odgovor. Th-2 odgovor karakteriziraju citokini IL-4, IL-5 i IL-13 (39,40). Vrijedi napomenuti da ulcerozni kolitis ipak nije isključivo posredovan Th-2 imunološkim odgovorom.

Vjerojatno najvažnije stanice uključene u patogenezu Crohnove bolesti su Th-17 limfociti. Nakon aktivacije, ove stanice luče različite citokine kao što su IL-17A, IL-17F, IL-21 i IL-22. Biopsije crijevne sluznice u pacijenata oboljelih od IBD pokazale su veći broj Th-17 stanica i prekomjernu ekspresiju IL-17A (41,42). Proupalni medij kontroliraju regulatorni T limfociti, koji luče signalne molekule kao što je transformirajući faktor  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), te IL-10 koji smanjuju intenzitet upalnog odgovora inhibicijom aktivacije Th stanica (43). Studije na životinjskim modelima ukazale su na moguću protektivnu ulogu TGF- $\beta$  i IL-10 u razvoju IBD (44). Periferna krv IBD pacijenata sadrži manje koncentracije regulatornih T stanica, dok je u crijevnim biopstatima njihova koncentracija veća u odnosu na zdravu populaciju (45).

Uloga B limfocita u patogenezi upalnih bolesti crijeva nije toliko jasna niti istražena kao uloga T limfocita. Glavna vrsta imunoglobulina koja se luči u crijevima je imunoglobulin A (IgA). U IBD pacijenata je smanjeno lučenje IgA, a povećano lučenje IgG i IgM. Imunoglobulini imaju

protuupalni učinak, a poremećaji u funkciji B-limfocitnog protuupalnog odgovora mogu se naći i u pacijenata s nekim drugim autoimunim bolestima, kao što je npr. lupus (46,47). Čini se da pacijenti oboljeli od ulceroznog kolitisa imaju veće koncentracije IgG1, 3 i 4, dok je kod Crohnove bolesti povećana koncentracija IgG2. Također, infiltracija mukoze IgG4+ plazma stanicama povezana je s težim oblicima bolesti i većim rizikom od razvoja primarnog sklerozirajućeg kolangitisa (48). Lijekovi koji ciljano djeluju na populaciju B limfocita, kao što je anti-CD20 protutijelo rituksimab, do sada se nisu pokazali djelotvorni u liječenju ulceroznog kolitisa (49). U perifernoj krvi pacijenata s Crohnovom bolesti utvrđene su manje koncentracije IgM memorijskih B limfocita. Ove promjene su se normalizirale nakon primjene infliksimaba, monoklonskog protutijela na TNF- $\alpha$  (50).

Promjene u sastavu i funkciji mikrobioma imaju značajnu ulogu ne samo u razvoju upalnih bolesti crijeva, već i različitih drugih kroničnih bolesti, od metaboličkog sindroma do drugih gastrointestinalnih i malignih bolesti. Mikrobiom odraslog čovjeka sadrži oko  $10^{14}$  bakterijskih stanica i oko 1000 različitih vrsta bakterija. Okolišni čimbenici kao što su pušenje, upotreba antibiotika i način prehrane važni su modifikatori crijevnog mikrobioma (51,52). Sastav mikrobioma razlikuje se od osobe do osobe, tako da čak i monozigotni blizanci dijele manje od 40% mikrobioma (53). Najveći dio mikrobioma čine koljena Bacteroidetes i Firmicutes. Druge veće mikrobne grupe su Proteobacteria, Actinobacteria, Fusobacteria i Verrucomicrobia. Korisni učinci mikrobioma posljedica su njihove fermentacije vlakana u prehrani čime se proizvode kratkolančane masne kiseline. IBD pacijenti u pravilu imaju smanjenu raznolikost mikrobioma u usporedbi sa zdravom populacijom. Biopsije crijeva u pacijenata s Crohnovom bolesti i ulceroznim kolitisom pokazale su manji udio Firmicutes i Bacteroidetes skupina, a veći udio Proteobacteria i Actinobacteria (54).

Pojedine bakterijske vrste povezane su s razvojem IBD, kao što su enteroinvazivna *Escherichia coli* i *Fusobacterium nucleatum* (55,56). Također, čini se da neke vrste crijevnih bakterija imaju protektivni učinak na razvoj IBD. Primjer su neke vrste iz rodova *Bacteroides* i *Clostridium* koje smanjuju crijevnu upalu djelovanjem na regulatorne T stanice (57). Smatra se da mikrobiom može protektivno djelovati na niz načina, od modifikacije imunološkog odgovora do prevencije kolonizacije crijeva patogenim organizmima i kompeticije s patogenima (58). Crijevni mikroorganizmi mogu djelovati na imunološki sustav domaćina putem metabolita, kao što su

kratkolančane masne kiseline koje nastaju fermentacijom dijetalnih vlakana, a koje onda djeluju na regulatorne T limfocite. Drugi metaboliti koji su povezani s regulacijom imunološkog sustava uključuju triptofan i njegov metabolit kinurenin, te redukciju sulfita posredovanu određenim bakterijskim sojevima, kao što je *Bilophila wadsworthia* (59,60).

U zadnjih nekoliko desetljeća došlo je do značajnog porasta incidencije upalnih bolesti crijeva na globalnoj razini, i to većinom na račun porasta u zemljama u razvoju. Ovi epidemiološki trendovi ne mogu se objasniti genetskim promjenama, što znači da su uglavnom posljedica okolišnih čimbenika. Prvi identificirani i najznačajniji okolišni čimbenik u patogenezi IBD je pušenje. Pušači imaju dvostruko veći rizik od razvoja Crohnove bolesti, a rizik se značajno smanjuje u bivših pušača. Uz to, tijek Crohnove bolesti u pušača povezan je s agresivnijim tijekom bolesti i većim rizikom pojave komplikacija. Nasuprot tome, čini se da pušenje ima protektivnu ulogu u ulceroznom kolitisu (61, 62). Dosadašnja istraživanja pokazala su da apendektomija prije dvadesete godine života ima protektivnu ulogu u ulceroznom kolitisu, dok nema učinka na Crohnovu bolest (63). Drugi identificirani okolišni čimbenici koji utječu na razvoj IBD su promjene u crijevnom mikrobiomu, izloženost stresu, upotreba nesteroidnih protuupalnih lijekova ili oralnih kontraceptiva, deficit vitamina D te moguće određene crijevne infekcije (64-66). Infekcije bakterijom *Clostridium difficile* češće su u IBD pacijenata te mogu biti okidač relapsa bolesti (67).

Upalne bolesti crijeva karakterizirane su određenim serološkim biomarkerima. U Crohnovoj bolesti radi se većinom o protutijelima usmjerenim protiv bakterijskih ili gljivičnih mikroorganizama. Najčešće antimikrobno protutijelo koje nalazimo u Crohnovoj bolesti je anti-*Saccharomyces cerevisiae* protutijelo (ASCA) IgA i IgG (68). U pacijenata s ulceroznim kolitisom manja je varijacija protutijela i u pravilu se nalaze samo perinuklearna antineutrofilna citoplazmatska protutijela (pANCA) (69). Druga protutijela koja se mogu naći u pacijenata s Crohnovom bolesti su anti-OmpC protutijelo na OmpC transportni protein *E. coli*, anti-Cbir1 protutijelo na bakterijski flagelin Cbir1, te rjeđe protutijela na različite ugljikohidrate u bakterijskoj stijenci. Visoki titar protutijela ili prisutnost više različitih protutijela povezani su s agresivnijim tipom Crohnove bolesti i većim rizikom od razvoja komplikacija. Ova protutijela mogu se pojaviti prije nego što je sama bolest dijagnosticirana. Također, viši titar pANCA protutijela u pacijenata s ulceroznim kolitisom povezan je s agresivnijim i proširenijim fenotipom bolesti (70-72).

### **1.1.3. Dijagnostika upalnih bolesti crijeva**

Dva glavna oblika upalnih bolesti su Crohnova bolest i ulcerozni kolitis. Među njima postoje značajne razlike u karakteristikama upalnog procesa, te kliničkoj prezentaciji. Uz to, manji dio pacijenata ima bolest koja se ne može jasno kategorizirati kao Crohnova bolest ili ulcerozni kolitis. Takvim pacijentima dijagnosticira se nedeterminirani kolitis, i procjenjuje se da čine oko 10% ukupnih IBD pacijenata (73).

Dijagnoza upalnih bolesti crijeva temelji se na kliničkom i endoskopskom pregledu, te laboratorijskim, histološkim i radiološkim nalazima. Pregled pacijenta sa sumnjom na IBD trebao bi uključivati uzimanje detaljne anamneze, s posebnim osvrtom na simptome i moguće okidače bolesti, kao što su infekcije i neki lijekovi, na primjer nesteroidni antireumatici. Fizikalni pregled pacijenta sa sumnjom na IBD trebao bi obuhvatiti detaljan pregled organskih sustava, procjenu pacijentovog općeg stanja, evaluaciju potencijalnih ekstraintestinalnih manifestacija bolesti, te rektalni pregled. Izračun indeksa tjelesne mase i evaluacija kaheksije važne su komponente procjene općeg stanja pacijenta. Fizikalnim pregledom abdomena utvrđuje se prisutnost potencijalnih tvorbi u abdomenu, kao što su upalne tvorbe, apscesi ili maligne promjene. Rektalnim pregledom evaluira se prisutnost fisura ili fistula. Također, fizikalni pregled trebao bi uključivati i ostale organske sustave kao što su oči, koža i lokomotorni sustav, kako bi se utvrdila prisutnost eventualnih ekstraintestinalnih manifestacija bolesti (74-76).

#### **1.1.3.1. Dijagnostika ulceroznog kolitisa**

Ulcerozni kolitis karakteriziran je upalom koja zahvaća crijevnu mukozu i u manjoj mjeri submukozu. Upalni proces počinje u rektumu i u kontinuitetu se širi u proksimalne dijelove kolona. Tanko crijevo nije zahvaćeno, iako distalni dijelovi ileuma mogu biti upalno promijenjeni, najvjerojatnije zbog refluksa crijevnog sadržaja iz cekuma. Ovisno o stupnju proširenosti bolest se klasificira kao proktitis (bolest ograničena na rektum), lijevostrani kolitis (bolest zahvaća kolon do lijenalne fleksure), ili pankolitis (bolest zahvaća transverzalni kolon). Klinička slika ulceroznog kolitisa karakterizirana je pojavom krvavih stolica. Ostali simptomi uključuju učestale stolice, tenezme, osjećaj nekompletne evakuacije i bolove u trbuhu. Manji broj pacijenata može se prezentirati paradoksnom konstipacijom. Pacijenti s fulminantnim kolitisom imaju teže i sistemske simptome, uključujući vrućicu, noćno znojenje i značajniji gubitak na težini (77-79). Diferencijalnodijagnostički u pacijenata s proljevima prvenstveno se treba isključiti sindrom



iritabilnog kolona (IBS) i infektivni kolitis. Crijevne infekcije koje uzrokuju *Shigella spp*, *E. coli*, *Campylobacter spp*, te amebe mogu klinički nalikovati na ulcerozni kolitis. IBS pacijenti u pravilu nemaju krvave stolice, dok je tijekom infektivnog kolitisa obično ograničen na period do nekoliko tjedana (80).

Ulcerozni kolitis se gotovo uvijek može dijagnosticirati rektosigmoidoskopijom, budući da upalni proces počinje u rektumu. Endoskopski nalaz ulceroznog kolitisa je difuzna kontinuirana upala koja počinje u rektumu i širi se proksimalno. Ipak je potrebno napraviti totalnu kolonoskopiju s intubacijom ileuma kako bi se definirala proširenost bolesti i kako bi se isključila eventualna Crohnova bolest. Upaljena sluznica crijeva u sklopu ulceroznog kolitisa je edematozna i eritematozna, moguće i s mukopurulentnim eksudatom. Mogu biti prisutne i erozije i ulceracije, te krvarenje. Tijekom procesa cijeljenja sluznice crijeva, u slučaju intenzivnijeg upalnog procesa, može doći do protruzije granulacijskog tkiva koje zatim reepitelizira, a te tvorbe se nazivaju pseudopolipi. Pseudopolipi nemaju maligni potencijal ali ih može biti teško razlikovati od adenomatoznih polipa (81).

U praćenju pacijenata s ulceroznim kolitisom važne su redovite procjene stupnja aktivnosti bolesti i stupnja težine bolesti. Stupanj aktivnosti bolesti procjenjuje se standardiziranim bodovnim sustavima, kliničko-laboratorijskim i endoskopskim. Za procjenu endoskopske aktivnosti ulceroznog kolitisa najkorišteniji bodovni sustavi su Mayo endoskopski indeks i Endoskopski indeks težine ulceroznog kolitisa (engl. *ulcerative colitis endoscopic index of severity - UCEIS*) (82,83). Prisutnost spontanog krvarenja ili ulkusa znače teži oblik bolesti, dok je umjereni oblik bolesti endoskopski karakteriziran eritematозnom sluznicom, gubitkom vaskularnog crteža, i erozijama. Najkorišteniji klinički bodovni sustav za procjenu aktivnosti ulceroznog kolitisa je Mayo indeks čiji parametri osim endoskopskog nalaza uključuju broj stolica u danu, prisutnost rektalnog krvarenja te liječnikovu subjektivnu procjenu pacijentovog općeg stanja. S obzirom na ovaj sustav pacijente se može kategorizirati u one s blagim, umjerenim ili teškim oblikom bolesti, te one s najtežim oblikom, odnosno fulminantnim kolitisom. Procjena težine ulceroznog kolitisa sastoji se u evaluaciji tijeka bolesti kako bi se stratificiralo pacijente i identificiralo one s većim rizikom od razvoja komplikacija. Parametri koji su u pravilu uključeni u evaluaciju težine ulceroznog kolitisa su: prisutnot erozija ili ulceracija prilikom endoskopije, značajna ograničenja svakodnevnih aktivnosti zbog bolesti, povišena razina C-reaktivnog proteina (CRP), neadekvatan

terapijski odgovor na biološku ili imunosupresivnu terapiju, hospitalizacija ili upotreba kortikosteroida u zadnjih 12 mjeseci, anemija, hipoalbuminemija, prisutnost anorektalnih simptoma i krvarenja, te povećana učestalost stolica u odnosu na uobičajeno stanje (84-86).

### **1.1.3.2. Ekstraintestinalne manifestacije ulceroznog kolitisa**

Osim gastrointestinalnih manifestacija ulceroznog kolitisa, dio pacijenata (7-17%) ima i ekstraintestinalne manifestacije bolesti koje mogu zahvaćati različite organske sustave. Najčešća ekstraintestinalna manifestacija ulceroznog kolitisa je artritis koji se može manifestirati kao periferni ili aksijalni. Ostale ekstraintestinalne manifestacije uključuju *pyoderma gangrenosum*, *erythema nodosum*, episkleritis i uveitis. One mogu biti odraz aktivnosti bolesti u kolonu, ili se mogu razvijati neovisno o tijeku i aktivnosti bolesti u kolonu, na primjer ankilozantni spondilitis (87,88). U trenutku postavljanja dijagnoze ulceroznog kolitisa, većina pacijenata ima lijevostrani kolitis, a petogodišnja kumulativna stopa proksimalne ekstenzije bolesti iznosi 13%. Pacijenti s ulceroznim kolitisom imaju 2.5 puta veći rizik razvoja kolorektalnog karcinoma, a također i povećan rizik razvoja karcinoma jetre i žučnih vodova (89,90). Komplikacije ulceroznog kolitisa uključuju toksični megakolon, perforaciju ili strikturu kolona. Ovi pacijenti također imaju veći rizik razvoja kolorektalnog karcinoma (91).

### **1.1.3.3. Dijagnostika Crohnove bolesti**

Crohnova bolest može zahvatiti bilo koji dio probavnog trakta, od usne šupljine do anusa. Upala u sklopu Crohnove bolesti je transmuralna i diskontinuirana, a karakteristične diskontinuirane zone upale, između kojih je normalna crijevena sluznica, nazivaju se preskačuće lezije (engl. *skip lesions*) (92,93). Prvi znanstveni rad koji detaljno opisuje karakteristike ove bolesti objavio je dr. Burrill Crohn sa suradnicima 1932. godine (94). Među pacijentima oboljelima od Crohnove bolesti postoje značajne varijacije s obzirom na težinu i stupanj proširenosti bolesti. Najčešće zahvaćeni dio probavnog trakta je terminalni ileum i proksimalni dio kolona. U oko 20% pacijenata bolest zahvaća samo kolon, te se može prezentirati slično kao ulcerozni kolitis. Trećina pacijenata ima oblik bolesti koji je ograničen samo na tanko crijevo, a u oko četvrtine pacijenata razvija se perianalni tip bolesti koji se manifestira fisurama, fistulama, analnim ulceracijama ili strikturama (95,96). Transmuralna narav upale u Crohnovoj bolesti dovodi do razvoja karakterističnih gastrointestinalnih komplikacija, kao što su strikture, fistule i apscesi. Perianalna bolest je česta komplikacija Crohnove bolesti. Manifestacije perianalne bolesti mogu biti

fistulirajuće i nefistulirajuće. Nefistulirajuće manifestacije uključuju analne fisure, ulceracije i strikture. Prevalencija fistulirajućeg oblika u populaciji s Crohnovom bolesti iznosi 20-40%. Fistule se češće pojavljuju u pacijenata s pozitivnom obiteljskom anamnezom, ukoliko upalni proces zahvaća distalni kolon, te u pacijenata koji već imaju strikture, ili pozitivna ASCA protutijela (97-99).

Prezentacija Crohnove bolesti vrlo je raznolika, te može varirati od spore progresije upale koja se ponekad može pogrešno dijagnosticirati kao sindrom iritabilnog kolona, pa sve do akutne prezentacije gastrointestinalnim krvarenjem, perianalnim apscesima ili fistulama, ili opstruktivnim ileusom. Bolest se može javiti u bilo kojoj etničkoj skupini i bilo kojoj dobi, iako je najčešća u bijelaca i Aškenazi Židova, i najčešće se manifestira u drugom i trećem desetljeću života. U manjeg broja pacijenata bolest se može javiti prije šeste godine života. Ova vrlo rana manifestacija bolesti obično je posljedica monogenetskih mutacija. Gastrointestinalni simptomi Crohnove bolesti mogu uključivati učestale stolice, proljeve, bol u abdomenu, mučninu i povraćanje, urgenciju i tenezme (100,101).

Za procjenu aktivnosti i težine Crohnove bolesti većinom se koristi Indeks aktivnosti Crohnove bolesti (engl. *Crohn's disease activity index - CDAI*) ili njegove pojednostavljene verzije. Uključuje više kliničkih i laboratorijskih varijabli, kao što su: učestalost stolica opće stanje pacijenta, prisutnost abdominalnih bolova u proteklih 7 dana, anemija, tjelesna težina, te prisutnost abdominalnih tvorbi ili ekstraintestinalnih manifestacija bolesti. Za endoskopsku evaluaciju Crohnove bolesti u pravilu je potrebna totalna kolonoskopija s intubacijom ileuma, te uzimanjem bioptičkih uzoraka za patohistološku analizu. Osim u dijagnostičke svrhe, endoskopske metode mogu se koristiti i terapijski, primjerice za dilataciju striktura. Kolonoskopski se mogu utvrditi razne manifestacije upalnog procesa, kao što su crvenilo sluznice, erozije, ulkusi i strikture. Ulkusi se karakteriziraju kao linearni, aftozni ili stelatni, a strikture se klasificiraju prema stupnju i mogućnosti pasaže endoskopa. Za endoskopsku procjenu stupnja aktivnosti CB razvijeni su indeksi aktivnosti. Najkorišteniji endoskopski indeksi za procjenu aktivnosti CB su jednostavni endoskopski indeks (engl. *simple endoscopic score - SES—CD*) i endoskopski indeks težine Crohnove bolesti (engl. *Crohn's disease endoscopic index of severity - CDEIS*) (102,103). U pacijenata kojima je reseciran kolon ili ileum koristi se Rutgeertsov sustav procjene rekurencije bolesti u anastomozi (104,105). Rutinska primjena gastroskopije u pacijenata s CB preporučuje se

zbog mogućnosti prisutnosti asimptomatske upale gornjeg probavnog trakta, npr. *H. pylori* negativni gastritis, ezofagitis i duodenitis. Biopsija tankog crijeva koristi se i za isključenje celijakije u pacijenata sa sumnjom na tu bolest. Endoskopska kapsula može se koristiti za evaluaciju tankog crijeva na upalne promjene u sklopu IBD, ili kako bi se identificiralo okultno krvarenje u pacijenata sa sideropeničnom anemijom. Nedostaci endoskopske kapsule su mogućnost retencije u pacijenata sa strikturama, te nemogućnost uzimanja bioptičkih uzoraka prilikom pregleda (106,107).

#### **1.1.3.4. Ekstraintestinalne manifestacije Crohnove bolesti**

Kao i u pacijenata s ulceroznim kolitisom, određeni broj pacijenata oboljelih od Crohnove bolesti razvija ekstraintestinalne manifestacije bolesti. One mogu zahvaćati oko (uveitis, iritis), lokomotorni sustav (artritis, sakroileitis), kožu (erythema nodosum), bilijarni sustav (primarni sklerozirajući kolangitis - PSC) (108).

