

## Diferencijalna dijagnoza eozinofilnog infiltrata u sluznici jednjaka primenom molekularno-bioloških metoda

Nina Ristić<sup>1</sup>, Tijana Išić Denčić<sup>2</sup>, Radmila Janković<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Služba gastroenterohepatologije, Univerzitetska dečija klinika, Beograd, Srbija

<sup>2</sup> Institut za primenu nuklearne energije - INEP, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija

<sup>3</sup> Institut za patologiju, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija

Kontakt: tijana@inep.co.rs

### Apstrakt

Ćelije imunskog sistema imaju važnu ulogu u očuvanju barijere gastrointestinalnog trakta. Savremeni način života, izloženost različitim alergenima i genetska predispozicija mogu da dovedu do narušavanja odnosa i broja ćelija imunskog sistema, čime se remeti homeostaza na nivou crevne sluznice i omogućava razvoj bolesti.

Povećanje broja eozinofilnih leukocita u sluznici i narušavanje barijere gastrointestinalnog trakta karakteristika je različitih primarnih i sekundarnih eozinofilnih gastrointestinalnih bolesti (EGIB). Usled čestog preklapanja u histološkom nalazu klinički različitih entiteta (kao što su eozinofilni ezofagitis, gastroezofagusna refluksna bolest i eozinofilni gastroenteritis) postoji konstantna potreba za otkrivanjem novih markera diferencijacije, kao i veze između kliničkih karakteristika i patofizioloških mehanizama bolesti.

Identifikacija EGIB transkriptoma i razlučivanje imunopatogeneze različitih EGIB oboljenja omogućava identifikaciju novih molekularnih markera. Molekularno profilisanje gena specifičnih za određeno oboljenje poboljšava dijagnozu i kliničko praćenje, omogućava brz odabir adekvatnog terapijskog pristupa, kao i personalizovani medicinski pristup obolelima. Iako postoji značajan broj studija koje se bave validacijom novih lekova kod EGIB obolelih, većina njih je još uvek u vidu preliminarnih istraživanja, te je neophodna dalja verifikacija efekata ispitivanih lekova u kliničkoj praksi.

**Cljučne reči:** eozinofilni ezofagitis, eozinofilni gastroenteritis, gastroezofagusna refluksna bolest, molekularni markeri, dijagnoza, prognoza, terapija

## Differential diagnosis of eosinophilic infiltrate in esophageal mucosa by applying molecular biology methods

Ristić Nina<sup>1</sup>, Išić Denčić Tijana<sup>2</sup>, Janković Radmila<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Department of Gastroenterohepatology, University Children's Hospital, Belgrade, Serbia

<sup>2</sup> Institute for the Application of Nuclear Energy - INEP, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

<sup>3</sup> Institute of Pathology, Faculty of Medicine, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

Correspondence: tijana@inep.co.rs

### Abstract

The cells of the immune system play an important role in preserving the barrier of the gastrointestinal tract. Modern lifestyle, exposure to various allergens and genetic predisposition can lead to a disruption of the relationship and the number of cells of the immune system, which disturb homeostasis at the level of the intestinal mucosa and enables the development of the disease.

An increase in the number of eosinophilic leukocytes in the mucosa and disruption of the gastrointestinal tract barrier is a characteristic of various primary and secondary eosinophilic gastrointestinal diseases (EGIB). Due to the frequent overlap in the histological findings of clinically different entities (such as eosinophilic esophagitis, gastroesophageal reflux disease and eosinophilic gastroenteritis), there is a constant need to discover new markers of differentiation, as well as the relationship between clinical characteristics and pathophysiological mechanisms of the disease.

Identification of EGIB transcriptoma and differentiation of immunopathogenesis of different EGIB diseases enables identification of new molecular markers. Molecular profiling of disease-specific genes improves diagnosis and clinical monitoring, enables rapid selection of an adequate therapeutic approach, as well as a personalized medical approach to patients. Although there are a significant number of studies regarding the validation of new drugs in EGIB patients, most of them are still in the form of preliminary research, and further verification of the effects of the tested drugs in clinical practice is necessary.

**Key words:** eosinophilic esophagitis, eosinophilic gastroenteritis, gastroesophageal reflux disease, molecular markers, diagnosis, prognosis, therapy

## EOZINOFILNI LEUKOCITI - POREKLO, DIFERENCIJACIJA I MORFOLOGIJA

Eozinofilni leukociti (eozinofili, Eo) su ćelije imunskog sistema koje se kontinuirano stvaraju u kostnoj srži iz pluripotentne CD34+ stem ćelije. Kontrola stvaranja Eo regulisana je transkripcionim faktorima koje stvaraju same ćelije u toku razvoja i citokina koje produkuju ostale ćelije imunskog sistema. Rana faza diferencijacije odvija se pod kontrolom IL33, a zavisni su na ćelijskom nivou od nekoliko transkripcionih faktora, pri čemu se smatra da GATA1 ima ključnu ulogu.

Zreli Eo se odlikuju bilobarnim jedrom i prisustvom specifičnih sekretornih citoplazmatskih granula koje se eozinom boje crveno. Velike granule bez jezgra se smatraju „nezrelim“, dok su male granule povezane sa sekretornom aktivnošću. Granule u Eo sadrže preformirane biološki aktivne supstance - citotoksične katjonske proteine, citokine, faktore rasta, hemokine i enzime. Pored sekretornih granula, za Eo je karakteristično prisustvo lipidnih telašaca ispunjenih lipidnim medijatorima zapaljenja (listenil leukotrijeni, tromboksani i prostanglandini), kao i plejotropnih tubulovezikularnih nosača (eozinofilnih „sombbrero“ nosača). Eo, poput drugih somatskih ćelija, poseduju mitohondrije, endoplazmatski retikulum i Goldžijev aparat. Takođe, Eo na površini ćelije poseduju mnoštvo molekula (adhezioni molekuli, citokini, hemokini, faktori rasta, lipidni medijatori, *pattern recognition receptors* (PRR), Fc receptori) zahvaljujući kojima mogu da učestvuju u velikom broju fizioloških i patofizioloških procesa [1,2].

## EOZINOFILNI LEUKOCITI – FUNKCIJE I ULOGA U GASTROINTESTINALNOM TRAKTU

Funkcije Eo mogu biti klasifikovane u četiri kategorije: terminalne efektorske funkcije, održavanje homeostaze i podrška u reparaciji i remodelovanju tkiva, imunomodulatorna uloga i kooperativne interakcije sa drugim ćelijama imunskog sistema. U većini situacija patoloških procesa preovladava parcijalna degranulacija (PD) ili citoliza Eo praćena degranulacijom celih granula. PD je brza i visokoselektivna i najčešće se na ovaj način iz Eo sekretuju citokini. Ovo je najčešći tip sekrecije u zapaljenju i alergiji kod ljudi. Citoliza Eo predstavlja regulisanu brzu ćelijsku smrt, drugačiju od apoptoze i nekroze, a koju karakteriše dekondezacija hromatina, razgradnja jedarne i ćelijske membrane, kao i razgradnja specifičnih granula [1].

Zreli Eo dospevaju u cirkulaciju putem koji u toku kasne faze embrionalnog razvoja dospevaju u gastrointestinalni trakt [1,2]. Interleukin IL5 i faktor rasta GM-CSF stimulišu migraciju Eo iz kostne srži u cirkulaciju. Migracija Eo u gastrointestinalni trakt je složena i odvija se kroz nekoliko procesa: vezivanje, kotrljanje, atezija i transendotelna migracija, praćena polarizacijom i ameboidnim kretanjem u intersticijum. U lamini proprijii intestinalne sluznice dolazi do vezivanja molekula  $\alpha_4\beta_7$  i  $\alpha_4\beta_1$  na površini Eo za endotelne adhezione molekule MAdCAM1 i VCAM1, što se smatra izuzetno važnim. Interakcija  $\alpha_L\beta_2$  i  $\alpha_M\beta_2$  sa ICAM1 je značajna za prolazak kroz kapilare. Za dalju migraciju Eo u lamini proprijii značajna je interakcija CCR3 receptora na njihovoj membrani i hemokina eotaksin-1. Drugi hemokini poput eotaksin-2 i eotaksin-3 takođe doprinose u hemotaksi [1].

Eo lamine proprije konstantno prate i moduliraju kompleksan imunski odgovor i tkivno remodelovanje duž celog gastrointestinalnog trakta. Za razliku od cirkulišućih Eo, Eo unutar lamine proprije gastrointestinalnog trakta su permanentno aktivni. Oni učestvuju u održanju barijere gastrointestinalnog trakta, obezbeđuju imunitet na patogene u lumenu creva, interaguju sa enteričkim nervnim sistemom i povezuju urođeni i stečeni imunitet [3].

