

**Uniwersytet Jagielloński
Collegium Medicum
Wydział Lekarski**

Andrzej Wędrychowicz

**Wartość kliniczna i rokownicza oceny stężeń
interleukiny 1 β , interleukiny 6 oraz antagonisty
receptora interleukiny 1 w surowicy i stolcu u dzieci
z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego**

Praca doktorska

Promotor: Prof.dr hab. med. Janina Stopyrowa

Bibl. Medyczna CM UJ



1816002510

Kraków 2000

Pani Prof. dr hab. med. Janinie Stopyrowej
składam najserdeczniejsze podziękowania
za opiekę naukową, życzliwość oraz
cenne i wszechstronne uwagi podczas
przygotowywania pracy doktorskiej

Panu Prof. dr hab. med. Markowi Zembali
Kierownikowi Katedry Immunologii i Patologii
Polsko-Amerykańskiego Instytutu Pediatrii CM UJ
oraz

Panu Dr med. Witoldowi Mieżyńskiemu
Kierownikowi Zakładu Patomorfologii
Katedry Immunologii i Patologii
Polsko-Amerykańskiego Instytutu Pediatrii CM UJ
składam serdeczne podziękowania za życzliwość
oraz pomoc w wykonaniu niniejszej pracy

SPIS TREŚCI

I. WYKAZ UŻYWANYCH SKRÓTÓW	4
II. WPROWADZENIE	6
2.1. WRZODZIEJĄCE ZAPALENIE JELITA GRUBEGO.....	6
2.1.1. Epidemiologia	6
2.1.2. Obraz kliniczny	7
2.1.3. Objawy pozajelitowe	8
2.1.4. Powikłania	10
2.1.5. Etiologia.....	10
2.1.6. Patogeneza	13
2.2. CYTOKINY.....	16
2.2.1. Interleukina 1	16
2.2.2. Antagonista receptora interleukiny 1	17
2.2.3. Interleukina 6	17
2.2.4. Cytokiny we wrzodziejącym zapaleniu jelita grubego	18
III. CEL PRACY	20
IV. MATERIAŁ I METODY	21
4.1. PACJENCI Z WRZODZIEJĄCYM ZAPALENIEM JELITA GRUBEGO....	21
4.1.1. Grupa z aktywnym wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego	21
4.1.2. Grupa z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego w remisji.....	22

4.2. GRUPA PORÓWNAWCZA	22
4.2.1. Grupa porównawcza z aktywnym niespecyficznym zapaleniem jelita grubego	23
4.2.2. Grupa porównawcza z niespecyficznym zapaleniem jelita grubego w remisji	23
4.3. GRUPA KONTROLNA	24
4.4. PLAN BADANIA I KONTROLI PACJENTÓW	24
4.5. OCENA AKTYWNOŚCI WRZODZIEJĄCEGO	
ZAPALENIA JELITA GRUBEGO	25
4.5.1. Ocena klinicznej aktywności wrzodziejącego zapalenia jelita grubego	25
4.5.2. Ocena aktywności endoskopowej wrzodziejącego zapalenia jelita grubego	26
4.5.3. Ocena aktywności histopatologicznej wrzodziejącego zapalenia jelita grubego	27
4.6. OZNACZANIE STĘŻEŃ INTERLEUKIN	28
4.6.1. Oznaczanie stężeń interleukin w surowicy	29
4.6.2. Oznaczanie stężeń interleukin w stolcu	30
4.7. LECZENIE WRZODZIEJĄCEGO ZAPALENIA JELITA GRUBEGO.....	31
4.8. ANALIZA STATYSTYCZNA.....	31
4.9. CHARAKTERYSTYKA POPULACJI PACJENTÓW	32
4.9.1 Leczenie dietetyczne i farmakologiczne.....	33
4.9.2 Aktywność wrzodziejącego zapalenia jelita grubego	37
V. WYNIKI BADAŃ	39
5.1. INTERLEUKINA 1β	39
5.1.1. Interleukina 1 β w surowicy	39
5.1.2. Interleukina 1 β w stolcu	42
5.1.3. Współczynnik IL-1 β w stolcu / IL-1 β w surowicy	45
5.2. ANTAGONISTA RECEPTORA INTERLEUKINY 1	45
5.2.1. Antagonista receptora interleukiny 1 w surowicy	45
5.2.2. Antagonista receptora interleukiny 1 w stolcu	47
5.2.3. Współczynnik IL-1ra w stolcu / IL-1ra w surowicy.....	50

5.3. WSPÓLCZYNNIK IL-1RA / IL-1β	54
5.3.1. Współczynnik IL-1ra / IL-1 β w surowicy	54
5.3.2. Współczynnik IL-1ra / IL-1 β w stolcu	54
5.3.3. Stosunek współczynnika IL-1ra / IL-1 β w stolcu do współczynnika IL-1ra / IL-1 β w surowicy	56
5.4. INTERLEUKINA 6	60
5.4.1. Interleukina 6 w surowicy	60
5.4.2. Interleukina 6 w stolcu	60
5.4.3. Współczynnik IL-6 w stolcu / IL-6 w surowicy	65
VI. DYSKUSJA	66
6.1. INTERLEUKINA 1 β	68
6.2. ANTAGONISTA RECEPTORA INTERLEUKINY 1	72
6.3. WSPÓLCZYNNIK IL-1RA / IL-1 β	74
6.4. INTERLEUKINA 6	76
6.5. PRAKTYCZNE ZNACZENIE UZYSKANYCH WYNIKÓW	78
VII. WNIOSKI	80
VIII. STRESZCZENIE	81
IX. SPIS TABEL	84
X. SPIS RYCIN	85
XI. PIŚMIENNICTWO	87

I. Wykaz używanych skrótów

- CRH – czynnik uwalniający kortykotropinę (ang. *corticotropin-releasing hormon*)
- ELAM-1 – cząsteczka adhezji leukocytów do śródbłónka-1 (ang. *endothelial-leukocyte adhesion molecule-1*)
- ELISA – test immunoenzymatyczny (ang. *enzyme-linked immunoabsorbent assay*)
- FMLP – N-formylo-Met-Leu-Phe (polipeptyd bakteryjny)
- G-CSF – czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów (ang. *granulocyte colony stimulating factor*)
- GM-CSF – czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (ang. *granulocyte-macrophage colony stimulating factor*)
- HLA – główny układ zgodności tkankowej człowieka (ang. *human leukocyte antigens*)
- ICAM-1 – cząsteczka adhezji międzykomórkowej 1 (ang. *intercellular adhesion molecule 1*)
- IFN- γ – interferon γ (ang. *interferon γ*)
- IL-1 – interleukina 1 (ang. *interleukin 1*)
- IL-1-R – receptor dla interleukiny 1 (ang. *interleukin 1 receptor*)
- IL-1ra – antagonist receptor interleukiny 1 (ang. *interleukin 1 receptor antagonist*)
- IL-2 – interleukina 2 (ang. *interleukin 2*)
- IL-4 – interleukina 4 (ang. *interleukin 4*)
- IL-5 – interleukina 5 (ang. *interleukin 5*)
- IL-6 – interleukina 6 (ang. *interleukin 6*)
- IL-6-R – receptor dla interleukiny 6 (ang. *interleukin 6 receptor*)
- IL-8 – interleukina 8 (ang. *interleukin 8*)

- IL-10 – interleukina 10 (ang. *interleukin 10*)
- IL-13 – interleukina 13 (ang. *interleukin 13*)
- LPS – lipopolisacharyd (endotoksyna, ang. *lipopolysaccharide*)
- LTB₄ – leukotrien B₄ (ang. *leukotriene B₄*)
- M-CSF – czynnik stymulujący tworzenie kolonii makrofagów (ang. *macrophage colony stimulating factor*)
- MHC – główny układ zgodności tkankowej (ang. *major histocompatibility complex*)
- NADH – dwunukleotyd nikotynamidowo- adeninowy (ang. *nicotinamide adenine dinucleotide*)
- NADPH – fosforan dwunukleotydu nikotynamidowo- adeninowego (ang. *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate*)
- NO – tlenek azotu (ang. *nitric oxide*)
- NSAID – niesterydowe leki przeciwzapalne (ang. *nonsteroidal anti-inflammatory drugs*)
- NZJG – niespecyficzne zapalenie jelita grubego
- PAF – czynnik aktywujący płytki krwi (ang. *platelet activating factor*)
- pANCA – autoprzeciwciała przeciwko okołojądrowej cytoplazmie granulocytów obojętnochłonnych (ang. *perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibody*)
- PCR – polimerazowa reakcja łańcuchowa (ang. *polymerase chain reaction*)
- PG-PS – polimer peptydoglikanowo-polisacharydowy (polipeptyd bakteryjny, ang. *peptidoglycan-polysaccharide*)
- TGF-β - transformujący czynnik wzrostu β (ang. *transforming growth factor β*)
- Th₁ – limfocyty pomocnicze typu 1 (ang. *T helper 1*)
- Th₂ – limfocyty pomocnicze typu 2 (ang. *T helper 2*)
- TNF-α - czynnik martwicy nowotworu α (ang. *tumor necrosis factor α*)
- VCAM-1 – cząsteczka adhezji komórkowej naczyń 1 (ang. *vascular cell adhesion molecule 1*)
- WZJG – wrzodziejące zapalenie jelita grubego

II. Wprowadzenie

2.1. Wrzodziejące zapalenie jelita grubego

2.1.1. Epidemiologia

Wrzodziejące zapalenie jelita grubego (wzjg, colitis ulcerosa) jest to nieswoista choroba zapalna jelit, charakteryzująca się przewlekłym, nawracającym zapaleniem jelita grubego. Obecnie, często łączone jest z chorobą Leśniowskiego – Crohna w jedną grupę chorób, określaną jako nieswoiste zapalenia jelit (ang. „*inflammatory bowel diseases*”).

Wrzodziejące zapalenie jelita grubego najczęściej występuje u ludzi rasy białej, w krajach wysokorozwiniętych. Największą zachorowalność obserwuje się w Skandynawii, Północnej i Zachodniej Europie oraz Ameryce Północnej (14,8/100000 mieszkańców w Norwegii, 15,8/100000 mieszkańców w Wielkiej Brytanii, 14,3/100000 mieszkańców w Stanach Zjednoczonych) [1, 2, 3]. Nieco niższe wskaźniki zachorowalności stwierdzono w Środkowej i Południowej Europie, Australii i Afryce Południowej (5,0/100000 mieszkańców we Włoszech, 5,1/100000 mieszkańców w Grecji, 5,8/100000 mieszkańców w Izraelu, 2,0/100000 mieszkańców w Hiszpanii), natomiast najniższe w Azji, Afryce i Ameryce Południowej [4, 5, 6, 7]. W słabo rozwiniętych rejonach wiejskich zachorowalność utrzymuje się na niskim poziomie, natomiast zdecydowanie wzrasta wraz z urbanizacją i rozwojem danego obszaru [8, 9]. W Stanach Zjednoczonych opisywano wyższą zachorowalność w stanach północnych i wschodnich, w porównaniu do stanów południowych, nieco słabiej rozwiniętych gospodarczo [10].

Wrzodziejące zapalenie jelita grubego częściej występuje w populacji Żydów, w porównaniu do innych grup etnicznych, żyjących w tych samych warunkach i na tym

samym obszarze. Obserwowano większą chorobowość wzjg u Żydów urodzonych w Ameryce Północnej lub Europie (129,3/100000), w porównaniu do urodzonych w Izraelu (97,6/100000), w Afryce lub Azji (64,1/100000), żyjących w Izraelu w tych samych warunkach [11].

Zachorowalność na wrzodziejące zapalenie jelita grubego w populacji dziecięcej w okresie ostatnich lat utrzymuje się na poziomie 2,0/100000 dzieci, natomiast chorobowość wynosi 7,5/100000 dzieci.

W ostatnich latach stwierdzono wzrastającą zachorowalność na wzjg, również w rejonach o względnie niskim wcześniejszym występowaniu tej choroby [8, 12]. Obserwuje się również obniżenie dolnej granicy wieku rozpoznawania wzjg i zwiększenie częstości występowania choroby u dzieci [8].

2.1.2. Obraz kliniczny

Choroba może rozwijać się w każdym wieku, jednak szczyt zachorowań przypada na początek trzeciej dekady życia. Bardziej narażeni na rozwój wzjg są mężczyźni, współczynnik zachorowalności jest u nich wyższy o 20% niż u kobiet [13]. Objawy początkowe choroby są zazwyczaj bardziej nasilone u dzieci niż u dorosłych [14, 15, 16].

Pacjenci do 20 roku życia stanowią około 20% wszystkich pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego. Opisywano przypadki występowania choroby u niemowląt w wieku kilku miesięcy [17].

Wrzodziejące zapalenie jelita grubego jest chorobą przewlekłą, przebiegającą z okresowymi zaostrzeniami przedzielonymi okresami remisji. Typowymi pierwszymi objawami wzjg u większości pacjentów jest biegunka z zawartością krwi i śluzu w stolcu, ale opisywano również przypadki przebiegające z zaparciami. Znacznie rzadziej choroba zaczyna się bólami brzucha w okolicy podbrzusza lub prawego dołu biodrowego, stanami gorączkowymi lub niedokrwistością, często towarzyszy im bolesne parcie na stolec. Zazwyczaj nasilenie objawów klinicznych związane jest z rozległością zmian zapalnych w jelicie grubym. Pacjenci z zajęciem całym jelitem grubym (*pancolitis*), prezentują bardzo burzliwe symptomy, z oddawaniem licznych stolców biegunkowych z dużą zawartością krwi i śluzu, natomiast pacjenci ze zmianami ograniczonymi tylko do odbytnicy mogą oddawać stolce prawidłowe, a jedynym objawem może być obecność krwi w stolcu. Pierwszym

symptodem wzjg u dzieci może być również niedobór wzrostu, może on wyprzedzać wystąpienie objawów jelitowych nawet o kilka lat [18].

Proces zapalny u dorosłych pacjentów zaczyna się w odbytnicy i szerzy się wzdłuż okrężnicy w kierunku proksymalnym jelita grubego. Zmiany zapalne w jelicie grubym mają charakter ciągły, w odróżnieniu od choroby Leśniowskiego – Crohna, charakteryzującej się naprzemiennym występowaniem obszarów zmienionych i niezmienionych zapalnie. Zmiany w odbytnicy u dzieci są relatywnie mniej nasilone, bardziej natomiast w okrężnicy zstępującej, poprzecznicy lub okrężnicy wstępującej. Najczęściej, w przebiegu choroby zajęte jest całe jelito grube (u około 45% dzieci), nieco rzadziej zmiany zapalne ograniczone są do okrężnicy zstępującej (u około 30% dzieci) i odbytnicy (u około 25% dzieci) [13]. Stwierdzono, że rozległość zmian zapalnych w jelicie grubym ma wpływ na dalszy przebieg choroby. Dzieci ze zmianami zapalnymi w obrębie całej okrężnicy mają tendencję do cięższego przebiegu choroby i większej liczby powikłań, niż dzieci z bardziej ograniczonymi zmianami.