Ekstraintestinalne manifestacije Crohnove bolesti mogu se naći i u do 40% oboljelih, te se mogu javiti i prije crijevne upale i dijagnoze Crohnove bolesti. Neke od ekstraintestinalnih manifestacija bolesti, kao što je artritis, pokazuju terapijski odgovor na liječenje same upalne bolesti crijeva. U drugih, kao što je primarni sklerozirajući kolangitis, nema poboljšanja nakon početka liječenja IBD. Najčešća ekstraintestinalna manifestacija Crohnove bolesti je artritis, koji je obično seronegativan i zahvaća periferne zglobove (109). Može se klasificirati kao pauciarikularan (tip 1, zahvaća do četiri zglobova) ili poliartikularan (tip 2, zahvaća pet ili više zglobova). Aksijalni artritis se rjeđe javlja, a mnogi pacijenti s IBD i aksilarnim artropatijama imaju HLA-B27 alel (110). Pacijenti s aksijalnim artropatijama i IBD odlični su kandidati za anti TNF- $\alpha$  terapiju budući da ona djeluje na obje bolesti. Očne manifestacije češće se javljaju u sklopu Crohnove bolesti u odnosu na ulcerozni kolitis. Ukoliko se ne liječi, skleritis može dovesti do gubitka vida. Stoga bi svaki IBD pacijent s bolovima u oku, crvenilom, poremećajima vida ili fotofobijom trebao biti upućen na pregled oftalmologa. Najčešća kožna manifestacija Crohnove bolesti je *erythema nodosum*, karakterizirana bolnim i uzdignutim crvenim promjenama kože, obično se javlja na nogama i češće kod žena. Ove promjene nisu specifične za IBD, i često regresiraju tijekom liječenja upalnog procesa u crijevima. *Pyoderma gangrenosum* još je jedna kožna promjena koja se može pojaviti kao ekstraintestinalna manifestacija upalnih bolesti crijeva (111). Nešto je češća u ulceroznom kolitisu, a prezentira se kao ulkus s uzdignutim rubovima.

Rjeđe dermatološke manifestacije IBD uključuju Sweetov sindrom (bolne crvenkaste lezije na licu, trupu ili rukama), *pyostomatitis vegetans* (pustule i ulceracije na usnama, bukalnoj sluznici i desnim), te supurativni hidradenitis (pojava kožnih apscesa na mjestima trenja kože) (112,113).

Ekstraintestinalne manifestacije Crohnove bolesti mogu uključivati i hepatobilijarni sustav, npr. kolelitijaza, perikolangitis i primarni sklerozirajući kolangitis. Pacijenti s CB imaju povećani rizik od kolelitijaze i posljedične kolecistektomije u odnosu na opću populaciju. Uzrok tome je najvjerojatnije promijenjena apsorpcija žučnih soli u ileumu uslijed upalnog procesa koji zahvaća tanko crijevo. PSC je povezan s oba glavna oblika IBD, a nešto češće se nalazi u pacijenata s ulceroznim kolitisom. Progresija PSC može dovesti do zatajenja jetre, a povezana je i s razvojem kolangiokarcinoma i kolorektalnog karcinoma (114,115). U ovom trenutku ne postoji efikasna terapija PSC. Donedavno se smatralo da primjena ursodeoksikolne kiseline može prevenirati dugoročne komplikacije PSC, no nedavna istraživanja pokazala su da ne samo da ursodeoksikolna kiselina ne prevenira kolangiokarcinom, već i povećava rizik od njegovog razvoja (116,117).

#### **1.1.3.5. Ostale dijagnostičke metode u dijagnostici upalnih bolesti crijeva**

Patohistološka analiza biopsijskih uzoraka crijeva od koristi je za postavljanje dijagnoze, razlikovanje glavnih oblika IBD, isključenje infekcija i displazije ili maligne bolesti. Patognomoničan histološki nalaz CB su nekazeozni granulomi, iako su prisutni tek u manjem broju oboljelih od CB. U regijama s visokom prevalencijom tuberkuloze, važno je razlikovati CB od intestinalne tuberkuloze. Histološke karakteristike ulceroznog kolitisa u biopsatu crijeva su prisutnost kriptalnih apscesa, atrofija kriпти i izmijenjena građa sluznice zbog obilnog upalnog infiltrata (118,119).

U praćenju pacijenata s IBD od koristi su i određeni laboratorijski markeri upale. Najčešće korišteni markeri upale su CRP i sedimentacija eritrocita (120). U pacijenata s Crohnovom bolesti mogu biti povišena oba markera, samo jedan od njih, ili u nekim slučajevima oba markera mogu biti unutar normalnih vrijednosti. Pokazalo se da razina CRP korelira s kliničkom, endoskopskom i histološkom aktivnosti bolesti. Drugi markeri akutne upale su: analiza krvne slike te broja leukocita, neutrofila i trombocita, feritin, albumin, te upalni markeri u stolici, kalprotektin i laktoferin. Drugi laboratorijski pokazatelji Crohnove bolesti mogu uključivati deficit vitamina B12 uslijed zahvaćenosti ileuma upalnim procesom (121), deficit vitamina D, te anemiju zbog okultnog krvarenja ili nedostatnog unosa ili apsorpcije željeza (122). Prisutnost anemije u pacijenata s

ulceroznim kolitisom označava teži oblik bolesti. Pokazalo se da razina kalprotektina u stolici korelira s razinom CRP u krvi, te endoskopskim i histološkim pokazateljima upale. Također, razina kalprotektina raste mjesecima prije pojave kliničkih znakova relapsa bolesti. Kalprotektin je relativno nespecifičan marker i može biti povišen u stanjima kao što su infekcije ili maligne bolesti (123). Od koristi u dijagnostici Crohnove bolesti mogu biti i određeni serološki markeri, kao što su ASCA IgA i IgG, Cbir1, OmpC, te ANCA u dijagnostici ulceroznog kolitisa i Crohnove bolesti koja zahvaća kolon. Serološki markeri imaju i prediktivnu vrijednost, povišen titar protutijela može biti pokazatelj agresivnijeg tijeka bolesti s većim rizikom razvoja komplikacija (124).

Radiološke dijagnostičke metode imaju veću ulogu u liječenju pacijenata s Crohnovom bolesti u odnosu na ulcerozni kolitis. U pacijenata s ulceroznim kolitisom RTG snimke abdomena mogu biti korisne u evaluaciji teških oblika kolitisa i isključenju toksičnog megakolona. U Crohnoj bolesti radiološke metode su od velike koristi u evaluaciji intestinalnih komplikacija bolesti, kao što su strikture i fistule. Tradicionalne metode, kao što je pasaža crijeva barijevom kašom sada su većinom zamijenjene CT i MR dijagnostikom. Pasaža crijeva se i dalje koristi u evaluaciji kompleksnih fistula i crijevne opstrukcije. CT i MR enterografija mogu precizno utvrditi upalu tankog crijeva. MR enterografija je skuplja i sporija od CT varijante, ali pruža kvalitetnije slike i superiornija je u evaluaciji mekotkivnih komplikacija, kao što su fistule ili perianalna bolest (125-127).

I Crohnova bolest i ulcerozni kolitis su kronične, doživotne bolesti karakterizirane periodima relapsa i remisija. Manji broj pacijenata s CB ima agresivniji tijek bolesti s konstantnom upalnom aktivnosti. Većina pacijenata ima blaži tijek bolesti ili su pretežno u remisiji (128). Kod dijela pacijenata s CB tijekom života dolazi do progresije i razvoja komplikacija u vidu fistula i striktura. Veći rizik za razvoj ovih komplikacija imaju pacijenti kojima je bolest dijagnosticirana u mlađoj životnoj dobi, pušači, pacijenti s perianalnom bolesti, vidljivim ulceracijama prilikom endoskopije, prisutnim ekstraintestinalnim manifestacijama bolesti, te oni koji već imaju strikturirajući ili fistulirajući oblik bolesti (129). Mortalitet pacijenata s CB tek je neznatno veći u odnosu na zdravu populaciju, no bolest može imati značajan utjecaj na kvalitetu života. Većina pacijenata s UC ima blagi ili umjereni oblik bolesti, s desetogodišnjim rizikom relapsa od oko 70%. Pacijenti s UC imaju 2.5 puta veći rizik za obolijevanje od kolorektalnog karcinoma u odnosu

na zdravu populaciju. Ulcerozni kolitis nije povezan s povećanim mortalitetom, no povezan je s visokim morbiditetom (130).

#### **1.1.4. Liječenje upalnih bolesti crijeva**

Cilj liječenja upalnih bolesti crijeva je postizanje i održavanje kliničke, biokemijske, endoskopske i histološke remisije bolesti, a uključuje medikamentozno i kirurško liječenje. Medikamentozno liječenje pacijenata s IBD zahtijeva individualizirani pristup te analizu lokacije i proširenosti bolesti, težinu bolesti i prisutnost intra ili ekstraabdominalnih komplikacija. Ukoliko je pretežno zahvaćen rektum i distalni kolon mogu se primjenjivati topikalni preparati, a za bolest koja zahvaća terminalni ileum i proksimalni kolon mogu se koristiti enterički obloženi pripravci (131). Ukoliko je terapija učinkovita, klinički rezultati su obično vidljivi unutar mjesec dana od indukcije terapije. Težina i prognoza bolesti imaju veliku ulogu u odabiru terapije Crohnove bolesti. Pacijenti s blagim i umjerenim oblicima bolesti u pravilu se liječe konzervativno, dok oni s težim oblicima bolesti zahtijevaju agresivniju i učinkovitiju terapiju nedugo nakon dijagnoze (132).

U medikamentoznom liječenju upalnih bolesti crijeva koristi se više skupina lijekova koje imaju različite mehanizme djelovanja. Preparati 5-ASA imaju značajnu ulogu u liječenju ulceroznog kolitisa, no istraživanja nisu pokazala učinkovitost ovih lijekova u liječenju Crohnove bolesti, stoga se u važećim smjernicama za liječenje Crohnove bolesti ne preporučuje upotreba ove skupine lijekova. S obzirom da mikrobiom igra važnu ulogu u razvoju Crohnove bolesti, u liječenju se mogu primjenjivati i određene skupine antibiotika kako bi se eliminirali potencijalni bakterijski okidači upale (133). Metaanalize su pokazale učinkovitost antibiotika u usporedbi s placebom u indukciji remisije CB (134). Uz antibiotike, provedena su i istraživanja na probioticima čime se također pokušalo modificirati mikrobiom kako bi se spriječio razvoj upalnog procesa. Probiotici se do sada nisu pokazali učinkoviti u liječenju CB (135).

Kortikosteroidi su učinkoviti u brzom indukciji remisije u pacijenata s umjerenim i teškim oblikom CB. Unatoč tome, kortikosteroidi ne dovode do mukoznog cijeljenja iako ublažuju simptome bolesti. Također, nisu dugoročno učinkoviti, a duža primjena kortikosteroida povezana je s brojnim nuspojavama. Potreba za kortikosteroidnom terapijom je loš prognostički znak, stoga su pacijenti koji su prethodno višekratno liječeni kortikosteroidima kandidati za terapiju imunomodulatornim lijekovima ili biološkom terapijom (136,137). Budesonid je posebno

formuliran oralni kortikosteroidni pripravak koji se oslobađa u terminalnom ileumu i proksimalnom kolonu. Pretežno djeluje lokalno zbog opsežnog metaboliziranja lijeka u jetri, zbog čega ima značajno manje sistemske učinke u odnosu na druge oralne kortikosteroide, a posljedično i manji rizik od sistemskih nuspojava kortikosteroidnog liječenja (138).

Imunomodulatorni lijekovi, koji uključuju tiopurine i metotreksat, također se primjenjuju u liječenju CB, kao monoterapija ili dodatak anti-TNF lijekovima. Tiopurini (azatioprin i 6-merkaptopurin) inhibiraju sintezu purina i inhibiraju supresorske T limfocite i NK stanice, što suprimira stanični imunitet. Azatioprin se metabolizira u 6-MP, te se onda enzimatski konvertira u aktivne metabolite. Nedavna istraživanja utvrdila su da azatioprin nije učinkovit za indukciju remisije u pacijenata s CB. Ipak, ovi lijekovi pokazali su se učinkovitima u terapiji održavanja, te se često koriste u kombinaciji s lijekovima koji postižu brzu indukciju remisije, kao što su kortikosteroidi i anti-TNF lijekovi (139,140). Optimalno doziranje imunomodulatornih lijekova važno je kako bi se izbjegla potencijalna toksičnost. Za optimalno doziranje od velike koristi je genotipizacija tiopurin metiltransferaze (TPMT), enzima koji sudjeluje u metabolizmu tiopurina. U pacijenata koji su TPMT heterozigoti potrebno je smanjiti dozu lijeka, dok je kod homozigota kontraindicirana primjena tiopurina (141). Kalcineurinski inhibitori ciklosporin i takrolimus ublažavaju upalni proces inhibicijom aktivacije T limfocita. Ovi lijekovi se rijetko koriste u liječenju upalnih bolesti crijeva zbog većeg rizika od nuspojava te dostupnosti sigurnijih i efikasnih terapijskih modaliteta.

Prvi biološki lijek za upalne bolesti crijeva bio je infliksimab, monoklonsko protutijelo koje blokira TNF- $\alpha$ . Nakon infliksimaba, još 2 anti-TNF lijeka ušla su u upotrebu, to su adalimumab i certolizumab. Blokadom djelovanja TNF- $\alpha$  koji je proupalni citokin, ovi lijekovi postižu djelotvornost u indukciji i održavanju remisije u pacijenata s CB (142, 143). Ovi lijekovi također značajno poboljšavaju mukozno cijeljenje u usporedbi s placebom. Nuspojave uključuju infekcije, a rizik je veći kod konkomitantne terapije imunomodulatorima ili kortikosteroidima. Također može doći do reaktivacije latentne tuberkuloze, zbog čega je sve pacijente potrebno testirati prije uvođenja ove terapije. Natalizumab je IgG4 monoklonsko protutijelo koje inhibira migraciju leukocita u crijeva, čime se ograničava upalni proces u crijevima. Upotreba ovog lijeka u liječenju IBD ograničena je zbog rizika od progresivne multifokalne leukoencefalopatije (144). Vedolizumab je monoklonsko protutijelo usmjereno protiv  $\alpha 4\beta 7$  integrina te selektivno inhibira



migraciju leukocita u crijeva, ali ne i CNS . U pravilu se koristi u pacijenata koji su prethodno neuspješno liječeni nekom od prethodno navedenih terapija (145). Ustekinumab je također monoklonsko protutijelo, usmjereno protiv p40 podjedinice IL-12 i IL-23 receptora, čime blokira signalizaciju ovih proupalnih citokina (146). Risankizumab je monoklonsko protutijelo koje se visokim afinitetom veže na IL-23 čime ga neutralizira. Osim u liječenju CB, odobren je i za liječenje drugih imunološki posredovanih bolesti, kao što su psorijaza i psorijatični artritis (147). Nuspojave svih bioloških lijekova uključuju infekcije i alergijske reakcije.

Liječenje pacijenata s ulceroznim kolitisom koncipirano je na sličan način kao i u pacijenata s Crohnovom bolesti, uz neke važne razlike. Konvencionalni pristup liječenju pacijenata s ulceroznim kolitisom bio je postupna eskalacija terapije. Preparati 5-aminosalicilata su tradicionalno primarna terapija u pacijenata s blagim i umjerenim oblikom ulceroznog kolitisa. Mogu se primjenjivati u obliku supozitorija, klizme, tableta ili kapsula. Sulfasalazin se sastoji od sulfapiridina povezanog s 5-ASA azo vezom. Nakon oralne primjene, u kolonu dolazi do cijepanja azo veze djelovanjem crijevnog mikrobioma. Točan mehanizam djelovanja 5-ASA i sulfasalazina i dalje nije utvrđen. Čini se da ovi lijekovi imaju multiple protuupalne učinke uključujući inhibiciju kaskade arahidonske kiseline, inhibiciju produkcije slobodnih radikala kisika, supresiju funkcije limfocita i monocita, te inhibiciju produkcije imunoglobulina u plazma stanicama (148,149).

Kortikosteroidi također imaju ulogu u liječenju UC, najkorišteniji kortikosteroidni preparati u kliničkoj praksi su prednizon, metilprednizolon i budezonid. Osim peroralnih preparata, također se mogu primjenjivati i topikalno u obliku supozitorija ili klizme (150). U pacijenata kod kojih je bolest ograničena na rektum, topikalna terapija se pokazala učinkovitijom od peroralne. Imunomodulatorni lijekovi se u pravilu koriste u pacijenata koji su ovisni o kortikosteroidnoj terapiji, ili refraktorni na terapiju. S obzirom da puni učinak ostvaruju tek nakon 12-16 tjedana terapije, ovi lijekovi se obično koriste u kombinaciji s kortikosteroidima, kako bi se održala remisija bolesti bez potrebe za dugotrajnom terapijom kortikosteroidima. Za razliku od CB, metotreksat se nije pokazao učinkovit u monoterapiji pacijenata s ulceroznim kolitisom (151). Biološka terapija također se koristi u liječenju ulceroznog kolitisa.

TNF- $\alpha$  antagonisti infliksimab, adalimumab i golimumab koriste se u liječenju težih oblika bolesti. Infliksimab je kimeričko monoklonalno protutijelo koje se primjenjuje intravenskom infuzijom, dok su adalimumab i golimumab monoklonska humana protutijela koja se primjenjuju

supkutano. U nekih pacijenata dolazi do stvaranja protutijela na ove lijekove čime oni gube efikasnost. Kontraindikacije za primjenu TNF- $\alpha$  antagonista uključuju infekcije, demijelinizirajuću bolest i uznapredovalo srčano popuštanje (152,153). Anti  $\alpha 4\beta 7$  integrinsko protutijelo vedolizumab također se koristi u liječenju ulceroznog kolitisa (154). Inhibitor Janus kinaze tofacitinib modulira signalizaciju više citokinskih signalnih puteva, te se pokazao učinkovitim u indukciji i održavanju remisije (155,156). Ustekinumab je interleukin 12/23 antagonist koji se također koristi u liječenju težih oblika ulceroznog kolitisa. Terapija ustekinumabom rezultira značajno većim stopama histološkog i endoskopskog cijeljenja u odnosu na placebo, uz niske stope imunogeničnosti (157). Mirikizumab je još jedno protutijelo usmjereno protiv IL-23 koje je prošle godine odobreno za liječenje ulceroznog kolitisa (158). Risankizumab je još jedno u nizu anti IL-23 monoklonskih protutijela odobrenih u terapiji umjerenog do teškog oblika ulceroznog kolitisa. Ranije se koristio u liječenju psorijaze, a od lipnja 2024. odobren je i za liječenje ulceroznog kolitisa (159).

#### **1.1.5. Kirurško liječenje upalnih bolesti crijeva**

Procjenjuje se da oko 50% pacijenata s upalnim bolestima crijeva tijekom svog životnog vijeka zahtijeva barem jedan operativni zahvat uslijed komplikacija ove bolesti. Kolektomija je indicirana u toku liječenja u 20-25% pacijenata s ulceroznim kolitisom (160). Indikacije za kolektomiju u ovih pacijenata su: bolest refraktorna na medikamentoznu terapiju, nekontrolirano krvarenje, perforacija crijeva, toksični megakolon i maligna bolest crijeva. Najčešći kirurški zahvat u pacijenata s ulceroznim kolitisom je proktokolektomija s formiranjem ilealnog spremnika i analne anastomoze (IPAA – engl. *ileal pouch-anal anastomosis*) (161). Najčešća komplikacija nakon ovog zahvata je upala spremnika koja se naziva pouchitis, i javlja se u do 70% pacijenata. U pacijenata s CB indikacije za kirurški zahvat uključuju refraktornu bolest, upalne tvorbe ili apscese, fistule, perforaciju ili opstrukciju crijeva, krvarenje, malignu bolest te fulminantni kolitis. Najčešća indikacija za kirurški zahvat u perianalnom obliku bolesti je sepsa povezana s apscesom ili fistulom (162,163).

## 1.2. GDF-15

### 1.2.1. Grada i funkcija GDF-15

Faktor rasta i diferencijacije 15 (GDF-15) član je superobitelji transformirajućih faktora rasta  $\beta$ . Poznat je još i pod nazivima makrofag inhibirajući citokin (MIC)-1, gen induciran nesteroidnim protuupalnim lijekovima (NAG)-1, placentalni protein morfogeneze kosti (PLAB), i faktor deriviran iz prostate (PDF). Humani GDF15 gen lociran je na kromosomu 19p13.1–13.2. Ljudski, štakorski i mišji GDF15 geni sadrže dva eksona i jedan intron. GDF-15 protein sadrži sedam očuvanih cisteinskih ostataka koji tvore cisteinski čvor, kao i u drugih faktora TGF- $\beta$  superobitelji. Molekula GDF-15 nastaje obradom prepropeptida koji se sastoji od 308 aminokiselina. Cijepanjem propeptida metaloproteinazama i endoproteazama nastaje zreli oblik molekule GDF-15, koji se potom transportira u obliku dimera povezanih s dva disulfidna mosta. U fiziološkim uvjetima ovaj faktor je slabo eksprimiran u brojnim somatskim tkivima čovjeka, dok je ekspresija u placenti mnogo izraženija. Serumska koncentracija GDF-15 u zdravih osoba je niska i obično iznosi oko 0.1 do 0.2 ng/ml. U fiziološkim uvjetima GDF-15 je većinom eksprimiran u mokraćnom mjehuru, bubrezima, crijevu, želucu, žučnom mjehuru, gušterači, plućima i endometriju. Ekspresija GDF-15 značajno je povećana u različitim stresnim stanjima, kao što su upale, maligne bolesti, različiti kirurški zahvati, šećerna bolest, pušenje, tjelovježba, nealkoholna masna bolest jetre (NAFLD) i kardiovaskularne bolesti (164-167). Lučenje GDF-15 stimuliraju različiti proupalni i stresni proteini, kao što su interleukini i TNF- $\alpha$ . Točna funkcija GDF-15 u organizmu još nije utvrđena, no dosadašnja istraživanja utvrdila su ulogu ovog faktora u regulaciji apetita, metabolizma, remodeliranja kosti, homeostazi stanica i tkiva, i funkciji imunološkog sustava. GDF-15 je ligand GFRAL receptora lociranog u moždanom deblu. Osim vezanja GDF-15, za aktivaciju GFRAL potreban je i RET koreceptor (168). Aktivacija ovog signalnog puta ima ulogu u supresiji apetita i razvoju anoreksije i kaheksije u kroničnim i malignim bolestima, a također predstavlja obećavajuću metu daljnjih istraživanja mogućih terapija metaboličkog sindroma i pretilosti.