Eo se u fiziološkim uslovima nalaze u malom broju u lamini proprijii želuca i njihov broj se postepeno povećava ka distalnim delovima gastrointestinalnog trakta sa maksimumom u lamini proprijii ileocekalne regije i proksimalnom kolonu i značajnim opadanjem ka rektumu. Za razliku od pomenutih delova gastrointestinalnog trakta, prisustvo Eo u sluznici jednjaka je isključivo patološki fenomen, posebno u dečijem uzrastu. Eozinofilne gastrointestinalne bolesti (EGIB) su grupa poremećaja koje karakteriše patološka eozinofilna infiltracija jednjaka, želuca, tankog creva i/ili debelog creva koja dovodi do disfunkcije organa i kliničkih simptoma [4]. Eozinofilija sluznice različitih segmenata digestivnog trakta se može javiti kao sekundarni fenomen kod različitih infekcija (gljivičnih, parazitarnih i virusnih), gastroezofagusne refluksne bolesti (GERB), ahalazije, hipereozinofilnog sindroma, hipersenzitivne reakcije na lekove, vaskulitisa, pemfigoida, bolesti vezivnog tkiva i *graft-versus-host* bolesti, ali i kao primarna bolest. Primarne EGIB (PEGIB) uključuju eozinofilni ezofagitis (EoE) i eozinofilni gastroenteritis (EGE). EGE obuhvata poremećaje poput eozinofilnog gastritisa, eozinofilnog enteritisa i eozinofilnog kolitisa [5]. Posebno je značajan odnos GERBa i EoE, dve najčešće bolesti jednjaka kod dece. Iako su različiti klinički entiteti, oni se međusobno ne isključuju i mogu da postoje istovremeno sa ili bez međusobne interakcije.

Usled čestog preklapanja u histološkom nalazu klinički različitih bolesti, postoji konstantna potreba za otkrivanjem novih markera diferencijacije, kao i veze između kliničkih karakteristika i patofizioloških mehanizama bolesti. Cilj ovoga rada je da sumira dosadašnje rezultate o patofiziološkoj ulozi eozinofilnih leukocita kod EGIB pacijenata, objasni najnovije metodološke pristupe i prikaže najnovija saznanja vezana za primenu molekularnobioloških markera koji bi bili od koristi prilikom analize biopsija jednjaka sa izraženom eozinofilijom.

## EOZINOFILNI EZOFAGITIS

Eozinofilni ezofagitis (EoE) je hronična inflamatorna bolest jednjaka, prvi put opisana 1977. godine [6]. Kao poseban kliničko-patološki entitet je definisan 1993. i 1994. godine [7,8]. Danas je EoE drugi najčešći uzrok hroničnog ezofagitisa posle GERBa, kao i glavni uzrok disfagije i zaglavljenja (impakcije) hrane u jednjaku kod dece i mladih odraslih osoba. Prema smernicama iz 2017. godine, EoE je definisan kao hronična lokalizovana imunoposredovana bolest jednjaka, koja se klinički ispoljava simptomima poremećaja funkcije jednjaka, a histološki inflamacijom jednjaka [9]. U cilju postavljanja dijagnoze potrebno je da se isključe drugi uzroci eozinofilije jednjaka. EoE je povezan sa atopijom, naslednim faktorima i sa faktorima sredine u ranom dobu. Za ovo oboljenje postoji izražena predispozicija muškog pola i u pedijatrijskom i u adultnom dobu.

Patofiziološki mehanizam u EoE još uvek nije shvaćen u potpunosti. Početak EoE je udružen sa Th2-posredovanom inflamacijom i lokalnom ekspresijom tipa 2 citokina IL4, IL5 i IL13 i hemoatraktanata kao što je eotaksin-3 (CCL26). Sekretacija tipa 2 citokina (uključujući IL5 i IL13) dovodi do deponovanja kolagena, epitelne hiperplazije i remodelovanja tkiva jednjaka u EoE. Remodelovanje tkiva jednjaka može nastati dejstvom TGF- $\beta$  koji dovodi do ekspresije profibrotičnih elemenata fibronektina i kolagena [2]. U progresiji EoE ulogu mogu da imaju različiti medijatori, kao što su IL25, IL33 i timični stromalni limfopoinetin (TSLP) koga oslobađaju epitelne ćelije usled oštećenja ili u stresu. Međutim, za sada nije nađena jasna veza između ovih medijatora i težine EoE. U pedijatrijskih pacijenata tkivna ekspresija IL33 je direktno proporcionalna nivoima IL5, IL3 i CCL26/eotaksin-3 [10].

Klinička prezentacija EoE je dobno zavisna. Kod odojčadi i male dece javljaju se nespecifični simptomi poput refleksnih simptoma, a kod starijih od 10 godina disfagija i impakcija hrane. Dijagnostička metoda izbora su serijske biopsije jednjaka tokom proksimalne gastrointestinalne endoskopije [9]. Preporučeno je da se uzima najmanje 6 uzoraka sa najmanje dve različite lokalizacije u jednjaku, obično iz distalne i proksimalne polovine jednjaka. Endoskopski znaci koji mogu (ali ne uvek) da se nađu kod pacijenata sa EoE su: edem sluznice, fragilnost sluznice, longitudinalne brazde, koncentrični prstenovi, beličasti plakovi, kao i prisustvo stenozе jednjaka ili jednjaka uskog kalibra. Za postavljanje dijagnoze EoE neophodna je kliničko-patološka korelacija.

U histopatološkom nalazu u EoE dominira infiltracija skvamoznog epitela sluznice jednjaka velikim brojem Eo - više od 15 po velikom polju mikroskopskog uveličanja ( $\times 400$  - *high power field*, HPF). Eo se dominantno nalaze u gornjoj polovini epitela u uzorcima iz različitih segmenata jednjaka. Takođe, karakteristično je prisustvo eozinofilnih mikroapscesa (grupica od  $\geq 4$  Eo) koji se nalaze u superficijalnom sloju skvamoznog epitela. Degranulacija eozinofilnih leukocita je obično lako uočljiva [11]. Promene postoje i na nivou lamine proprije gde se takođe nalazi eozinofilni infiltrat, a posle dužeg vremenskog perioda moguća je pojava fibroze. Učestalost dijagnostikovanja fibroze lamine proprije u EoE korelira sa brojem biopsijskih uzoraka [12].

U terapijske opcije za EoE od 2017. godine spadaju: inhibitori protonske pumpe (IPP), topikalni steroidi i eliminacione dijeta [9]. Fibrostenotične komplikacije rešavaju se endoskopskom dilatacijom jednjaka. Kasno postavljanje dijagnoze i/ili neadekvatno lečenje određuje prevalenciju fibroznih komplikacija (od 46,5% ukoliko se sa dijagnozom zakasni 2 godine do 87,5% kod kašnjenja od preko 20 godina) [13]. Takođe, dijametar jednjaka je u značajnoj negativnoj korelaciji sa dijagnostičkim kašnjenjem. Starost pacijenta je u pozitivnoj korelaciji sa količinom subepitelne depozita kolagena, kao i sa verovatnoćom za razvoj fibrostenotične forme bolesti [9]. Prema tome, prirodni tok EoE karakteriše progresija od inflamatornog ka fibrostenotičnom fenotipu. Nekoliko studija je pokazalo da kortikosteroidi i eliminaciona dijeta imaju sposobnost da preinače remodelovanje jednjaka kod dece, kao i da spreče stvaranje stenozа, reverzijom epitelne mezenhimalne tranzicije [14,15].

### Molekularni markeri eozinofilnog ezofagitisa

Kombinacijom različitih pristupa do sada je utvrđen značajan broj markera (proteinskih, DNK i RNK) koji bi bili od velike pomoći za identifikaciju EoE, kao i za odabir najpodesnije terapije. Dodatno, utvrđeno je da je IL13 jedan od glavnih specifičnih faktora koji indukuje razvoj EoE: tokom aktivne faze bolesti kod ljudi IL13 se eksprimira 16 puta više nego u zdravom tkivu, u *ex vivo* eksperimentima IL13 može indukovati transkript karakterističan za EoE [16], prekomerna ekspresija IL13 kod miša indukuje bolest sa molekularnim karakteristikama humanog EoE [17], intra-trachealna aplikacija IL13 indukuje dozno-zavisni EoE [18], ceo proces razvoja EoE može da se zaustavi aplikovanjem IL13 antitela [19]. Zbog svega navedenog, mnoga istraživanja baziraju se na analizi transkriptoma indukovanih aplikacijom IL13. EoE transkriptom podrazumeva seriju kodirajućih i nekodirajućih RNK molekula. Kodirajuća RNK je osnova za sintezu proteina koji mogu da se koriste kao prediktivni faktori i markeri diferencijalne dijagnoze.

**Eotaksin-3** (*eotaxin-3*) je jedan od prvootkrivenih proteina prekomerno ekspimiranih kod EoE pacijenata. Osnovna uloga ovog proteina kodiranog *CCL26* genom, jeste da privlači Eo. Istraživanja su pokazala da je nivo CCL26 iRNK izolovane iz parafinskih kalupa EoE pacijenata znatno viši od nivoa ove iRNK kod GERD pacijenata [20]. Primenom kandidat-gen pristupa, identifikovan je polimorfizam (single-gene polymorphism, SNP) u 3'-nekodirajućem delu ovog gena koji značajno utiče na produkciju iRNK, čime se dodatno povećava produkcija eotaksina-3. Štaviše, EoE pacijenti

koji su imali visok nivo eotaksina-3, slabije su reagovali na prepisanu terapiju i češće su imali relaps bolesti. Kod dece sa ezofagusnom eozinofilijom, primenom IPP došlo je do smanjenja nivoa eotaksina-3 u proksimalnim delovima jednjaka, ali ne i u distalnim [21].

**ALOX15** je enzim koji reguliše odgovor ćelije na oksidativni stres i inflamaciju, a time je uključen u patogenezu raznih humanih oboljenja [22]. S obzirom da je ALOX15 efikasan supresor inflamacije [23], više studija pokazalo je visoku ekspresiju ALOX15 na iRNK i proteinskom nivou kod obolelih od EoE [24]. Međutim, i subpopulacija GERB pacijenata sa >5 Eo/HPF takođe ekspresira ALOX15 [25].