Proces zapalny w wzjg jest ograniczony do błony śluzowej, która jest obrzęknięta, krucha, łatwo krwawiąca. W obrębie blaszki właściwej błony śluzowej (*lamina propria*) tworzy się naciek z granulocytów, limfocytów i makrofagów oraz dochodzi do zmniejszenia liczby komórek śluzotwórczych w obrębie krypt jelitowych i nabłonka jelit.

W miarę postępu choroby dochodzi do nasilenia stanu zapalnego i dalszego uszkodzenia błony śluzowej, z rozwojem nadżerek, owrzodzeń oraz tworzeniem pseudopolipów i wydzielaniem śluzowo – ropnej wydzieliny. W *lamina propria* tworzy się naciek z granulocytów wielojądrzastych oraz dochodzi do wnikania ich w obręb nabłonka krypt i tworzenia tzw. mikroropni krypt, z równoczesnym zaburzeniem architektury krypt.

2.1.3. Objawy pozajelitowe

Objawy pozajelitowe wrzodziejącego zapalenia jelita grubego występują u dzieci znacznie rzadziej niż u dorosłych. Wystąpienie przewlekłej choroby zapalnej, jaką jest wzjg, w okresie intensywnego rozwoju zazwyczaj upośledza wzrost i dojrzewanie dziecka. U około 5-10% dzieci już w momencie rozpoznania, przy pierwszym rzucie choroby stwierdza się występowanie niedoborów wzrostu [19].

Najczęstszymi objawami pozajelitowymi, występującymi u ponad 50% dzieci z wzjg są objawy hematologiczne, niedokrwistość i nadpłytkowość. Bardzo rzadko natomiast opisywano występowanie małopłytkowości [20].

Zapalenie stawów (*arthritis*) występuje u około 10% dzieci z wzjg objawiając się bólem i obrzękiem jednego lub kilku stawów. Zwykle zajęte są duże stawy, takie jak kolanowy, łokciowy, skokowy lub barkowy [21]. Rzadko dochodzi do trwałego uszkodzenia i zniekształcenia stawów, zwykle zmiany stawowe pojawiają się w ostrym rzucie choroby i cofają się wraz z ustępowaniem stanu zapalnego w jelicie [22].

Innymi objawami w przebiegu wzjg może być zapalenie stawów krzyżowo – biodrowych (*sacroiliitis*) oraz zeszywniające zapalenie stawów kręgosłupa (*spondyloarthritis ankylopoetica*). Zapalenie stawów krzyżowo – biodrowych występuje stosunkowo często, ale przeważnie przebiega bezobjawowo. Zeszywniające zapalenie stawów kręgosłupa występuje znacznie rzadziej, u około 1-2% dzieci z wzjg, z których większość posiada antygen HLA – B27 [23].

Spośród zmian skórnych, w populacji dziecięcej najczęściej występują zmiany o typie *erythema nodosum* (u około 5% dzieci z wzjg), bardzo rzadko natomiast objawom jelitowym towarzyszy *pyoderma gangrenosum*. Inne, również rzadko występujące zmiany skórne mają postać zmian o typie *urticaria*, *eczema* lub *erythema multiforme* [24].

Również znacznie rzadziej występują stany zapalne jamy ustnej typu *stomatitis aphthosa*, tylko u niespełna 2% dzieci z wzjg.

Najczęstsze zmiany oczne, do których dochodzi w przebiegu wrzodziejącego zapalenia jelita grubego u dzieci, polegają na rozwoju stanu zapalnego w przednim odcinku oka, o typie *uveitis*. Występują one u 4% dzieci z wzjg, głównie u pacjentów z towarzyszącymi zmianami stawowymi i skórnymi [24].

Zaburzenia funkcji wątroby występują nie tylko w okresie zaostrzeń choroby podstawowej, ale również w okresie remisji objawów jelitowych. Zmiany typu *pericholangitis* i *cholangitis sclerosans*, charakterystyczne dla przebiegu wzjg u dorosłych, jak również przewlekłe aktywne zapalenie wątroby, występują znacznie rzadziej u dzieci i mają mniejsze nasilenie niż w populacji dorosłych. Inne objawy z zakresu wątroby i dróg żółciowych mogą obejmować stłuszczenie i marskość wątroby, amyloidozę, ropnie wątroby oraz kamice i nowotwory dróg żółciowych [24].

W przebiegu wzjg często dochodzi do rozwoju osteoporozy i zaburzeń w rozwoju układu kostnego. W początkowym okresie może ona przebiegać bezobjawowo, w bardziej zaawansowanych postaciach mogą wystąpić bóle kończyn, upośledzona ruchomość, a nawet złamania patologiczne [25].

2.1.4. Powikłania

Najcięższym powikłaniem wrzodziejącego zapalenia jelita grubego jest ostre rozdęcie okrężnicy (*megacolon toxicum*). Najbardziej zagrożeni wystąpieniem tego powikłania są pacjenci z zajętych całym jelitem grubym. U około 2-4% dzieci z *pancolitis* dochodzi do tego powikłania w różnym stopniu zaawansowania, z objawami klinicznymi podobnymi do objawów występujących u pacjentów dorosłych. W przebiegu *megacolon toxicum* może dojść do perforacji jelita z następowym zapaleniem otrzewnej, wystąpieniem masywnego krwotoku oraz rozwoju posocznicy [26].

Najpoważniejszym odległym powikłaniem wzjg jest rak jelita grubego. Ryzyko rozwoju zmian nowotworowych zależy od czasu trwania choroby i zakresu zmian w jelicie grubym. Zwiększa się ono o 20% po każdych 10 latach trwania choroby u dzieci, u których początek wzjg wystąpił przed 10 r.ż. [27]. Do tej pory opisano nieliczne przypadki raka jelita grubego w przebiegu wzjg u dzieci, jednak należy spodziewać się, że w związku z obniżeniem wieku rozwoju choroby, będzie to rosnący problem w zakresie opieki nad dziećmi z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego.

2.1.5. Etiologia

Wrzodziejące zapalenie jelita grubego jest chorobą, w której ważną rolę odgrywa podłoże genetyczne. Stwierdzono rodzinne występowanie choroby oraz zdecydowanie częstsze występowanie choroby wśród bliźniąt jednojajowych. Obserwacje kliniczne i badania epidemiologiczne sugerują udział czynników genetycznych w patogenezie wzjg. Częściej choroba występuje wśród populacji rasy białej oraz u Żydów w porównaniu do innych grup etnicznych, żyjących w tych samych warunkach [28]. W ostatnich latach stwierdzono udział genów głównego układu zgodności tkankowej HLA w rozwoju

wrzodziejącego zapalenia jelita grubego, oraz ustalono związek między skłonnością do rozwoju choroby a występowaniem genu HLA-DR₂ [29, 30]. Ukazały się również doniesienia stwierdzające związek między pewnymi regionami chromosomów 2 i 6 a predyspozycją do występowania wzjg, jak również między regionami położonymi na chromosomach 3, 7 i 12 a skłonnością do rozwoju wrzodziejącego zapalenia jelita grubego i choroby Leśniowskiego – Crohna [31, 32, 33]. Geny spoza głównego układu zgodności tkankowej HLA, związane z rozwojem nieswoistych zapaleń jelit, obejmują polimorfizm w zakresie genów mediatorów zapalnych, biorących udział w rozwoju choroby, takich jak antagonist receptor interleukiny 1, czynnik martwicy nowotworów, molekuły adhezyjne i podjednostki dopełniacza [34, 35, 36, 37].

Czynniki genetyczne mają również wpływ na miejscowe mechanizmy ochronne w jelicie poprzez determinację odpowiedniej struktury białek śluzu. Oddziałują także na niektóre czynniki środowiskowe, takie jak kolonizacja bakteryjna jelita grubego i przebieg pewnych zakażeń jelitowych [38, 39, 40]. We wrzodziejącym zapaleniu jelita grubego dochodzi do zmniejszenia grubości warstwy śluzu ochraniającej błonę śluzową i do zmniejszenia liczby komórek śluzotwórczych [41, 42]. Sugeruje się, że zaburzenia w zakresie glikozylacji i sulfonilacji białek śluzu prowadzą do zmiany jego struktury i upośledzenia działania ochronnego, co może odgrywać rolę w rozwoju wzjg [43, 44].

Duży wpływ na rozwój wzjg mają uwarunkowania związane ze środowiskiem życia człowieka. Zalicza się do nich czynniki infekcyjne, takie jak wirusy, bakterie i ich metabolity oraz czynniki związane z rozwojem cywilizacji i zwiększeniem ekspozycji organizmu człowieka na stres oraz związki chemiczne i nowe generacje leków.

W badaniach epidemiologicznych na dużych grupach pacjentów stwierdzono, że przebyta w okresie okołoporodowym infekcja wirusowa jest silnym czynnikiem ryzyka dla rozwoju nieswoistego zapalenia jelit w późniejszym okresie życia [45]. W populacji dziecięcej stwierdzono związek między występowaniem wirusowych infekcji górnych dróg oddechowych a zaostrzeniami nieswoistych zapaleń jelit [46].

W ostatnich latach, używając metody polimerazowej reakcji łańcuchowej (PCR) oraz hybrydyzacji *in-situ*, stwierdzono obecność DNA wirusa cytomegalii (CMV) oraz wirusa Epstein-Barra (EBV) w śluzówce jelita pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego [47]. Rola tych wirusów nie została do tej pory ostatecznie wyjaśniona. Aktualnie przypuszcza się, że mogą one lokalizować się raczej w sposób wtórny w miejscu zmienionym zapalnie, niż być pierwotną przyczyną rozwoju zapalenia.

Wyniki badań epidemiologicznych i genetycznych wskazują na udział czynników infekcyjnych w rozwoju nieswoistych zapaleń jelit, jednak do tej pory nie udało się w pełni potwierdzić tej teorii.

Niektóre nieprawidłowe metabolity bakteryjne, produkowane przez florę bakteryjną jelita grubego, mogą wywierać szkodliwy wpływ na funkcje komórek nabłonka śluzówki i poprzez zaburzenie ich fizjologicznej funkcji, wywoływać ich uszkodzenie i rozwój stanu zapalnego. Bakterie jelita grubego w trakcie swoich procesów życiowych produkują i wydzielają do światła jelita siarkowodór, który wywiera działanie hamujące na metabolizm krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych w komórkach nabłonka błony śluzowej [48]. U pacjentów z wzjg stwierdzono obniżone stężenie krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych w końcowym odcinku jelita grubego [49]. Komórki nabłonka dystalnej części jelita grubego wykorzystują krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe jako materiał energetyczny, więc upośledzenie ich metabolizmu może prowadzić do niedoborów energetycznych i uszkodzenia błony śluzowej. Uważa się, że upośledzenie mechanizmów obronnych w zakresie błony śluzowej ma udział w rozwoju wzjg poprzez uszkodzenie bariery śluzówkowej oraz ułatwioną penetrację antygenów bakteryjnych i pokarmowych ze światła jelita do wnętrza organizmu.

Stan zapalny we wrzodziejącym zapaleniu jelita grubego jest ograniczony do błony śluzowej jelita grubego, przy czym uszkodzenie komórek nabłonka wydaje się mieć bardziej charakter wtórny do innych procesów patologicznych niż pierwotny. U pacjentów z wzjg stwierdzono autoprzeciwciała i limfocyty cytotoksyczne, skierowane przeciwko własnym komórkom [50]. Na tej podstawie wysunięto hipotezę, że decydującą rolę w etiopatogenezie wzjg odgrywają mechanizmy autoimmunologiczne. Autoprzeciwciałami o największym znaczeniu są autoprzeciwciała przeciwko okołojądrowej cytoplazmie granulocytów obojętnochłonnych (pANCA). Częstość ich występowania wynosi około 70-80% u pacjentów z wzjg [51, 52]. Zdecydowanie rzadziej występują w chorobie Leśniowskiego – Crohna, stwierdzano je tylko u 5-20% pacjentów, natomiast w populacji zdrowej obecne są u mniej niż 5% ludzi [53]. Antygen dla tych przeciwciał nie został jeszcze ostatecznie zidentyfikowany, ale jest on inny niż dla autoprzeciwciał ANCA, stwierdzanych w ziarniniaku Wegenera.

Prawdopodobnie autoprzeciwciała te nie wywołują uszkodzenia tkanek, ponieważ nie stwierdzono korelacji ich stężenia z aktywnością i rozległością stanu zapalnego w jelitach oraz są one również obecne u 15-30% krewnych I° pacjentów z wzjg nie wykazujących objawów choroby [54, 55].

Autoprzeciwciała przeciwko komórkom nabłonka błony śluzowej stwierdzono u 70% pacjentów z wzjg oraz u 55% ich krewnych nie wykazujących objawów choroby [56]. Wykazują one zdolność reakcji krzyżowej z antygenami bakterii jelitowych, ale nie wywołują uszkodzenia komórek nabłonka i nie są specyficzne dla tej choroby. Nie stwierdzono również korelacji między poziomem tych przeciwciał a aktywnością procesu chorobowego.

W ostatnich latach stwierdzono przeciwciała przeciwko tropiomiozynie, stanowiącej składnik budowy cytoszkieletu komórek nabłonka błony śluzowej jelita grubego oraz komórek dróg żółciowych, komórek kubkowych nabłonka śluzówki i skóry [57]. Rola tych autoprzeciwciał nie jest jeszcze ostatecznie wyjaśniona. Również tutaj nie stwierdzono korelacji między ich poziomem a aktywnością choroby [58]. Do innych autoprzeciwciał, mogących mieć udział w patogenezie choroby, należą autoprzeciwciała przeciwko komórkom kubkowym błony śluzowej jelita grubego, stwierdzane u około 30% chorych oraz autoprzeciwciała przeciwko erytrocytom, obecne u 90% pacjentów z wzjg [59, 60].

Zaburzenia w zakresie regulacji układu immunologicznego mogą prowadzić do nieprawidłowej odpowiedzi zapalnej na antygeny znajdujące się w świetle przewodu pokarmowego lub prowokować odpowiedź autoimmunologiczną przeciwko własnym antygenom. Układ immunologiczny znajduje się w stanie równowagi, utrzymywanym przez wzajemne przeciwdziałanie prozapalnych i przeciwzapalnych komórek oraz mediatorów. Zwiększenie produkcji prozapalnych mediatorów lub zmniejszenie przeciwzapalnych może doprowadzić do zachwiania równowagi i w efekcie rozwoju przewlekłego stanu zapalnego.

2.1.6. Patogeneza

Bezpośrednia przyczyna, wywołująca wrzodziejące zapalenie jelita grubego pozostaje nadal nieznana. Dzięki badaniom ostatnich lat, zwłaszcza z wykorzystaniem modeli zwierzęcych wzjg, udało się w znacznej mierze poznać mechanizmy choroby, prowadzące do rozwoju stanu zapalnego i wystąpienia objawów klinicznych. Patogeneza wrzodziejącego zapalenia jelita grubego traktowana jest jako seria oddzielnych, współdziałających ze sobą

czynników indukujących, przewlekających oraz nasilających odpowiedź zapalną poprzez aktywację mediatorów zapalnych, prowadzącą do uszkodzenia tkanek i rozwoju objawów klinicznych.