### **1.2.2. GDF-15 u upalnim bolestima crijeva**

Do sada je tek nekoliko studija istraživalo povezanost GDF-15 s upalnim bolestima crijeva. Češki autori uspoređivali su serumske koncentracije GDF-15 u pacijenata s teškim oblicima upalnih bolesti crijeva koji su primali biološku terapiju i kontrolne skupine zdravih ljudi. Njihovo istraživanje utvrdilo je više koncentracije GDF-15 i u pacijenata s Crohnovom bolesti i onih s ulceroznim kolitisom u odnosu na kontrolnu skupinu. Korelacijska analiza u ovoj studiji također je utvrdila značajnu povezanost serumskih koncentracija GDF-15 i dobi pacijenata te koncentracija fibrinogena i IL-6 (169). Druga studija istraživala je sarkopeniju u pacijenata s Crohnovom bolesti. Pokazalo se kako su u pacijenata s Crohnovom bolesti više razine GDF-15 povezane s većim rizikom od razvoja sarkopenije, najvjerojatnije uslijed efekta na supresiju apetita putem GFRAL receptora (170). Ramasamy i sur. istraživali su parametre hematopoeze i hemostaze željeza, kao i GDF-15 u pacijenata s ulceroznim kolitisom, no u ovoj studiji nisu utvrđene razlike u serumskim koncentracijama GDF-15 između skupine pacijenata s ulceroznim kolitisom i kontrolne skupine zdravih ljudi (171).

### **1.2.3. Uloga GDF-15 u drugim bolestima**

Istraživanja na GDF-15 knockout miševima utvrdila su progresivne postnatalne neurološke deficite, što sugerira trofičku ulogu GDF-15 u funkciji motornih i senzornih neurona (172). Serumske koncentracije GDF-15 značajno rastu u trudnoći, te dosežu najveću koncentraciju početkom trećeg tromjesečja. Najveću ekspresiju ovog faktora nalazimo u placenti i fetalnoj membrani. Niže razine GDF-15 tijekom prvog tromjesečja trudnoće povezane su s većim rizikom spontanog pobačaja uslijed nedostatne ekstravilozne invazije trofoblasta. Studija na GDF-15 knockout miševima pokazala je iste rezultate, što ukazuje na moguću ulogu suplementacije GDF-15 u trudnica s višestrukim ranim spontananim pobačajima u anamnezi. Istraživanja su pokazala ulogu GDF-15 u patogenezi hyperemesis gravidarum koja se javlja u oko 2% trudnica (172-175).

Primjena rekombinantnog GDF-15 dovodi do poboljšanja glukoregulacije i redukcije tjelesne težine u miševa (176). Neki lijekovi mogu dovesti do porasta razine GDF-15, a jedan od njih je metformin. Upotreba metformina povezana je s redukcijom tjelesne težine i poboljšanjem metaboličkog profila. Istraživanja na miševima pokazala su porast razine GDF nakon primjene metformina i povoljan efekt na redukciju tjelesne težine. U GFRAL knockout miševa nije bilo

promjena na tjelesnoj težini nakon primjene metformina što dodatno ukazuje na važnost ovog receptora na metabolizam (177,178). Serumske koncentracije GDF-15 više su u pretilih pacijenata s dijabetesom, u usporedbi s pretilim pacijentima koji nisu imali dijabetes (174). Također, koncentracije GDF-15 pokazale su se kao prediktor razvoja intolerancije glukoze i inzulinske rezistencije (179). Dosadašnja istraživanja na GLP-1 agonistima nisu pokazala razlike u serumskim koncentracijama GDF-15 nakon primjene liraglutida u odnosu na placebo. Rezultati ovog istraživanja sugeriraju da GLP-1 agonisti svoj učinak na supresiju apetita ostvaruju putem drugih signalnih puteva koji ne uključuju GDF-15 (180-181).

Porast serumske koncentracije GDF-15 povezan je s brojnim bolestima, no najveći porast viđa se u uznapredovalim malignim bolestima i terminalnoj fazi drugih kroničnih bolesti, kao što su kronična bubrežna bolest, srčano popuštanje i kronična opstruktivna plućna bolest. Ova stanja u pravilu su karakterizirana i kaheksijom, što bi mogla biti posljedica značajno većih koncentracija GDF-15 (182-184). U pacijenata s kroničnom bubrežnom bolesti, više razine serumskog GDF-15 bile su povezane s većim rizikom od progresije bubrežne bolesti, i koreliraju s intrarenalnom ekspresijom GDF-15. Povećane koncentracije serumskog GDF-15 povezane su s većim rizikom od razvoja kronične bubrežne bolesti, kao i progresije u različitim bolestima koje zahvaćaju bubrege, kao što su dijabetička nefropatija, IgA nefropatija, lupus nefritis, amiloidoza, primarna membranska nefropatija i stanje nakon transplantacije bubrega. U modelima unilateralnog akutnog bubrežnog zatajenja GDF-15 se pokazao kao rani indikator pogoršanja bubrežne funkcije. Porast GDF-15 zabilježen je u ranoj fazi razvoja bubrežnog zatajenja dok su parametri bubrežne funkcije još bili u granicama normale. Povišene koncentracije GDF-15 u ovom slučaju najvjerojatnije su posljedica oksidativnog stresa i hipoksičnog oštećenja proksimalnog tubula. Ovi podaci ukazuju na moguću primjenu GDF-15 kao ranog markera oštećenja proksimalnog tubula bubrega (185-187). Više razine serumskog GDF-15 povezane su i s nizom plućnih bolesti. GDF-15 predstavlja potencijalni biomarker u kroničnoj opstruktivnoj plućnoj bolesti, plućnoj fibrozi i plućnoj hipertenziji kao prediktor težine bolesti te pogoršanja plućne funkcije i mortaliteta (188,189).

Uloga GDF-15 u ljudskom organizmu do sada je najviše istraživana u sklopu studija na pacijentima s kardiovaskularnim bolestima. U kineskoj studiji pacijenata s koronarnom bolesti srca, povišene razine GDF-15 bile su povezane s većim rizikom od kardiovaskularne smrti, krvarenja i srčanog popuštanja, ali ne i tromboze (190). Pacijenti s fibrilacijom atrijske s srčanog popuštanja, ali ne i tromboze (190). Pacijenti s fibrilacijom atrijske s povećanim

koncentracijama GDF-15 imali su veći rizik od krvarenja, tromboze i smrti uslijed srčanog popuštanja ili krvarenja. U hospitaliziranih pacijenata s akutnom dekompenzacijom srčanog popuštanja, veće razine GDF-15 bile su povezane s većim rizikom od rehospitalizacije i većim mortalitetom, a prognostička vrijednost je rasla u kombinaciji s drugim markerima kao što su troponin i BNP (191). U studiji na pacijentima s infarktomiokarda s ST-elevacijom pokazalo se da serumska koncentracija GDF-15 doseže vršnu vrijednost nakon otprilike 12 sati i ostaje povišena 24 sata. Povišene serumske koncentracije GDF-15 više od 24 sata nakon infarkta bile su povezane s većim rizikom od smrtnog ishoda unutar idućih 30 dana. Također, više serumske koncentracije GDF-15 ile su povezane s većim rizikom ventrikularnog remodeliranja i dilatacije unutar godinu dana. U pacijenata sa srčanim zatajenjem pokazalo se da su serumske koncentracije GDF-15 povišene i u skupini sa srčanim zatajenjem s reduciranom e젝cijskom frakcijom i u onih s očuvanom e젝cijskom frakcijom. U pacijenata sa kroničnom koronarnom bolesti, povišene serumske koncentracije GDF-15 bile su povezane s većim rizikom od smrti uslijed kardiovaskularnih uzroka, iznenadne srčane smrti ili hospitalizacije zbog srčanog zatajenja. Rezultati ovih studija ukazuju na mogućnost potencijalne primjene GDF-15 kao prognostičkog biomarkera za procjenu rizika od srčanog zatajenja, krvarenja ili smrti uslijed kardiovaskularnih uzroka (192-195). Povišene serumske koncentracije GDF-15 tijekom hospitalizacije u pacijenata s ishemijskim moždanim udarom povezane su s većim rizikom od smrti, ponovnog moždanog udara ili drugih kardiovaskularnih komplikacija unutar iduća 3 mjeseca (196).

Čini se da GDF-15 ima ulogu u procesu starenja i razvoju bolesti koje se uglavnom pojavljuju u starijoj životnoj dobi. Proces starenja povezan je s disfunkcijom imunološkog sustava i razvojem kronične upale niskog intenziteta. Razine GDF-15 negativno su povezane s parametrima starenja, kao što su duljina telomera i aktivnost telomerase, te bi ovaj faktor mogao biti potencijalni biomarker starenja. Povišene koncentracije serumskog GDF-15 povezane su s lošijim općim stanjem i multimorbiditetom u starijih ljudi. Potrebna su dodatna istraživanja kako bi se rasvijetlila uloga GDF-15 u bolestima povezanim s procesom starenja (197,198). Ateroskleroza je također povezana s porastom koncentracije GDF-15, koja raste s progresijom aterosklerotskog procesa. GDF-15 bi mogao imati protektivan učinak na razvoj ateroskleroze inhibicijom migracije upalnih stanica (199). Više razine serumskog GDF-15 povezane su i s lošijim nalazima brahijalnog indeksa gležnja i MSCT koronarografije što ukazuje na činjenicu da ne samo da je GDF-15 biomarker upale u ljudskom organizmu, već i da može biti potencijalni rani

prognostički čimbenik u pacijenata s asimptomatskom aterosklerozom, osobito u starijih osoba s kroničnom sustavnom upalom povezanom sa starenjem (200).

## **2. CILJ ISTRAŽIVANJA**



Cilj istraživanja

Glavni cilj istraživanja:

1. Usporediti serumske koncentracije GDF-15 između bolesnika s upalnim bolestima crijeva i zdravih kontrola

Sporedni ciljevi istraživanja su:

1. Ispitati povezanost serumske koncentracije GDF-15 i drugih kliničkih, antropometrijskih i laboratorijskih pokazatelja u pacijenata s upalnim bolestima crijeva

Hipoteze istraživanja su sljedeće:

1. Serumske koncentracije GDF-15 bit će veće u pacijenata koji boluju od upalnih bolesti crijeva nego u kontrolnoj skupini zdravih osoba istih dobno-spolnih i antropoloških karakteristika
2. Postoji korelacija između koncentracije GDF-15 i drugih kliničkih, antropometrijskih i laboratorijskih pokazatelja u pacijenata s upalnim bolestima crijeva

### **3. ISPITANICI I POSTUPCI**

### **3.1. Etička načela**

Istraživanje je provedeno u Laboratoriju za kardiometabolička istraživanja Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu i Zavodu za gastroenterologiju KBC Split. Istraživanje je provedeno u skladu s etičkim načelima sukladno Helsinškoj deklaraciji, kao i načelima dobre kliničke prakse. Etičko odobrenje za ovo istraživanje dalo je Etičko povjerenstvo KBC Split: Ur.br: 2181-147/01/06/M.S.-21-02. Prije uključivanja u istraživanje, svi sudionici bili su informirani o ciljevima, postupcima i tijeku istraživanja te su potpisali informirani pristanak.

### **3.2. Ispitanici**

U istraživanje je uključeno 90 pacijenata s upalnim bolestima crijeva, od toga 42 s ulceroznim kolitisom i 48 s Crohnovom bolesti, uz 67 zdravih kontrola usklađenih prema dobi, spolu i antropometrijskim karakteristikama, a pri selekciji istih korišteni su jednaki isključni kriteriji kao i za ispitivanu skupinu.

Kriteriji uključenja bili su: dijagnoza upalne bolesti crijeva u skladu s važećim smjericama Europske organizacije za Crohnovu bolest i kolitis (ECCO) (201), i Europskog društva za gastrointestinalnu i abdominalnu radiologiju (202,203), trajanje bolesti od minimalno 1 godine i stabilna aktivnost bolesti u zadnja 3 mjeseca.

Kriteriji isključenja bili su: dob <18 ili >65 godina, utvrđena kardiovaskularna ili cerebrovaskularna bolest (srčano zatajenje, infarkt miokarda, moždani udar, periferna arterijska bolest); značajna jetrena, bubrežna ili plućna bolest u anamnezi; šećerna bolest; arterijska hipertenzija; druge autoimune/kronične upalne bolesti (osim upalne bolesti crijeva); maligne bolesti u anamnezi; upotreba kortikosteroida u zadnja 3 mjeseca, akutna upala.

### **3.3. Klinički i laboratorijski postupci**

Svi ispitanici su podvrgnuti fizikalnom pregledu i uzeta im je iscrpna anamneza. Za mjerenje visine korištena je kalibrirana medicinska vaga s integriranim visinomjerom (Seca, Birmingham, UK). Indeks tjelesne mase je izračunat dijeljenjem vrijednosti tjelesne mase (kg) i kvadrata visine (m<sup>2</sup>). Opseg struka i bokova izmjeren je u standardnim položajima pomoću trake za mjerenje opsega. Mjerenje arterijskog tlaka provedeno je u sjedećem položaju, u skladu s

principima navedenim u važećim smjernicama za liječenje arterijske hipertenzije. Uzorci krvi za analizu uzeti su ujutro natašte od strane iskusnog laboratorijskog tehničara. Uzorkovana krv bila je odmah analizirana, ili alikvotirana i zamrznuta za kasniju obradu. Koncentracije serumskog GDF-15 analizirane su elektroluminescentnim imunoesejem na Cobas e8000 analizatoru (Elecsys, Roche Diagnostics). Prijavljena osjetljivost testa za GDF-15 bila je 400 pg/ml s linearnim rasponom od 400-20,000 pg/ml. Koeficijent varijabilnosti između testova bio je 5%. Koncentracije fekalnog kalprotektina mjerene su turbidimetrijskom metodom (Beckman Coulter AU 680). Prijavljena osjetljivost testa za fekalni kalprotektin bila je 15 µg/g, s linearnim rasponom od 20-1500 µg/g, i koeficijentom varijabilnosti <20%. Ostale biokemijski testovi provedeni su koristeći standardne laboratorijske metode. Sve uzorke krvi analizirao je iskusni biokemičar zaslijepljen s obzirom na pripadnost ispitivanoj skupini, koristeći standardne operativne postupke u istom certificiranom institucionalnom biokemijskom laboratoriju.

Aktivnost bolesti procjenjivala su 2 neovisna specijalista gastroenterologije uže specijalizirana za upalne bolesti crijeva, koristeći etablirane kliničke i endoskopske bodovne sustave. U slučaju različitih mišljenja između 2 stručnjaka, postignut je konsenzus.

Za procjenu aktivnosti Crohnove bolesti korišteni su jednostavni endoskopski sustav za Crohnovu bolest (SES-CD) (204), i indeks aktivnosti Crohnove bolesti (CAI) (205).

SES-CD sustav temelji se na procjeni i klasifikaciji prisutnosti i veličine ulkusa sluznice, ulcerirane površine, površine zahvaćene upalnim procesom i prisutnosti eventualnih stenoza. S obzirom na prisutnost i veličinu ulkusa, ulkusi veličine do 0,5 cm boduju se s 1 bodom, ulkusi veličine od 0,5 do 2 cm s 2 boda, a ulkusi veličine preko 2 cm s 3 boda. S obzirom na površinu zahvaćene sluznice, ukoliko je upalnim procesom zahvaćeno manje od 50% ukupne površine, boduje se s 1 bodom. Od 50-75% zahvaćene sluznice boduje se s 2 boda, a preko 75% zahvaćene sluznice boduje se s 3 boda. Što se tiče stenoza, ukoliko se endoskopskim pregledom utvrdi jedna stenozu koju se može proći endoskopom to se boduje s 1 bodom, a prisutnost multiplih stenoza koje se mogu proći endoskopom boduje se s 2 boda. Prisutnost stenoze koja se ne može proći endoskopom boduje se s 3 boda. Zbrajanjem bodova ovih komponenti dobije se konačan zbroj koji se koristi za procjenu aktivnosti bolesti. Zbroj od 0-2 boda označava remisiju bolesti, zbroj od 3-6 bodova označava blagu aktivnost bolesti, od 7-15 bodova umjerenu aktivnost bolesti, a >15 bodova teški oblik bolesti.

CDAI sustav uključuje evaluaciju niza kliničkih i laboratorijskih parametara – broj stolica u danu, abdominalni bolovi (bodovani od 0-3 ovisno o jačini bolova), opće stanje pacijenta (bodovano od 0-4 pri čemu 0 označava dobro opće stanje, a 4 vrlo loše opće stanje), prisutnost eventualnih komplikacija bolesti (za svaki set komplikacija dodjeljuje se po jedan bod), potreba za korištenjem lijekova protiv proljeva, prisutnost palpabilnih tvorbi u abdomenu (2 boda za suspektnu tvorbu i 5 bodova za definitivno utvrđenu tvorbu), kaheksija i anemija. Svako od ovih komponenti dodijeljen je koeficijent kojim se množe bodovi, a ukupni zbroj nakon množenja koeficijentom označava konačni rezultat. Zbroj <150 bodova označava remisiju bolesti, a teški oblik bolesti definiran je zbrojem >450 bodova.

Za pacijente s ulceroznim kolitisom, korišten je Mayo indeks aktivnosti (Mayo/DAI) (206) i endoskopski indeks težine bolesti za ulcerozni kolitis (UCEIS) (207).

Mayo indeks aktivnosti ulceroznog kolitisa uključuje procjenu broja stolica u danu, prisutnosti i klasifikaciji rektalnog krvarenja, endoskopskom nalazu i subjektivnoj procjeni liječnika ordinarijusa. S obzirom na broj stolica u danu, uobičajeni broj stolica u danu boduje se s 0 bodova. Jedna do dvije stolice dnevno više od uobičajenog boduje se s 1 bodom. Tri do četiri stolice dnevno više od uobičajenog boduje se s 2 boda, a preko pet stolica dnevno više od uobičajenog boduje se s 3 boda. Što se tiče rektalnog krvarenja, ukoliko ga uopće nema to se boduje s 0 bodova. Ukoliko pacijent primjećuje tragove krvi u <50% stolica to se boduje s 1 bodom. Ukoliko pacijent primjećuje krv u većini stolica boduje se s 2 boda, a obilnije krvarenje boduje se s 3 boda. S obzirom na endoskopski nalaz, normalan nalaz sluznice boduje se s 0 bodova. Blagi kolitis karakteriziran eritematoznom i ranjivom sluznicom te smanjenom vaskularizacijom boduje se s 1 bodom. Umjereni kolitis karakteriziran značajnim eritemom i ranjivosti sluznice, izostankom vaskularnog crteža sluznice te prisutnosti erozija boduje se s 2 boda. Teški kolitis s ulceracijama i spontanim krvarenjima boduje se s 3 boda. Liječnikova subjektivna procjena pacijentovog općeg stanja boduje se s 0-3 boda. Normalno stanje boduje se s 0 bodova, blagi kolitis s 1 bodom, umjereni kolitis s 2 boda, a teški kolitis s 3 boda. Nakon zbrajanja bodova navedenih komponenti, ukupni zbroj je u rasponu od 0-12 bodova, pri čemu više bodova označava teži oblik bolesti.

Endoskopski indeks težine ulceroznog kolitisa uključuje evaluaciju vaskularnog crteža sluznice kolona, te prisutnosti eventualnog krvarenja, erozija ili ulkusa sluznice. Normalni vaskularni crtež sluznice boduje se s 0 bodova, djelomični izostanak vaskularnog crteža sluznice

boduje se s 1 bodom, a potpuni izostanak vaskularnog crteža sluznice boduje se s 2 boda. Izostanak krvarenja boduje se s 0 bodova. Blago luminalno krvarenje boduje se s 1 bodom, a umjereno do teško luminalno krvarenje boduje se s 2 boda. Normalna sluznica bez ulkusa ili ulceracija boduje se s 0 bodova. Prisutnost erozija (<5 mm) boduje se s 1 bodom. Prisutnost površinskih ulkusa boduje se s 2 boda, a prisutnost dubokih ulkusa boduje se s 3 boda. Konačan bodovni zbroj ovih komponenti je od 0-8 bodova, pri čemu zbroj od 0-1 boda označava remisiju bolesti, od 2-4 boda blagi oblik bolesti, od 5-6 umjereni oblik bolesti, a zbroj >6 bodova označava teški oblik bolesti.

U skladu s najnovijim preporukama ECCO, endoskopski indeksi su korišteni u procjeni povezanosti koncentracije GDF-15 i težine bolesti, dok su drugi klinički indeksi opisani deskriptivno. Anemija je definirana kao koncentracija Hgb <130 g/l u muškaraca, te Hgb <120 g/l u žena.