GWAS studija, koja je obuhvatala oko 2.5 miliona genetičkih varijanti u 736 individua sa EoE, identifikovala je *CAPN14* gen koji se specifično ekspresira u ezofagusu, i to u skladu sa aktivacijom EoE oboljenja [26]. *CAPN14* gen kodira protein **kalpain**, klasičnu kalcijum-zavisnu proteazu koja pripada proteolitičkim sistemima. Istraživanja su pokazala da pod uticajem IL13 u kulturi ezofagusnih epitelnih ćelija dolazi do povećane produkcije kalpaina, i na iRNK i na proteinskom nivou [27]. Sa druge strane, epitel sa utišanim *CAPN14* genom ima 5,5 puta veće međućelijske razmake i lošije organizovanu bazalnu laminu, a proces je takođe regulisan dejstvom IL13 [27]. Pad ekspresije ili gubitak funkcije proteina koji učestvuju u izgradnji bazalne membrane vodi povećanju permeabilnosti membrane i sklonosti takvih osoba da razviju razne autoimune bolesti.

**Desmoglein 1** (DSG1) je protein čija ekspresija opada u skladu sa pojavom aktivnog EoE, a jedan je od ključnih faktora za održavanje homeostaze epidermalne barijere. Naime, DSG1 pripada familiji dezmozomalnih kadherina sa osnovnom ulogom u održavanju tesnih veza između ćelija epitela. Pad ekspresije i utišavanje ovog gena slabi integritet ćelijske barijere, uzrokuje razdvajanje ćelija, a posledično utiče i na ekspresiju filagrina i drugih epitelnih kadherina [28]. S obzirom da IL13 snažno inhibira produkciju DSG1, moguće je da DSG1 propagira alergijsku ezofagusnu inflamaciju [29], odnosno gubitak DSG1 omogućava povećanu permeabilnost membrane, a time i propagaciju lokalnog inflamatornog procesa, što uključuje preosetljivost na kiselinu i povećano preuzimanje antigena u jednjaku.

**Filagrin** još jedan od proteina koji učestvuje u izgradnji epidermalne barijere, a čija ekspresija opada u mukozi jednjaka EoE pacijenata [30]. Pad ekspresije ili gubitak njegove funkcije vodi povećanju permeabilnosti membrane i sklonosti pacijenata atopijskim kožnim reakcijama [30]. Dosadašnja istraživanja su pokazala da je filagrin negativno regulisan od strane IL13 i da je rizik nastanka EoE povećan kod osoba koje su nosioci varijante 2282del4 u genu za filagrin [30].

Receptori označeni kao „*toll-like receptors*“ (TLRs) jesu transmembranski receptori ćelija intestinuma i bazalne lamine koji odgovaraju na signale poreklom od mikrobiota i služe za razlikovanje patogenih mikroorganizama od komensalnih bakterija. Sve je više dokaza da postoje promene u mikrobioti jednjaka kod EoE pacijenata, odnosno da su TLRs jedni od glavnih tačaka komunikacije između bakterija i mukoznog imunološkog sistema. Preliminarni rezultati pokazuju pozitivan uticaj dijeta na regulaciju nivoa TLRs. Takođe, utvrđeno je da je TLR3 polimorfizam u genu za TLR povezan sa pojavom senzitivnosti na aerozagađenje i alergijom na hranu kod EoE pacijenata [31]. Primarne ćelije jednjaka proizvode citokin TSLP kao odgovor na signal prenet putem TLR3 receptora [31].

**TSLP** (*Thymic Stromal Lymphopoietin*) jako stimuliše Th2 alergijski imuni odgovor, što ga čini glavnim okidačem atopijske inflamacije i tkivnog remodelovanja. TSLP iRNK kod pacijenata sa aktivnim EoE je povišen u odnosu na kontrole [32,33]. Štaviše, utvrđeno je da je jedna varijanta gena koja kodira receptor za TSLP (*Cytokine Receptor-like Factor 2*, CRLF-2) jako asocirana sa pojavom EoE kod muškaraca [33]. Novije terapijske strategije koje se baziraju na regulaciji ekspresije TSLP za sada daju dobre rezultate [32].

Fibrostenotične komplikacije nastaju procesom remodelovanja ekstraćelijskog matriksa, koji je uzrokovan dejstvom matriksnih proteinaza, prisustvom periostina u većoj količini, kao i procesom koji je povezan sa produkcijom TGF- $\beta$  u eozinofilima. **Periostin** je protein ekstraćelijskog matriksa koji reguliše eozinofiliju (utiče na privlačenje eozinofila na mesto inflamacije i njihovu adheziju za epitel) i učestvuje u remodelovanju tkiva [34]. Jedan od glavnih puteva razvoja EoE indukovano aplikacijom IL13 jeste upravo preko produkcije periostina [34]. Eozinofili koji se nakupljaju kod obolelih od EoE izvor su **TGF- $\beta$**  koji utiče na rast epitelnih ćelija, razvoj fibroze i na remodelovanje [35]. Nivo TGF- $\beta$  koreliše sa stepenom fibroze kod EoE pacijenata [36]. Prisustvo varijante u promotorskom delu gena za TGF- $\beta$  asociran je sa povećanim bojem Eo u jednjaku i uzrok je odsustva reakcije na terapiju kortikosteroidima [37]. **Matriksne metaloproteinaze (MMP)** su enzimi koji putem razlaganja želatina i kolagena remodeluju ekstraćelijski matriks, a takođe mogu aktivirati i druge MMP ili faktore rasta kao što je TGF- $\beta$  [38]. S obzirom na njihovu ulogu, promena ekspresije MMP najviše je izučavana kod različitih tumora, pogotovu prilikom nastanka i razvoja malignih tumora epitelnog porekla [39,40] što uključuje i karcinome jednjaka [41,42]. Do sada, postoje samo dve studije koje su ispitivale promenu ekspresije MMP kod obolelih od EoE [43,44]. Prva studija bazirala se na analizi tkivne ekspresije MMP. Utvrđena je povišena ekspresija MMP-2 i MMP-14 kod dece obolele od EoE koja može da se reguliše topikalnom aplikacijom kortikosteroidnih lekova i pokazala je da se pod uticajem TGF- $\beta$  povećava produkcija MMP-2 *in vitro* [43]. Druga studija, analizirala je promenu ekspresije više biomarkera izolovanih iz seruma i urina (uključujući i MMP-9) radi validacije neinvazivnog dijagnostikovanja EoE kod dece i predikcije efekata terapije [44]. Po rezultatima njihove studije

utvrđeni panel markera izolovanih iz plazme zajedno sa brojem eozinofila najpodesnija je opcija za identifikaciju EoE i predikciju terapijskog odgovora.

Kao što je već pomenuto, EoE transkriptom sadrži i seriju nekodirajućih RNK molekula, što uključuje mikroRNK i duge-nekodirajuće RNK, molekule sa osnovnom ulogom u regulaciji transkripcije i translacije [45,46].

Duge nekodirajuće RNK (*long non-coding RNA*) (dnRNK) jesu klasa RNK molekula, dužine preko 200 nukleotida, koje ne kodiraju proteine već regulišu ekspresiju pratećih gena. Do danas je otkriven veliki broj dnRNK koje se povezuju sa nastankom i progresijom raznih obolenja. Duga nekodirajuća RNK koju aktivira BRAF somatska mutacija (BRAF-activated lncRNA, BANCR), prvi put je identifikovana 2012. godine metodom sekvenciranja i definisana je kao 693 bazna para dug transkript od četiri egzona kodiranih na 9. hromozomu koji se aktivira usled prisustva BRAFV600E mutacije, a utiče na redukciju migracije ćelija melanoma [47]. Nakon inicijalnog ispitivanja, objavljeno je više radova koji ukazuju na izmenjenu ekspresiju BANCR, prvenstveno u različitim karcinomima epitelnog porekla [48,49]. Na osnovu jedne preliminarnе studije, nivo BANCR je povećan u tkivu jednjaka EoE pacijenata u odnosu na zdrave kontrole i na GERB pacijente [45]. Ista grupa je pokazala da nivo BANCR utiče i na nivo IL13-indukovanih gena koji promovišu inflamaciju, kao i da nivo ekspresije BANCR koreliše sa nivoom iRNK za ALOX15 protein.