Przypuszcza się, że czynniki inicjujące mają charakter niespecyficzny i prowadzą do rozwoju stanu zapalnego w organizmach, u których istnieje podatność genetyczna. Czynniki infekcyjne, takie jak wirusy i bakterie lub ich toksyny, a także nieinfekcyjne, obejmujące niesterydowe leki przeciwzapalne (NSAID) oraz środki chemiczne, stosowane jako konserwanty w produkcji żywności, mogą inicjować rozwój stanu zapalnego [46, 61]. Zmiana flory jelita grubego poprzez masowe używanie antybiotyków w ostatnich latach jest również rozpatrywana jako jedna z przyczyn zwiększonej zachorowalności na wzjg.

Zwiększone wchłanianie licznych bakterii, toksyn bakteryjnych oraz antygenów pokarmowych obecnych w świetle jelita grubego, poprzez zmienioną zapalnie błonę śluzową stymuluje jelitowy układ immunologiczny do wydzielania mediatorów zapalnych, takich jak interleukiny, leukotrieny, tromboksany, proteazy, wolne rodniki tlenowe oraz tlenek azotu (NO). Aktywacja układu immunologicznego prowadzi do nasilenia procesu zapalnego na drodze sprzężenia zwrotnego i dalszego uszkodzenia ściany jelita. Toksyny bakteryjne i mediatory zapalne drogą krążenia systemowego mogą dostawać się do innych organów i powodować rozwój pozajelitowych objawów wzjg [24].

Efektom nasilenia odpowiedzi immunologicznej jest rozwój stanu zapalnego i uszkodzenie tkanek w wyniku działania enzymów proteolitycznych i wolnych rodników tlenowych. Nasilenie odpowiedzi immunologicznej zależy od rekrutacji krążących komórek immunologicznych do ogniska zapalenia [62]. IL-1, TNF- α i IFN- γ zwiększają ekspresję molekuł adhezyjnych i ich ligand na komórkach śródbłonna i komórkach immunologicznych, co powoduje adhezję granulocytów obojętnochłonnych, monocytów i limfocytów do ścian naczyń krwionośnych. Dalsza migracja komórek zapalnych do ogniska zapalnego stymulowana jest przez czynniki chemotaktyczne, uwalniane w trakcie rozwoju zapalenia. Aktywacja komórek efektorowych, nabłonkowych i mezenchymalnych powoduje dalsze nasilenie odpowiedzi zapalnej poprzez zwiększenie produkcji mediatorów i znaczny wzrost liczby komórek, biorących udział w reakcji zapalnej.

Ważną rolę w procesie zapalnym odgrywają komórki nabłonka błony śluzowej jelita grubego. Pod wpływem innych mediatorów zapalnych dochodzi do aktywacji molekuł adhezyjnych i wydzielania cytokin (m.in. IL-8), co zwiększa migrację granulocytów

obojętnochłonnych przez komórki nabłonka i prowadzi do tworzenia tzw. mikroropni krypt [63]. IFN- γ powoduje uszkodzenie złącz między komórkami nabłonka, zanik kosmków i przerost krypt jelitowych oraz we współdziałaniu z TNF- α , cytolizę komórek nabłonka [64, 65]. Wolne rodniki tlenowe, produkowane przez granulocyty obojętnochłonne i makrofagi, przejawiają swe toksyczne działanie przez utlenianie grup siarkowodorowych, i tym samym degradację białek, wodorowęglanów, inaktywację enzymów komórkowych i utlenianie lipidów błon komórkowych. Prostaglandyny oraz NO działają wazodilatacyjne, powodując przekrwienie i obrzęk w ognisku zapalenia. Obrzęk jest również spowodowany zwiększoną przepuszczalnością naczyń, spowodowaną uszkodzeniem ich ściany.

Uszkodzenie błony śluzowej i działanie mediatorów zapalnych oraz wtórne zwiększone wchłanianie antygenów bakteryjnych powoduje wystąpienie objawów klinicznych wzjg. Objawy te obejmują m.in. śluzowo-krwistą biegunkę, bóle brzucha, niedokrwistość i objawy pozajelitowe.

Biegunka jest spowodowana zwiększonym wydzielaniem przez uszkodzoną błonę śluzową krwi i płynu śródkomórkowego, zmniejszonym wchłanianiem ze światła jelita oraz nieprawidłową motoryką jelita. Przyczyny te związane są w znacznej mierze z działaniem mediatorów zapalnych i antygenów bakteryjnych. Prostaglandyny, PAF, NO, wolne rodniki tlenowe, IL-1, TNF- α oraz FMLP i LPS stymulują wydzielanie jonów Cl^- i hamują wchłanianie jonów Na^+ i Cl^- ze światła jelita przez komórki nabłonka [66, 67, 68, 69]. Zaburzenia motoryki jelit również częściowo są spowodowane przez działanie mediatorów zapalnych za pośrednictwem jelitowego układu nerwowego. IL-1 wpływa na motorykę jelitową poprzez działanie na centralny system nerwowy i uwalnianie CRH oraz przez stymulację wydzielania substancji P i hamowanie uwalniania acetylocholino i noradrenaliny w jelitowych zakończeniach nerwowych [70, 71, 72].

Mediatory zapalne uwalniane do krążenia systemowego, wpływają również ogólnie na organizm. IL-1, IL-6 oraz TNF- α wywołują gorączkę, niedokrwistość, małopłytkowość, odpowiedź ostrej fazy oraz pobudzają oś podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczową. Ogólnoustrojowe działanie antygenów i metabolitów bakteryjnych oraz mediatorów zapalnych może wywoływać zapalenie stawów, wątroby i dróg żółciowych [24]. Te obserwacje tłumaczą częste występowanie ogólnych powikłań zapalnych, towarzyszących zapaleniom jelit i korelację między stanem zapalnym jelita a aktywnością i częstością występowania zmian pozajelitowych.

2.2. Cytokiny

Cytokiny są małymi cząsteczkami białkowymi o wielkości 5 – 50 kDa, które są wydzielane przez różne rodzaje komórek, ale w większości związane są z komórkami układu immunologicznego. Działają one w sposób autokryny, parakryny lub endokryny i wywierają wpływ nie tylko na komórki układu immunologicznego, ale także na komórki nabłonka, śródbłonka, mezenchymy i macierz pozakomórkową. Zwiększona ich produkcja może prowadzić do rozwoju objawów chorobowych, jednak niektóre z nich również wywierają wpływ na hamowanie reakcji zapalnej oraz procesy naprawy i przebudowy tkanek. Obecnie cytokiny są dzielone, ze względu na ich odmienne działanie na układ immunologiczny, na podgrupy Th₁ (IL-2 i IFN- γ) i Th₂ (IL-4, IL-5, IL-10, IL-13). Podgrupa Th₁ pobudza bardziej odpowiedź komórkową, zaś cytokiny podgrupy Th₂ stymulują odpowiedź humoralną [73, 74].

2.2.1. Interleukina 1

Interleukina 1 (IL-1) jest jednym z głównych regulatorów odpowiedzi immunologicznej i zapalnej. Istnieją dwa typy IL-1: IL-1 α i IL-1 β , które kodowane są przez różne geny. Mimo iż różnią się one budową chemiczną, przejawiają prawie identyczną aktywność biologiczną [75]. Produkowane są one w formie nieaktywnych prekursorów (proleukin) i następnie przekształcane w formy aktywne w wyniku działania pozakomórkowych enzymów proteolitycznych [64].

Wydzielane są głównie przez monocyty i makrofagi. Inne komórki mogące produkować IL-1 to keratynocyty, chondrocyty, komórki Langerhansa, komórki glejowe, mezangium, śródbłonka oraz w niewielkich ilościach limfocyty T i B. Monocyty i makrofagi wydzielają głównie IL-1 β , natomiast keratynocyty IL-1 α .

Produkcja IL-1 stymulowana jest przez wirusy, bakterie i antygeny bakteryjne (LPS) oraz inne cytokiny m.in. IFN- γ , TNF- α i fragmenty dopełniacza.

Istnieją dwa typy receptorów dla interleukiny 1: IL-1 R I oraz IL-1 R II. IL-1 R I znajduje się na powierzchni większości komórek odpowiadających na IL-1, natomiast

IL-1 R II głównie na powierzchni granulocytów obojętnochłonnych, monocytów i limfocytów B. IL-1 R I wykazuje dużo szybsze przewodzenie sygnału do wnętrza komórki niż IL 1 R II [64].

Interleukina 1 przejawia bardzo szeroką aktywność biologiczną, regulując wiele procesów immunologicznych i zapalnych. Pobudza ona wydzielanie innych cytokin, jak IL-2, IL-6, IFN- γ i TNF- α oraz stymuluje proliferację limfocytów T i proliferację oraz różnicowanie limfocytów B. Indukuje ona wzmożone wytwarzanie granulocytów obojętnochłonnych i monocytów, głównie przez uwalnianie czynników stymulujących kolonizację (G-CSF, GM-CSF, M-CSF). Nasila ona rozwój reakcji zapalnej przez swe właściwości chemotaktyczne, a także przez uwalnianie eikozanoidów, histaminy, PAF oraz zwiększanie ekspresji molekuł adhezyjnych ICAM-1, ELAM-1, VCAM-1. Działając na wątrobę, pobudza hepatocyty do produkcji białek ostrej fazy. IL-1 wykazuje również działanie na centralny system nerwowy, wywołując jadłowstręt i przejawiając właściwości pirogenne. Ma również działanie immunosupresyjne, stymulując uwalnianie CRH w podwzgórzcu i tym samym aktywując oś podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczową, a w efekcie uwalnianie glikokortykosterydów [64].

2.2.2. Antagonista receptora interleukiny 1

IL-1ra jest endogennym inhibitorem IL-1, produkowanym przez monocyty i makrofagi. Charakteryzuje go znaczne podobieństwo do IL-1 pod względem strukturalnym. Jego wytwarzanie stymulowane jest przez IL-4, IL-10 i TGF- β . Wykazuje zdolność wiązania z IL-1 R, blokując obydwie typy receptora i nie wywołując uchwytanego efektu biologicznego w komórkach docelowych [76, 77]. Działanie jego polega więc na zapobieganiu wiązania IL-1 z receptorem i tym samym zablokowaniu jej działania.

2.2.3. Interleukina 6

IL-6 wywiera szerokie działanie na system immunologiczny i jest jednym z głównych czynników regulujących mechanizmy obronne organizmu. Produkowana jest przede wszystkim przez monocyty i makrofagi a także fibroblasty, komórki śródbłonka, keratynocyty

i chondrocyty oraz limfocyty T i B [78]. Głównymi czynnikami indukującymi jej produkcję są IL-1, TGF- β , TNF oraz LPS i wirusy [79].

Receptor dla IL-6 występuje w dwu postaciach: IL-6 R α i IL-6 R β . IL- R β zlokalizowany jest na błonie komórkowej szeregu komórek układu limfoidalnego jak i nielimfoidalnego, natomiast IL-6 R α występuje w formie rozpuszczalnej [80].

Działanie IL-6 polega na pobudzeniu syntezy białek ostrej fazy w wątrobie, stymulowaniu proliferacji a także różnicowania limfocytów T do limfocytów cytotoksycznych i limfocytów B do komórek plazmatycznych [81, 82, 83]. Wpływa ona również na komórki pnia w szpiku kostnym pobudzając krwiotworzenie, w tym trombopoeseę oraz na centralny system nerwowy, stymulując wydzielanie CRH i działając pirogennie [84, 85, 86].

2.2.4. Cytokiny we wrzodziejącym zapaleniu jelita grubego

Interleukina 1 β oraz interleukina 6, jako główne mediatory odpowiedzi zapalnej, odgrywają ważną rolę w rozwoju wzjg. IL-1 β dzięki swym właściwościom pobudzającym wydzielanie innych mediatorów zapalnych, jak IL-8 oraz eikozanoidów, inicjuje oraz nasila proces zapalny w jelicie grubym [87]. Znajduje to potwierdzenie w badaniach na modelu zwierzęcym wzjg. Użycie IL-1ra w celu zablokowania działania endogennej IL-1 β , powodowało zmniejszenie nasilenia objawów zapalenia jelita oraz doprowadzało do obniżenia stężeń eikozanoidów w błonie śluzowej jelita grubego [63, 78, 88, 89, 90].

U pacjentów z wzjg stwierdzono obniżenie wzajemnego stosunku antagonisty receptora interleukiny 1 do interleukiny 1 β w odniesieniu do zdrowej populacji oraz pacjentów z innymi chorobami zapalnymi. [61, 88, 91, 92]. Sugeruje się, że ta względna przewaga interleukiny 1, o silnych właściwościach prozapalnych nad swoim endogennym inhibitorem może sprzyjać rozwojowi wzjg. Obserwuje się również większą stymulację limfocytów pomocniczych typu Th₂ i zwiększone uwalnianie interleukiny 4 i interleukiny 10, co również może mieć wpływ na stan równowagi immunologicznej [83, 93, 94].

Stwierdzono podwyższone stężenia IL-1 w surowicy oraz w śluzówce jelita u pacjentów z wzjg, a większość jej aktywności była związana z makrofagami śluzówkowymi [95]. Podobne wyniki osiągnięto badając poziom mRNA IL-1 [89].

Badając stężenie IL-6, również stwierdzono podwyższone jej stężenie w aktywnym wzjg w surowicy i śluzówce jelita [96, 97].

Oznaczając TNF- α osiągnięto sprzeczne wyniki. Jedni badacze stwierdzili podwyższone stężenia TNF- α w surowicy, stolcu i w *lamina propria* błony śluzowej, inni badając poziom mRNA TNF- α nie stwierdzili znamiennych różnic [85, 98, 99]. W badaniach nad izolowanymi komórkami z *lamina propria* stwierdzono zwiększone stężenie TNF- α , ale wydzielanie było dużo niższe niż IL-1 lub IL-6 [100].

Brak jest prac oceniających stężenia IL-1, jej endogennego inhibitora IL-1ra oraz IL-6 w stolcu, oraz ich związek z aktywnością procesu chorobowego. Nie sprawdzono też wzajemnego stosunku ich stężeń w stolcu do stężeń w surowicy. W przypadku potwierdzenia korelacji stężeń tych interleukin z aktywnością stanu zapalnego w jelicie, otwierałoby to możliwość wykorzystania ich jako markerów aktywności choroby. Możliwość oznaczenia stężeń tych interleukin w stolcu, materiale z bezpośredniego sąsiedztwa toczącego się procesu zapalnego, oraz nieinwazyjność metod badania stolca mogłaby umożliwić nieobciążającą dla pacjentów, zwłaszcza dzieci, ocenę zaawansowania stanu zapalnego w jelicie, bez konieczności wykonywania badań endoskopowych. Mogłaby to być użyteczna metoda oceny aktywności choroby w zastosowaniu do celów rokowniczych oraz oceny skuteczności leczenia wzjg zarówno w ostrej fazie choroby, jak i w okresie remisji.

III. Cel pracy

Celem obecnej pracy było:

1. Ocena zachowania się stężeń interleukiny 1β , antagonisty receptora interleukiny 1, interleukiny 6 oraz współczynnika $IL-1ra / IL-1\beta$ w surowicy i stolcu u dzieci z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego w fazie aktywnej oraz w okresie remisji, w trakcie leczenia.
2. Ocena wzajemnej korelacji stężeń interleukiny 1β , antagonisty receptora interleukiny 1, interleukiny 6 oraz współczynnika $IL-1ra / IL-1\beta$ w surowicy i stolcu z aktywnością wrzodziejącego zapalenia jelita grubego u dzieci w aktywnej fazie choroby oraz w okresie remisji.