### **3.4. Statistički postupci**

Za statističku analizu podataka i grafički prikaz korišteni su MedCalc verzija 20.113 (MedCalc Software BV, Ostend, Belgija) i GraphPad Prism verzija 9.4.1 (GraphPad, La Jolla, CA, USA). Kvalitativni podaci prikazani su kao apsolutni brojevi (n) i postoci (%), dok je hi-kvadrat test ( $\chi^2$ ) korišten za usporedbu kategorijskih varijabli. Kvantitativni podaci su prikazani kao prosjek  $\pm$  standardna devijacija ili medijan i interkvartilni raspon, ovisno o raspodjeli podataka. U skladu s tim, kvantitativne varijable su uspoređivane koristeći t-test ili Mann—Whitney U test. S obzirom na abnormalnu distribuciju glavnog istraživanog parametra, Spearmanov koeficijent korelacije je korišten za utvrđivanje povezanosti GDF-15 i više kliničkih, laboratorijskih i antropometrijskih varijabli. Da bi se utvrdilo da se koncentracije GDF—15 razlikuju između IBD i kontrolne skupine neovisno o mogućim zbunjujućim čimbenicima, provedena je analiza multiple logističke regresije. Kovarijance za navedenu analizu bile su dob, spol, C-reaktivni protein (CRP), koncentracije LDL kolesterola i albumina. Na kraju, analiza multiple linearne regresije provedena je da bi se utvrdilo mogu li serumske koncentracije GDF-15 predvidjeti aktivnost bolesti neovisno o dobi, spolu i razini CRP. Faktor inflacije varijance (VIF) korišten je za detekciju multikolinearnosti u analizi linearne regresije. Statistička značajnost postavljena je na  $P < 0,05$  za sve usporedbe. Veličina uzorka određena je na temelju analize serumskih razina GDF-15 u pilot studiji koja je uključivala 10 bolesnika s IBD-om i 10 kontrolnih ispitanika. Finalni izračun, sa

snagom od 90% i pogreškom tipa I od 0,05, pokazao je da je potrebno 40 ispitanika za otkrivanje značajne razlike u razinama GDF-15 u serumu.

## **4. REZULTATI**



U usporedbi s kontrolnom skupinom, IBD pacijenti su imali veću učestalost IBD u obiteljskoj anamnezi, te manju učestalost kardiovaskularnih bolesti u obiteljskoj anamnezi. Statistički značajne razlike između skupina utvrđene su i u razini albumina ( $P < 0,001$ ), LDL-C ( $P < 0,001$ ), kolesterola ( $P = 0,008$ ), željeza ( $P = 0,009$ ), CRP ( $P < 0,001$ ), tako da su pacijenti s IBD prosječno imali veću razinu CRP, a nižu razinu serumskih albumina, kolesterola, LDL-C i željeza u odnosu na kontrolnu skupinu. Nisu utvrđene statistički značajne razlike u ostalim testiranim parametrima. Navedeni podaci prikazani su u Tablici 1.

Tablica 1. Osnovne karakteristike ispitivane populacije

Parametar	Kontrolna skupina (n=67)	IBD skupina (n=90)	<i>P</i> *
Dob, godine	38,5 ±12,3	41,2 ±15,8	0,195
Muški spol, n (%)	43 (64,2)	53 (58,9)	0,503
Indeks tjelesne mase, kg/m <sup>2</sup>	24,7 ±2,8	23,8 ±4,2	0,070
Omjer struk-bokovi	0,91 ±0,36	0,87 ±0,08	0,368
Hipertenzija, n (%)	1 (1,5)	6 (6,7)	0,122
Dislipidemija, n (%)	2 (3)	7 (7,8)	0,203
IBD u obiteljskoj anamnezi, n (%)	3 (4,5)	16 (17,8)	0,012
CRC u obiteljskoj anamnezi, n (%)	9 (13,4)	17 (18,9)	0,365
CVD u obiteljskoj anamnezi, n (%)	31 (46,3)	29 (32,2)	0,074
Pušenje, n (%)	12 (18,5)	17 (18,9)	0,947
CRP, mg/l	0,7 (0,4-1,6)	1,6 (0,7-3,8)	<0,001
Serumsko željezo, µmol/L	18,1 ±6,7	15,2 ±7,8	0,009
Albumin, g/L	43,9 ±2,5	40,4 ±4,9	<0,001
Serumski urati, mmol/l	296,1 ±76,0	275,5 ±70,9	0,064
Glukoza natašte, mmol/l	5,1 ±0,7	5,2 ±1,6	0,691
Ukupni kolesterol, mmol/l	5,2 ±1,2	4,7 ±1,3	0,008
LDL-C, mmol/l	3,3 ±1,1	2,7 ±1,1	<0,001
HDL-C, mmol/l	1,4 ±0,3	1,4 ±0,4	0,409
Trigliceridi, mmol/l	1,2 ±0,6	1,4 ±1,1	0,158

Podaci su prikazani kao prosjek  $\pm$  SD, medijan (IQR) ili n (%). \*t-test, Mann-Whitney U test ili hi kvadrat test. Kratice: CRC kolorektalni karcinom (engl. *colorectal carcinoma*), CVD kardiovaskularne bolesti (engl. *cardiovascular disease*), HDL-C lipoprotein visoke gustoće (engl. *high density lipoprotein cholesterol*), IBD upalne bolesti crijeva (engl. *inflammatory bowel disease*), LDL-C lipoprotein niske gustoće (engl. *low density lipoprotein cholesterol*)

U usporedbi s pacijentima oboljelim od ulceroznog kolitisa, pacijenti s Crohnovom bolesti češće su bili pušači ( $P < 0,001$ ), imali ekstraintestinalne manifestacije bolesti ( $P < 0,001$ ) i imali više operativnih zahvata uslijed IBD u prošlosti ( $P < 0,001$ ). Također, pacijenti s CB imali su veće koncentracije fekalnog kalprotektina (FK) ( $P = 0,009$ ), ali niže koncentracije albumina ( $P < 0,001$ ), ukupnog kolesterola ( $P = 0,005$ ), LDL-kolesterola ( $P < 0,001$ ) i HDL kolesterola ( $P = 0,045$ ). Usporedba relevantnih osnovnih karakteristika, laboratorijskih parametara i karakteristika bolesti između pacijenata s UC i CB navedena je u Tablici 2.

Tablica 2. Osnovne antropometrijske karakteristike i karakteristike bolesti u skupinama pacijenata s Crohnovom bolesti i ulceroznim kolitisom

Parametar	Crohnova bolest (n=48)	Ulcerozni kolitis (n=42)	<i>P</i> *
Osnovne karakteristike			
Dob, godine	40,7 $\pm$ 16,0	42,7 $\pm$ 15,9	0,567
Muški spol, n (%)	31 (64,6)	22 (52,4)	0,243
Indeks tjelesne mase, kg/m <sup>2</sup>	23,2 $\pm$ 3,6	23,9 $\pm$ 4,9	0,459
Omjer struk-bokovi	0,86 $\pm$ 0,08	0,86 $\pm$ 0,08	0,495
Hipertenzija, n (%)	2 (4,2)	4 (9,5)	0,312
Dislipidemija, n (%)	3 (6,2)	4 (9,5)	0,565
IBD u obiteljskoj anamnezi, n (%)	10 (20,8)	6 (14,3)	0,420
CRC u obiteljskoj anamnezi, n (%)	10 (20,8)	7 (16,7)	0,616
CVD u obiteljskoj anamnezi, n (%)	12 (28,6)	17 (35,4)	0,491
Pušenje, n (%)	16 (33,3)	1 (2,4)	<0,001
Laboratorijski parametri			

C-reaktivni protein, mg/l	1,9 (0,6-7,6)	1,4 (0,8-2,2)	0,153
Serumsko željezo, $\mu\text{mol/L}$	14,6 $\pm$ 7,6	16,5 $\pm$ 7,9	0,247
Albumin, g/l	39,5 $\pm$ 5,5	41,6 $\pm$ 3,6	0,018
Glukoza natašte, mmol/l	4,9 $\pm$ 0,8	5,6 $\pm$ 2,5	0,100
Ukupni kolesterol, mmol/l	4,4 $\pm$ 1,2	5,1 $\pm$ 1,3	0,005
LDL-C, mmol/l	2,3 $\pm$ 0,9	3,1 $\pm$ 1,1	<0,001
HDL-C, mmol/l	1,3 $\pm$ 0,4	1,4 $\pm$ 0,4	0,045
Trigliceridi, mmol/l	1,7 $\pm$ 1,5	1,2 $\pm$ 0,7	0,079
Karakteristike bolesti			
Trajanje bolesti, godine	7 (3-14)	9 (5-13)	0,397
Kirurški zahvati zbog IBD, n (%)	20 (41,7)	0 (0)	<0,001
Ekstraintestinalne manifestacije, n (%)	27 (56,3)	7 (16,7)	<0,001
SES-CD	10 (5-13)	np	np
CDAI	55 (34-84)	np	np
UCEIS	np	5,0 (1,5-6,5)	np
Mayo/DAI	np	3 (2-5)	np
Fekalni kalprotektin, $\mu\text{g/g}$	232 (80-589)	85 (10-246)	0,009
Terapija, n (%)			
Aminosalicilati	22 (45,8)	23 (54,8)	0,421
DMARD	18 (37,5)	17 (40,5)	0,826
Monoklonska protutijela	36 (75,0)	32 (76,2)	0,896

Podaci su prikazani kao prosjek  $\pm$  SD, medijan (IQR) ili n (%). \*t-test, Mann-Whitney U test ili hi kvadrat test. Kratice: CDAI indeks aktivnosti Crohnove bolesti, CRC kolorektalni karcinom (engl. *colorectal carcinoma*), CVD kardiovaskularne bolesti (engl. *cardiovascular disease*), DMARD antireumatici koji modificiraju tijek bolesti (engl. *disease-modifying anti-rheumatic drugs*), HDL-c lipoprotein visoke gustoće (engl. *high density lipoprotein cholesterol*), IBD upalne bolesti crijeva (engl. *inflammatory bowel disease*), LDL-c lipoprotein niske gustoće (engl. *low density lipoprotein cholesterol*); Mayo/DAI Mayo indeks aktivnosti bolesti, SES-CD jednostavni endoskopski indeks aktivnosti Crohnove bolesti (engl. *simple endoscopic score for Crohn's disease*); UCEIS endoskopski indeks težine ulceroznog kolitisa (engl. *ulcerative colitis endoscopic index of severity*)

Serumske koncentracije GDF-15 bile su značajno povišene u pacijenata s IBD u usporedbi s kontrolnom skupinom zdravih pacijenata slične dobi i spola [prosječno 800 pg/ml (512-1154 pg/ml) u IBD skupini naspram 412 pg/ml (407-424 pg/ml) u kontrolnoj skupini,  $P < 0,001$ ]. Štoviše, analiza multiple logističke regresije pokazala je da je serumska koncentracija GDF-15 prediktor prisutnosti IBD neovisno o dobi, spolu, ili razinama CRP, albumina ili LDL (OR 1,17 (95% CI 1,05–1,19),  $P < 0,001$ ). Serumske koncentracije GDF-15 nisu se značajno razlikovale između pacijenata s CB i UC, a navedeni podaci prikazani su u Tablici 3.

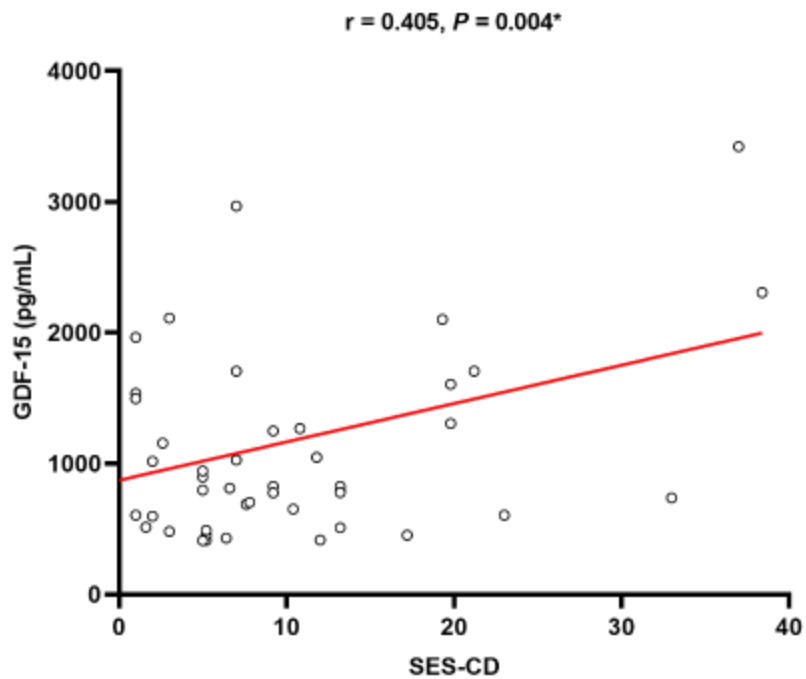
Tablica 3. Usporedba serumske koncentracije GDF-15 između ispitivanih skupina

Parametar	Ispitivane skupine		$P^*$
GDF-15, pg/ml	Kontrolna skupina (n=67)	IBD skupina (n=90)	<0,001
	412 (407-424)	800 (512-1154)	
	Crohnova bolest (n=48)	Ulcerozni kolitis (n=42)	0,324
	807 (554-1451)	790 (509-956)	

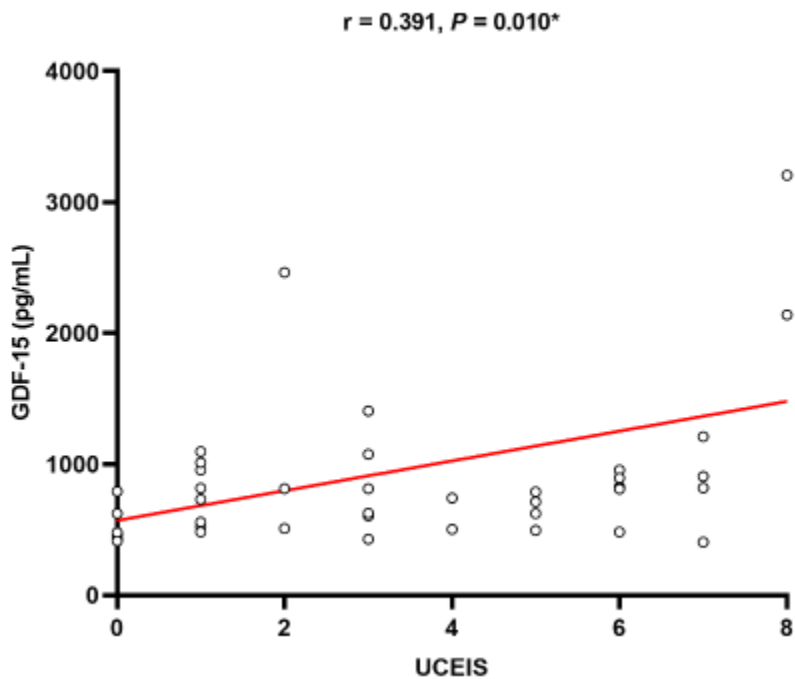
Podaci su prikazani u obliku medijana (interkvartilni raspon). Kratice: GDF-15: faktor rasta i diferencijacije 15 (engl. *growth-differentiation factor-15*); IBD: upalne bolesti crijeva (engl. *inflammatory bowel disease*).

\*Mann-Whitney U test

Utvrđena je značajna povezanost između serumskih koncentracija GDF-15 i endoskopskih indeksa aktivnosti IBD. U pacijenata s CB pokazalo se da serumske koncentracije GDF-15 koreliraju sa SES-CD indeksom ( $r = 0,405$ ,  $P = 0,004$ ) (Slika 1.), dok u pacijenata s UC koreliraju s UCEIS indeksom ( $r = 0,391$ ,  $P = 0,010$ ) (Slika 2.).

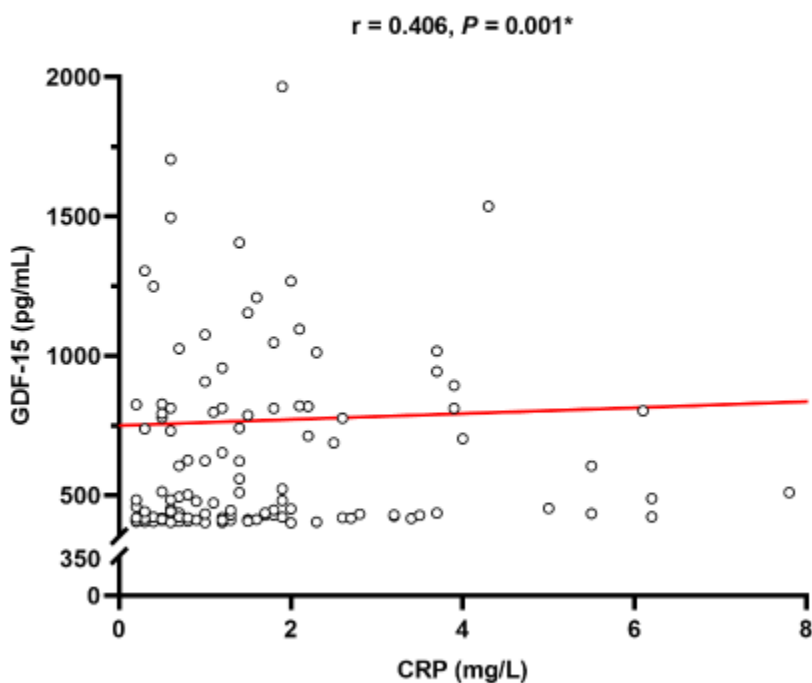


Slika 1. Korelacija serumskih koncentracija GDF-15 i SES-CD u pacijenata s Crohnovom bolesti. Kratice: GDF-15: faktor rasta i diferencijacije 15; SES-CD: jednostavni endoskopski indeks aktivnosti Crohnove bolesti. \*Spearmanov koeficijent korelacije



Slika 2. Korelacija serumske koncentracije GDF-15 i UCEIS u pacijenata s ulceroznim kolitisom. Kratice: GDF-15: faktor rasta i diferencijacije 15, UCEIS: endoskopski indeks težine ulceroznog kolitisa. \*Spearmanov koeficijent korelacije

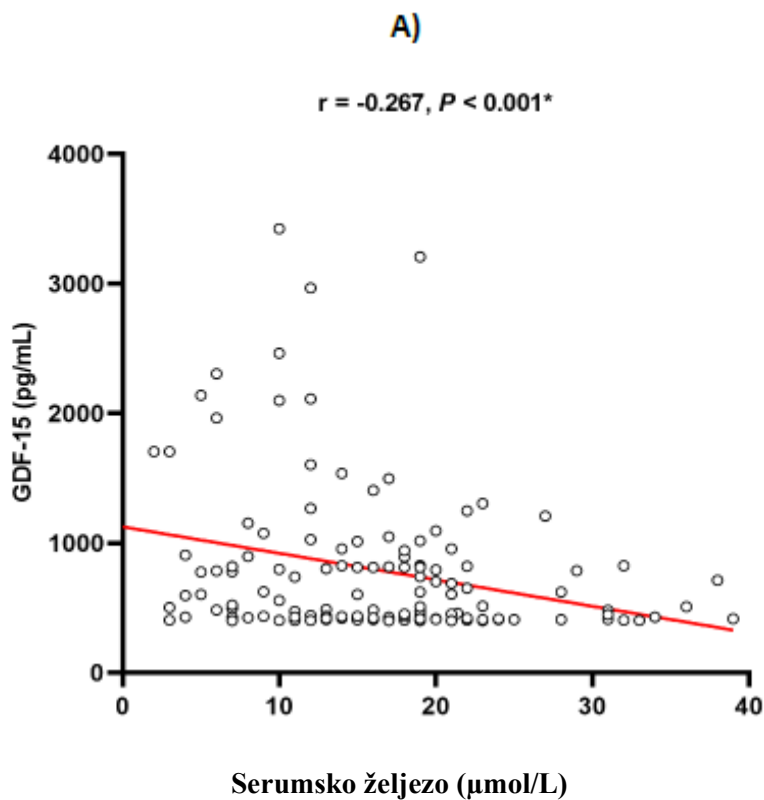
Utvrđena je umjerena pozitivna korelacija između CRP i GDF-15 u ukupnoj ispitanoj populaciji ( $r = 0,406$ ,  $P < 0,001$ ) (Slika 3.). Također vrijedi napomenuti da je analiza multiple linearne regresije utvrdila da serumske koncentracije GDF-15 mogu predvidjeti težinu bolesti u pacijenata s CB i UC neovisno o dobi, spolu i razini serumskog CRP ( $P = 0,016$  i  $P = 0,049$ ).