**MikroRNK (miR)** jesu male nekodirajuće RNK, dužine 19-25 nukleotida, koje predstavljaju glavne regulatore ekspresije asociраниh gena [46]. Osnovni mehanizam njihovog dejstva je putem RNK interferencije na posttranskripcionom nivou, koja vodi degradaciji ciljane iRNK, i posledično inhibira translaciju. MiR učestvuju u regulaciji velikog broja fizioloških i patoloških procesa koji uključuju rast i razvoj, odgovor na stres i inflamaciju. Takođe, miR su potentni modulatori inflamatornih signalnih puteva i neophodne su za održavanje homeostaze intestinalnog trakta. U telu sisara postoji nekoliko stotina miR, a jedna miR može da reguliše više iRNK, isto kao što jedna iRNK može da bude regulisana od strane više miR. Karakterizacija miR i njihovih ciljanih iRNK jesu danas jedna od najintenzivnije izučavanih tema. Promene u **ezofagusnoj miR** ekspresiji primećene su i kod EoE pacijenata. Primenom kvantitativne RT-PCR metode (qRT-PCR) utvrđeno je da kod pedijatrijskih EoE pacijenata postoji porast ekspresije 21 miR i pad ekspresije 11 miR, pri čemu su miR-21 i miR-223 bile najjače tkivno ekspimirane miR kod EoE pacijenata [50]. Naime, miR-21 stimuliše Th2-asociranu hipersenzitivnost putem inhibiranja iRNK za IL12p35 u dendritičnim ćelijama, sposobna je da samostalno indukuje EoE kod miševa, a nivo miR-21 u korelaciji je sa brojem eozinofila, kao i nivoima ključnih faktora EoE transkriptoma (eotaksin-3, periostin) [51]. Suprotno tome, produkcija miR-375 je redukovana u ezofagusnim epitelnim ćelijama EoE pacijenata [50], a utiče na IL13 indukovanu auto-inflamaciju [52]. Povratak miR-21, miR-223 i miR-375 na normalne vrednosti utvrđen je kod EoE obolelih koji su reagovali na terapiju kortikosteroidima [53]. Do sada, utvrđen je tkivni porast i miR-214, miR-146b-5b, miR-146a, miR-145, miR-142-3p, miR-21, miR-203 kod EoE pacijenata [54]. Nedavno je pokazano da miR-146a selektivno suprimira Th1 ćelijski imuni odgovor [55], dok se za miR-203 zna da smanjuje proliferaciju epitelnih ćelija, a pospešuje njihovu diferencijaciju [56], što delimično objašnjava uzrok nastanka hiperplazije kod EoE pacijenata. Zajedno, ova saznanja sugerišu model u kome sinergističkim delovanjem više različitih miR dolazi do polarizacije Th odgovora od Th0 ka Th2, i do razvoja patohistološke slike karakteristične za EoE. Promena ekspresije pokazana je i za mnoge druge miR (npr. miR-223, miR-27, miR-7, miR-29b, miR-642....), ali još uvek se ne zna mnogo o posledicama njihove izmenjene ekspresije.

Pored tkivnih, otkriveno je da postoje i **cirkulišuće miR** kod EoE pacijenata, koje mogu da se koriste kao potencijalni neinvazivni biomarkeri. Iako još uvek nije od kliničkog značaja, preliminarni rezultati su pokazali da bi nivoi nekih cirkulišućih miR (miR-146a, miR-146b, miR-223) mogli da se koriste za identifikaciju EoE pacijenata [50]. Dodatno, pokazano je da su se u periodu EoE remisije nivoi miR-146a i miR-223 vratili na bazalne vrednosti, dok je nivo cirkulišuće miR-146b i u remisiji zadržao visoke vrednosti [50]. Identifikovan je set od 4 miR koji mogu da budu izolovani iz pljuvačke (miR-570-3p, miR-3613-5p, miR-4668-5p i miR-30a-5p), a sposobnih da razlikuju EoE uzorke od kontrola [57]. Ekspresija miR-3613-5p i miR-4668-5p opala je u pljuvački EoE pacijenata koji su reagovali na kortikosteroidnu terapiju (fluticasone). Nedavno, ista grupa je *in-silico* analizom pokušala da predvidi funkciju miR-4668-5p i pokazalo se da ova miR targetuje gene koji su uključeni u signalizaciju koja se prenosi preko TFG- $\beta$  i gena koji su uključeni u održavanje homeostaze epitelne barijere [58].

Smatra se da eliminaciona dijeta utiče na adaptivni imunitet, verovatno putem supresije antigenom-indukovanog T ćelijskog odgovora. Sa druge strane, anti-inflamatorni lekovi u značajnom broju slučajeva nisu efikasni, ili, veoma često uprkos tome što tkivo histološki pokazuje znakove izlečenja, ostaje abnormalna ekspresija gena koji regulišu epitelnu diferencijaciju, što daje osnovu za razvoj bolesti i/ili njen relaps. Zapravo, standardnim metodama, veoma često vidimo razliku između kliničkih simptoma i patohistološkog nalaza, što znači da pacijenti mogu i dalje osećati simptome bolesti uprkos tome što je histopatološki nalaz isti kao kod zdravog tkiva, i obrnuto. Identifikacija EoE transkriptoma i razlučivanje EoE imunopatogeneze omogućava razvoj lekova koji bi delovali ciljano na mesto „greške“. Npr. aplikacijom antitela na IL13 (QAX576) ili IL5 (mepolizumab, reslizumab) redukuje se broj eozinofila u jednjaku, doduše ne tako intezivno kao primenom dijete i glukokortikoida, ali bez neželjenih efekata standardnih terapija [59].

Analizom EoE transkriptoma, pokazano je da aplikacijom IL13 antitela kod EoE pacijenata dolazi do poboljšanja strukture i funkcije bazalne membrane, kao i smanjenja inflamacije [59]. Iako su potrebna dodatna istraživanja, obećavajuće rezultate daje lek poznat kao CRT2 koji je zapravo molekul koji inhibira eozinofile i istovremeno je hemoatraktant Th2 ćelija [60]. Takođe, postoje i inhibitori za TSLP (AMG157), eotaksin-3 (bertilimumab), inhibitori receptora za IL4 i IL13 (dupilumab), kao i mnogi drugi lektini koji liče na imunoglobuline [61].

## GASTROEZOFAGUSNA REFLUKSNA BOLEST

Gastroezofagusni refluks, tj. nevoljno vraćanje želudačnog sadržaja u jednjak, je fiziološka pojava koja se javlja više puta dnevno kod svake bebe, deteta, i odraslog čoveka, posebno nakon obroka [62]. Gastroezofagusna refluksna bolest (GERB) je gastroezofagusni refluks koji uzrokuje značajne simptome i/ili komplikacije. Refluksni ezofagitis je definisan makroskopski vidljivim lezijama sluznice jednjaka, i najčešće je posledica kiselog refluksa [63]. GERB se često dijagnostikuje kod odojčadi i dece na osnovu simptoma. Najčešći simptomi GERBa kod odojčadi su regurgitacija sa ili bez povraćanja i uznemirenost, a kod dece i adolescenata gorušica, regurgitacija i epigastrični bol. Disfagija i odinofagija mogu biti simptomi refluksnog ezofagitisa, ali se češće viđaju kod eozinofilnog ezofagitisa, ahalezije i striktura jednjaka. Koriste se mnogi dijagnostički testovi: upitnici, empirijski dijagnostički test sa inhibitorima protonske pumpe, pH monitoring, pH-MII (multikanalna intraluminalna impedansa) monitoring, ezofagogastroduodenoskopija (EGDS), pasaža jednjaka i gastroduodenuma, manometrija jednjaka itd. Na osnovu endoskopskog nalaza GERB se deli na refluksni ezofagitis (RE) i ne-erozivnu refluksnu bolest (NERB). Učestalost RE kod dece kreće se od 12,4%-34,6% i raste sa uzrastom [64,65]. Histopatološki RE odlikuje bazalna hiperplazija koja čini više od 15% debljine skvamoznog epitela. Međučelijski prostori u skvamoznom epitelu su prošireni. Vaskularne papile su elongirane i dosežu do gornje polovine debljine epitela. Unutar epitela se nalazi inflamatorni infiltrat dominantno sačinjen od Eo. Broj Eo varira i često nije veliki, najčešće je manji od 15/HPF (7/HPF). U slučaju kada je broj Eo veći od 15/HPF, glavna diferencijalna dijagnoza je EoE. Za razliku od EoE, inflamatorni infiltrat u RE se dominantno nalazi u bazalnoj polovini epitela. Takođe je povećan broj intraepitelnih T limfocita, a često se nalaze i neutrofilni. U epitelu se mogu videti i balonirane ćelije (uvećane epitelne ćelije sa svetlom citoplazmom) [11]. Histološki nalaz refluks karditisa u biopsiji gastroezofagusnog prelaza može pomoći u diferencijalnoj dijagnozi u odnosu na EoE. Iako pojedini autori dovode u pitanje postojanje kardijačnog tipa sluznice kao normalne histološke varijante, analizom autopsijskog materijala je pokazano da ovaj tip sluznice postoji nezavisno od GERB [66]. Histopatološki nalaz u ezofagitisima sa dominantno eozinofilnim infiltratom nije dovoljno specifičan. U Tabeli 1 su prikazane histopatološke karakteristike u EoE, GERB i EGE. Svakako, za definitivnu dijagnozu, praćenje bolesti i efekta terapije neophodna je kliničko-patološka korelacija [11].

Lečenje GERBa kod odojčadi i dece može biti ne-farmakološko, farmakološko i hirurško. Antisekretorna terapija (inhibitori protonske pumpe, H2 blokatori) je terapija izbora kod dece i adolescenata sa GERBom i retko je indikovana kod odojčadi [63].