IV. Materiał i metody

4.1. Pacjenci z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego

Badanie przeprowadzono w Klinice Pediatrii, Gastroenterologii i Żywienia, Polsko – Amerykańskiego Instytutu Pediatrii, Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie, w okresie od 05.04.1997 do 30.09.1999. Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Stałej Rektorskiej Komisji Etycznej ds. Badań Klinicznych Collegium Medicum UJ. Od opiekuna prawnego każdego pacjenta grupy badanej, porównawczej oraz kontrolnej uzyskano pisemną zgodę na udział w badaniach.

Do grupy badanej kwalifikowane były dzieci w wieku 2 – 18 r.ż., chore na wrzodziejące zapalenie jelita grubego, leczone w Klinice Pediatrii, Gastroenterologii i Żywienia, Polsko – Amerykańskiego Instytutu Pediatrii Collegium Medicum UJ w Krakowie. Rozpoznanie wrzodziejącego zapalenia jelita grubego zostało postawione na podstawie kryteriów klinicznych, endoskopowych i histopatologicznych. Grupa pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego została podzielona na dwie grupy, grupę I – z aktywnym wzjg oraz grupę II – z wzjg w okresie remisji.

4.1.1. Grupa z aktywnym wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego

Kryteriami włączenia do grupy I z aktywnym wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego było rozpoznanie wzjg na podstawie kryteriów klinicznych, endoskopowych i histopatologicznych oraz aktywna faza wzjg.

Pacjentów uznawano za będących w aktywnej fazie choroby, gdy oddawali co najmniej trzy stolce biegunkowe z zawartością krwi i śluzu dziennie przez okres tygodnia. Badanie przeprowadzono w pierwszym rzucie wzjg lub kolejnym zaostrzeniu choroby.

Kryteriami wyłączenia były: obecność klinicznych, serologicznych lub mikrobiologicznych dowodów na obecność choroby zapalnej jelit innej niż wzjg, obecna lub przebyta w okresie ostatnich 2 tygodni ostra choroba zapalna oraz obecność innej przewlekłej choroby układowej.

4.1.2. Grupa z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego w remisji

Kryteriami włączenia do grupy II z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego w fazie remisji było rozpoznanie wzjg na podstawie kryteriów klinicznych, endoskopowych i histopatologicznych oraz faza remisji wzjg.

Pacjentów uznawano za będących w fazie remisji, gdy oddawali prawidłowe stolce bez krwi i śluzu przez okres przynajmniej 4 tygodni przed włączeniem do badań.

Kryteriami wyłączenia były: obecność klinicznych, serologicznych lub mikrobiologicznych dowodów na obecność choroby zapalnej jelit innej niż wzjg, obecna lub przebyta w okresie ostatnich 2 tygodni ostra choroba zapalna oraz obecność innej przewlekłej choroby układowej.

4.2. Grupa porównawcza

Grupę porównawczą stanowiła grupa dzieci z inną chorobą zapalną jelita grubego, niespecyficznym zapaleniem jelita grubego (nzjg, *colitis chronica nonspecifica*). Grupa dzieci z nzjg została podzielona na dwie grupy, grupę III – z aktywnym niespecyficznym zapaleniem jelita grubego oraz grupę IV – z niespecyficznym zapaleniem jelita grubego w fazie remisji.

4.2.1 Grupa porównawcza z aktywnym niespecyficznym zapaleniem jelita grubego

Grupa pacjentów z aktywnym niespecyficznym zapaleniem jelita grubego stanowiła grupę porównawczą dla pacjentów z aktywnym wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego.

Pacjentów uznawano za będących w aktywnej fazie nzjg, gdy oddawali co najmniej trzy stolce biegunkowe z zawartością krwi i śluzu dziennie przez okres tygodnia.

Kryteriami włączenia do grupy porównawczej z aktywnym niespecyficznym zapaleniem jelita grubego było rozpoznanie nzjg na podstawie kryteriów klinicznych, endoskopowych i histopatologicznych, pierwszy rzut nzjg lub kolejne zaostrzenie choroby oraz aktywna faza nzjg.

Kryteriami wyłączenia były: obecność klinicznych, serologicznych lub mikrobiologicznych dowodów na obecność choroby zapalnej jelit innej niż nzjg, obecna lub przebyta w okresie ostatnich 2 tygodni ostra choroba zapalna oraz obecność innej przewlekłej choroby układowej.

4.2.2. Grupa porównawcza z niespecyficznym zapaleniem jelita grubego w remisji

Grupa pacjentów z niespecyficznym zapaleniem jelita grubego w remisji stanowiła grupę porównawczą dla pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego w remisji.

Pacjentów uznawano za będących w fazie remisji, gdy oddawali prawidłowe stolce bez krwi i śluzu przez okres 4 tygodni przed włączeniem do badań.

Kryteriami włączenia do grupy z niespecyficznym zapaleniem jelita grubego w fazie remisji było rozpoznanie nzjg na podstawie kryteriów klinicznych, endoskopowych i histopatologicznych oraz faza remisji nzjg.

Kryteriami wyłączenia były: obecność klinicznych, serologicznych lub mikrobiologicznych dowodów na obecność choroby zapalnej jelit innej niż nzjg, obecna lub przebyta w okresie ostatnich 2 tygodni ostra choroba zapalna oraz obecność innej przewlekłej choroby układowej

4.3. Grupa kontrolna

Grupę kontrolną (grupę V), stanowiły dzieci z ubytkami neurologicznymi bez dolegliwości ze strony przewodu pokarmowego. Stanowiły one grupę kontrolną dla obydwu grup pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego, z aktywnym wzjg oraz w fazie remisji.

Kryteriami włączenia do grupy kontrolnej były: dobry stan zdrowia, wiek 2 – 18 lat, brak obecnej lub przebytej w ciągu ostatnich 2 tygodni choroby infekcyjnej lub stanu zapalnego oraz brak dolegliwości ze strony przewodu pokarmowego w wywiadzie i badaniu fizykalnym.

Kryteriami wyłączenia były: obecność klinicznych, serologicznych lub mikrobiologicznych dowodów na obecność infekcji lub stanu zapalnego w obrębie przewodu pokarmowego, stwierdzone w okresie do 2 tygodni od włączenia do grupy kontrolnej.

4.4. Plan badania i kontroli pacjentów

Surowica i stolec w celu oznaczenia badanych interleukin, pobierane były trzykrotnie w trakcie trwania badania. U pacjentów grupy I z aktywnym wzjg, pobierano materiał do badań w momencie postawienia diagnozy i włączenia do badań, następnie po upływie 4 i 12 tygodni, natomiast u pacjentów grupy II, z wzjg w remisji, w momencie włączenia do badań oraz w trakcie wizyt kontrolnych po 4 i 8 miesiącach.

Jednocześnie z pobieraniem materiału do oznaczania interleukin, przeprowadzano kompleksowe badanie stanu pacjenta (wywiad, badanie fizykalne), dokonywano pomiarów temperatury ciała, wzrostu i wagi dziecka oraz pobierano krew w celu oznaczenia morfologii krwi i OB. W oparciu o dane uzyskane w trakcie tych badań, oceniano aktywność kliniczną wrzodziejącego zapalenia jelita grubego u danego pacjenta wg skali Truelove-Wittsa.

Wszyscy pacjenci grupy I z aktywnym wzjg mieli wykonywane badania kolonoskopowe z oceną wycinków histopatologicznych przy przyjęciu do szpitala, natomiast u 14 pacjentów grupy II z wzjg w fazie remisji, wykonywano kontrolne badania kolonoskopowe po 1,5 – 2 latach leczenia.

Oznaczanie badanych interleukin w surowicy i stolcu u pacjentów grupy porównawczej i kontrolnej wykonywano jeden raz, w momencie włączenia do badań, jednocześnie z kompleksowym badaniem stanu pacjenta (wywiad, badanie fizykalne).

4.5. Ocena aktywności wrzodziejącego zapalenia jelita grubego

Aktywność wrzodziejącego zapalenia jelita grubego oceniano na podstawie nasilenia objawów klinicznych oraz zaawansowania zmian endoskopowych i histopatologicznych w obrębie jelita grubego.

4.5.1. Ocena klinicznej aktywności wrzodziejącego zapalenia jelita grubego

W ocenie klinicznej aktywności wrzodziejącego zapalenia jelita grubego zastosowano zmodyfikowaną skalę Truelove-Wittsa, oceniającą ilość stolców biegunkowych w ciągu doby, obecność krwi w stolcu, temperaturę ciała, stężenie hemoglobiny, OB oraz stan odżywienia mierzony wskaźnikiem Cole'a [101, 102, 103]. Zmodyfikowana skala Truelove-Wittsa, w miejsce częstości tętna, będącej jednym z parametrów oceny u pacjentów dorosłych, uwzględnia wskaźnik Cole'a, oceniający stan odżywienia i stopień rozwoju fizycznego dziecka, w odniesieniu do średnich wartości populacyjnych [104]. Zwiększa to przydatność tej skali w ocenie pacjentów pediatrycznych, znajdujących się w okresie intensywnego rozwoju [102].

Nasileniu poszczególnych parametrów przyporządkowane są odpowiednie wartości punktowe (Tab.1.). Łączna punktacja 0 – 4 punktów odpowiada łagodnej postaci choroby, 5 – 8 punktów umiarkowanej, natomiast powyżej 8 punktów ciężkiej postaci wrzodziejącego zapalenia jelita grubego.

Ocena zaawansowania klinicznego wzjg została przeprowadzona bez znajomości stężeń badanych interleukin oraz stopnia zaawansowania endoskopowego i histopatologicznego.

Tab.1. Zmodyfikowana skala aktywności klinicznej Truelove-Wittsa .

OBJAW	0 PKT	1 PKT	2 PKT
Stolce biegunkowe	< 2	2 – 6	> 6
Krew w stolcu	Brak	Ślad	Dużo
Temperatura	Norma	< 38 ° C	> 38 ° C
Hemoglobina	> 12 g/dl	10 – 12 g/dl	< 10 g/dl
OB	< 10	10 – 30	> 30
Wskaźnik Cole'a	> 85%	80 – 85%	< 80%

4.5.2. Ocena aktywności endoskopowej wrzodziejącego zapalenia jelita grubego

Stopień nasilenia zmian endoskopowych w obrębie jelita grubego oceniono przy pomocy skali endoskopowej Rotha [105, 106]. W skali tej oceniane są takie parametry, jak rysunek naczyniowy, obrzęk błony śluzowej jelita, granulacje oraz obecność owrzodzeń i śluzowo – ropnej wydzieliny w jelicie grubym. W zależności od nasilenia poszczególnych zmian patologicznych, przyporządkowano im określony stopień wg skali Rotha (Tab.2). Każdy wyższy stopień skali, oprócz zmian charakterystycznych dla niego, obejmował również zmiany niższych stopni.

Stopień 1 wg skali Rotha odpowiadał łagodnemu zaawansowaniu zmian zapalnych w jelicie grubym, stopień 2 – umiarkowanemu, natomiast stopień 3 i 4 – ciężkiemu zaawansowaniu wrzodziejącego zapalenia jelita grubego w obrębie okrężnicy.

Badania endoskopowe zostały przeprowadzone przez doświadczonego lekarza endoskopistę, bez znajomości zaawansowania klinicznego wzjg oraz stężeń badanych interleukin w momencie badania.

Tab.2. Skala endoskopowa Rotha.

	OBJAWY
Stopień 0	Prawidłowa błona śluzowa
Stopień 1	Wybroczyny, zatarcie rysunku naczyniowego, niewielki obrzęk błony śluzowej
Stopień 2	Znaczny obrzęk oraz kruchość błony śluzowej, obecne niewielkie nadżerki
Stopień 3	Spontaniczne krwawienie, liczne owrzodzenia, granulacje, wydzielina śluzowo – ropna
Stopień 4	Rozległe, zlewające się owrzodzenia, obfita wydzielina śluzowo – ropna

4.5.3. Ocena aktywności histopatologicznej wrzodziejącego zapalenia jelita grubego

Wycinki z jelita, pobrane w trakcie badań kolonoskopowych, były opracowywane typową metodą i barwione przy użyciu hematoksyliny i eozynofilyn.

Stopień nasilenia zmian histopatologicznych oceniono przy pomocy skali histopatologicznej, oceniającej intensywność nacieków komórek zapalnych w obrębie blaszki właściwej błony śluzowej (*lamina propria*), eosinofilię, zasięg zapalenia w obrębie krypt i obecność mikroropni krypt oraz obecność owrzodzeń [107]. W zależności od zaawansowania zmian patologicznych, przyporządkowano im określony stopień wg skali histopatologicznej (Tab.3.). Każdy wyższy stopień skali, oprócz zmian charakterystycznych dla niego, obejmował również zmiany stopni niższych.

Stopień 1 wg skali histopatologicznej odpowiadał łagodnemu zaawansowaniu zmian histopatologicznych w jelicie grubym, stopień 2 – umiarkowanemu, natomiast stopień 3 – ciężkiemu nasileniu wzjg w błonie śluzowej jelita grubego.

Badanie histopatologiczne przeprowadzone zostało przez lekarza specjalistę patomorfologa¹, bez znajomości stopnia zaawansowania klinicznego oraz endoskopowego wzgł. oraz stężeń badanych interleukin w momencie badania.

Tab.3. Skala histopatologiczna

	OBJAWY
Stopień 0	Prawidłowa błona śluzowa
Stopień 1	Nieliczne nacieki granulocytów obojętnochłonnych w <i>lamina propria</i> , <i>eosinophilia</i> , bez zapalenia w obrębie krypt lub uszkodzenia nabłonka
Stopień 2	Liczne komórki zapalne w obrębie <i>lamina propria</i> , nacieki z granulocytów obojętnochłonnych w obrębie komórek nabłonka krypt jelitowych, mikroropnie krypt
Stopień 3	Uszkodzenie nabłonka błony śluzowej z obecnością owrzodzeń

4.6. Oznaczanie stężeń interleukin

Stężenia badanych interleukin oznaczano w surowicy i stolcu, pobieranych w tym samym dniu od pacjenta. Oznaczenia wykonywano metodą ELISA, przy użyciu następujących zestawów:

- Quantikine Human IL-1 β HS Immunoassay, firmy R&D Systems, USA, dla oznaczenia interleukiny 1 β , o czułości 0,1 pg/ml,
- Quantikine Human IL-1ra Immunoassay, firmy R&D Systems, USA, dla oznaczenia antagonisty receptora interleukiny 1, o czułości 14 pg/ml,

¹ Badanie histopatologiczne wykonane zostało w Zakładzie Patomorfologii Katedry Immunologii i Patologii Polsko-Amerykańskiego Instytutu Pediatrii Collegium Medicum UJ.

Kierownik Katedry: Prof. dr hab. med. M. Zembala. Kierownik Zakładu: Dr med. W. Mieżyński.

- Quantikine Human IL-6 HS Immunoassay, firmy R&D Systems, USA, dla oznaczenia interleukiny 6, o czułości 0,094 pg/ml.