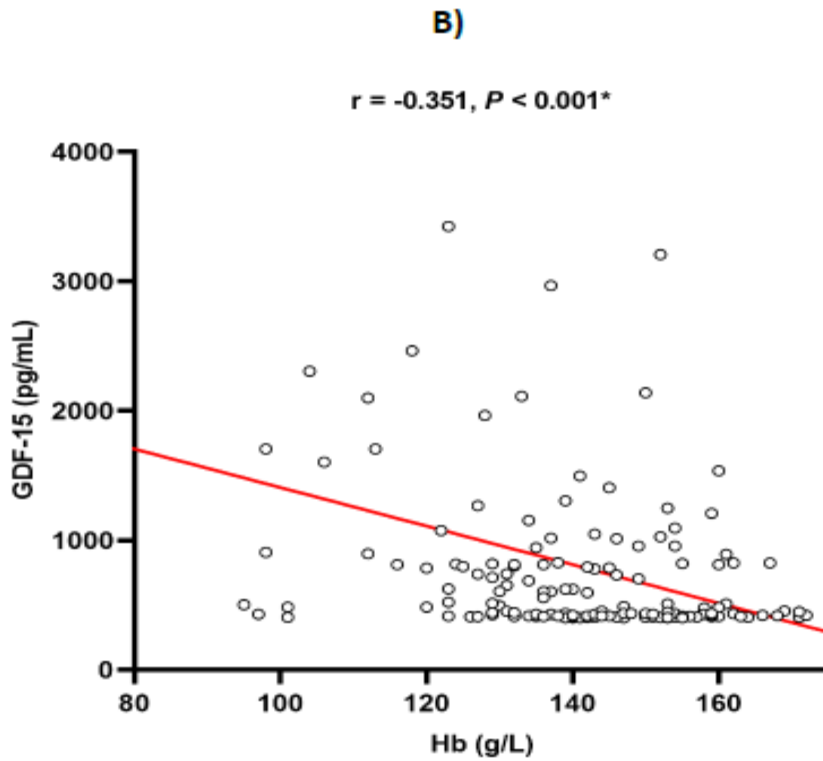


Slika 3. Korelacija serumske koncentracije GDF-15 i CRP u ukupnoj ispitanoj populaciji. Kratice: GDF-15: faktor rasta i diferencijacije 15; CRP: C-reaktivni protein. \* Spearmanov koeficijent korelacije

Utvrđena je negativna korelacija između serumskih koncentracija GDF-15 i serumskog željeza ( $r = -0,248$ ,  $P = 0,021$ ), kao i između GDF-15 i hemoglobina ( $r = -0,351$ ,  $P = 0,021$ ). Navedeni podaci prikazani su na Slici 4. Shodno tome, serumske koncentracije GDF-15 bile su više u pacijenata s anemijom, u usporedbi s IBD pacijentima s normalnim razinama hemoglobina (1256 (502–2100)

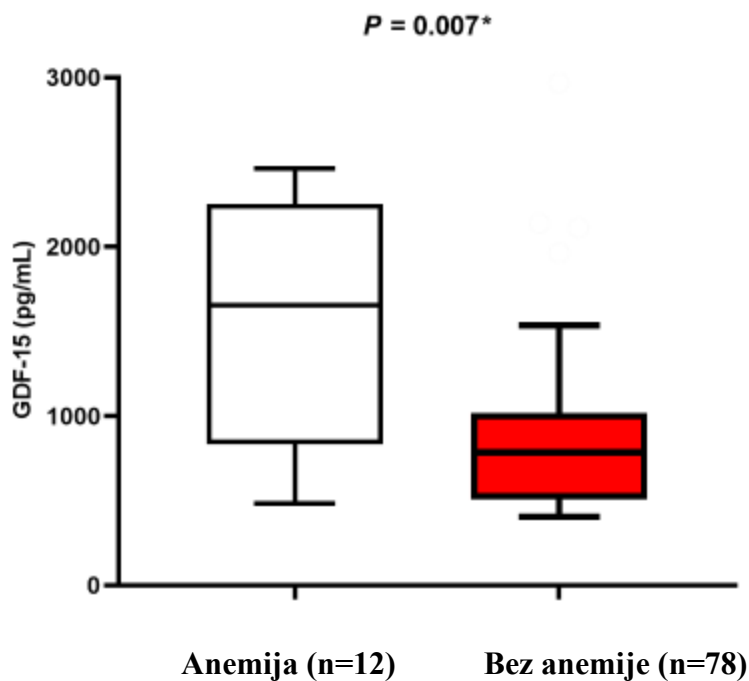
pg/mL i 444 (412–795) pg/mL,  $P < 0.001$  – podaci prikazani na Slici 5.). Međutim, kada su se odvojeno analizirali pacijenti s UC i CB, razlike u koncentracijama GDF-15 s obzirom na prisutnost anemije (859,5 (502–2464) pg/mL vs. 787,0 (531–940,3) pg/mL,  $P = 0,396$ ), kao i korelacije s prethodno navedenim varijablama (serumsko željezo i hemoglobin) nisu bile statistički značajne ( $r = -0,147$ ,  $P = 0,359$  i  $r = 0,003$ ,  $P = 0,984$ ).





Slika 4. Korelacija serumske koncentracije GDF-15 i pokazatelja anemije u ukupnoj ispitanj populaciji. A) Serumske koncentracije željeza B) Hemoglobin. Kratice: GDF-15: faktor rasta i koncentracije 15. \*Spearmanov koeficijent korelacije





Slika 5. Usporedba serumskih koncentracija GDF-15 u IBD pacijenata s obzirom na anemiju. Kratice: GDF-15: faktor rasta i diferencijacije 15; IBD: upalne bolesti crijeva. \* Mann-Whitney U test

Na kraju je urađena analiza korelacije između serumske koncentracije GDF-15 i više antropometrijskih i laboratorijskih varijabli. Negativne korelacije sa serumskim koncentracijama GDF-15 utvrđene su za albumine ( $r = -0,338$ ), ukupni kolesterol ( $r = -0,196$ ) i LDL kolesterol ( $r = -0,216$ ). Rezultati analize prikazani su u Tablici 4.

Tablica 4. Analiza korelacije između serumskih koncentracija GDF-15 i različitih antropometrijskih i laboratorijskih varijabli

Parametar	r-korelacijski koeficijent*	<i>P</i>
Dob	0,117	0,145
Albumini	-0,338	<0,001
Fekalni kalprotektin**	0,143	0,178
Glukoza natašte	0,021	0,796
Ukupni kolesterol	-0,196	0,014
LDL-kolesterol	-0,216	0,007
Omjer struk-bokovi	-0,044	0,584

\*Spearmanov koeficijent korelacije \*\*mjereno samo u pacijenata s IBD. Kratice: IBD: upalne bolesti crijeva; LDL-kolesterol: lipoprotein niske gustoće

Multivarijatnom analizom povezanosti između serumskih koncentracija GDF-15, dobi, spola indeksa tjelesne mase i albumina nije pronađena statistička značajnost. Podaci su prikazani u tablici 5. Slično tome, nije utvrđena statistički značajna povezanost između koncentracije GDF-15, dobi, spola, indeksa tjelesne mase i kolesterola. Podaci su prikazani u Tablici 6.

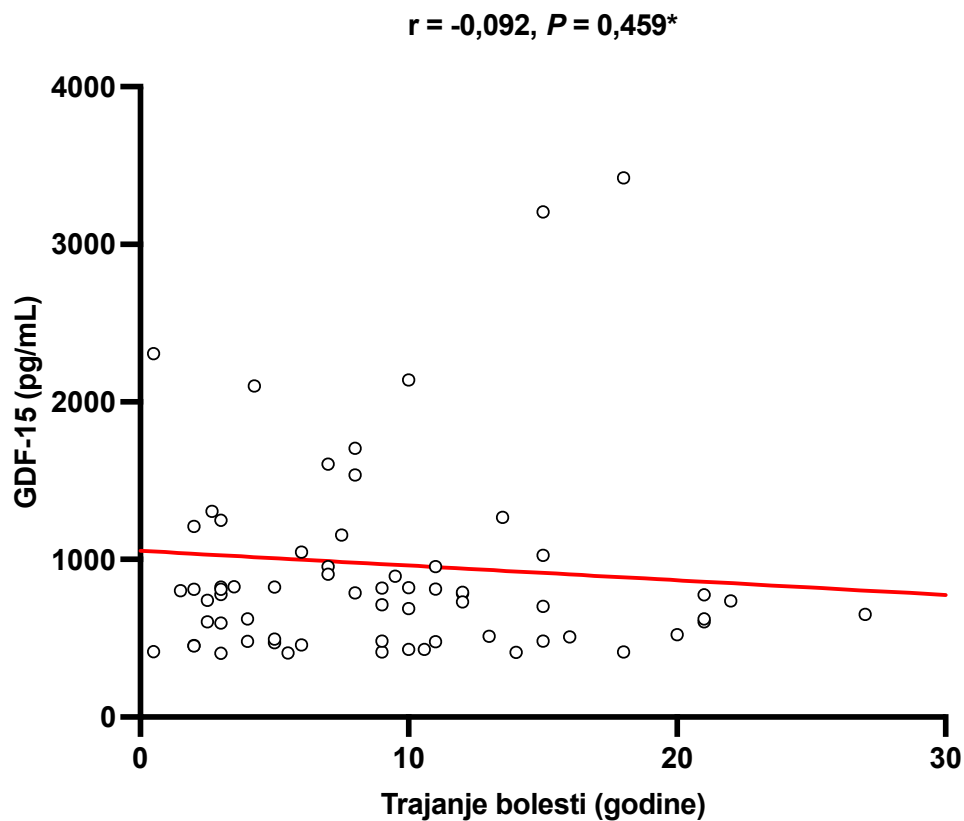
Tablica 5. Multivarijatna analiza povezanosti između serumskih koncentracija GDF-15, dobi, spola, indeksa tjelesne mase i albumina

Parametar	$\beta$ -koeficijent	Standardna pogreška	<i>P</i>
Dob	0,051	6,756	0,666
Spol	6,437	204,878	0,975
ITM	-0,089	25,515	0,445
Albumini	-0,141	23,224	0,199

Tablica 6. Multivarijatna analiza povezanosti između serumskih koncentracija GDF-15, dobi, spola, indeksa tjelesne mase i kolesterola

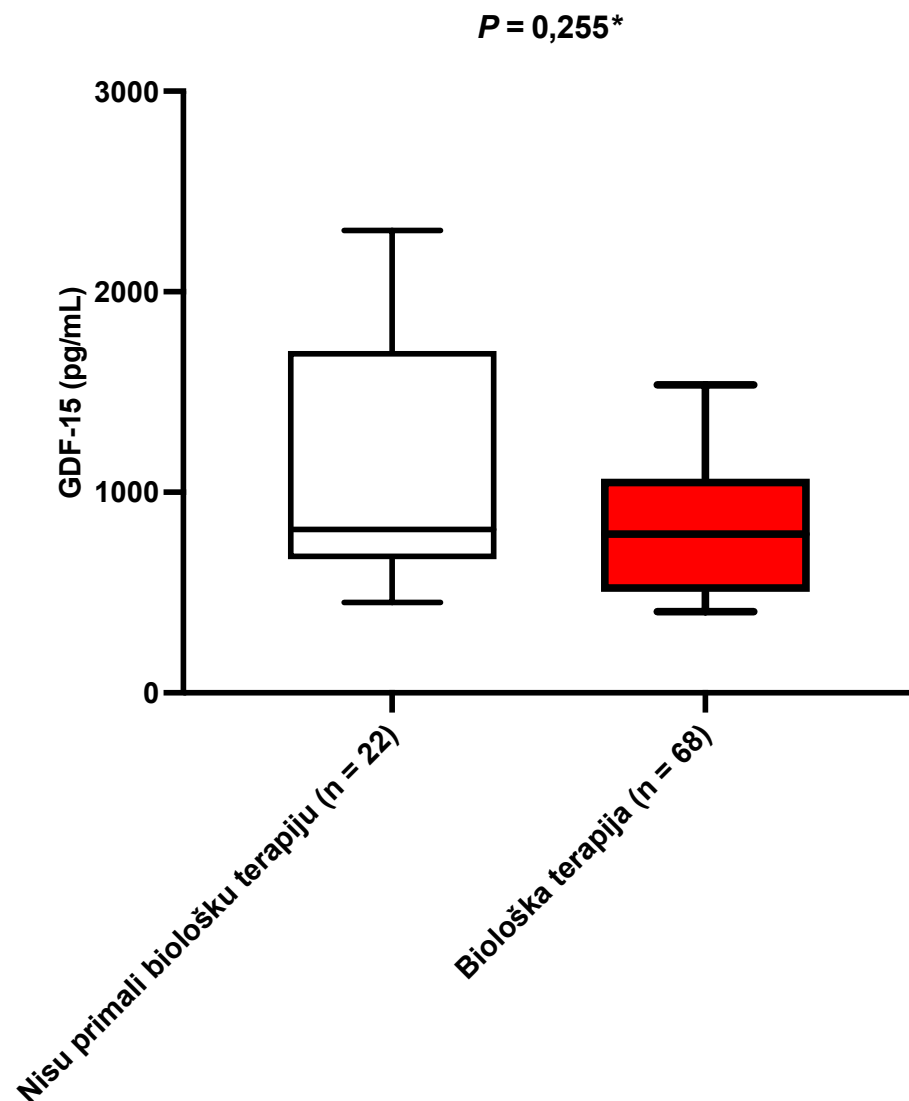
Parametar	$\beta$ -koeficijent	Standardna pogreška	<i>P</i>
Dob	0,145	7,513	0,268
Spol	82,477	205,690	0,689
ITM	-0,073	25,819	0,532
Kolesterol	-0,192	94,536	0,148

Korelacijskom analizom serumskih koncentracija GDF-15 u pacijenata s obzirom na trajanje bolesti nije nađena statistički značajna razlika ( $r = -0,092$ ,  $P = 0,459$ ). Podaci su prikazani na Slici 6.



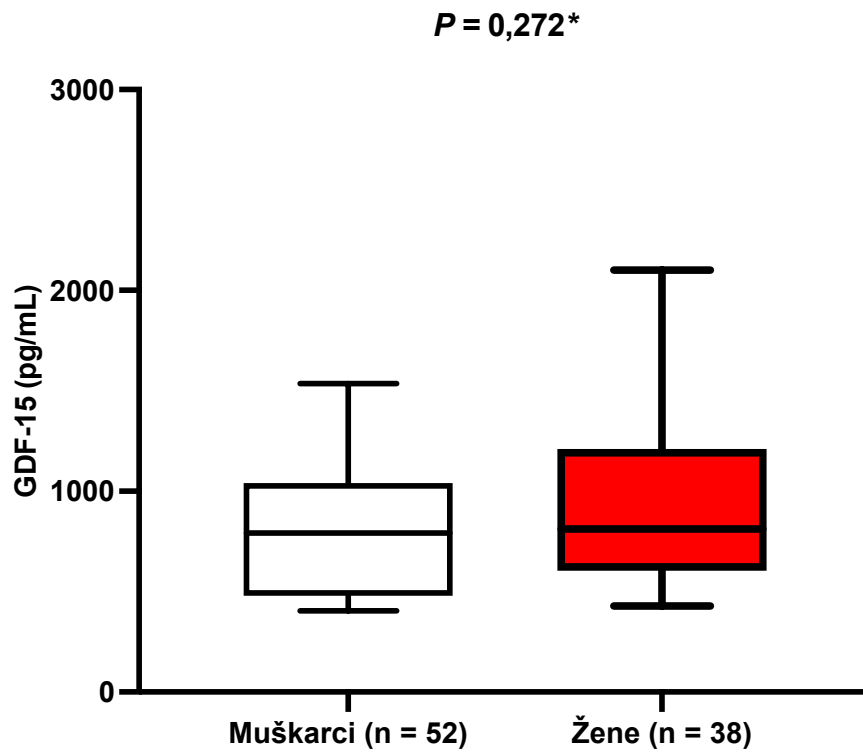
Slika 6. Usporedba serumskih koncentracija GDF-15 u pacijenata s upalnim bolestima crijeva s obzirom na trajanje bolesti. Kratice: GDF-15: faktor rasta i diferencijacije 15 \*Spearmanov koeficijent korelacije

Usporedbom serumskih koncentracija GDF-15 u pacijenata s upalnim bolestima crijeva koji su primali biološku terapiju i onih koji je nisu primali također nije utvrđena statistički značajna razlika ( $P = 0,255$ ). Podaci su prikazani na Slici 7.



Slika 7. Usporedba serumskih koncentracija GDF-15 u pacijenata s upalnim bolestima crijeva koji su primali biološku terapiju i onih koji je nisu primali. Kratice: GDF-15: faktor rasta i diferencijacije 15 \* Mann-Whitney U test

Usporedbom serumskih koncentracija GDF-15 u pacijenata s upalnim bolestima crijeva ovisno o spolu nije utvrđena statistički značajna razlika ( $P = 0,272$ ). Podaci su prikazani na Slici 8.



Slika 8. Usporedba serumskih koncentracija GDF-15 u pacijenata s upalnim bolestima crijeva ovisno o spolu. Kratice: GDF-15: faktor rasta i diferencijacije 15 \* Mann-Whitney U test

## **5. RASPRAVA**

S obzirom da su upalne bolesti crijeva karakterizirane periodima relapsa i remisija te da ih nije moguće izliječiti, već samo uvesti u remisiju, neophodno je doživotno redovito praćenje ovih pacijenata. Stoga su u svakodnevnoj kliničkoj praksi od velike koristi pokazatelji koji bi mogli što ranije detektirati ili predvidjeti relaps bolesti kako bi se liječenje moglo na vrijeme prilagoditi ili intenzivirati, a time bi se izbjegle i moguće dodatne komplikacije koje rezultiraju povećanjem morbiditeta i mortaliteta, te troškova liječenja. U trenutku objavljivanja ovo istraživanje bilo je prvo u kojem su se uspoređivale serumske koncentracije GDF-15 između pacijenata oboljelih od upalnih bolesti crijeva i kontrolne skupine zdravih ljudi odgovarajuće dobi i spola, i jedino u kojem se istraživala povezanost između serumskih koncentracija GDF-15 i težine bolesti.

Ovo istraživanje utvrdilo je statistički značajnu razliku u prosječnim serumskim koncentracijama GDF-15 između pacijenata s upalnim bolestima crijeva i kontrolne skupine zdravih ljudi sličnih karakteristika. Do sada je objavljeno tek nekoliko znanstvenih istraživanja na temu povezanosti serumskih koncentracija GDF-15 i upalnih bolesti crijeva. Yamamoto i suradnici istraživali su sarkopeniju u pacijenata s Crohnovom bolesti (170). Pokazalo se da su serumske koncentracije GDF-15 u pacijenata s niskim indeksom mase skeletnih mišića bile niže u odnosu na pacijente s višim indeksom mišićne mase, čak i nakon evaluacije mogućih zbunjujućih čimbenika. Utvrđena je negativna korelacija između serumske koncentracije GDF-15 i indeksa mišićne mase. Moguće objašnjenje rezultata ovog istraživanja je da GDF-15 ima ulogu u mišićnom katabolizmu direktno i indirektno putem aktivacije GFRAL receptora u moždanom deblu i supresije apetita (181).

U ovom istraživanju nije nađena statistički značajna korelacija između GDF-15 i niskog indeksa mase skeletnih mišića u ispitanica ženskog spola. Ovaj rezultat mogao bi se objasniti činjenicom da je u studiji bilo manje ženskih ispitanica u odnosu na muške. Drugo moguće objašnjenje je da je većina sudionika ove studije bila u tridesetim godinama života, kada su serumske koncentracije GDF-15 generalno više u žena u odnosu na muškarce. Iako je ovo za sada jedino takvo istraživanje, slična istraživanja su urađena na pacijentima s malignim bolestima gdje se pokazalo da GDF-15 ima ulogu u sarkopeniji i katabolizmu u malignim bolestima (182-183). Moguće je da su isti procesi odgovorni za sarkopeniju i u određenim drugim kroničnim bolestima, uključujući upalne bolesti crijeva. Iako navedeno istraživanje nije uključivalo kontrolnu skupinu,

izmjerene serumske koncentracije GDF-15 bile su usporedive s našom skupinom pacijenata s CB, i značajno više nego u kontrolnoj skupini zdravih ljudi.

Rezultati još jedne nedavne studije u suprotnosti su s našima, i nisu pokazali razliku u serumskim koncentracijama GDF-15 između pacijenata s ulceroznim kolitisom i kontrolne skupine zdravih ljudi (171). Najvjerojatniji uzrok razlike u rezultatima je činjenica da je u našoj studiji bilo značajno više pacijenata s teškim oblikom ulceroznog kolitisa (30% prema 10%). S obzirom da je gore navedena studija uključivala kontrolnu skupinu, i da su karakteristike te kontrolne skupine (dob, spol) slične našoj, još jedan mogući uzrok diskrepancije u rezultatima je etnička pripadnost ispitanika. Svi naši ispitanici bili su europskog podrijetla, dok je studija koju su proveli Ramasamy i suradnici uključivala samo indijsku populaciju (171). Još jedno nedavno objavljeno istraživanje pokazalo je više serumske koncentracije GDF-15 u pacijenata s upalnim bolestima crijeva u odnosu na kontrolnu skupinu (169). Rezultati ove studije poklapaju se s našim istraživanjem, iako postoje određene razlike u proučavanoj populaciji. Ova studija uključivala je samo pacijente s teškim oblicima Crohnove bolesti i ulceroznog kolitisa koji su liječeni biološkom terapijom. Također nisu utvrđene značajnije razlike u serumskim koncentracijama GDF-15 između pacijenata s Crohnovom bolesti i ulceroznim kolitisom, što se također poklapa s rezultatima našeg istraživanja. Ova studija dodatno je analizirala povezanost serumske koncentracije GDF-15 i drugih pokazatelja upale, kao što su CRP, leukociti, fibrinogen i IL-6. Koncentracije svih upalnih markera bile su više u IBD pacijenata u odnosu na zdravu populaciju, unatoč tome što su svi IBD pacijenti bili u kliničkoj remisiji u vrijeme uzorkovanja krvi.