HP karakteristika/oboljenje	EoE	GERB	EGE
Bazalna hiperplazija (>15% debljine skvamoznog epitela)	Prisutna, obično izražena	Prisutna, obično laka	Moguća
Povećan međučelijski prostor u skvamoznom epitelu sluznice jednjaka	Moguć	Moguć	Moguć
Elongacija vaskularnih papila (>2/3 debljine skvamoznog epitela)	Prisutna	Prisutna	Moguća
Distribucija eozinofilnih leukocita duž jednjaka	U svim segmentima jednjaka	U distalnoj trećini jednjaka	U svim segmentima jednjaka
Prisustvo eozinofilnih leukocita u različitim segmentima gastrointestinalnog trakta	Samo u jednjaku	Samo u jednjaku	Moguća u svim segmentima gastrointestinalnog trakta
Gustina eozinofilnih leukocita u sluznici jednjaka	≥15/HPF, prema definiciji	Najčešće ≥15/HPF, ali može biti i veći	Varijabilna
Eozinofilni mikroapscesi (klasteri ≥4 eozinofilnih leukocita) u sluznici jednjaka	Često	Retko	Retko
Degranulacija eozinofilnih leukocita	Često	Retko	Varijabilno
Superfijalna lokalizacija eozinofilnih leukocita	Često	Retko	Moguća
Fibroza lamine proprije sluznice jednjaka	Često	Retko	Ne

Tabela 1. Histopatološke karakteristike najčešćih eozinofilnih bolesti jednjaka

### Molekularni markeri gastroezofagusne refluksne bolesti

Potruga za markerima koji bi bili od koristi prilikom dijagnostikovanja GERBa nije bila toliko obimna kao za EoE, a većina dosadašnjih istraživanja bazira se na upotrebljivosti imunohistohemijskih markera prilikom identifikacije GERBa.

**Proteinazom aktivirani receptor 2** (*Proteinase-activated Receptor-2*, PAR-2), receptor koji aktivacijom indukuje proinflamatorne i neuroinflamatorne efekte, pokazao se kao dobar marker za identifikaciju RE i NERB, odnosno visoka ekspresija PAR2 asocira sa hiperplazijom bazalne membrane i povećanjem broja inflamatornih ćelija [67]. Takođe, ustanovljeno je da aktivacija PAR2 vodi ka povećanoj produkciji IL8 i na taj način doprinosi inflamaciji i razaranju mukoze jednjaka [68].

**TRPV1** (*Capsaicin-sensitive Transient Receptor Potential Cation Channel Subfamily V Member 1*) i **PGP9.5** (*Protein Gene Product 9.5*) jesu markeri hipersenzitivnosti. Utvrđeno je da dužina izlaganja ćelija kiseline koreliše sa povećanom produkcijom TRPV1 i PGP9.5 [69], dok je odsustvo reakcije na IPP tretman povezan sa nedostatkom PGP9.5 [70].

Animalni i *in vitro* modeli GERBa pokazali su da postoje promene u ekspresiji i lokalizaciji **klaudin-3 i -4** [71], proteina bitnih za stvaranje i održavanje tesnih veza („*tight junctions*“) među ćelijama epitela. Međutim, iako je i kod ljudi obolelih od GERBa uočena promena u ekspresiji kludin-1,-2 i -4, ZO-1, filagrina i okludina, izmenjeni nivoi ekspresije pomenutih markera nisu korelisali sa povećanjem interćelijskog prostora, kao ni sa hiperplazijom bazalne membrane [72]. U studiji koja je obuhvatila 95 GERB pacijenata, pokazana je znatno povećana ekspresija seta gena uključenih u formiranje dezmozoma između ćelija bazalne membrane, što može da bude značajno prilikom identifikacije oštećenja mukoze [73]. Neka novija ispitivanja, koja preliminarno daju obećavajuće rezultate, baziraju se na ispitivanju aktivacije **TREM-1 receptora** [74] kao markera dijagnoze i potencijalnih targeta terapije.

**Gastrin 17** (G-17) je predložen kao neinvazivni marker GERBa, s obzirom na njegovu negativnu spregu sa pojavom kiseline i produkcijom hormona. S obzirom na razlike u nivou G-17 kod kiselog i nekiselog refluksa [75] razvijen je i ELISA detekcioni kit [GastroPanel® Gastrin-17] uz pomoć koga je moguća verifikacija gastrina-17 kao ne-invazivnog serumskog markera GERBa kod simptomatskih i asimptomatskih pacijenata.

Uloga i upotrebljivost navedenih, kao i identifikacija novih markera GERBa se nastavlja i neophodna su dalja istraživanja.

### Diferencijalna dijagnostika gastroezofagusne refluksne bolesti i eozinofilnog ezofagitisa

Interakcija između GERBa i EoE je dvosmerna i složena [9]. GERB može da dovede do oštećenja sluznice jednjaka što rezultira blagom eozinofilnom infiltracijom sluznice. GERB i EoE mogu da koegzistiraju, ali da ne budu povezani. EoE može da bude uzrok GERBa ili da mu doprinosi. Takođe, GERB može da uzrokuje EoE ili da mu doprinosi. Prema jednoj hipotezi, GERB doprinosi nastanku EoE time što dovodi do oštećenja integriteta sluznice jednjaka, i omogućava lakši transepitelni prolazak alergena sa posledičnom aktivacijom alergijskog imunološkog odgovora [76]. S druge strane, dokazano je postojanje hipersenzitivnosti jednjaka kod pacijenata sa EoE [77]. Integritet sluznice jednjaka meren bazalnom impedansom je značajno smanjen kod pacijenata sa EoE u poređenju sa zdravim kontrolama [76]. Hipersenzitivnost jednjaka može da bude posledica mikroskopskih promena integriteta sluznice jednjaka i da objasni simptomatsko poboljšanje na IPP uprkos održavanju inflamacije jednjaka [78]. Isto tako, EoE može da dovede do morfoloških i funkcionalnih promena jednjaka, koje mogu da indukuju GERB.

Pojam eozinofilije jednjaka koja reaguje na inhibitore protonske pumpe (*PPI-responsive esophageal eosinophilia - PPI-REE*) uveden je 2011. godine. Do tada se smatralo da se EoE i GERB međusobno isključuju, te da samo pacijenti sa GERBom mogu da daju klinički odgovor na IPP. Prema definiciji PPI-REE ima kliničke, endoskopske i histološke karakteristike EoE, a primena IPP dovodi do kliničke i histološke remisije, i u odsustvu GERBa [79]. Međutim, novija istraživanja su pokazala da se PPI-REE i EoE ne razlikuju po pitanju kliničke slike, endoskopskog nalaza, nalaza pH monitoringa, histološkog nalaza i molekularne osnove [80]. Pacijenti sa EoE i GERBom koji su na terapiji IPP na isti način reaguju na ovu terapiju – supresijom stimulatornog efekta IL4 i IL13. Kod ovih pacijenata omeprazol inhibira vezivanje STAT6 za promoter eotaksina-3 [2]. Analizom transkriptoma otkriven je sličan obrazac genske regulacije (*up-* i *down-*) koji je specifičan za pacijente sa EoE i PPI-REE, ali ne i za pacijente sa GERBom [81]. Sposobnost IPP da dovede do gotovo potpune reverzije ekspresije gena povezanih sa PPI-REE, naročito onim što se povezuje sa klasičnom alergijskom inflamacijom, pružio je uvid u moguću etiologiju bolesti i nove terapijske opcije kod pacijenata sa značajnom eozinofilijom jednjaka. Klinička ispitivanja su pokazala da IPP (kao monoterapija) smanjuje alergijsku Th2 upalu kod pacijenta sa PPI-REE [78], na sličan način kao što to čine topikalni steroidi kod EoE. Pored toga, IPP kod pacijenata sa PPI-REE mogu gotovo potpuno da normalizuju genetski potpis, koji je sličan onom koji se nalazi kod pacijenata sa EoE [81]. Takođe, pacijenti sa EoE koji pokazuju odgovor na eliminacionu dijetu ili topikalne steroide, mogu da odgovore i na monoterapiju sa IPP [82]. Ovi rezultati ističu ulogu kiselog refluksa kod jedne podgrupe pacijenata sa EoE, iako prisustvo GERBa ne mora obavezno da isključi antigen-posredovani Th2 inflamatorni odgovor. Prema tome, PPI-REE predstavlja podfenotip EoE i ne koristi se kao poseban entitet od 2017. godine [9]. Takođe, IPP su postali terapijska opcija za lečenje EoE. S obzirom na laku primenu, dobru komplijansu i bezbedonosni profil, kao i visoku stopu odgovora, IPP se može smatrati terapijom

prvog izbora [9]. Potrebno je pacijenta i/ili roditelje/staratelje prethodno upoznati sa prednostima i nedostacima svih modaliteta lečenja, kao i sa činjenicom da se način lečenja može menjati tokom vremena.

## EOZINOFILNI GASTROENTERITIS

Eozinofilni gastroenteritis (EGE) (sinonimi: idiopatski eozinofilni enteritis, idiopatski eozinofilni kolitis) spada u retke primarne EGIB, čija prevalencija je manja od 10 na 100 000 ljudi. Eozinofilni infiltrat se nalazi dominantno u mucozi želuca, tankog i/ili debelog creva [4,5]. Patogeneza EGE nije u potpunosti razjašnjena. Smatra se da je u osnovi reakcija na inhalatorne ili nutritivne alergene, a da značajnu ulogu ima i crevna disbioza. U ovim bolestima može postojati genetska deplecija uloge eotaksina, ali ne i IL5 [2].