Wszystkie oznaczenia stężeń badanych interleukin w surowicy i stolcu wykonywano podwójnie w każdej próbce materiału^{II}, następnie obliczano średnią arytmetyczną dla każdej pary wyników.

4.6.1. Oznaczanie stężeń interleukin w surowicy

Dla oznaczenia stężeń badanych interleukin, pobierano krew żylną w ilości 2 ml i pozostawiano w temperaturze pokojowej w celu skrzepnięcia przez 30 min. Następnie odwirowywano surowicę przy szybkości 5000 obrotów/min przez 10 min. Uzyskaną surowicę przechowywano w temperaturze – 70° C do czasu wykonania oznaczeń.

Oznaczanie stężeń badanych interleukin metodą ELISA wykonywane było zgodnie z zaleceniami producenta zestawów [108, 109, 110].

Pomiar stężeń IL-1 β i IL-6 wykonywano według jednakowego schematu, przy użyciu zestawów o wysokiej czułości (*HS, high sensitivity*), natomiast oznaczanie stężenia IL-1ra różniło się rodzajem enzymu i substratu używanego w reakcji barwnej, brakiem etapu wzmocnienia reakcji, czasem inkubacji w poszczególnych etapach testu oraz długością fali używanej w metodzie kolorymetrycznej.

Po wcześniejszym przygotowaniu odczynników i wypełnieniu każdego dołeczka w płytce polistyrenowej, pokrytej monoklonalnym przeciwciałem przeciwko IL-1 β lub IL-6^{III}, ilością 50 μ l roztworu rozcieńczającego (*assay diluent*), dodawano do niego 200 μ l roztworu standardowego (*IL-1 β standard* lub *IL-6 standard*)^{IV} lub próbki badanej surowicy. Po inkubacji trwającej 20 godzin w temperaturze pokojowej^V usuwano roztwory i płukano dołeczki płytki czterokrotnie buforem płuczącym (*wash buffer*). Po wysuszeniu płytki, do każdego dołeczka dodawano 200 μ l roztworu sprzęgającego (*IL-1 β conjugate* lub *IL-6 conjugate*), zawierającego przeciwciała przeciwko badanej interleukinie sprzężone

^{II} Oznaczenia stężeń interleukin w surowicy i stolcu wykonywane były w Zakładzie Immunologii Klinicznej Katedry Immunologii i Patologii Polsko-Amerykańskiego Instytutu Pediatrii Collegium Medicum UJ. Kierownik Katedry i Zakładu: Prof. dr hab. med. M. Zembala.

^{III} W zestawie dla oznaczeń IL-1ra płytka pokryta była monoklonalnym przeciwciałem przeciwko IL-1ra.

^{IV} Roztwór o znanym stężeniu, służący do wyznaczenia krzywej standardowej. W zestawie dla IL-1ra roztwór standardowy zawierał IL-1ra.

z enzymem (fosfatazą kwaśną) i inkubowano przez okres 6 godzin.^{VI} Następnie ponownie czterokrotnie płukano płytkę i dodawano 50 µl roztworu zawierającego substrat dla enzymu związanego z przeciwciałem (*substrate solution*)^{VII}. Po okresie inkubacji trwającym 1 godzinę^{VIII}, dodawano roztwór wzmacniający (*amplifier solution*) i ponownie inkubowano przez 30 min.^{IX} Po tym okresie dodawano 50 µl roztworu hamującego reakcję barwną (*stop solution*)^X i odczytywano absorbancję roztworu sposobem kolorymetrycznym (Labsystems Multiscan Plus, Finlandia), przy długości fali 490 nm.^{XI}

Używając roztworów standardowych, wyznaczano krzywą standardową dla każdej interleukiny i na jej podstawie obliczano stężenia badanych interleukin.

4.6.2. Oznaczanie stężeń interleukin w stolcu

W celu oznaczenia stężeń badanych interleukin w stolcu, pobierano od pacjentów próbki stolca o masie 20 g. Ze stolca wytwarzano supernatant przez rozpuszczenie w stosunku 1:1 w roztworze fosforanowego buforu soli (PBS, pH = 7,2), zawierającego inhibitory proteaz, sojowy inhibitor trypsyny (Gibco, USA) o stężeniu 1 mg/ml oraz fluorek phenylmetylsulfonylu (Gibco, USA) o stężeniu 1 mg/ml. Następnie rozpuszczony stolec odwirowywano przez 20 min przy 10 000 obrotów/min i filtrowano przez filtry mikroporowe o średnicy 0,45 µ (Millipore, USA). Wytworzony w ten sposób supernatant przechowywano w temperaturze – 70° C do czasu wykonania oznaczeń interleukin [111, 112].

Oznaczenia stężeń badanych interleukin metodą ELISA w supernatancie ze stolca wykonywano w analogiczny sposób jak w surowicy.

^V W zestawie dla IL-1ra czas inkubacji wynosił 2 godziny.

^{VI} W zestawie dla IL-1ra używano roztworu sprzęgającego (*IL-1ra conjugate*), w którym przeciwciała przeciwko IL-1ra sprzężone były z enzymem peroksydazą nadtlenkową. Czas inkubacji wynosił 2 godziny.

^{VII} W zestawach dla IL-1β i IL-6 substratem był NADPH, który ulegał rozkładowi przez fosfatazę kwaśną do NADH. W zestawie dla IL-1ra jako substrat służył nadtlenek wodoru oraz chromogen (*tetramethylbenzidine*).

^{VIII} W zestawie dla IL-1ra czas inkubacji wynosił 20 minut. Po tym czasie dodawano roztwór hamujący reakcję.

^{IX} Brak było etapu wzmacniania reakcji barwnej w metodzie oznaczania IL-1ra. W zestawach dla IL-1β i IL-6 jako substancje wzmacniające służyły enzymy dehydrogenaza alkoholowa i diaforaza oraz chromogen (*iodonitrotetrazolium*).

^X W obydwu typach zestawów jako roztwór hamujący służył 2 molowy roztwór kwasu siarkowego.

^{XI} W zestawie dla IL-1ra stosowano długość fali 450 nm.

4.7. Leczenie wrzodziejącego zapalenia jelita grubego

W leczeniu żywieniowym pacjentów z aktywnym wzjg stosowano w zależności od stanu klinicznego żywienie pozajelitowe oraz dietę elementarną, bezresztkową w oparciu o hydrolizaty kazeiny, stopniowo rozszerzaną w miarę poprawy stanu pacjenta. W okresie remisji pacjenci pozostawali na diecie bezresztkowej oraz elementarnej, opartej o hydrolizaty kazeiny, w zależności od skłonności alergicznych i stanu klinicznego pacjenta [113, 114].

W leczeniu farmakologicznym w aktywnym wzjg stosowano salicylany (Sulphasalazyna i preparaty 5-ASA), sterydy ogólnie (Prednison) i miejscowo w postaci wlewek doodbytniczych (Hydrocortison) oraz leki immunosupresyjne (Imuran), natomiast w okresie remisji salicylany, sterydy ogólnie i leki immunosupresyjne. Dawki wszystkich leków były zgodne z dawkowaniem zalecanym w leczeniu wrzodziejącego zapalenia jelita grubego u dzieci [114, 115, 116, 117].

4.8. Analiza statystyczna

Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu pakietu statystycznego Stata 5,0 (Stata Corp., Wielka Brytania). Różnice w stężeniach badanych interleukin pomiędzy grupami oceniono przy użyciu testu U Mann – Whitneya, natomiast różnice między badanymi parametrami w obrębie badanych grup przy użyciu testu Wilcoxon dla zmiennych powiązanych. Współczynniki korelacji oceniono przy użyciu testu korelacji rang Spearmana. Za poziom istotności statystycznej przyjęto wartość $p < 0,05$.

Wartości stężeń interleukin oraz współczynnika IL-1ra / IL-1 β przedstawiono w postaci mediany oraz zakresu wartości, podając wartości brzegowe w danej grupie (wartość minimalna – wartość maksymalna).

Wiek pacjentów w poszczególnych grupach przedstawiono w postaci średniej arytmetycznej oraz zakresu wartości, podając wartości brzegowe w danej grupie (wiek minimalny – wiek maksymalny).

4.9. Charakterystyka populacji pacjentów

Badanie przeprowadzono łącznie u 40 dzieci, z czego 38 dzieci (19 dziewczynek, 19 chłopców) ukończyło badanie. Dwie dziewczynki z grupy II, z wzjg w fazie remisji, zostały wyłączone z badań. Jedna z nich wycofała wcześniejszą zgodę na udział w badaniach, natomiast druga nie zgłaszała się na ustalone wizyty kontrolne.

Do grupy I z aktywnym wzjg włączono 20 dzieci (9 dziewczynek, 11 chłopców) w średnim wieku 10,6 r.ż. (od 2 – 15 r.ż.), natomiast do grupy II, z wzjg w remisji, 18 dzieci (10 dziewczynek, 8 chłopców) w średnim wieku 11,7 r.ż. (od 3,5 – 18 r.ż.).

Grupa I obejmowała 15 dzieci z pierwszym rzutem wzjg oraz 5 z kolejnym zaostrzeniem choroby. W grupie II wszystkie dzieci znajdowały się w fazie remisji wzjg.

Czas trwania wzjg u dzieci grupy I, z kolejnym zaostrzeniem choroby, wynosił średnio 1,7 roku (od 1 – 3 lat) od postawienia diagnozy, natomiast u pacjentów grupy II, z wzjg w fazie remisji, czas trwania choroby wynosił średnio 2,1 roku (od 0,5 – 7 lat).

Grupa porównawcza z aktywnym nzjg (grupa III) składała się z 14 dzieci (6 dziewczynek, 8 chłopców), w średnim wieku 10,6 r.ż. (od 5,1 – 17 r.ż.) z pierwszym rzutem choroby, natomiast grupa porównawcza z nzjg w fazie remisji (grupa IV) obejmowała 14 dzieci (6 dziewczynek, 8 chłopców) w średnim wieku 10,4 r.ż. (od 4,5 – 18 r.ż.). Czas trwania niespecyficznego zapalenia jelita grubego w grupie kontrolnej IV wynosił średnio 1,9 roku (od 0,5 – 5 lat).

Grupę kontrolną (grupę V) stanowiła grupa 14 dzieci (7 dziewczynek, 7 chłopców) w średnim wieku 11,0 r.ż. (3,5 – 16 r.ż.), z opóźnieniem rozwoju psychoruchowego.

Porównując parametry grup, takie jak wiek pacjentów, płeć oraz czas trwania choroby nie stwierdzono statystycznie znamiennych różnic między grupą badaną, porównawczą i kontrolną (Tab. 4.).

Tab. 4. Charakterystyka grup.

	GRUPY BADANE		GRUPY PORÓWNAWCZE		GRUPA KONTROLNA
	I	II	III	IV	V
Liczebność grupy (n)	20	18	14	14	14
Wiek (l)	10,6 (2 – 15)	11,7 (3,5 – 18)	10,6 (5,1 – 17)	10,4 (4,5 – 18)	11,0 (3,5 – 16)
Płeć (K/M) ^{xii} (%)	9/11 45/55	10/8 56/44	6/8 43/57	6/8 43/57	7/7 50/50
Rzut choroby (pierwszy/kolejny)	15/5	–	14/0	–	–
Czas trwania choroby (l)	1,7 ^{xiii} (1 – 3)	2,1 (0,5 – 7)	–	1,9 (0,5 – 5)	–
Czas trwania remisji ^{xiv} (l)	0,9 ^{xvii} (0,5 – 1)	1,9 (0,5 – 7)	–	1,7 (0,5 – 3,5)	–

4.9.1. Leczenie dietetyczne i farmakologiczne

W grupie I, z aktywnym wzjg w czasie oznaczenia stężeń interleukin w trakcie włączenia do badań, pacjenci z pierwszym rzutem wzjg pozostawali bez leczenia dietetycznego i farmakologicznego, natomiast u pacjentów z kolejnym zaostrzeniem choroby stosowano dietę elementarną, opartą o hydrolizaty kazeiny oraz leczenie farmakologiczne podtrzymujące. Po 4 i 12 tygodniach leczenia pacjenci pozostawali na diecie elementarnej lub bezresztkowej, natomiast w leczeniu farmakologicznym stosowano salicylany, sterydy oraz leki immunosupresyjne (Imuran). Liczbę pacjentów pozostających na danym leczeniu przedstawiono w tabelach (Tab. 5.), (Tab. 6.).

^{xii} Podział pacjentów w obrębie grupy ze względu na płeć (K – kobiety, M – mężczyźni).

^{xiii} U 5 pacjentów z kolejnym rzutem wzjg.

^{xiv} Od ostatniego zaostrzenia choroby.

Tab. 5. Leczenie dietetyczne pacjentów grupy I.

	PRZY WŁĄCZENIU (N = 20)	PO 4 TYG. (N = 20)	PO 12 TYG. (N = 20)
Dieta normalna	15 (75%)	–	–
Dieta elementarna	5 (25%)	14 (70%)	10 (50%)
Dieta bezresztkowa	–	6 (30%)	10 (50%)

Tab. 6. Leczenie farmakologiczne pacjentów grupy I.

	PRZY WŁĄCZENIU (N = 20)	PO 4 TYG. (N = 20)	PO 12 TYG. (N = 20)
Bez leczenia	15 (75%)	–	–
Salicylany	4 (20%)	1 (5%)	9 (45%)
Salicylany + Sterydy	–	15 (75%)	5 (25%)
Salicylany + Imuran	1 (5%)	–	–
Salicylany + Sterydy + Imuran	–	4 (20%)	6 (30%)

Spośród dzieci leczonych sterydami, po 4 tygodniach leczenia, 10 pacjentów pozostawało na pełnej dawce, pozostałych 5 było w trakcie zmniejszania dawki, natomiast po 12 tygodniach leczenia wszystkie dzieci były w trakcie zmniejszania dawki sterydów.

W grupie II, z wzjg w remisji w trakcie wszystkich trzech oznaczeń stężeń interleukin, przy włączeniu do badań oraz po upływie 4 i 8 miesięcy, stosowano dietę bezreszkową oraz elementarną w oparciu o hydrolizaty kazeiny (Tab. 7.) Jeden pacjent nie przestrzegał zaleceń dietetycznych i stosował dietę normalną. W leczeniu farmakologicznym stosowano salicylany, sterydy oraz leki immunosupresyjne (Imuran) (Tab. 8.).

Pacjenci, u których stosowano sterydy, pozostawali na niewielkich dawkach leków ze względu na sterydowrażliwą postać wzjg.

Tab. 7. Leczenie dietetyczne pacjentów grupy II.

	PRZY WŁĄCZENIU (N = 18)	PO 4 MIES. (N = 18)	PO 8 MIES. (N = 18)
Dieta normalna	1 (5,6%)	1 (5,6%)	1 (5,6%)
Dieta elementarna	3 (16,7%)	3 (16,7%)	2 (11,1%)
Dieta bezreszkowa	14 (77,7%)	14 (77,7%)	15 (83,3%)

Tab. 8. Leczenie farmakologiczne pacjentów grupy II.