Pozitivna korelacija između serumske koncentracije GDF-15 i endoskopskih pokazatelja Crohnove bolesti i ulceroznog kolitisa u skladu je s rezultatima prijašnjih istraživanja na drugim kroničnim bolestima. Više različitih autora utvrdilo je pozitivnu korelaciju između serumske koncentracije GDF-15 i težine bolesti u pacijenata oboljelih od reumatoidnog artritisa (208,211). Brown i suradnici također su pokazali da uključivanje GDF-15 u algoritme može pridonijeti prognozi terapijskog odgovora na transplantaciju matičnih stanica, prisutnost teškog oblika bolesti ili erozije zglobova u pacijenata s reumatoidnim artilisom. Početni rezultati istraživanja u pacijenata sa spondiloartritisom poklapaju se s podacima dobivenim iz studija na pacijentima oboljelim od reumatoidnog artritisa, te je utvrđena umjerena povezanost između GDF-15 i više pokazatelja težine spondiloartritisa (212). Serumaska koncentracija GDF-15 korelira sa stupnjem



oštećenja miokarda u pacijenata s idiopatskom upalnom miopatijom (213). Nažalost, prethodne studije GDF-15 u pacijenata s upalnim bolestima crijeva nisu istraživale povezanost između serumskih koncentracija GDF-15 i težine bolesti. U studiji na pacijentima oboljelim od psorijaze također su utvrđene povišene serumske koncentracije GDF-15 u usporedbi s kontrolnom skupinom zdravih ljudi. Pacijenti s psorijazom bili su podijeljeni u tri skupine; blagi, umjereni i teški oblik bolesti, ovisno o indeksu težine i površine psorijaze (PASI) a koncentracije GDF-15 bile su povišene u sve tri skupine. Povišene koncentracije GDF-15 bile su prediktor visokog PASI indeksa (214). Najčešće korišten biomarker u praćenju pacijenata oboljelih od upalnih bolesti crijeva je CRP, tako da razine serumskog CRP  $<5$  mg/l ukazuju na neaktivnost upalnog procesa.

Con i suradnici ispitivali su razine serumskog CRP u pacijenata s akutnim teškim oblikom ulceroznog kolitisa koji su prethodno primali infliksimab. Unutar godinu dana u petine ovih pacijenata bila je indicirana kolektomija. Zanimljivo je da se razine serumskog CRP na početku studije nisu značajnije razlikovale između pacijenata kod kojih je na kraju bila indicirana kolektomija, i onih kod kojih nije bila indicirana. Nalazi ovog istraživanja ukazuju na potrebu za razvojem novih prediktivnih markera koji bi pouzdanije i specifičnije stratificirali pacijente kako bi se na vrijeme započelo intenzivnije liječenje visokorizičnih pacijenata (215).

S obzirom da se anemija često nalazi u pacijenata oboljelih od upalnih bolesti crijeva, prisutnost viših koncentracija GDF-15 u anemičnih pacijenata, kao i negativne korelacije između GDF-15 i hemoglobina te serumskog željeza su vrijedne pozornosti. Ipak, utvrđivanje kauzalnosti između nekog biomarkera i anemija u pacijenata s upalnim bolestima crijeva je otežano zbog više patofizioloških mehanizama razvoja anemije: anemija uslijed manjka željeza razvija se zbog kroničnog gubitka krvi u upalnim bolestima crijeva, dok se anemija kronične bolesti razvija zbog kroničnog upalnog procesa (216). Rezultati prethodnih istraživanja pokazali su da serumske koncentracije GDF-15 koreliraju s težinom anemije u pacijenata s malignim bolestima, i da je GDF-15 negativni regulator hepcidina, ključnog regulatora homeostaze željeza (217-219). Unatoč tome, nedavna studija nije potvrdila korelaciju između serumskih koncentracija GDF-15 i hepcidina u pacijenata s ulceroznim kolitisom (171). Uz to, autori nisu pronašli razlike u serumskim koncentracijama GDF-15 između anemičnih i neanemičnih pacijenata s ulceroznim kolitisom, što se poklapa s našom podanalizom pacijenata s ulceroznim kolitisom, ali ne i analizom ukupne populacije pacijenata s upalnim bolestima crijeva. Autori studije navode kako je

nedostatak razlike odraz nedovoljne težine anemije kako bi se induciralo lučenje GDF-15, što se također slaže s našim podacima, npr. negativna korelacija između serumskih koncentracija GDF-15 i hemoglobina. Značajne korelacije u pacijenata s Crohnovom bolesti ali ne i ulceroznim kolitisom teško je interpretirati bez podataka za usporedbu i s ograničenim statističkim uzorkom, ali s obzirom da su razine hemoglobina te serumskog željeza i GDF-15 u našem istraživanju bile slične između pacijenata s Crohnovom bolesti i ulceroznim kolitisom, pretpostavlja se da postoji mogućnost da se patofiziološki mehanizmi razvoja anemije razlikuju u našoj populaciji pacijenata s CB i UC.

Iako se GDF-15 pokazao kao vrlo uspješan prognostički indikator u više različitih bolesti, posebno kardiovaskularnih, postojeći dizajn studije ograničava definitivno utvrđivanje prognostičke vrijednosti GDF-15 u populaciji pacijenata s upalnim bolestima crijeva. Ipak, uzevši u obzir činjenicu da su serumske koncentracije GDF-15 bile povezane s težinom bolesti i anemijom u pacijenata s upalnim bolestima crijeva, GDF-15 bi potencijalno mogao služiti kao prediktor loših ishoda uz postojeće tradicionalne rizične faktore u IBD populaciji, te stoga postoji jasna potreba za daljnjim istraživanjima kako bi se utvrdila moguća povezanost. Također vrijedi napomenuti da su patofiziološki procesi koji povezuju GDF-15 i kardiovaskularne bolesti slabo poznati, što otežava interpretaciju rezultata tih istraživanja. S obzirom da se čini kako GDF-15 ima i korisne i štetne učinke ovisno o mikrookolišu, i dalje je nejasno ima li GDF-15 protektivnu ili štetnu ulogu.

Ovo istraživanje ima nekoliko ograničenja. Presječni dizajn studije onemogućava jasno utvrđivanje kauzalnosti. Osim toga, relapsno remitirajuća narav upalnih bolesti crijeva uz periodično lučenje GDF-15 dodatno otežava utvrđivanje kauzalnosti jednim mjerenjem. Vrijedi napomenuti kako su pacijenti podjednako raspoređeni s obzirom na aktivnost bolesti u ulceroznom kolitisu i Crohnovoj bolesti. Studija bi se mogla poboljšati istovremenim mjerenjem serumskog hepcidina i koncentracije topivih transferinskih receptora. Iako je statistički uzorak bio ponešto ograničen, nastojalo se napraviti IBD skupinu i kontrolnu skupinu u kojima nije bilo dodatnih bolesti koje bi mogle navesti na krive zaključke o ulogama GDF-15 u upalnim bolestima crijeva.

U budućnosti, GDF-15 bi se potencijalno mogao koristiti u kliničkoj praksi kao marker aktivnosti bolesti ili prediktivni čimbenik, što je do sada najviše istraživano u kardiologiji na pacijentima s koronarnom bolesti, fibrilacijom atriya i srčanim popuštanjem. GDF-15 bi

potencijalno mogao biti koristan marker koji i se nadopunjavao s drugim već etabliranim markerima aktivnosti bolesti, kao što su npr. CRP i kalprotektin. Druga potencijalna klinička primjena GDF-15 mogla bi biti terapijska, bilo nadomještanjem endogenog GDF-15 ili blokadom njegovog djelovanja, na primjer u liječenju pretilosti ili bolesti povezanih sa starenjem. Ipak, za sada je klinička primjena GDF-15 prvenstveno ograničena visokom cijenom komercijalno dostupnih preparata GDF-15, a potrebna su i daljnja istraživanja koja bi se fokusirala na učinkovitost GDF-15 kao prediktivnog čimbenika u nizu različitih bolesti i stanja, kao i randomizirana istraživanja koja bi evaluirala potencijalni terapijski učinak preparata GDF-15.

## **6. ZAKLJUČAK**

1. U pacijenata s upalnim bolestima crijeva utvrđena je statistički značajno veća serumska koncentracija GDF-15 u usporedbi s kontrolnom skupinom zdravih ljudi odgovarajuće dobi i spola, neovisno o drugim čimbenicima koji bi mogli utjecati na razinu GDF-15
2. U pacijenata s Crohnovom bolesti i ulceroznim kolitisom utvrđena je pozitivna korelacija između serumskih koncentracija GDF-15 i endoskopskih pokazatelja aktivnosti bolesti.
3. Nije bilo značajne razlike u serumskim koncentracijama GDF-15 između pacijenata s Crohnovom bolesti i ulceroznim kolitisom
4. Utvrđena je povezanost između serumskog željeza i hematoloških parametara anemije i serumskih koncentracija GDF-15 u pacijenata s Crohnovom bolesti, dok u pacijenata s ulceroznim kolitisom povezanost nije utvrđena.
5. Iako trenutni rezultati impliciraju da bi GDF-15 mogao imati ulogu u patofiziologiji upalnih bolesti crijeva i njihovim ekstraintestinalnim manifestacijama, trenutno nema dovoljno podataka da bi se utvrdilo može li serumska koncentracija GDF-15 biti prediktor ishoda u pacijenata s upalnim bolestima crijeva. Potrebna su dodatna istraživanja molekularnih signalnih puteva koji uključuju GDF-15 i upalne bolesti crijeva, kao i prospektivne studije dovoljne snage kako bi se analizirali ishodi pacijenata s upalnim bolestima crijeva i dao odgovor na ova pitanja.

## **7. SAŽETAK**

**Cilj istraživanja:** Ciljevi ovog istraživanja bili su usporediti serumske koncentracije GDF-15 između bolesnika s upalnim bolestima crijeva i zdravih kontrola, te ispitati povezanost serumske koncentracije GDF-15 i drugih kliničkih, antropometrijskih i laboratorijskih pokazatelja u pacijenata s upalnim bolestima crijeva. Upalne bolesti crijeva su kronične imunološki posredovane bolesti relapsno remitirajućeg tijeka. Osim simptoma i komplikacija koje zahvaćaju probavni trakt, u ovim bolestima pojavljuju se i različite ekstraintestinalne manifestacije koje značajno doprinose ukupnom morbiditetu i mortalitetu. Serumske koncentracije GDF-15 pokazale su se kao neovisni prediktor loših ishoda u mnogim bolestima.

**Ispitanici i postupci:** U studiju je uključeno 90 odraslih pacijenata kojima je dijagnosticirana upalna bolest crijeva, od toga 42 s ulceroznim kolitisom i 48 s Crohnovom bolesti, i 63 zdrave osobe odgovarajuće dobi i spola. Svi ispitanici su podvrgnuti fizikalnom pregledu, nakon čega im je izmjerena visina i težina te izračunat indeks tjelesne mase. Nakon toga izmjeren im je opseg struka i bokova i arterijskog tlaka. te potom uzorkovana krv za analizu. Stupanj aktivnosti bolesti procjenjivala su dva specijalista gastroenterologije uže specijalizirana za upalne bolesti crijeva, koristeći bodovne sustave sukladno važećim smjernicama. Koncentracije serumskog GDF-15 analizirane su elektroluminescentnim imunoesejem na Cobas e8000 analizatoru (Elecsys, Roche Diagnostics).

**Rezultati:** Serumske koncentracije GDF-15 bile su značajno više u pacijenata s upalnim bolestima crijeva u odnosu na kontrolnu skupinu [prosječno 800 pg/ml (512-1154 pg/ml) u IBD skupini naspram 412 pg/ml (407-424 pg/ml) u kontrolnoj skupini,  $P < 0,001$ ]. Nije bilo značajne razlike u serumskim koncentracijama GDF-15 između pacijenata s Crohnovom bolesti i ulceroznim kolitisom [(prosječno 807 pg/ml (554-1451 pg/ml) u pacijenata s Crohnovom bolesti i 790 pg/ml (509-956 pg/ml) u pacijenata s ulceroznim kolitisom,  $P = 0,324$ ]. Analiza multiple linearne regresije pokazala je da serumske koncentracije GDF-15 mogu biti prediktor upalnih bolesti crijeva neovisno o dobi, spolu ili koncentracijama CRP. Uz to, utvrđena je i povezanost između GDF-15 i pokazatelja anemije.

**Zaključak:** Istraživanje je utvrdilo značajno veće koncentracije GDF-15 u pacijenata s upalnim bolestima crijeva u uspoređi s kontrolnom skupinom. Rezultati ovog istraživanja ukazuju na

moću ulogu ovog biomarkera u patofiziologiji upalnih bolesti crijeva. Ipak i dalje ostaje nejasno moće li se GDF-15 koristiti kao prognostički indikator u pacijenata s upalnim bolestima crijeva.



## **8. SUMMARY**

## **Title: Role of growth differentiation factor - 15 (GDF-15) in inflammatory bowel disease**

**Research aims:** Aims of this research study were to compare the serum concentrations of GDF-15 between inflammatory bowel disease patients and healthy controls, as well as to investigate the connection between the serum concentrations of GDF-15 and other clinical, antropometric and laboratory parameters in IBD patients. Inflammatory bowel disease is a group of chronic immune-mediated diseases characterized by periods of relapse and remission. In addition to symptoms and complications involving the digestive tract, this population of patients is burdened by various extraintestinal manifestations which substantially contribute to greater morbidity and mortality. As serum concentrations of growth-differentiation factor-15 (GDF-15) were shown to be an independent predictor of poor outcomes in many diseases, we aimed to explore an association between GDF-15 and IBD.

**Study participants and procedures:** The study included 90 adult patients diagnosed with IBD, 42 of which were ulcerative colitis patients and 48 Crohn disease patients, as well as 63 healthy age and sex-matched controls. Physical examination was performed on all study participants, after which height and weight measurements were taken, and body mass index calculated. Next, hip and waist circumference along with blood pressure were performed, as well as blood sampling for laboratory tests. Disease activity assessment was performed by two independent gastroenterology specialists with a special interest in inflammatory bowel disease treatment, using current and validated scoring systems. Serum GDF-15 concentrations were analyzed using the electrochemiluminescence immunoassay on the Cobas e800 analyzer (Elecsys, Roche Diagnostics).

**Results:** In IBD patients, serum GDF-15 concentrations were significantly higher in comparison to the healthy controls [GDF-15 concentration averaged 800 pg/ml (512-1154 pg/ml) in the IBD group compared to 412 pg/ml (407-424 pg/ml) in the control group,  $P < 0.001$ ]. No difference in GDF-15 serum concentrations was found between patients with Crohn's disease and ulcerative colitis [(average GDF-15 concentrations of 807 pg/ml (554-1451 pg/ml) in the Crohn's disease group and 790 pg/ml (509-956 pg/ml) in the ulcerative colitis group,  $P = 0.324$ )]. Moreover, multiple linear regression analysis showed that GDF-15 levels predict CD and UC severity independent of age, sex and C-reactive protein levels.

**Conclusion:** Results showed significantly higher average serum concentrations of GDF-15 in the IBD group compared to the control group. Finally, an association between GDF-15 and indices of anemia was established. Overall, the results of the present study suggest a potential role of this biomarker in IBD pathophysiology. Yet, it remains elusive whether GDF-15 might be used as a prognostic indicator in these patients.

## **9. POPIS LITERATURE**

1. Cosnes J, Cattan S, Blain A, Beaugerie L, Carbonnel F, Parc R i sur. Long-term evolution of disease behavior of Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2002;8:244.
2. Borowitz SM. The epidemiology of inflammatory bowel disease: Clues to pathogenesis? *Front Pediatr*. 2023;10:1103713.
3. Ng SC, Shi HY, Hamidi N, Underwood FE, Tang W, Benchimol EI i sur. Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies. *Lancet*. 2017;390:2769-78.
4. Rosen MJ, Dhawan A, Saeed SA. Inflammatory bowel disease in children and adolescents. *JAMA Pediatr*. 2015;169:1053-60.
5. Sýkora J, Pomahačová R, Kreslová M, Cvalínová D, Štych P, Schwarz J. Current global trends in the incidence of pediatric-onset inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 2018;24:2741-63.
6. Binder V, Orholm M. Familial occurrence and inheritance studies in inflammatory bowel disease. *Neth J Med*. 1996;48:53.
7. Yang H, McElree C, Roth MP, Shanahan F, Targan SR, Rotter JI. Familial empirical risks for inflammatory bowel disease: differences between Jews and non-Jews. *Gut*. 1993;34:517.
8. Gordon H, Blad W, Trier Møller F, Orchard T, Steel A, Trevelyan G i sur. IBD twin registry: concordance and environmental risk factors of twins with IBD. *Dig Dis Sci*. 2022;67:2444-50.
9. Windsor JW, Kaplan GG. Evolving Epidemiology of IBD. *Curr Gastroenterol Rep*. 2019;21:40.
10. Guan Q. A comprehensive review and update on the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *J. Immunol. Res*. 2019;2019:7247238.
11. Jarmakiewicz-Czaja S, Zielińska M, Sokal A, Filip R. Genetic and epigenetic etiology of inflammatory bowel disease: an update. *Genes (Basel)*. 2022;13:2388.
12. Liu JZ, van Sommeren S, Huang H, Ng SC, Alberts R, Takahashi A i sur. Association analyses identify 38 susceptibility loci for inflammatory bowel disease and highlight shared genetic risk across populations. *Nat Genet*. 2015;47:979.
13. Khor B, Gardet A, Xavier RJ. Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature*. 2011;474:307.

14. Satsangi J, Welsh KI, Bunce M, Julier C, Farrant JM, Bell JI i sur. Contribution of genes of the major histocompatibility complex to susceptibility and disease phenotype in inflammatory bowel disease. *Lancet*. 1996;347:1212.
15. Stokkers PC, Reitsma PH, Tytgat GN, van Deventer SJ. HLA-DR and -DQ phenotypes in inflammatory bowel disease: a meta-analysis. *Gut*. 1999;45:395.
16. Collen LV, Kim DY, Field M, Okoroafor I, Saccocia G, Ouahed J i sur. Clinical phenotypes and outcomes in monogenic versus non-monogenic very early onset inflammatory bowel disease. *J Crohns Colitis*. 2022;16:1380-96.
17. Li X, Yang Y, Zhou F, Zhang Y, Lu H, Jin Q i sur. SLC11A1 (NRAMP1) polymorphisms and tuberculosis susceptibility: updated systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2011;6:e15831.
18. El Hadad J, Schreiner P, Vavricka SR, Greuter T. The genetics of inflammatory bowel disease. *Mol Diagn Ther*. 2024;28:27-35.
19. Turner JR. Molecular basis of epithelial barrier regulation: from basic mechanisms to clinical application. *Am J Pathol*. 2006;169:1901.
20. Martini E, Krug SM, Siegmund B, Neurath MF, Becker C. Mend Your Fences: The epithelial barrier and its relationship with mucosal immunity in inflammatory bowel disease. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*. 2017;4:33-46.
21. Scharl M, Paul G, Weber A, Jung BC, Docherty MJ, Hausmann M i sur. Protection of epithelial barrier function by the Crohn's disease associated gene protein tyrosine phosphatase n2. *Gastroenterology*. 2009;137:2030.
22. Ahn SH, Shah YM, Inoue J, Morimura K, Kim I, Yim S i sur. Hepatocyte nuclear factor 4alpha in the intestinal epithelial cells protects against inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2008;14:908.
23. Petersson J, Schreiber O, Hansson GC, Gendler SJ, Velcich A, Lundberg JO i sur. Importance and regulation of the colonic mucus barrier in a mouse model of colitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2011;300:327-33.
24. VanDussen KL, Liu TC, Li D, Towfic F, Modiano N, Winter R i sur. Genetic variants synthesize to produce paneth cell phenotypes that define subtypes of Crohn's disease. *Gastroenterology*. 2014;146:200.

25. Vancamelbeke M, Vanuytsel T, Farré R, Verstockt S, Ferrante M, Van Assche G i sur. Genetic and transcriptomic bases of intestinal epithelial barrier dysfunction in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2017;23:1718.
26. Parikh K, Antanaviciute A, Fawcner-Corbett D, Jagielowicz M, Aulicino A, Lagerholm C i sur. Colonic epithelial cell diversity in health and inflammatory bowel disease. *Nature*. 2019;567:49.
27. Marincola Smith P, Choksi YA, Markham NO, Hanna DN, Zi J, Weaver CJ i sur. Colon epithelial cell TGF $\beta$  signaling modulates the expression of tight junction proteins and barrier function in mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2021;320:G936-G957.
28. Kaur BP, Secord E. Innate Immunity. *Pediatr Clin North Am*. 2019;66:905-911.
29. Geremia A, Biancheri P, Allan P, Corazza GR, Di Sabatino A. Innate and adaptive immunity in inflammatory bowel disease. *Autoimmun Rev*. 2014;13:3-10.
30. Saez A, Herrero-Fernandez B, Gomez-Bris R, Sánchez-Martinez H, Gonzalez-Granado JM. Pathophysiology of inflammatory bowel disease: innate immune system. *Int J Mol Sci*. 2023;24:1526.
31. Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, Lesage S, Cézard JP, Belaiche J i sur. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature*. 2001;411:599.
32. Watson A, Forbes Satter L, Reiland Saucedo A, Kellermayer R, Karam LB. NOD2 polymorphisms may direct a Crohn disease phenotype in patients with very early-onset inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2023;77:748-52.
33. Cho JH. Significant role of genetics in IBD: the NOD2 gene. *Rev Gastroenterol Disord*. 2003;3 Suppl 1:S18-22.
34. Lamas B, Michel ML, Waldschmitt N, Pham HP, Zacharioudaki V, Dupraz L i sur. CARD9 mediates susceptibility to intestinal pathogens through microbiota modulation and control of bacterial virulence. *Gut*. 2018;67:1836.
35. Lamas B, Richard ML, Leducq V, Pham HP, Michel ML, Da Costa G i sur. CARD9 impacts colitis by altering gut microbiota metabolism of tryptophan into aryl hydrocarbon receptor ligands. *Nat Med*. 2016;22:598.
36. Luo P, Yang Z, Chen B, Zhong X. The multifaceted role of CARD9 in inflammatory bowel disease. *J Cell Mol Med*. 2020;24:34-39.