Eo mogu da se nađu u različitim slojevima zida creva, a klinički simptomi zavise od zahvaćenosti sloja u zidu organa koji je infiltrovan. Najčešće su zahvaćeni želudac i tanko crevo. Ukoliko je zahvaćena samo sluzokoža bolest će se manifestovati enteropatijom sa gubitkom proteina i malapsorpcijom. Ukoliko je zahvaćen i mišićni sloj javiće se bol u trbuhu, povraćanje, dispeptični simptomi i poremećaj motiliteta creva. Subserozno zahvatanje uglavnom uzrokuje ascites sa izrazitom eozinofilijom. Dijagnoza se postavlja patohistološkom analizom endoskopski biopsiranih uzoraka sluznice različitih delova gastrointestinalnog trakta ili hirurški resekovanih uzoraka. U endoskopskim biopsijama se odlikuje povećanim brojem Eo u lamini proprijii sluznice želuca, tankog i/ili debelog creva (>20/HPF) i njihovim prisustvom u pokrovnom i foveolarnom/kriptnom epitelu. Eozinofilni infiltrat u ovom oboljenju se može videti i u jednjaku. Kao i u ostalim slučajevima primarne eozinofilije jednjaka, eozinofilni infiltrat je neravnomerno zastupljen. Diferencijalna dijagnoza u odnosu na EoE nije u potpunosti jasna, posebno kada se za EoE zna da je takođe provociran izlaganju antigenima [11]. Za postavljanje dijagnoze EoE u okviru EGE neophodna je kliničko-patološka korelacija.

Značajan broj pacijenata ima samo jednu epizodu bez relapsa, dok manji broj ima relapsno-remitentnu ili hroničnu bolest. Dokazi vezani za lečenje ovih poremećaja potiču iz prikaza slučajeva i serija slučajeva. Prva terapijska linija jesu empirijske eliminacione dijetete i kortikosteroidi. Sistemski kortikosteroidi, kao i budesonid, su često efikasni za indukciju remisije. U slučaju čestih relapsa ili refraktornosti na primenu steroida može da se pokuša sa imunosupresivima ili biološkom terapijom. U slučajevima opstrukcije indikovana je hirurška intervencija.

### Molekularni markeri eozinofilnog gastroenteritisa

S obzirom da je EGE retka bolest, nema mnogo istraživanja na temu genetičkih identifikacionih markera, već se većina ispitivanja zasnivaju na utvrđivanju efikasnosti lekova koji već postoje i koriste se za terapiju drugih oboljenja sličnih simptoma. Iako danas postoji značajan broj studija koje se bave validacijom novih lekova kod EGE obolelih, većina njih je još uvek u vidu preliminarnih istraživanja, te je neophodna dalja verifikacija efekata ispitivanih lekova u kliničkoj praksi. Najnovija ispitivanja, rađena na malom broju uzoraka, ispitivala su efekat inhibitora leukotrijena (LT), imunomodulatora i biološke terapije.

**LT inhibitori** su antagonisti receptora za leukotriene. Primenom ovih lekova koji se obično koriste za terapiju obolelih od astme, dolazi do inhibiranja inflamatornih procesa koji se prenose preko leukotriena. Dosadašnja ispitivanja pokazala su pozitivne efekte kod svih osoba kod kojih su primećene eozinofilne infiltracije, uključujući EGE. Najčešće ispitivani LT inhibitor je montelukast [83]. Većina dosadašnjih studija pokazala su pozitivne efekte montelukasta, primenjenog samog ili u kombinaciji sa steroidima, na indukciju regeneracije epitela i održavanje remisije kod EGE obolelih [84]. Međutim, većina dosadašnjih ispitivanja bazirala je svoje rezultate na brzom odgovoru pacijenta na dejstvo leka. Stoga, neophodne su studije koje bi utvrdile dugotrajne efekte LT inhibitora, njihovu efikanost i bezbednost.

**Imunomodulatori** su ispitivani kao alternativa za EGE pacijente koji su zavisni od terapije steroidima ili su na njih rezistentni. To su molekuli koji inhibiraju sintezu purina (što posledično smanjuje sintezu DNK/RNK molekula) i negativno utiču na proliferaciju T i B limfocita (što posledično smanjuje produkciju citotoksičnih T limfocita, odnosno smanjuje se inflamacija). Do sada ispitivani imunomodulatori su 6-merkaptopurin i azatioprin koji su dali diskutabilne rezultate kod EGE obolelih [85].

**Biološka terapija** podrazumeva upotrebu lekova koji utiču na polarizaciju imunog odgovora, odnosno na mehanizme dejstva Th2 alergijskog odgovora. Antitela na inflamatorne citokine (IL5, TNF $\alpha$ , i IgE), adaptirana za primenu kod obolelih od EGE, testirana u kliničkim studijama, dala su obećavajuće rezultate u smislu efikasnosti i bezbednosti primene. Pokazano je da pod uticajem ovih lekova dolazi do pada ukupnog broja eozinofila, inhibicije njihove aktivacije i smanjenja njihovog preživljavanja. Do sada dobre ili delimično dobre rezultate dali su reslizumab (neutrališuće antitelo na IL5) [86], infliximab (neutrališuće antitelo na TNF $\alpha$ ) [87], omalizumab (humanizovano anti-IgE monoklonsko antitelo koje redukuje nivoe IgE) [88] i interferon- $\alpha$  [89].

EGE je retka bolest, koja se često kasno ili pogrešno dijagnostikuje. Nedostaju studije u široj populaciji koje bi poredile efikasnost i bezbednost različitih lekova, kao i selektovale dobre prognostičke prediktore, u cilju sinteze terapijskog algoritma.

## ZAKLJUČAK

Identifikacija EGiB transkriptoma i razlučivanje imunopatogeneze različitih EGiB oboljenja omogućava identifikaciju novih molekularnih markera. Primena novoidentifikovanih i validiranih markera poboljšava dijagnozu, omogućava prognozu, kao i brz odabir adekvatnog terapijskog pristupa. Prednost analize transkriptoma jeste predikcija odgovora pacijenta na prepisani lek, što omogućava predikciju kliničkog ishoda. Dodatno, identifikacijom gena koji se eksprimiraju nakon inicijalne terapije („residual gene expression“) omogućava se sekundarna korektivna terapija za gene koji su i dalje aktivni. Bolja briga o pacijentima mogla bi biti postignuta i uvođenjem neinvazivnih biomarkera, dovoljno senzitivnih i specifičnih da omoguće brzu i tačnu dijagnozu, ili praćenje toka bolesti. Iako postoji značajan broj studija koje se bave validacijom novih lekova kod EGiB obolelih, većina njih je još uvek u vidu preliminarnih istraživanja, te je neophodna dalja verifikacija efekata ispitivanih lekova u kliničkoj praksi. Svakako, molekularno profilisanje gena specifičnih za određeno oboljenje olakšava dijagnozu, poboljšava kliničko praćenje i omogućava brz odabir terapije prilagođene pacijentu, odnosno personalizovani medicinski pristup obolelima.