	PRZY WŁĄCZENIU (N = 18)	PO 4 MIES. (N = 18)	PO 8 MIES. (N = 18)
Salicylany	16 (88,8%)	16 (88,8%)	16 (88,8%)
Salicylany + Sterydy	1 (5,6%)	1 (5,6%)	1 (5,6%)
Salicylany + Sterydy + Imuran	1 (5,6%)	1 (5,6%)	1 (5,6%)

W grupach porównawczych (III i IV) stosowano leczenie dietetyczne i farmakologiczne, analogiczne do leczenia w grupach badanych. Pacjenci grupy III pozostawali na diecie normalnej i bez leczenia farmakologicznego, natomiast pacjenci grupy IV pozostawali na diecie normalnej, bezresztkowej lub elementarnej opartej o hydrolizaty kazeiny. W leczeniu farmakologicznym stosowano salicylany oraz sterydy w zmniejszonych dawkach u 2 pacjentów. U żadnego z pacjentów stan kliniczny nie wymagał stosowania leków immunosupresyjnych.

Pacjenci grupy kontrolnej V pozostawali na diecie normalnej oraz nie przyjmowali żadnych leków. Liczbę pacjentów pozostających na danym leczeniu przedstawiono w tabelach (Tab.9.), (Tab.10.).

Tab. 9. Leczenie dietetyczne pacjentów grup porównawczych i grupy kontrolnej.

	GRUPA III (N = 14)	GRUPA IV (N = 14)	GRUPA V (N = 14)
Dieta normalna	14 (100%)	6 (42,9%)	14 (100%)
Dieta elementarna	–	3 (21,4%)	–
Dieta bezresztkowa	–	5 (35,7%)	–

Tab. 10. Leczenie farmakologiczne pacjentów grup porównawczych i grupy kontrolnej.

	GRUPA III (N = 14)	GRUPA IV (N = 14)	GRUPA V (N = 14)
Bez leczenia	14 (100%)	–	14 (100%)
Salicylany	–	12 (85,7%)	–
Salicylany + Sterydy	–	2 (14,3%)	–

4.9.2. Aktywność wrzodziejącego zapalenia jelita grubego

Oceniając aktywność wzjg wg skali aktywności klinicznej Truelove – Wittsa, pacjenci grupy I, będący w ostrej fazie wzjg, przy włączeniu do badań znajdowali się w większości w umiarkowanej fazie choroby, natomiast po 4 tygodniach leczenia większość z nich znajdowała się w łagodnej fazie wzjg. Po 12 tygodniach leczenia wszyscy pacjenci byli w łagodnej fazie wzjg wg skali Truelove – Wittsa (Tab.11.).

Zaawansowanie zmian endoskopowych i histopatologicznych (aktywność endoskopowa i histopatologiczna wzjg) u pacjentów grupy I, oceniane przy włączeniu do badań wg skali endoskopowej Rotha i skali histopatologicznej, u większości pacjentów odpowiadało fazie umiarkowanej, natomiast pozostali znajdowali się w fazie ciężkiej wzjg (Tab.12.).

Wszyscy pacjenci grupy II (100%) znajdowali się w fazie łagodnej zaawansowania klinicznego wg skali Truelove – Wittsa, zarówno w czasie włączenia do badań, jak i po okresie 4 i 8 miesięcy.

Tab. 11. Aktywność kliniczna wrzodziejącego zapalenia jelita grubego wg skali Truelove – Wittsa u pacjentów grupy I.

	PRZY WŁĄCZENIU (N = 20)	PO 4 TYG. (N = 20)	PO 12 TYG. (N = 20)
Łagodna	5 (25%)	18 (90%)	20 (100%)
Umiarkowana	13 (65%)	2 (10%)	–
Ciężka	2 (10%)	–	–

Tab. 12. Aktywność endoskopowa i histopatologiczna wrzodziejącego zapalenia jelita grubego u pacjentów grupy I.

	AKTYWNOŚĆ ENDOSKOPOWA (N = 20)	AKTYWNOŚĆ HISTOPATOLOGICZNA (N = 20)
Łagodna	–	–
Umiarkowana	11 (55%)	11 (55%)
Ciężka	9 (45%)	9 (45%)

U 14 pacjentów grupy II wykonano kontrolne badanie kolonoskopowe. Obraz endoskopowy i zaawansowanie zmian histopatologicznych u większości z nich odpowiadały fazie łagodnej wzjg, natomiast u pozostałych pacjentów fazie umiarkowanej wzjg, ocenianej wg skali Rotha i skali histopatologicznej (Tab.13.).

Tab. 13. Aktywność endoskopowa i histopatologiczna wrzodziejącego zapalenia jelita grubego u pacjentów grupy II.

	AKTYWNOŚĆ ENDOSKOPOWA (N = 18)	AKTYWNOŚĆ HISTOPATOLOGICZNA (N = 18)
Łagodna	10 (71,5%)	10 (71,5%)
Umiarkowana	4 (28,5%)	4 (28,5%)
Ciężka	–	–

V. Wyniki badań

5.1. Interleukina 1 β

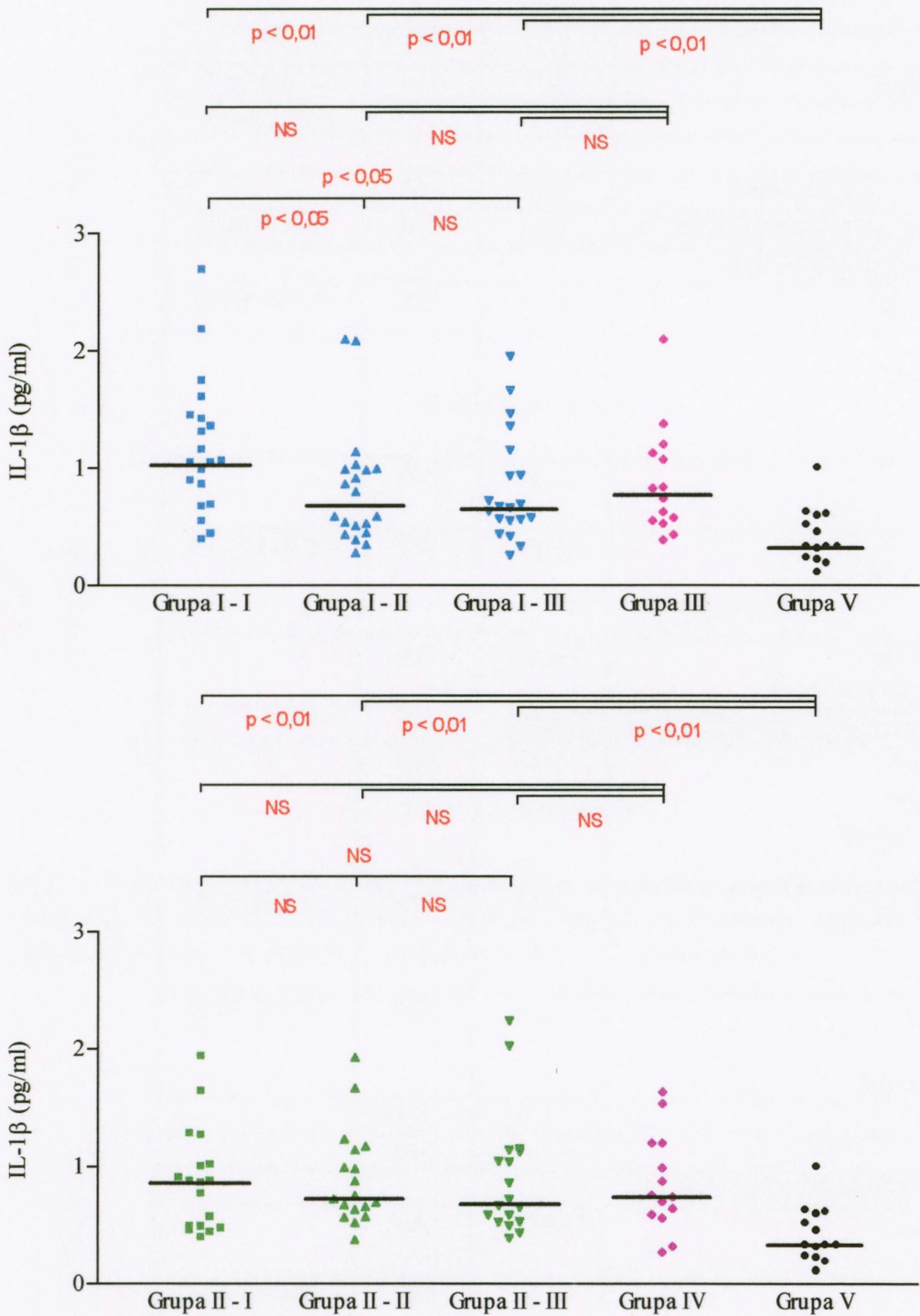
5.1.1. Interleukina 1 β w surowicy

Stężenia interleukiny 1 β w surowicy u pacjentów grupy I, z aktywnym wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego, w trakcie wszystkich trzech pomiarów osiągały statystycznie znamienne wyższe wartości niż w grupie V kontrolnej, nie stwierdzono natomiast istotnych różnic w stężeniach IL-1 β w porównaniu do grupy III, pacjentów z aktywnym niespecyficznym zapaleniem jelita grubego. (Ryc. 1.) Wartości IL-1 β obniżały się stopniowo w trakcie leczenia, od wartości mediany 1,05 pg/ml (zakres: 0,38 – 2,69 pg/ml) przed leczeniem, do 0,69 pg/ml (0,28 – 2,1 pg/ml) po 4 tygodniach leczenia i 0,67 pg/ml (0,26 – 1,95 pg/ml) po 12 tygodniach leczenia.

W grupie II, z wzjg w fazie remisji, stężenia IL – 1 β w surowicy nie zmieniały się w trakcie trwania remisji, pozostawały jednak na znamienne wyższym poziomie niż w grupie V kontrolnej. Nie stwierdzono również istotnych statystycznie różnic w porównaniu do grupy IV, z niespecyficznym zapaleniem jelita grubego. (Ryc. 1.)

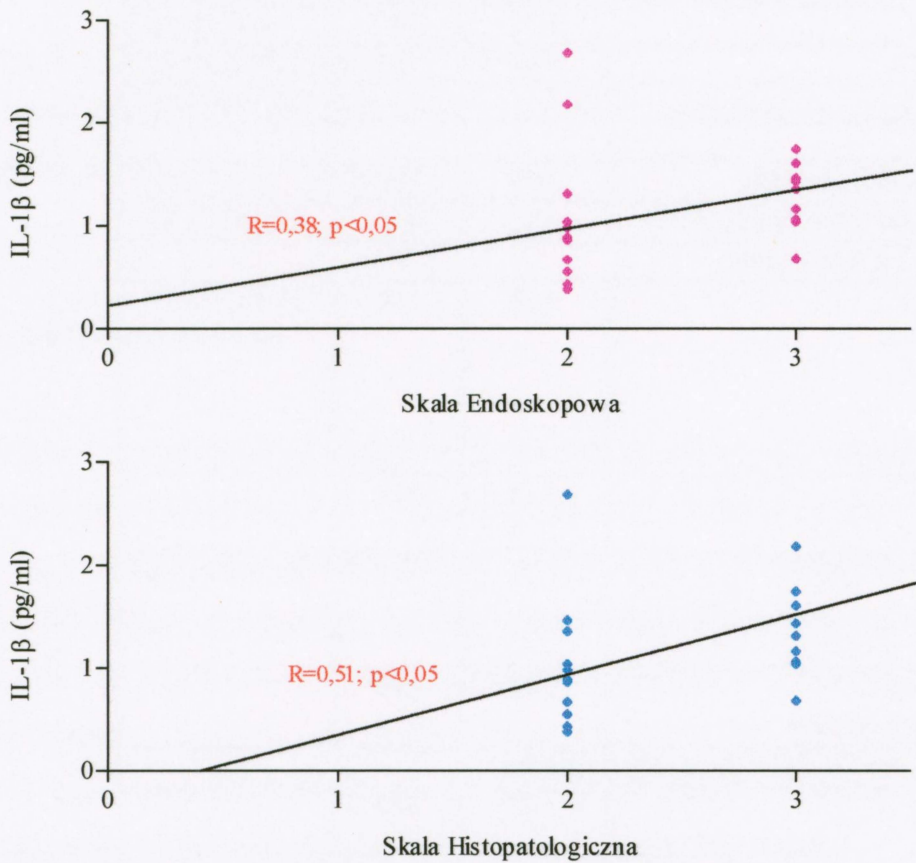
Porównując wartości IL-1 β w surowicy w grupie I i II, z wzjg w fazie aktywnej i w remisji, nie stwierdzono znamienych statystycznie różnic.

Oceniając zależność między stężeniem IL-1 β w surowicy a aktywnością kliniczną wzjg, ocenianą przy pomocy skali Truelove – Wittsa, przed włączeniem leczenia w grupie I oraz grupie II, nie stwierdzono wzajemnej korelacji. Stężenia IL-1 β w surowicy wykazywały korelację w grupie I z aktywnością endoskopową ($R = 0,38$; $p < 0,05$) oraz histopatologiczną

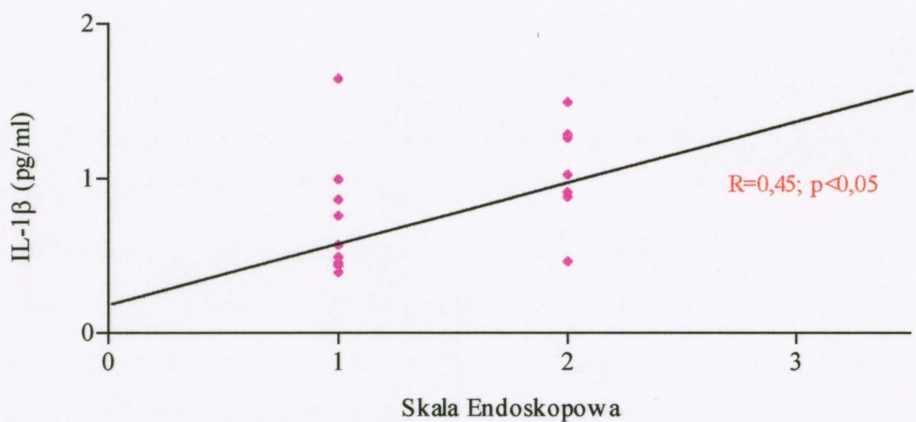


Ryc. 1. Stężenia IL-1 β w surowicy w grupie I, grupie II, grupach porównawczych i kontrolnej.

Na wykresie zaznaczono wartości mediany oraz poziom istotności statystycznej różnic między grupami (NS – brak różnicy istotnej statystycznie). Grupa I-I jest to grupa I przy włączeniu do badań, grupa I-II po 4 tygodniach leczenia i grupa I-III po 12 tygodniach leczenia, natomiast grupa II-I to grupa II przy włączeniu do badań, grupa II-II po 4 miesiącach obserwacji oraz grupa II-III po 8 miesiącach obserwacji.



Ryc. 2. Korelacja stężeń IL-1 β w surowicy w grupie I z aktywnością wzjg, ocenianą wg skali endoskopowej i histopatologicznej. Stopniowi łagodnemu aktywności wzjg odpowiada 1, umiarkowanemu – 2, ciężkiemu – 3.