37. Zhernakova A, Festen EM, Franke L, Trynka G, van Diemen CC, Monsuur AJ i sur. Genetic analysis of innate immunity in Crohn's disease and ulcerative colitis identifies two susceptibility loci harboring CARD9 and IL18RAP. *Am J Hum Genet.* 2008;82:1202-10.
38. Choy MC, Visvanathan K, De Cruz P. An overview of the innate and adaptive immune system in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2017;23:2-13.
39. Geremia A, Biancheri P, Allan P, Corazza GR, Di Sabatino A. Innate and adaptive immunity in inflammatory bowel disease. *Autoimmun Rev.* 2014;13:3.
40. Kałużna A, Olczyk P, Komosińska-Vassev K. The role of innate and adaptive immune cells in the pathogenesis and development of the inflammatory response in ulcerative colitis. *J Clin Med.* 2022;11:400.
41. Chen L, Ruan G, Cheng Y, Yi A, Chen D, Wei Y. The role of Th17 cells in inflammatory bowel disease and the research progress. *Front Immunol.* 2023;13:1055914.
42. Zhao J, Lu Q, Liu Y, Shi Z, Hu L, Zeng Z i sur. Th17 Cells in inflammatory bowel disease: cytokines, plasticity, and therapies. *J Immunol Res.* 2021;2021:8816041.
43. Ihara S, Hirata Y, Koike K. TGF- $\beta$  in inflammatory bowel disease: a key regulator of immune cells, epithelium, and the intestinal microbiota. *J Gastroenterol.* 2017;52:777-87.
44. Schreiber S, Fedorak RN, Nielsen OH, Wild G, Williams CN, Nikolaus S i sur. Safety and efficacy of recombinant human interleukin 10 in chronic active Crohn's disease. Crohn's Disease IL-10 Cooperative Study Group. *Gastroenterology.* 2000;119:1461.
45. Fahlén L, Read S, Gorelik L, Hurst SD, Coffman RL, Flavell RA i sur. T cells that cannot respond to TGF-beta escape control by CD4(+)CD25(+) regulatory T cells. *J Exp Med.* 2005;201:737
46. Zouali M. B lymphocytes, the gastrointestinal tract and autoimmunity. *Autoimmun Rev.* 2021;20:102777.
47. Ramachandar K, Sachar DB, Janowitz HD, Forman SP, Douglas SD, Taub RN. Letter: B lymphocytes in inflammatory bowel disease. *Lancet.* 1974;2:45-6.
48. Virk R, Shinagare S, Lauwers GY, Yajnik V, Stone JH, Deshpande V i sur. Tissue IgG4-positive plasma cells in inflammatory bowel disease: a study of 88 treatment-naive biopsies of inflammatory bowel disease. *Mod Pathol.* 2014;27:454.
49. Van Assche G, Sandborn WJ, Feagan BG, Salzberg BA, Silvers D, Monroe PS i sur. 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;55:1568.
50. Timmermans WM, van Laar JA, van der Houwen TB, Kamphuis LS, Bartol SJ, Lam KH i sur. B-Cell dysregulation in Crohn's disease is partially restored with infliximab therapy. *PLoS One*. 2016;11:e0160103.
  51. Hills RD Jr, Pontefract BA, Mishcon HR, Black CA, Sutton SC, Theberge CR. Gut microbiome: profound implications for diet and disease. *Nutrients*. 2019;11:1613.
  52. Sorboni SG, Moghaddam HS, Jafarzadeh-Esfehani R, Soleimanpour S. A comprehensive review on the role of the gut microbiome in human neurological disorders. *Clin Microbiol Rev*. 2022;35:e0033820.
  53. Turnbaugh PJ, Quince C, Faith JJ, McHardy AC, Yatsunenko T, Niaz F i sur. Organismal, genetic, and transcriptional variation in the deeply sequenced gut microbiomes of identical twins. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010;107:7503.
  54. Frank DN, St Amand AL, Feldman RA, Boedeker EC, Harpaz N, Pace NR. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007;104:13780.
  55. Darfeuille-Michaud A, Boudeau J, Bulois P, Neut C, Glasser AL, Barnich N i sur. High prevalence of adherent-invasive *Escherichia coli* associated with ileal mucosa in Crohn's disease. *Gastroenterology*. 2004;127:412.
  56. Dharmani P, Strauss J, Ambrose C, Allen-Vercoe E, Chadee K. *Fusobacterium nucleatum* infection of colonic cells stimulates MUC2 mucin and tumor necrosis factor alpha. *Infect Immun*. 2011;79:2597.
  57. Gubatan J, Boye TL, Temby M, Sojwal RS, Holman DR, Sinha SR i sur. Gut microbiome in inflammatory bowel disease: role in pathogenesis, dietary modulation, and colitis-associated colon cancer. *Microorganisms*. 2022;10:1371.
  58. Gyriki D, Nikolaidis C, Stavropoulou E, Bezirtzoglou I, Tsigalou C, Vradelis S i sur. Exploring the gut microbiome's role in inflammatory bowel disease: insights and interventions. *J. Pers. Med*. 2024;14:507.
  59. Devkota S, Wang Y, Musch MW, Leone V, Fehlner-Peach H, Nadimpalli A i sur. Dietary-fat-induced taurocholic acid promotes pathobiont expansion and colitis in *Il10*<sup>-/-</sup> mice. *Nature*. 2012;487:104.

60. Knights D, Lassen KG, Xavier RJ. Advances in inflammatory bowel disease pathogenesis: linking host genetics and the microbiome. *Gut*. 2013;62:1505.
61. Birrenbach T, Bocker U. Inflammatory bowel disease and smoking: a review of epidemiology, pathophysiology, and therapeutic implications. *Inflamm Bowel Dis*. 2004;10:848.
62. van der Heide F, Dijkstra A, Weersma RK, Albersnagel FA, van der Logt EM, Faber KN i sur. Effects of active and passive smoking on disease course of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis*. 2009;15:1199.
63. Andersson RE, Olaison G, Tysk C, Ekblom A. Appendectomy and protection against ulcerative colitis. *N Engl J Med*. 2001;344:808.
64. Abegunde AT, Muhammad BH, Bhatti O, Ali T. Environmental risk factors for inflammatory bowel diseases: Evidence based literature review. *World J Gastroenterol*. 2016;22:6296-317.
65. Riahi R, Abdi S, Ashtari S, Malekpour H. Evaluating the influence of environmental risk factors on inflammatory bowel diseases: a case-control study. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench*. 2023;16:307-18.
66. Singh N, Bernstein CN. Environmental risk factors for inflammatory bowel disease. *United European Gastroenterol J*. 2022;10:1047-53.
67. Ananthakrishnan AN, Issa M, Binion DG. Clostridium difficile and inflammatory bowel disease. *Med Clin North Am*. 2010;94:135.
68. Saibeni S, Folli C, de Franchis R, Borsi G, Vecchi M. Diagnostic role and clinical correlates of anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies (ASCA) and anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (p-ANCA) in Italian patients with inflammatory bowel diseases. *Dig Liver Dis*. 2003;35:862-8.
69. Mokrowiecka A, Gasiorowska A, Malecka-Panas E. pANCA and ASCA in the diagnosis of different subtypes of inflammatory bowel disease. *Hepatogastroenterology*. 2007;54:1443-8.
70. Prideaux L, De Cruz P, Ng SC, Kamm MA. Serological antibodies in inflammatory bowel disease: a systematic review. *Inflamm Bowel Dis*. 2012;18:1340-55.
71. Mitsuyama K, Niwa M, Takedatsu H, Yamasaki H, Kuwaki K, Yoshioka S i sur. Antibody markers in the diagnosis of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 2016;22:1304-10.
72. Gao X, Zhang Y. Serological markers facilitate the diagnosis of Crohn's disease. *Postgrad Med*. 2021;133:286-90.

73. Guindi M, Riddell RH. Indeterminate colitis. *J Clin Pathol.* 2004;57:1233-44.
74. Flynn S, Eisenstein S. Inflammatory bowel disease presentation and diagnosis. *Surg Clin North Am.* 2019;99:1051-62.
75. M'Koma AE. Inflammatory bowel disease: clinical diagnosis and surgical treatment-overview. *Medicina (Kaunas).* 2022;58:567.
76. Nikolaus S, Schreiber S. Diagnostics of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology.* 2007;133:1670-89.
77. Murphy ME, Bhattacharya S, Axelrad JE. Diagnosis and monitoring of ulcerative colitis. *Clin Colon Rectal Surg.* 2022;35:421-27.
78. Kobayashi T, Siegmund B, Le Berre C, Wei SC, Ferrante M, Shen B i sur. Ulcerative colitis. *Nat Rev Dis Primers.* 2020;6:74.
79. Haskell H, Andrews CW Jr, Reddy SI, Dendrinios K, Farraye FA, Stucchi AF i sur. Pathologic features and clinical significance of "backwash" ileitis in ulcerative colitis. *Am J Surg Pathol.* 2005;29:1472-81.
80. Iqbal T, DuPont HL. Approach to the patient with infectious colitis: clinical features, work-up and treatment. *Curr Opin Gastroenterol.* 2021;37:66-75.
81. Tontini GE, Pastorelli L, Ishaq S, Neumann H. Advances in endoscopic imaging in ulcerative colitis. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2015;9:1393-405.
82. Travis SP, Schnell D, Krzeski P, Abreu MT, Altman DG, Colombel JF i sur. Developing an instrument to assess the endoscopic severity of ulcerative colitis: the Ulcerative Colitis Endoscopic Index of Severity (UCEIS). *Gut.* 2012;61:535-42.
83. Travis SP, Schnell D, Krzeski P, Abreu MT, Altman DG, Colombel JF, i sur. Reliability and initial validation of the ulcerative colitis endoscopic index of severity. *Gastroenterology.* 2013;145:987-95.
84. Nardone OM, Iacucci M, Villanacci V, Peyrin-Biroulet L, Ghosh S, Danese S i sur. Real-world use of endoscopic and histological indices in ulcerative colitis: Results of a global survey. *United European Gastroenterol J.* 2023;11:514-19.
85. Pabla BS, Schwartz DA. Assessing severity of disease in patients with ulcerative colitis. *Gastroenterol Clin North Am.* 2020;49:671-88.
86. Walsh AJ, Ghosh A, Brain AO, Buchel O, Burger D, Thomas S i sur. Comparing disease activity indices in ulcerative colitis. *J Crohns Colitis.* 2014;8:318-25.

87. Rawal KK, Shukla VP, Chikani S, Thakkar M, Ruparelia M, Chudasama RK. Prevalence of extraintestinal manifestations in ulcerative colitis and associated risk factors. *Indian J Gastroenterol.* 2021;40:477-82.
88. Malik TF, Aurelio DM. Extraintestinal Manifestations of Inflammatory Bowel Disease. 2023 Mar 6. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan.
89. Williams H, Steinhagen RM. Historical perspectives: malignancy in Crohn's disease and ulcerative colitis. *Clin Colon Rectal Surg.* 2023;37:5-12.
90. Li W, Zhao T, Wu D, Li J, Wang M, Sun Y i sur. Colorectal cancer in ulcerative colitis: mechanisms, surveillance and chemoprevention. *Curr Oncol.* 2022;29:6091-6114.
91. Yashiro M. Ulcerative colitis-associated colorectal cancer. *World J Gastroenterol.* 2014;20:16389-97.
92. Feuerstein JD, Cheifetz AS. Crohn disease: epidemiology, diagnosis, and management. *Mayo Clin Proc.* 2017;92:1088-103.
93. Ranasinghe IR, Tian C, Hsu R. Crohn Disease. 2024 Feb 24. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan.
94. Crohn BB, Ginzburg L, Oppenheimer GD. Landmark article Oct 15, 1932. Regional ileitis. A pathological and clinical entity. *JAMA.* 1984;251:73.
95. Farmer RG, Hawk WA, Turnbull RB Jr. Clinical patterns in Crohn's disease: a statistical study of 615 cases. *Gastroenterology.* 1975;68:627.
96. Laass MW, Roggenbuck D, Conrad K. Diagnosis and classification of Crohn's disease. *Autoimmun Rev.* 2014;13:467-71.
97. Tsai L, McCurdy JD, Ma C, Jairath V, Singh S. Epidemiology and Natural History of Perianal Crohn's disease: a systematic review and meta-analysis of population-based cohorts. *Inflamm Bowel Dis.* 2022;28:1477-84.
98. Devi J, Ballard DH, Aswani-Omprakash T, Parian AM, Deepak P. Perianal fistulizing Crohn's disease: Current perspectives on diagnosis, monitoring and management with a focus on emerging therapies. *Indian J Gastroenterol.* 2024;43:48-63.
99. Kaur M, Panikkath D, Yan X, Liu Z, Berel D, Li D i sur. Perianal Crohn's disease is associated with distal colonic disease, stricturing disease behavior, IBD-associated serologies and genetic variation in the JAK-STAT pathway. *Inflamm Bowel Dis.* 2016;22:862.

100. Perler BK, Ungaro R, Baird G, Mallette M, Bright R, Shah S i sur. Presenting symptoms in inflammatory bowel disease: descriptive analysis of a community-based inception cohort. *BMC Gastroenterol.* 2019;19:47.
101. Veauthier B, Hornecker JR. Crohn's disease: diagnosis and management. *Am Fam Physician.* 2018;98:661-69.
102. Khanna R, Ma C, Jairath V, Vande Casteele N, Zou G, Feagan BG. Endoscopic assessment of inflammatory bowel disease activity in clinical trials. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2022;20:727-36
103. Narula N, Pray C, Wong ECL, Colombel JF, Marshall JK, Daperno M i sur. Categorising endoscopic severity of Crohn's disease using the modified multiplier SES-CD [MM-SES-CD]. *J Crohns Colitis.* 2022;16:1011-19.
104. Narula N, Wong ECL, Dulai PS, Marshall JK, Jairath V, Reinisch W. The performance of the Rutgeerts score, SES-CD, and MM-SES-CD for prediction of postoperative clinical recurrence in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2023;29:716-25.
105. Bak MTJ, Ten Bokkel Huinink S, Erler NS, Bodelier AGL, Dijkstra G, Romberg-Camps M i sur. Dutch initiative on Crohn and colitis (ICC). Prognostic value of the modified rutgeerts score for long-term outcomes after primary ileocecal resection in Crohn's disease. *Am J Gastroenterol.* 2024;119:306-12.
106. Limpas Kamiya KJL, Hosoe N, Hayashi Y, Kawaguchi T, Takabayashi K, Ogata H i sur. Video capsule endoscopy in inflammatory bowel disease. *DEN Open.* 2021;2:e26.
107. Hilmi I, Kobayashi T. Capsule endoscopy in inflammatory bowel disease: when and how. *Intest Res.* 2020;18:265-74.
108. Wójcik B, Loga K, Włodarczyk M, Sobolewska-Włodarczyk A, Padysz M, Wiśniewska-Jarosińska M. Extraintestinal manifestations of Crohn's disease. *Prz Gastroenterol.* 2016;11:218-21.
109. Rogler G, Singh A, Kavanaugh A, Rubin DT. Extraintestinal manifestations of inflammatory bowel disease: current concepts, treatment, and implications for disease management. *Gastroenterology.* 2021;161:1118-32.
110. Mallas EG, Mackintosh P, Asquith P, Cooke WT. Histocompatibility antigens in inflammatory bowel disease. Their clinical significance and their association with arthropathy with special reference to HLA-B27 (W27). *Gut.* 1976;17:906.

111. Antonelli E, Bassotti G, Tramontana M, Hansel K, Stingeni L, Ardizzone S i sur. Dermatological manifestations in inflammatory bowel diseases. *J Clin Med.* 2021;10:364.
112. Greuter T, Navarini A, Vavricka SR. Skin manifestations of inflammatory bowel disease. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2017;53:413-27.
113. Huang BL, Chandra S, Shih DQ. Skin manifestations of inflammatory bowel disease. *Front Physiol.* 2012;3:13.
114. Mazza S, Soro S, Verga MC, Elvo B, Ferretti F, Cereatti F i sur. Liver-side of inflammatory bowel diseases: hepatobiliary and drug-induced disorders. *World J Hepatol.* 2021;13:1828-49.
115. Karlsen TH, Folseraas T, Thorburn D, Vesterhus M. Primary sclerosing cholangitis - a comprehensive review. *J Hepatol.* 2017;67:1298-323.
116. Singh S, Khanna S, Pardi DS, Loftus EV Jr, Talwalkar JA. Effect of ursodeoxycholic acid use on the risk of colorectal neoplasia in patients with primary sclerosing cholangitis and inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis. *Inflamm Bowel Dis.* 2013;19:1631.
117. Eaton JE, Silveira MG, Pardi DS, Sinakos E, Kowdley KV, Luketic VA i sur. High-dose ursodeoxycholic acid is associated with the development of colorectal neoplasia in patients with ulcerative colitis and primary sclerosing cholangitis. *Am J Gastroenterol.* 2011;106:1638.
118. Kóvári B, Báthori Á, Friedman MS, Lauwers GY. Histologic diagnosis of inflammatory bowel diseases. *Adv Anat Pathol.* 2022;29:48-61.
119. Feakins R, Borralho Nunes P, Driessen A, Gordon IO, Zidar N, Baldin P i sur. Definitions of histological abnormalities in inflammatory bowel disease: an ECCO position paper. *J Crohns Colitis.* 2024;18:175-91.
120. Sakurai T, Saruta M. Positioning and usefulness of biomarkers in inflammatory bowel disease. *Digestion.* 2023;104:30-41.
121. Battat R, Kopylov U, Szilagyi A, Saxena A, Rosenblatt DS, Warner M i sur. Vitamin B12 deficiency in inflammatory bowel disease: prevalence, risk factors, evaluation, and management. *Inflamm Bowel Dis.* 2014;20:1120-8.
122. Shah Y, Patel D, Khan N. Iron deficiency anemia in IBD: an overlooked comorbidity. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2021;15:771-81.
123. Khaki-Khatibi F, Qujeq D, Kashifard M, Moein S, Maniati M, Vaghari-Tabari M. Calprotectin in inflammatory bowel disease. *Clin Chim Acta.* 2020;510:556-65.

124. Tang H, Tan B, Shen BB, Zhang SL, Qian JM. Diagnostic value of different serological markers and correlation analysis with disease phenotype in inflammatory bowel disease. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 2022;102:3743-48.
125. Lee SS, Kim AY, Yang SK i sur. Crohn disease of the small bowel: comparison of CT enterography, MR enterography, and small-bowel follow-through as diagnostic techniques. *Radiology*. 2009;251:751.
126. Grand DJ, Harris A, Loftus EV Jr. Imaging for luminal disease and complications: CT enterography, MR enterography, small-bowel follow-through, and ultrasound. *Gastroenterol Clin North Am*. 2012;41:497.
127. Onay M, Erden A, Binboğa AB, Altay ÇM, Törüner M. Assessment of imaging features of Crohn's disease with MR enterography. *Turk J Gastroenterol*. 2021;32:631-39.
128. Munkholm P, Langholz E, Davidsen M, Binder V. Disease activity courses in a regional cohort of Crohn's disease patients. *Scand J Gastroenterol*. 1995;30:699.
129. Thia KT, Sandborn WJ, Harmsen WS, Zinsmeister AR, Loftus EV Jr. Risk factors associated with progression to intestinal complications of Crohn's disease in a population-based cohort. *Gastroenterology*. 2010;139:1147.
130. Follin-Arbelet B, Cvancarova Småstuen M, Hovde Ø, Jelsness-Jørgensen LP, Moum B. Mortality in patients with inflammatory bowel disease: results from 30 years of follow-up in a norwegian inception cohort (the IBSEN study). *J Crohns Colitis*. 2023;17:497-503.
131. Cai Z, Wang S, Li J. Treatment of inflammatory bowel disease: a comprehensive review. *Front Med (Lausanne)*. 2021;8:765474.
132. Wetwittayakhleng P, Tselekouni P, Al-Jabri R, Bessissow T, Lakatos PL. The optimal management of inflammatory bowel disease in patients with cancer. *J Clin Med*. 2023;12:2432.
133. Khan KJ, Ullman TA, Ford AC, Abreu MT, Abadir A, Marshall JK i sur. Antibiotic therapy in inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol*. 2011;106:661.
134. Sartor RB. Microbial influences in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2008;134:577.
135. Sanders ME, Guarner F, Guerrant R, Holt PR, Quigley EM, Sartor RB i sur. An update on the use and investigation of probiotics in health and disease. *Gut*. 2013;62:787.