## LITERATURA

- Loktionov A. Eosinophils in the gastrointestinal tract and their role in the pathogenesis of major colorectal disorders. *World J Gastroenterol* 2019; 25(27):3503-26.
- Coakley G, Wang H, Harris NL. Intestinal eosinophils: multifaceted roles in tissue homeostasis and disease. *Semin Immunopathol* 2021. doi: 10.1007/s00281-021-00851-2. Epub ahead of print.
- Shamri R, Xenakis JJ, Spencer LA. Eosinophils in innate immunity: an evolving story. *Cell Tissue Res* 2011; 343(1):57-83.
- Spergel JM, Book WM, Mays E, Song L, Shah SS, Talley NJ, Bonis PA. Variation in prevalence, diagnostic criteria, and initial management options for eosinophilic gastrointestinal diseases in the United States. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2011; 52(3):300-6.
- Gonsalves N. Eosinophilic Gastrointestinal Disorders. *Clin Rev Allergy Immunol* 2019; 57(2):272-85.
- Dobbins JW, Sheahan DG, Behar J. Eosinophilic gastroenteritis with esophageal involvement. *Gastroenterology* 1977; 72(6):1312-6.
- Attwood SE, Smyrk TC, Demeester TR, Jones JB. Esophageal eosinophilia with dysphagia. A distinct clinicopathologic syndrome. *Dig Dis Sci* 1993; 38(1):109-16.
- Straumann A, Spichtin HP, Bernoulli R, Loosli J, Vöggtlin J. Idiopathic eosinophilic esophagitis: a frequently overlooked disease with typical clinical aspects and discrete endoscopic findings. *Schweiz Med Wochenschr* 1994; 124(33):1419-29.
- Lucendo AJ, Molina-Infante J, Arias Á, von Arnim U, Bredenoord AJ, Bussmann C, et al. Guidelines on eosinophilic esophagitis: evidence-based statements and recommendations for diagnosis and management in children and adults. *United Eur Gastroenterol J* 2017; 5(3):335-58.
- Judd LM, Heine RG, Menheniott TR, Buzzelli J, O'Brien-Simpson N, Pavlic D, et al. Elevated IL-33 expression is associated with pediatric eosinophilic esophagitis, and exogenous IL-33 promotes eosinophilic esophagitis development in mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2016; 310(1):G13-25.
- Arnold CA, Lam-Himlin DM, Montgomery EM. *Atlas of Gastrointestinal Pathology A Pattern Based Approach to Non- Neoplastic Biopsies*. Wolters Kluwer 2015; pp 30-40.
- Ristic N, Jankovic R, Dragutinovic N, Atanaskovic-Markovic M, Radusinovic M, Stevic M, et al. Diagnosis of Eosinophilic Esophagitis in Children: A Serbian Single-Center Experience from 2010 to 2017. *Med Princ Pract* 2019; 28(5):449-56.
- Lipka S, Kumar A, Richter JE. Impact of Diagnostic Delay and Other Risk Factors on Eosinophilic Esophagitis Phenotype and Esophageal Diameter. *J Clin Gastroenterol* 2016; 50(2):134-40.
- Nielsen JA, Lager DJ, Lewin M, Rendon G, Roberts CA. The optimal number of biopsy fragments to establish a morphologic diagnosis of eosinophilic esophagitis. *Am J Gastroenterol* 2014; 109(4):515-20.
- Salek J, Clayton F, Vinson L, Saffari H, Pease LF, Boynton K, et al. Endoscopic appearance and location dictate diagnostic yield of biopsies in eosinophilic oesophagitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2015; 41(12):1288-95.
- Blanchard C, Mingler MK, Vicario M, Abonia JP, Wu YY, Lu TX, et al. IL-13 involvement in eosinophilic esophagitis: transcriptome analysis and reversibility with glucocorticoids. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 120(6):1292-300.
- Zuo L, Fulkerson PC, Finkelman FD, Mingler M, Fischetti CA, Blanchard C, et al. IL-13 induces esophageal remodeling and gene expression by an eosinophil-independent, IL-13R alpha 2-inhibited pathway. *J Immunol* 2010; 185(1):660-9.
- Mishra A, Rothenberg ME. Intratracheal IL-13 induces eosinophilic esophagitis by an IL-5, eotaxin-1, and STAT6-dependent mechanism. *Gastroenterology* 2003; 125(5):1419-27.
- Blanchard C, Mishra A, Saito-Akei H, Monk P, Anderson I, Rothenberg ME. Inhibition of human interleukin-13-induced respiratory and oesophageal inflammation by anti-human-interleukin-13 antibody (CAT-354). *Clin Exp Allergy* 2005; 35(8):1096-103.
- Bhattacharya B, Carlsten J, Sabo E, Kethu S, Meitner P, Tavares R, et al. Increased expression of eotaxin-3 distinguishes between eosinophilic esophagitis and gastroesophageal reflux disease. *Hum Pathol* 2007; 38(12):1744-53.
- Park JY, Zhang X, Nguyen N, Souza RF, Spechler SJ, Cheng E. Proton pump inhibitors decrease eotaxin-3 expression in the proximal esophagus of children with esophageal eosinophilia. *PLoS One* 2014; 9(7):e101391.
- Singh NK, Rao GN. Emerging role of 12/15-Lipoxygenase (ALOX15) in human pathologies. *Prog Lipid Res* 2019; 73:28-45.
- Tian R, Zuo X, Jaoude J, Mao F, Colby J, Shureiqi I. ALOX15 as a suppressor of inflammation and cancer: Lost in the link. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2017; 132:77-83.
- Dellon ES, Selitsky SR, Genta RM, Lash RH, Parker JS. Gene expression-phenotype associations in adults with eosinophilic esophagitis. *Dig Liver Dis* 2018; 50(8):804-11.
- Matoso A, Allen D, Herzlinger M, Ferreira J, Chen S, Lu S, et al. Correlation of ALOX15 expression with eosinophilic or reflux esophagitis in a cohort of pediatric patients with esophageal eosinophilia. *Hum Pathol* 2014; 45(6):1205-12.
- Sleiman PM, Wang ML, Cianferoni A, Aceves S, Gonsalves N, Nadeau K, et al. GWAS identifies four novel eosinophilic esophagitis loci. *Nat Commun* 2014; 5:5593.
- Kottyan LC, Davis BP, Sherrill JD, Liu K, Rochman M, Kaufman K, et al. Genome-wide association analysis of eosinophilic esophagitis provides insight into the tissue specificity of this allergic disease. *Nat Genet* 2014; 46(8):895-900.

28. Sherrill JD, Kc K, Wu D, Djukic Z, Caldwell JM, Stucke EM, et al. Desmoglein-1 regulates esophageal epithelial barrier function and immune responses in eosinophilic esophagitis. *Mucosal Immunol* 2014; 7(3):718-29.
29. Samuelov L, Sarig O, Harmon RM, Rapaport D, Ishida-Yamamoto A, Isakov O, et al. Desmoglein 1 deficiency results in severe dermatitis, multiple allergies and metabolic wasting. *Nat Genet* 2013; 45(10):1244-8.
30. O'Regan GM, Sandilands A, McLean WHI, Irvine AD. Filaggrin in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 122(4):689-93.
31. Ávila-Castellano R, García-Lozano JR, Cimbollek S, Lucendo AJ, Bozada JM, Quiralte J. Genetic variations in the TLR3 locus are associated with eosinophilic esophagitis. *United European Gastroenterol J* 2018; 6(3):349-57.
32. Noti M, Wojno ED, Kim BS, Siracusa MC, Giacomini PR, Nair MG, et al. Thymic stromal lymphopoietin-elicited basophil responses promote eosinophilic esophagitis. *Nat Med* 2013; 19(8):1005-13.
33. Sherrill JD, Gao PS, Stucke EM, Blanchard C, Collins MH, Putnam PE, et al. Variants of thymic stromal lymphopoietin and its receptor associate with eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 126(1):160-5.e3.
34. Blanchard C, Mingler MK, McBride M, Putnam PE, Collins MH, Chang G, et al. Periostin facilitates eosinophil tissue infiltration in allergic lung and esophageal responses. *Mucosal Immunol* 2008; 1(4):289-96.
35. Liacouras CA, Furuta GT, Hirano I, Atkins D, Attwood SE, Bonis PA, et al. Eosinophilic esophagitis: updated consensus recommendations for children and adults. *J Allergy Clin Immunol* 2011; 128(1):3-20.e6; quiz 21-2.
36. Aceves SS, Newbury RO, Dohil R, Bastian JF, Broide DH. Esophageal remodeling in pediatric eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 119(1):206-12.
37. Aceves SS, Newbury RO, Chen D, Mueller J, Dohil R, Hoffman H, et al. Resolution of remodeling in eosinophilic esophagitis correlates with epithelial response to topical corticosteroids. *Allergy* 2010; 65(1):109-16.
38. Page-McCaw A, Ewald AJ, Werb Z. Matrix metalloproteinases and the regulation of tissue remodeling. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007; 8(3):221-33.
39. Roncevic J, Djoric I, Selemetjev S, Jankovic J, Dencic TI, Bozic V, Cvejic D. MMP-9-1562 C/T single nucleotide polymorphism associates with increased MMP-9 level and activity during papillary thyroid carcinoma progression. *Pathology* 2019; 51(1):55-61.
40. Thomas GT, Lewis MP, Speight PM. Matrix metalloproteinases and oral cancer. *Oral Oncol* 1999; 35(3):227-33.
41. Palumbo A Jr, Meireles Da Costa N, Pontes B, Leite de Oliveira F, Lohan Codeço M, Ribeiro Pinto LF, Nasciutti LE. Esophageal Cancer Development: Crucial Clues Arising from the Extracellular Matrix. *Cells* 2020; 9(2):455.
42. Groblewska M, Siewko M, Mroczko B, Szmikowski M. The role of matrix metalloproteinases (MMPs) and their inhibitors (TIMPs) in the development of esophageal cancer. *Folia Histochem Cytobiol* 2012; 50(1):12-9.
43. Beppu L, Yang T, Luk M, Newbury RO, Palmquist J, Dohil R, et al. MMPs-2 and -14 Are Elevated in Eosinophilic Esophagitis and Reduced Following Topical Corticosteroid Therapy. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2015; 61(2):194-9.
44. Wechsler JB, Ackerman SJ, Chehade M, Amsden K, Riffle ME, Wang MY, et al. Noninvasive biomarkers identify eosinophilic esophagitis: A prospective longitudinal study in children. *Allergy* 2021; doi: 10.1111/all.14874.
45. Sherrill JD, Kiran KC, Blanchard C, Stucke EM, Kemme KA, Collins MH, et al. Analysis and expansion of the eosinophilic esophagitis transcriptome by RNA sequencing. *Genes Immun* 2014; 15(6):361-9.
46. Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; 116(2):281-97.
47. Flockhart RJ, Webster DE, Qu K, Mascarenhas N, Kovalski J, Kretz M, Khavari PA. BRAFV600E remodels the melanocyte transcriptome and induces BANC1 to regulate melanoma cell migration. *Genome Res* 2012; 22(6):1006-14.
48. Stojanović S, Šelemetjev S, Đorić I, Rončević J, Janković Miljuš J, Živaljević V, Išić Denčić T. Elevated BANC1 expression levels have different effects on papillary thyroid carcinoma progression depending on the presence of the BRAFV600E mutation. *Eur J Surg Oncol* 2020; 46(10PtA):1835-42.
49. Liu XF, Hao JL, Xie T, Pant OP, Lu CB, Lu CW, Zhou DD. The BRAF activated non-coding RNA: A pivotal long non-coding RNA in human malignancies. *Cell Prolif* 2018; 51(4):e12449.
50. Lu TX, Sherrill JD, Wen T, Plassard AJ, Besse JA, Abonia JP, et al. MicroRNA signature in patients with eosinophilic esophagitis, reversibility with glucocorticoids, and assessment as disease biomarkers. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 129(4):1064-75.e9.
51. Lu TX, Munitz A, Rothenberg ME. MicroRNA-21 is up-regulated in allergic airway inflammation and regulates IL-12p35 expression. *J Immunol* 2009; 182(8):4994-5002.
52. Lu TX, Lim EJ, Itskovich S, Besse JA, Plassard AJ, Mingler MK, et al. Targeted ablation of miR-21 decreases murine eosinophil progenitor cell growth. *PLoS One* 2013; 8(3):e59397.
53. Lu TX, Lim EJ, Wen T, Plassard AJ, Hogan SP, Martin LJ, Aronow BJ, Rothenberg ME. MiR-375 is downregulated in epithelial cells after IL-13 stimulation and regulates an IL-13-induced epithelial transcriptome. *Mucosal Immunol*. 2012; 5(4):388-96.
54. Lu S, Mukkada VA, Mangray S, Cleveland K, Shillingford N, Schorl C, et al. MicroRNA profiling in mucosal biopsies of eosinophilic esophagitis patients pre and post treatment with steroids and relationship with mRNA targets. *PLoS One* 2012; 7(7):e40676.
55. Torri A, Carpi D, Bulgheroni E, Crosti MC, Moro M, Guarini P, et al. Extracellular MicroRNA Signature of Human Helper T Cell Subsets in Health and Autoimmunity. *J Biol Chem* 2017; 292(7):2903-15.
56. Yi R, Poy MN, Stoffel M, Fuchs E. A skin microRNA promotes differentiation by repressing 'stemness'. *Nature* 2008; 452(7184):225-9.
57. Kelbel TE, Ghaffari G, Sena M, Ishmael FT. Salivary microRNA as a biomarker for monitoring response to treatment in eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immunol* 2015; 135:AB78.
58. Bhardwaj N, Sena M, Ghaffari G, Ishmael F. MiR-4668 as a Novel Potential Biomarker for Eosinophilic Esophagitis. *Allergy Rhinol (Providence)* 2020; 11:2152656720953378.
59. Rothenberg ME, Wen T, Greenberg A, Alpan O, Enav B, Hirano I, et al. Intravenous anti-IL-13 mAb QAX576 for the treatment of eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immunol* 2015; 135(2):500-7.
60. Straumann A, Hoesli S, Bussmann Ch, Stuck M, Perkins M, Collins LP, et al. Anti-eosinophil activity and clinical efficacy of the CRTH2 antagonist OC000459 in eosinophilic esophagitis. *Allergy* 2013; 68(3):375-85.
61. Guarino MP, Cicala M, Behar J. Eosinophilic esophagitis: New insights in pathogenesis and therapy. *World J Gastrointest Pharmacol Ther* 2016; 7(1):66-77.
62. Rosen R, Vandenplas Y, Singendonk M, Cabana M, DiLorenzo C, Gottrand F, et al. Pediatric Gastroesophageal Reflux Clinical Practice Guidelines: Joint Recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition and the European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2018; 66(3):516-54.
63. Ristic N. Procena validnosti merjenja gastroezofagealnog refluksa kod dece različitim dijagnostičkim metodama [disertacija], Medicinski fakultet