Ryc. 3. Korelacja stężeń IL-1 β w surowicy w grupie II z aktywnością wzjg, ocenianą wg skali endoskopowej. Stopniowi łagodnemu aktywności wzjg odpowiada 1, umiarkowanemu – 2, ciężkiemu – 3.

wzjg ($R = 0,51$; $p < 0,05$), natomiast w grupie II korelowały tylko z aktywnością endoskopową ($R = 0,45$; $p < 0,05$). (Ryc. 2.), (Ryc. 3.).

Nie stwierdzono korelacji stężeń IL-1 β w surowicy z aktywnością histopatologiczną wzjg w grupie II, z wzjg w fazie remisji.

5.1.2. Interleukina 1 β w stolcu

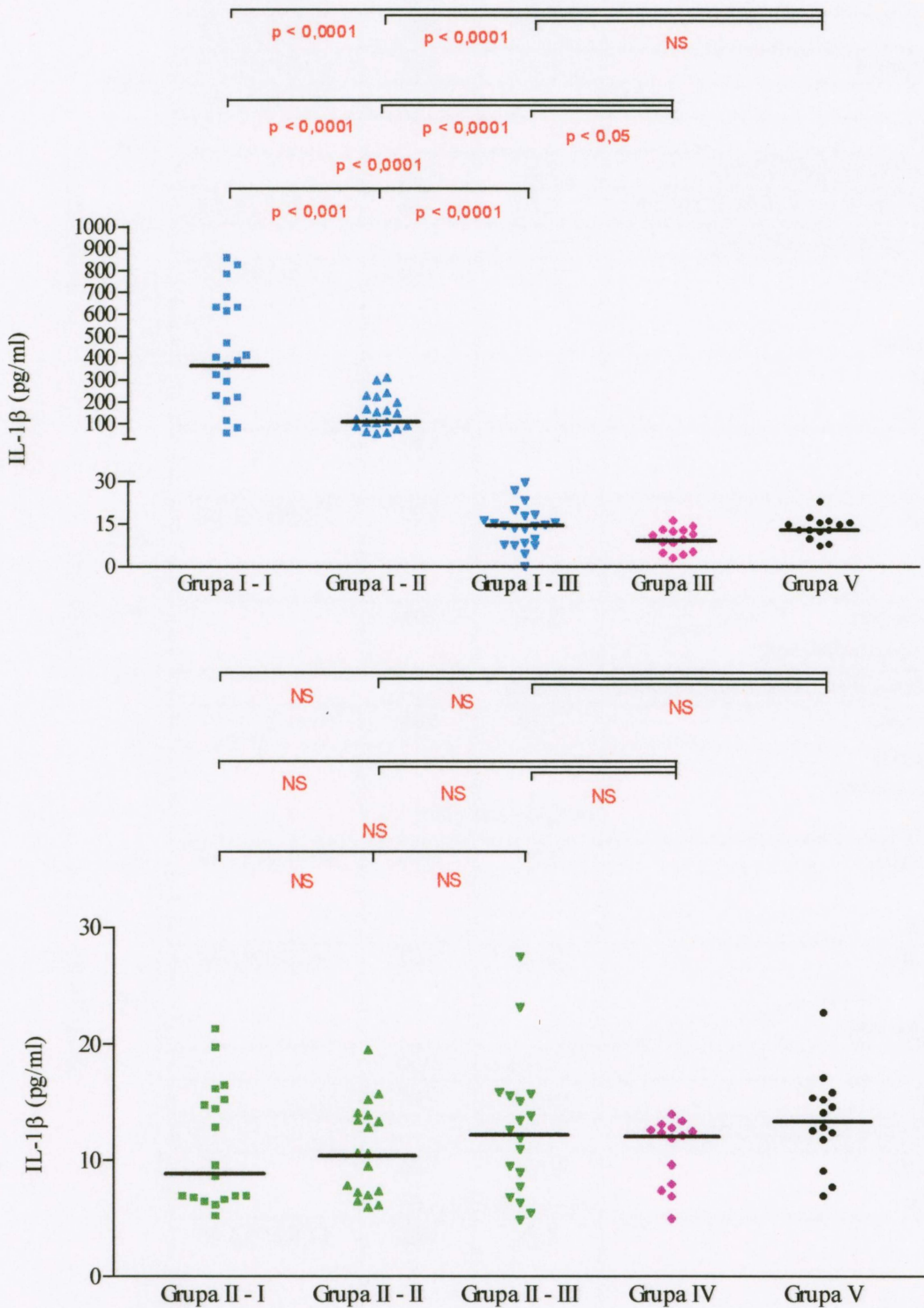
W grupie I, pacjentów z aktywnym wzjg, stężenia IL-1 β w stolcu osiągały znacznie wyższe wartości przed leczeniem i po 4 tygodniach leczenia względem grupy V kontrolnej oraz grupy III, z nzjg w fazie aktywnej. Różnice te były znamienne statystycznie. (Ryc. 4). Wartości IL-1 β obniżały się stopniowo, od 393,7 pg/ml (55,5 – 855 pg/ml) przed leczeniem, odpowiednio do 135,7 pg/ml (54,8 – 309,5 pg/ml) i 14,6 pg/ml (4,4 – 29,6 pg/ml) po 4 i 12 tygodniach leczenia.

Po 12 tygodniach leczenia poziom IL-1 β osiągał wartość zbliżoną do grupy V kontrolnej, natomiast znamienne wyższą niż w grupie III, z aktywnym nzjg.

W grupie II, pacjentów z wzjg w fazie remisji, w trakcie leczenia podtrzymującego remisję, stężenie IL-1 β w stolcu utrzymywało się na niezmiennym poziomie w ciągu całego okresu remisji, nie różniącym się od wartości IL-1 β w stolcu w grupie V kontrolnej oraz grupie IV z nzjg w remisji. (Ryc. 4).

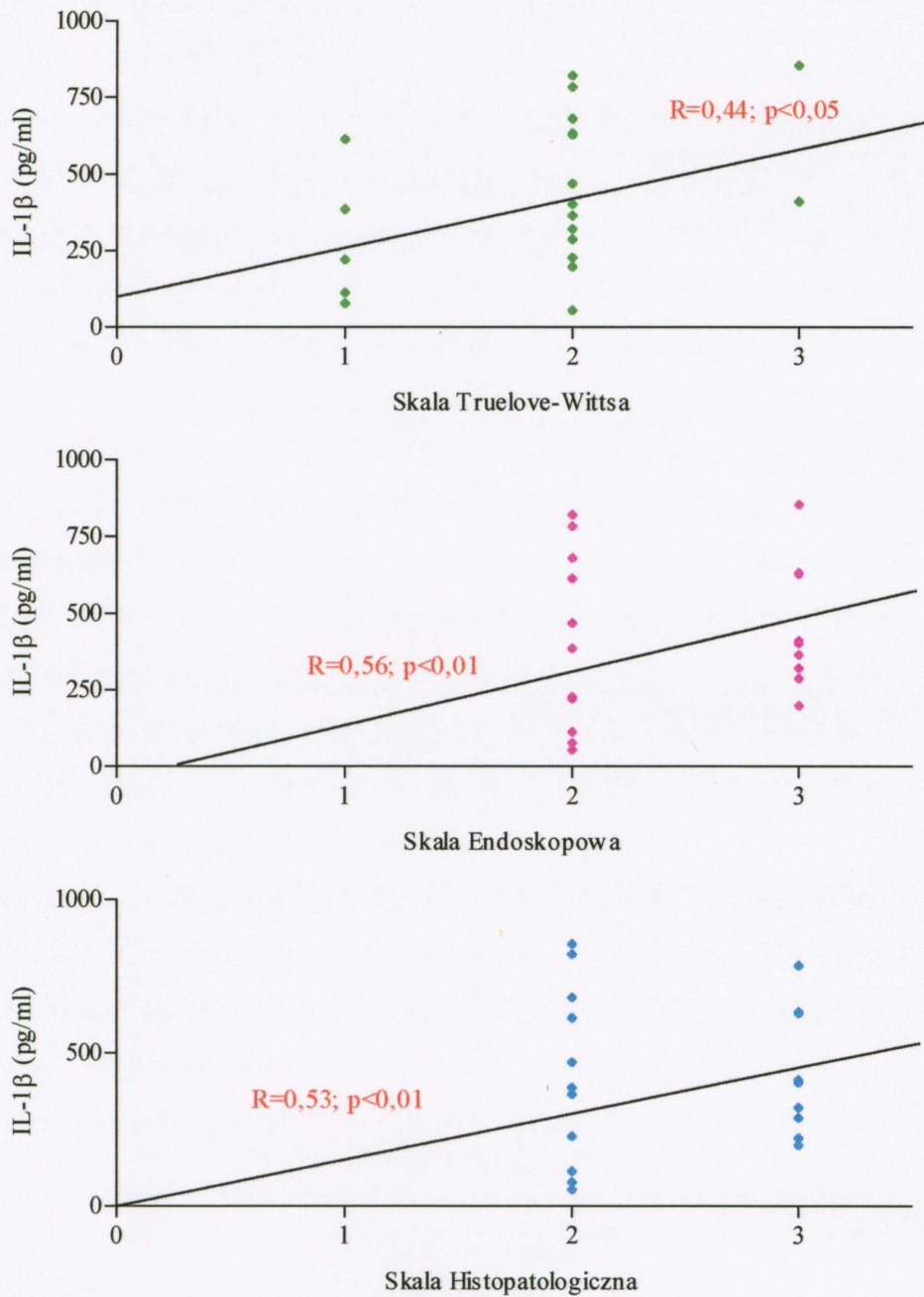
Stężenia IL-1 β w stolcu w grupie I, z aktywnym wzjg w trakcie oznaczeń przed leczeniem oraz po 4 tygodniach leczenia, różniły się znamienne od stężeń w grupie II z wzjg w remisji ($p < 0,0001$), natomiast różnica w przypadku oznaczenia po 12 tygodniach leczenia nie była istotna statystycznie ($p = 0,06$).

Stwierdzono korelację między stężeniem IL-1 β w stolcu a aktywnością kliniczną wzjg ocenianą według skali Truelove – Wittsa, przed leczeniem w grupie I ($R = 0,44$; $p < 0,05$), natomiast nie wykazano korelacji w grupie II. Stężenia IL-1 β w stolcu w grupie I wykazywały korelację z aktywnością endoskopową ($R = 0,56$; $p < 0,01$) oraz histopatologiczną ($R = 0,53$; $p < 0,01$), nie wykazano natomiast korelacji w grupie II. (Ryc. 5.).



Ryc. 4. Stężenia IL-1β w stolcu w grupie I, grupie II, grupach porównawczych i kontrolnej.

Na wykresie zaznaczono wartości mediany oraz poziom istotności statystycznej różnic między grupami (NS – brak różnicy istotnej statystycznie). Grupa I-I jest to grupa I przy włączeniu do badań, grupa I-II po 4 tygodniach leczenia i grupa I-III po 12 tygodniach leczenia, natomiast grupa II-I to grupa II przy włączeniu do badań, grupa II-II po 4 miesiącach obserwacji oraz grupa II-III po 8 miesiącach obserwacji.



Ryc. 5. Korelacja stężeń IL-1 β w stolcu w grupie I z aktywnością wzjg, ocenianą wg skali Truelove-Wittsa, endoskopowej i histopatologicznej. Stopniowi łagodnemu aktywności wzjg odpowiada 1, umiarkowanemu – 2, ciężkiemu – 3.

5.1.3. Współczynnik IL-1 β w stolcu / IL-1 β w surowicy

Współczynnik stężeń IL-1 β w stolcu / IL-1 β w surowicy, który odzwierciedla wzajemny stosunek IL-1 β uwalnianej miejscowo do przewodu pokarmowego względem uwalnianej ogólnoustrojowo, w grupie I pacjentów z aktywnym wzjg, osiągał znacznie wyższe wartości przed leczeniem i po 4 tygodniach leczenia niż w grupie V kontrolnej oraz grupie III, z nzjg w fazie aktywnej, natomiast po 12 tygodniach leczenia nie stwierdzono istotnej różnicy. (Ryc. 6.). Obniżał się on stopniowo od wartości 380 (41,6 – 1085) przed leczeniem, do 172 (72,4 – 772) i 19 (2,2 – 59,6) odpowiednio po 4 i 12 tygodniach leczenia.

W grupie II, z wzjg w fazie remisji, wartości tego współczynnika nie ulegały zmianie w trakcie trwania remisji, pozostając na poziomie znamienne niższym niż w grupie V kontrolnej, ale zbliżonym do wartości w grupie IV z nzjg w remisji.

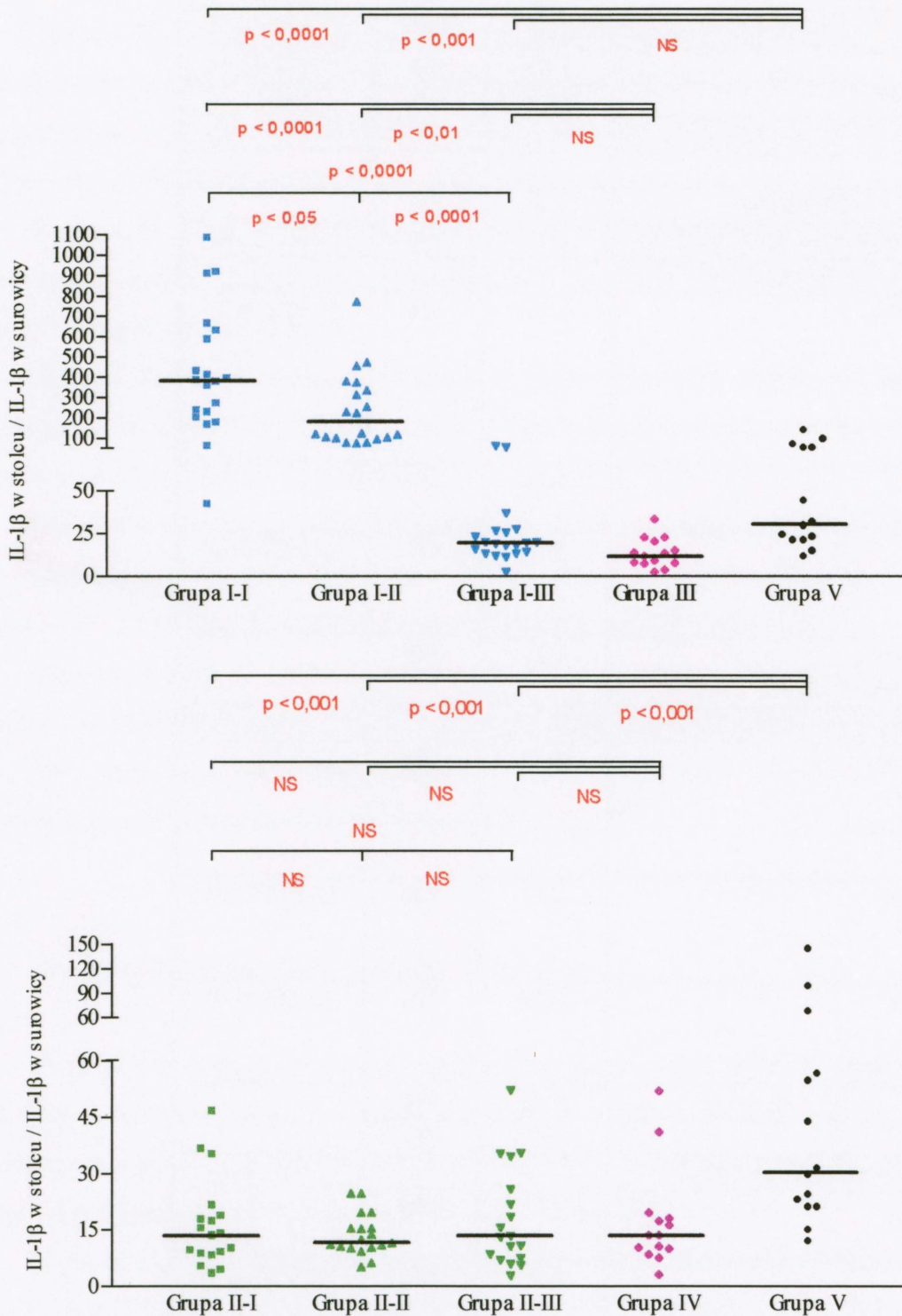
Wartości współczynnika IL-1 β w stolcu / IL-1 β w surowicy w grupie I, z aktywnym wzjg w porównaniu do wartości grupy II, z wzjg w remisji wykazywały istotne statystycznie różnice między oznaczeniem przed leczeniem ($p < 0,0001$) i po 4 tygodniach ($p < 0,0001$), natomiast nie wykazały różnicy po 12 tygodniach leczenia

Oceniając wzajemne zależności między wartościami współczynnika stężeń IL-1 β w stolcu / IL-1 β w surowicy a aktywnością kliniczną wzjg ocenianą według skali Truelove – Wittsa przed leczeniem w grupie I i grupie II, nie stwierdzono korelacji istotnej statystycznie. Wartości tego współczynnika nie korelowały również w grupie I i II z aktywnością endoskopową i histopatologiczną wzjg.