136. Di Paolo MC, Pagnini C, Graziani MG. Corticosteroids in inflammatory bowel disease patients: a practical guide for physicians. *Curr Rev Clin Exp Pharmacol*. 2021;16:210-18.
137. Farraj KL, Pellegrini JR, Munshi RF, Russe-Russe J, Kaliounji A, Tiwana MS i sur. Chronic steroid use: an overlooked impact on patients with inflammatory bowel disease. *JGH Open*. 2022;6:910-14.
138. Silverman J, Otley A. Budesonide in the treatment of inflammatory bowel disease. *Expert Rev Clin Immunol*. 2011;7:419-28.
139. Panés J, López-Sanromán A, Bermejo F, García-Sánchez V, Esteve M, Torres Y i sur. Early azathioprine therapy is no more effective than placebo for newly diagnosed Crohn's disease. *Gastroenterology*. 2013;145:766.
140. Cosnes J, Bourrier A, Laharie D, Nahon S, Bouhnik Y, Carbonnel F i sur. Early administration of azathioprine vs conventional management of Crohn's Disease: a randomized controlled trial. *Gastroenterology*. 2013;145:758.
141. Gisbert JP, Niño P, Rodrigo L, Cara C, Guijarro LG. Thiopurine methyltransferase (TPMT) activity and adverse effects of azathioprine in inflammatory bowel disease: long-term follow-up study of 394 patients. *Am J Gastroenterol*. 2006;101:2769-76.
142. Papamichael K, Lin S, Moore M, Papaioannou G, Sattler L, Cheifetz AS. Infliximab in inflammatory bowel disease. *Ther Adv Chronic Dis*. 2019;10:2040622319838443.
143. Peyrin-Biroulet L, Deltenre P, de Suray N, Branche J, Sandborn WJ, Colombel JF. Efficacy and safety of tumor necrosis factor antagonists in Crohn's disease: meta-analysis of placebo-controlled trials. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2008;6:644.
144. Targan SR, Feagan BG, Fedorak RN, Lashner BA, Panaccione R, Present DH i sur. International efficacy of natalizumab in crohn's disease response and remission (ENCORE) trial group. Natalizumab for the treatment of active Crohn's disease: results of the ENCORE trial. *Gastroenterology*. 2007;132:1672-83.
145. Scribano ML. Vedolizumab for inflammatory bowel disease: From randomized controlled trials to real-life evidence. *World J Gastroenterol*. 2018;24:2457-2467.
146. Honap S, Meade S, Ibraheim H, Irving PM, Jones MP, Samaan MA. Effectiveness and safety of ustekinumab in inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis. *Dig Dis Sci*. 2022;67:1018-35.



147. Pang Y, D'Cunha R, Winzenborg I, Veldman G, Pivorunas V, Wallace K. Risankizumab: Mechanism of action, clinical and translational science. *Clin Transl Sci.* 2024;17:e13706.
148. Le Berre C, Roda G, Nedeljkovic Protic M, Danese S, Peyrin-Biroulet L. Modern use of 5-aminosalicylic acid compounds for ulcerative colitis. *Expert Opin Biol Ther.* 2020;20:363-78.
149. Murray A, Nguyen TM, Parker CE, Feagan BG, MacDonald JK. Oral 5-aminosalicylic acid for maintenance of remission in ulcerative colitis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2020;8:CD000544.
150. Salice M, Rizzello F, Calabrese C, Calandrini L, Gionchetti P. A current overview of corticosteroid use in active ulcerative colitis. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2019;13:557-61.
151. Chhibba T, Ma C. Is there room for immunomodulators in ulcerative colitis? *Expert Opin Biol Ther.* 2020;20:379-390.
152. Rizzo G, Pugliese D, Armuzzi A, Coco C. Anti-TNF alpha in the treatment of ulcerative colitis: a valid approach for organ-sparing or an expensive option to delay surgery? *World J Gastroenterol.* 2014;20:4839-45.
153. Pugliese D, Felice C, Papa A, Gasbarrini A, Rapaccini GL, Guidi L i sur. Anti TNF- $\alpha$  therapy for ulcerative colitis: current status and prospects for the future. *Expert Rev Clin Immunol.* 2017;13:223-33.
154. Huang K, Liu J, Xia W, Tian C, Yao L, Cao Q i sur. Effectiveness and safety of vedolizumab for ulcerative colitis: a single-center retrospective real-world study in China. *Front Pharmacol.* 2023;14:1188751.
155. Taneja V, El-Dallal M, Haq Z, Tripathi K, Systrom HK i sur. Effectiveness and safety of tofacitinib for ulcerative colitis: systematic review and meta-analysis. *J Clin Gastroenterol.* 2022;56:323-33.
156. Sandborn WJ, Su C, Sands BE, D'Haens GR, Vermeire S, Schreiber S i sur. Tofacitinib as induction and maintenance therapy for ulcerative colitis. *N Engl J Med.* 2017;376:1723.
157. Afif W, Arasaradnam RP, Abreu MT, Danese S, Sandborn WJ, Miao Y i sur. Efficacy and safety of ustekinumab for ulcerative colitis through 4 years: final results of the UNIFI long-term maintenance study. *Am J Gastroenterol.* 2024;119:910-21.

158. D'Haens G, Dubinsky M, Kobayashi T, Irving PM, Howaldt S, Pokrotnieks J i sur. LUCENT study group. mirikizumab as induction and maintenance therapy for ulcerative colitis. *N Engl J Med.* 2023;388:2444-55.
159. Risankizumab induction therapy in patients with moderately to severely active ulcerative colitis: efficacy and safety in the randomized phase 3 INSPIRE study. *Gastroenterol Hepatol (N Y).* 2023;19:9-10.
160. Grieco MJ, Remzi FH. Surgical management of ulcerative colitis. *Gastroenterol Clin North Am.* 2020;49:753-68.
161. Targownik LE, Singh H, Nugent Z, Bernstein CN. The epidemiology of colectomy in ulcerative colitis: results from a population-based cohort. *Am J Gastroenterol.* 2012;107:1228-35.
162. Meima-van Praag EM, Buskens CJ, Hompes R, Bemelman WA. Surgical management of Crohn's disease: a state of the art review. *Int J Colorectal Dis.* 2021;36:1133-45.
163. Dittrich AE, Sutton RT, Haynes K, Wang H, Fedorak RN, Kroeker KI. Incidence rates for surgery in Crohn's disease have decreased: a population-based time-trend analysis. *Inflamm Bowel Dis.* 2020;26:1909-16.
164. Wischhusen J, Melero I, Fridman WH. Growth/Differentiation Factor-15 (GDF-15): From biomarker to novel targetable immune checkpoint. *Front Immunol.* 2020;11:951.
165. Lawton LN, Bonaldo MF, Jelenc PC, Qiu L, Baumes SA, Marcelino RA i sur. Identification of a novel member of the TGF-beta superfamily highly expressed in human placenta. *Gene.* 1997;203:17-26.
166. Bottner M, Laaff M, Schechinger B, Rappold G, Unsicker K, Suter-Crazzolara C. Characterization of the rat, mouse, and human genes of growth/differentiation factor-15/macrophage inhibiting cytokine-1 (GDF-15/MIC-1). *Gene.* 1999;237:105-11.
167. Emmerson PJ, Duffin KL, Chintharlapalli S, Wu X. GDF15 and growth control. *Front Physiol.* 2018;9:1712.
168. Yang L, Chang CC, Sun Z, Madsen D, Zhu H, Padkjær SB i sur. GFRAL is the receptor for GDF15 and is required for the anti-obesity effects of the ligand. *Nat Med.* 2017;23:115866.
169. Kučerka O, Blahutová M, Kosek V, Mináriková P, Horáček JM, Urbánek P i sur. Exploring the role of GDF-15 in inflammatory bowel disease: a case-controlled study comparing Crohn's disease and ulcerative colitis with non-inflammatory controls. *Metabolites.* 2024;14:185.

170. Yamamoto H, Takeshima F, Haraguchi M, Akazawa Y, Matsushima K, Kitayama M i sur. High serum concentrations of growth differentiation factor-15 and their association with Crohn's disease and a low skeletal muscle index. *Sci Rep.* 2022;12:6591.
171. Ramasamy J, Jagadish C, Sukumaran A, Varghese J, Mani T, Joseph AJ i sur. Low serum hepcidin levels in patients with ulcerative colitis - implications for treatment of coexistent iron-deficiency anemia. *Inflammation.* 2023;46:2209-22.
172. Strelau J, Strzelczyk A, Rusu P, Bendner G, Wiese S, Diella F i sur. Progressive postnatal motoneuron loss in mice lacking GDF-15. *J Neurosci.* 2009;29:13640-8.
173. Wischhusen J, Melero I, Fridman WH. Growth/Differentiation Factor-15 (GDF-15): From biomarker to novel targetable immune checkpoint. *Front Immunol.* 2020;11:951.
174. Tong S, Marjono B, Brown DA, Mulvey S, Breit SN, Manuelpillai U i sur. Serum concentrations of macrophage inhibitory cytokine 1 (MIC 1) as a predictor of miscarriage. *Lancet.* 2004;363:129–30.
175. Tsai VW, Zhang HP, Manandhar R, Lee-Ng KKM, Lebhar H, Marquis CP i sur. Treatment with the TGF- $\beta$  superfamily cytokine MIC-1/GDF15 reduces the adiposity and corrects the metabolic dysfunction of mice with diet-induced obesity. *Int. J. Obes.* 2018;42:561–71
176. Day EA, Ford RJ, Smith BK, Mohammadi-Shemirani P, Morrow MR, Gutgesell RM i sur. Metformin-induced increases in GDF15 are important for suppressing appetite and promoting weight loss. *Nat Metab.* 2019;1:1202-08.
177. Coll AP, Chen M, Taskar P, Rimmington D, Patel S, Tadross JA i sur. GDF15 mediates the effects of metformin on body weight and energy balance. *Nature.* 2020;578:444-48.
178. Dostálová I, Roubíček T, Bártlová M, Mráz M, Lacinová Z i sur. Increased serum concentrations of macrophage inhibitory cytokine-1 in patients with obesity and type 2 diabetes mellitus: the influence of very low calorie diet. *Eur. J. Endocrinol.* 2009;161:397–404.
179. Kempf T, Guba-Quint A, Torgerson J, Magnone MC, Haefliger C, Bobadilla M i sur. Growth differentiation factor 15 predicts future insulin resistance and impaired glucose control in obese nondiabetic individuals: results from the XENDOS trial. *Eur. J. Endocrinol.* 2012;167:671–78.
180. Hoekx CA, Straat ME, Bizino MB, van Eyk HJ, Lamb HJ, Smit JWA i sur. Growth differentiation factor 15 is not modified after weight loss induced by liraglutide in South Asians and Europeans with type 2 diabetes mellitus. *Exp Physiol.* 2024;109:1292-304.

181. Breit SN, Brown DA, Tsai VW. The GDF15-GFRAL pathway in health and metabolic disease: friend or foe? *Annu Rev Physiol.* 2021;83:127-51.
182. Molfino A, Amabile MI, Imbimbo G, Rizzo V, Pediconi F, Catalano C i sur. Association between Growth Differentiation Factor-15 (GDF-15) serum levels, anorexia and low muscle mass among cancer patients. *Cancers (Basel).* 2020;13:99.
183. Siddiqui JA, Pothuraju R, Khan P, Sharma G, Muniyan S, Seshacharyulu P i sur. Pathophysiological role of growth differentiation factor 15 (GDF15) in obesity, cancer, and cachexia. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2022;64:71-83.
184. Ling T, Zhang J, Ding F, Ma L. Role of growth differentiation factor 15 in cancer cachexia (Review). *Oncol Lett.* 2023;26:462.
185. Delrue C, Speeckaert R, Delanghe JR, Speeckaert MM. Growth differentiation factor 15 (GDF-15) in kidney diseases. *Adv Clin Chem.* 2023;114:1-46.
186. Perez-Gomez MV, Pizarro-Sanchez S, Gracia-Iguacel C, Cano S, Cannata-Ortiz P, Sanchez-Rodriguez J i sur. Urinary Growth Differentiation Factor-15 (GDF15) levels as a biomarker of adverse outcomes and biopsy findings in chronic kidney disease. *J Nephrol.* 2021;34:1819-32.
187. Sawasawa T, Lin JD, Wang YH, Chen KJ, Yang YM, Hu SW i sur. Elevated serum GDF15 level as an early indicator of proximal tubular cell injury in acute kidney injury. *Life Sci.* 2024;357:123093.
188. Al-Mudares F, Reddick S, Ren J, Venkatesh A, Zhao C, Lingappan K. Role of growth differentiation factor 15 in lung disease and senescence: potential role across the lifespan. *Front Med (Lausanne).* 2020;7:594137.
189. Verhamme FM, Freeman CM, Brusselle GG, Bracke KR, Curtis JL. GDF-15 in pulmonary and critical care medicine. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2019;60:621-28.
190. Wang J, Zhang T, Xu F, Gao W, Chen M, Zhu H i sur. GDF-15 at admission predicts cardiovascular death, heart failure, and bleeding outcomes in patients with CAD. *ESC Heart Fail.* 2023;10:3123-32.
191. May BM, Pimentel M, Zimmerman LI, Rohde LE. GDF-15 as a Biomarker in Cardiovascular Disease. *Arq Bras Cardiol.* 2021;116:494-500.
192. Bodde MC, Hermans MPJ, van der Laarse A, Mertens B, Romijn FPHTM, Schaliij MJ i sur. Growth differentiation factor-15 levels at admission provide incremental prognostic

- information on all-cause long-term mortality in ST-segment elevation myocardial infarction patients treated with primary percutaneous coronary intervention. *Cardiol Ther.* 2019;8:29–41
193. Rueda F, Lupón J, García-garcía C, Cediél G, Nevado MCA, Gregori JS i sur. Acute-phase dynamics and prognostic value of growth differentiation factor-15 in ST-elevation myocardial infarction. *Clin Chem Lab Med.* 2019;57:1093-1101
  194. May BM, Pimentel M, Zimmerman LI, Rohde LE. GDF-15 as a biomarker in cardiovascular disease. *Arq Bras Cardiol.* 2021;116:494-500.
  195. Hagström E, Held C, Stewart RAH, Aylward PE, Budaj A, Cannon CP i sur. Growth differentiation factor 15 predicts all-cause morbidity and mortality in stable coronary heart disease. *Clin Chem.* 2017;63:325–33.
  196. Yin J, Zhu Z, Guo D, Wang A, Zeng N, Zheng X i sur. Increased growth differentiation factor 15 is associated with unfavorable clinical outcomes of acute ischemic stroke. *Clin Chem.* 2019;65:569-78.
  197. Liu H, Huang Y, Lyu Y, Dai W, Tong Y, Li Y. GDF15 as a biomarker of ageing. *Exp Gerontol.* 2021;146:111228.
  198. Conte M, Giuliani C, Chiariello A, Iannuzzi V, Franceschi C, Salvioli S. GDF15, an emerging key player in human aging. *Ageing Res Rev.* 2022;75:101569.
  199. de Jager SC, Bermúdez B, Bot I, Koenen RR, Bot M, Kavelaars A i sur. Growth differentiation factor 15 deficiency protects against atherosclerosis by attenuating CCR2-mediated macrophage chemotaxis. *J Exp Med.* 2011;208:217-25.
  200. Kiss LZ, Nyárády BB, Pállinger É, Lux Á, Jermendy ÁL, Csobay-Novák C i sur. Association of growth and differentiation factor-15 with coronary artery calcium score and ankle-brachial index in a middle-aged and elderly Caucasian population sample free of manifest cardiovascular disease. *Geroscience.* 2024;46:1343-50.
  201. Adamina M, Minozzi S, Warusavitarne J, Buskens CJ, Chaparro M, Verstockt B i sur. ECCO guidelines on therapeutics in Crohn's disease: surgical treatment. *J Crohns Colitis.* 2024;18:1556-82.
  202. Maaser C, Sturm A, Vavricka SR, Kucharzik T, Fiorino G, Annese V i sur. European Crohn's and Colitis Organisation [ECCO] and the European Society of Gastrointestinal and Abdominal Radiology [ESGAR]. ECCO-ESGAR guideline for diagnostic assessment in IBD

- part 1: Initial diagnosis, monitoring of known IBD, detection of complications. *J Crohns Colitis*. 2019;13:144-64.
203. Sturm A, Maaser C, Calabrese E, Annese V, Fiorino G, Kucharzik T i sur. European Crohn's and Colitis Organisation [ECCO] and the European Society of Gastrointestinal and Abdominal Radiology [ESGAR]. ECCO-ESGAR guideline for diagnostic assessment in IBD part 2: IBD scores and general principles and technical aspects. *J Crohns Colitis*. 2019;13:273-84.
204. Daperno M, D'Haens G, Van Assche G, Baert F, Bulois P, Maunoury V i sur. Development and validation of a new, simplified endoscopic activity score for Crohn's disease: the SES-CD. *Gastrointest Endosc*. 2004;60:505-12.
205. Ishida N, Miyazu T, Suzuki T, Tamura S, Tani S, Yamade M i sur. Evaluation of the modified Crohn's disease activity index in patients with Crohn disease with enterostomy: A single-center observational study. *Medicine (Baltimore)*. 2021;100:e24717.
206. Naegeli AN, Hunter T, Dong Y, Hoskin B, Middleton-Dalby C, Hetherington J i sur. Full, partial, and modified permutations of the Mayo score: characterizing clinical and patient-reported outcomes in ulcerative colitis patients. *Crohns Colitis*. 2021;3:otab007.
207. Travis SP, Schnell D, Krzeski P, Abreu MT, Altman DG, Colombel JF i sur. Developing an instrument to assess the endoscopic severity of ulcerative colitis: the Ulcerative Colitis Endoscopic Index of Severity (UCEIS). *Gut*. 2012;61:535-42.
208. Ye D, Liu B, He Z, Huang L, Qian Y, Shao K i sur. Assessing the associations of growth differentiation factor 15 with rheumatic diseases using genetic data. *Clin Epidemiol*. 2021;13:245-52.
209. Corre J, Hébraud B, Bourin P. Concise review: growth differentiation factor 15 in pathology: a clinical role? *Stem Cells Transl Med*. 2013;2:946-52.
210. He YW, He CS. Association of growth and differentiation Factor 15 in rheumatoid arthritis. *J Inflamm Res*. 2022;15:1173-81.
211. Brown DA, Moore J, Johnen H, Smeets TJ, Bauskin AR, Kuffner T i sur. Serum macrophage inhibitory cytokine 1 in rheumatoid arthritis: a potential marker of erosive joint destruction. *Arthritis Rheum*. 2007;56:753-64.
212. Song Y, Cui Y, Zhang X, Lin H, Zhang G, Zeng H i sur. Increased 449 serum levels of MIC1/GDF15 correlated with bone erosion in spondyloarthritis: A pilot study. *Medicine (Baltimore)*. 2018;97:e13733.

213. Qiu M, Sun X, Qi X, Liu X, Zhang Y, Zhang N i sur. The diagnostic value of GDF-15 for myocardial involvement in idiopathic inflammatory myopathy. *Rheumatology (Oxford)*. 2021;18;60:2826-33.
214. Taşolar MK, Erfan G, Raimoğlu O, Albayrak H, Yanık ME. Role of GDF-15 as an inflammatory marker in patients with psoriasis vulgaris. *Arch Turk Dermatol Venerol*. 2021;55:184–88.
215. Con D, Andrew B, Nicolaidis S, Van Langenberg DR, Vasudevan A. Biomarker dynamics during infliximab salvage for acute severe ulcerative colitis: C-Reactive Protein (CRP)-lymphocyte ratio and CRP-albumin ratio are useful in predicting colectomy. *Intestig. Res*. 2022;20:101–13.
216. Kaitha S, Bashir M, Ali T. Iron deficiency anemia in inflammatory bowel disease. *World J Gastrointest Pathophysiol*. 2015;6:62-72.
217. Jiang F, Yu WJ, Wang XH, Tang YT, Guo L, Jiao XY. Regulation of hepcidin through GDF-15 in cancer related anemia. *Clin Chim Acta*. 2014;20;428:14-9.
218. Mirciov CS, Wilkins SJ, Dunn LA, Anderson GJ, Frazer DM. Characterization of putative erythroid regulators of hepcidin in mouse models of anemia. *PLoS One*. 2017;12:e0171054.
219. Corre J, Labat E, Espagnolle N, Hébraud B, Avet-Loiseau H, Roussel M i sur. Bioactivity and prognostic significance of growth differentiation factor GDF15 secreted by bone marrow mesenchymal stem cells in multiple myeloma. *Cancer Res*. 2012;15;72:1395-406.

## **10. ŽIVOTOPIS**



## **OSOBNI PODACI**

Ime i prezime: Ante Tonkić

Datum i mjesto rođenja: 29.1.1992; Split

Državljanstvo: Hrvatsko

Adresa stanovanja: Mažuranićevo šetalište 21, 21000 Split

E-mail: atonkic@hotmail.com

## **OBRAZOVANJE**

1998.-2006. Osnovna škola „Manuš“, Split

2006.-2010. Opća gimnazija „Vladimir Nazor“, Split

2010.-2016. Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu, smjer doktor medicine

2016.-2024. Poslijediplomski doktorski studij „Biologija novotvorina“, Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu

## **RADNO ISKUSTVO**

2016.-2017. Pripravnički staž doktora medicine

2018.-2023. Specijalizacija iz endokrinologije i dijabetologije, KBC Split, KBC Zagreb

## **MATERINSKI JEZIK**

- Hrvatski jezik

## **OSTALI JEZICI**

- Engleski jezik

- Francuski jezik

- Talijanski jezik

## **ČLANSTVA**

Hrvatska liječnička komora

## ZNANSTVENI RADOVI

1. Božić D, **Tonkić A Jr**, Vukojevic K, Radman M. A Case Report: Idiopathic or drug-induced autoimmune hepatitis-can we draw a line? Clin Pract. 2023;13:1393-99.
2. **Tonkić A**, Kumrić M, Akrapović Olić I, Rušić D, Živković PM, Šupe Domić D, i sur. Growth differentiation factor-15 serum concentrations reflect disease severity and anemia in patients with inflammatory bowel disease. World J Gastroenterol. 2024;7;30:1899-910.