Univerziteta u Beogradu; 2017.

64. Gilger MA, El-Serag HB, Gold BD, Dietrich CL, Tsou V, McDuffie A, et al. Prevalence of endoscopic findings of erosive esophagitis in children: a population-based study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2008; 47(2):141–6 .
65. Ristic N, Milovanovic I, Radusinovic M, Stevic M, Ristic M, Ristic M, et al. The comparative analyses of different diagnostic approaches in detection of gastroesophageal reflux disease in children. *PLoS One* 2017; 12(11):e0187081.
66. Stojisic ZM, Stevanovic RM, Stojanovic MM, Stanojevic AD, Bacetic DT. Histological features of gastric cardia in adults: an autopsy study. *J Gastrointestin Liver Dis* 2011; 20:13-8.
67. Abd El-Rehim DM, Fath El-Bab HK, Kamal EM. Expression of Proteinase-activated Receptor-2 in the Esophageal Mucosa of Gastroesophageal Reflux Disease Patients: A Histomorphologic and Immunohistochemical Study. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2015; 23(9):646-52.
68. Kandulski A, Wex T, Mönkemüller K, Kuester D, Fry LC, Roessner A, Malfertheiner P. Proteinase-activated receptor-2 in the pathogenesis of gastroesophageal reflux disease. *Am J Gastroenterol* 2010; 105(9):1934-43.
69. Bhat YM, Bielefeldt K. Capsaicin receptor (TRPV1) and non-erosive reflux disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2006; 18(3):263-70.
70. Miwa H, Takubo K, Shimatani T, Furuta T, Oshima T, Tanaka J, et al. Histology of symptomatic gastroesophageal reflux disease: is it predictive of response to proton pump inhibitors? *J Gastroenterol Hepatol* 2013; 28(3):479-87.
71. Oshima T, Koseki J, Chen X, Matsumoto T, Miwa H. Acid modulates the squamous epithelial barrier function by modulating the localization of claudins in the superficial layers. *Lab Invest* 2012; 92(1):22-31.
72. Mönkemüller K, Wex T, Kuester D, Fry LC, Kandulski A, Kropf S, et al. Role of tight junction proteins in gastroesophageal reflux disease. *BMC Gastroenterol* 2012; 12:128.
73. Wex T, Mönkemüller K, Stahr A, Kuester D, Fry LC, Völkel S, et al. Gastro-oesophageal reflux disease is associated with up-regulation of desmosomal components in oesophageal mucosa. *Histopathology* 2012; 60(3):405-15.
74. Abdel-Aziz H, Schneider M, Neuhuber W, Meguid Kassem A, Khailail S, Müller J, et al. GPR84 and TREM-1 Signaling Contribute to the Pathogenesis of Reflux Esophagitis. *Mol Med* 2016; 21(1):1011-24.
75. Cesario S, Scida S, Miraglia C, Barchi A, Nouvenne A, Leandro G, et al. Diagnosis of GERD in typical and atypical manifestations. *Acta Biomed* 2018; 89(8-5):33-9.
76. van Rhijn BD, Weijnenborg PW, Verheij J, van den Bergh Weerman MA, Verseijden C, van den Wijngaard RMJGJ, et al. Proton pump inhibitors partially restore mucosal integrity in patients with proton pump inhibitor-responsive esophageal eosinophilia but not eosinophilic esophagitis. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc* 2014; 12(11):1815-23.
77. Krarup AL, Villadsen GE, Mejlgaard E, Olesen SS, Drewes AM, Funch-Jensen P. Acid hypersensitivity in patients with eosinophilic oesophagitis. *Scand J Gastroenterol* 2010; 45(3):273–81.
78. Molina-Infante J, Rivas MD, Hernandez-Alonso M, Vinagre-Rodríguez G, Mateos-Rodríguez JM, Dueñas-Sadornil C, et al. Proton pump inhibitor-responsive oesophageal eosinophilia correlates with downregulation of eotaxin-3 and Th2 cytokines overexpression. *Aliment Pharmacol Ther* 2014; 40(8):955–65.
79. Molina-Infante J, Ferrando-Lamana L, Ripoll C, Hernandez-Alonso M, Mateos JM, Fernandez-Bermejo M, et al. Esophageal eosinophilic infiltration responds to proton pump inhibition in most adults. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc*. 2011; 9(2):110–7.
80. Molina-Infante J, Bredenoord AJ, Cheng E, Dellon ES, Furuta GT, Gupta SK, et al. Proton pump inhibitor-responsive oesophageal eosinophilia: an entity challenging current diagnostic criteria for eosinophilic oesophagitis. *Gut* 2016; 65(3):524–31.
81. Wen T, Dellon ES, Moawad FJ, Furuta GT, Aceves SS, Rothenberg ME. Transcriptome analysis of proton pump inhibitor-responsive esophageal eosinophilia reveals proton pump inhibitor-reversible allergic inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2015; 135(1):187–97.
82. Lucendo AJ, Arias Á, González-Cervera J, Olalla JM, Molina-Infante J. Dual response to dietary/topical steroid and proton pump inhibitor therapy in adult patients with eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immunol* 2016; 137(3):931-4.e2.
83. Friesen CA, Kearns GL, Andre L, Neustrom M, Roberts CC, Abdel-Rahman SM. Clinical efficacy and pharmacokinetics of montelukast in dyspeptic children with duodenal eosinophilia. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004; 38(3):343-51.
84. Neustrom MR, Friesen C. Treatment of eosinophilic gastroenteritis with montelukast. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104(2 Pt1):506.
85. Netzer P, Gschossmann JM, Straumann A, Sendensky A, Weimann R, Schoepfer AM. Corticosteroid-dependent eosinophilic oesophagitis: azathioprine and 6-mercaptopurine can induce and maintain long-term remission. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2007; 19(10):865-9.
86. Simon D, Braathen LR, Simon HU. Anti-interleukin-5 antibody therapy in eosinophilic diseases. *Pathobiology* 2005; 72(6):287-92.
87. Turner D, Wolters VM, Russell RK, Shakhnovich V, Muise AM, Ledder O, et al. Anti-TNF, infliximab, and adalimumab can be effective in eosinophilic bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2013; 56(5):492-7.
88. Holgate S, Casale T, Wenzel S, Bousquet J, Deniz Y, Reisner C. The anti-inflammatory effects of omalizumab confirm the central role of IgE in allergic inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115(3):459-65.
89. Krishnaswamy G, Smith JK, Srikanth S, Chi DS, Kalbfleisch JH, Huang SK. Lymphoblastoid interferon-alpha inhibits T cell proliferation and expression of eosinophil-activating cytokines. *J Interferon Cytokine Res* 1996; 16(10):819-27.