5.2. Antagonista receptora interleukiny 1

5.2.1. Antagonista receptora interleukiny 1 w surowicy

Stężenie antagonisty receptora interleukiny 1 w surowicy u pacjentów grupy I, z aktywnym wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego osiągały znamienne wyższe wartości przed leczeniem i po 4 tygodniach leczenia niż w grupie V kontrolnej i grupie III z aktywnym niespecyficznym zapaleniem jelita grubego. Różnice między stężeniami po 12 tygodniach leczenia nie były istotne statystycznie. (Ryc. 7.).



Ryc. 6. Współczynnik stężeń IL-1 β w stolcu / IL-1 β w surowicy w grupie I, grupie II, grupach porównawczych i kontrolnej.

Na wykresie zaznaczono wartości mediany oraz poziom istotności statystycznej różnic między grupami (NS – brak różnicy istotnej statystycznie). Grupa I-I jest to grupa I przy włączeniu do badań, grupa I-II po 4 tygodniach leczenia i grupa I-III po 12 tygodniach leczenia, natomiast grupa II-I to grupa II przy włączeniu do badań, grupa II-II po 4 miesiącach obserwacji oraz grupa II-III po 8 miesiącach obserwacji.

Stężenia IL-1ra w surowicy obniżały się bardzo nieznacznie w ciągu pierwszego okresu leczenia, od 532,1 pg/ml (240,2 – 1200 pg/ml) przed leczeniem do 529 pg/ml (135,4 – 898,4 pg/ml) po 4 tygodniach leczenia, natomiast spadek ten wyraźniejszy był po okresie 12 tygodni leczenia, do 400,6 pg/ml (165,2 – 782,1 pg/ml).

W grupie II, z wzjg w fazie remisji, stężenia IL-1ra w surowicy nie ulegały zmianie w czasie trwania remisji, utrzymując się na zbliżonym poziomie jak w grupie V kontrolnej i grupie IV z nzjg w remisji. (Ryc. 7.).

Stężenia IL-1ra w surowicy w grupie I przed leczeniem różniły się znamienne w porównaniu do grupy II ($p < 0,05$), natomiast brak było analogicznych różnic w przypadku oznaczeń po 4 i 12 tygodniach leczenia.

Stwierdzono korelację między stężeniem IL-1ra w surowicy a aktywnością kliniczną wzjg, ocenianą według skali Truelove – Wittsa, przed włączeniem leczenia w grupie I ($R = 0,43$; $p < 0,05$), natomiast nie wykazano podobnej korelacji w grupie II.

Stężenia IL-1ra w surowicy korelowały z aktywnością endoskopową ($R = 0,52$; $p < 0,05$) oraz histopatologiczną wzjg ($R = 0,46$; $p < 0,05$) w grupie I. (Ryc. 8.).

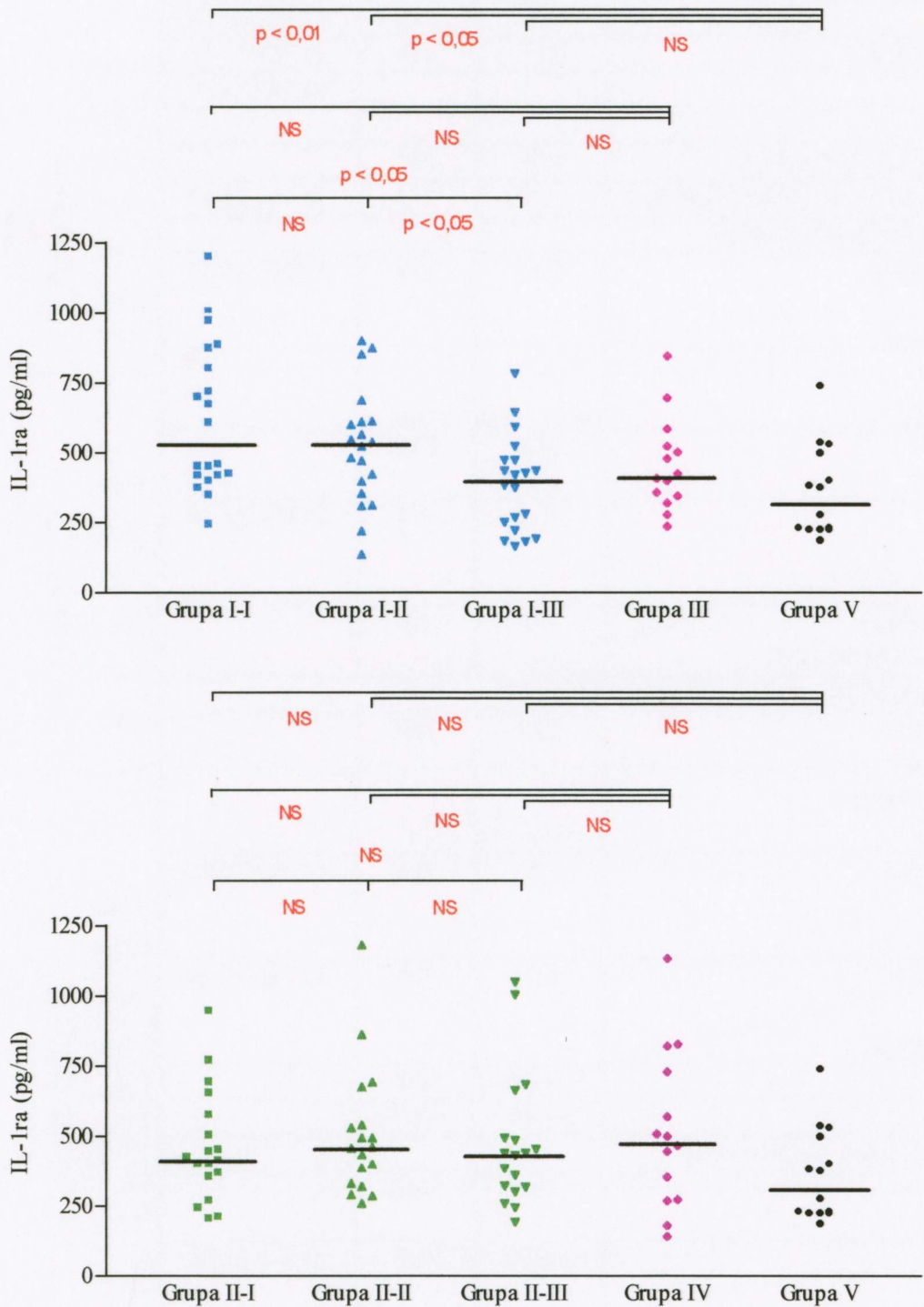
Nie wykazano natomiast korelacji między stężeniami IL-1ra w surowicy a aktywnością endoskopową i histopatologiczną w grupie II.

5.2.2. Antagonista receptora interleukiny 1 w stolcu

W grupie I, z aktywnym wzjg, stężenia IL-1ra w stolcu przed leczeniem oraz po 4 tygodniach leczenia osiągały istotnie statystycznie wyższe wartości niż w grupie V kontrolnej, natomiast brak było podobnej różnicy po 12 tygodniach leczenia. Analogiczne zależności występowały względem grupy III, z aktywnym nzjg. (Ryc. 9.).

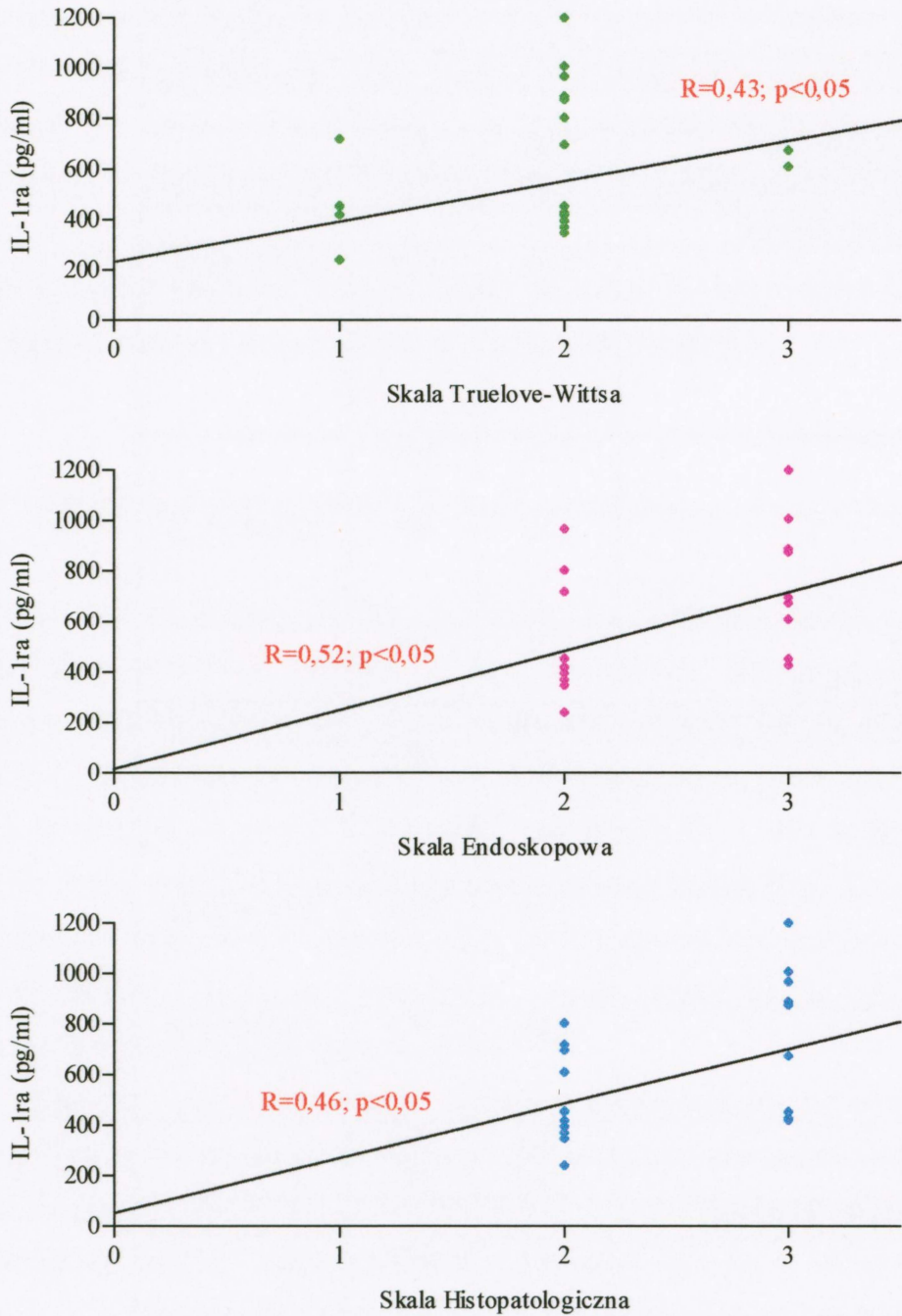
Wartości IL-1ra w stolcu obniżały się wolniej w ciągu pierwszego okresu leczenia, od 4950,3 pg/ml (910,7 – 6525 pg/ml) przed leczeniem do 3875,3 pg/ml (1507 – 6719 pg/ml) po 4 tygodniach leczenia, większy spadek miał miejsce po 12 tygodniach leczenia, do 480,3 pg/ml (208,5 – 798,6 pg/ml).

W grupie II, z wzjg w remisji, stężenia IL-1ra w stolcu nie zmieniały się w trakcie trwania remisji, utrzymując się na zbliżonym poziomie jak w grupie V kontrolnej, znamienne wyższym natomiast niż w grupie IV z nzjg w fazie remisji. (Ryc. 9.).



Ryc. 7. Stężenia IL-1ra w surowicy w grupie I, grupie II, grupach porównawczych i kontrolnej.

Na wykresie zaznaczono wartości mediany oraz poziom istotności statystycznej różnic między grupami (NS – brak różnicy istotnej statystycznie). Grupa I-I jest to grupa I przy włączeniu do badań, grupa I-II po 4 tygodniach leczenia i grupa I-III po 12 tygodniach leczenia, natomiast grupa II-I to grupa II przy włączeniu do badań, grupa II-II po 4 miesiącach obserwacji oraz grupa II-III po 8 miesiącach obserwacji.



Ryc. 8. Korelacja stężeń IL-1ra w surowicy w grupie I z aktywnością wzjg, ocenianą wg skali Truelove-Wittsa, endoskopowej i histopatologicznej. Stopniowi łagodnemu aktywności wzjg odpowiada 1, umiarkowanemu – 2, ciężkiemu – 3.

Stwierdzono korelację między stężeniami IL-1ra w stolcu a aktywnością kliniczną wzjg, ocenianą według skali Truelove – Wittsa, w grupie I, z aktywnym wzjg przed leczeniem ($R = 0,44$; $p < 0,05$), natomiast w grupie II nie stwierdzono podobnej korelacji.

Stężenia IL-1ra w stolcu w grupie I, z aktywnym wzjg korelowały z aktywnością endoskopową ($R = 0,44$; $p < 0,05$) oraz histopatologiczną wzjg ($R = 0,71$; $p < 0,05$).

(Ryc. 10.).

Nie wykazano natomiast korelacji między stężeniem IL-1ra w stolcu a aktywnością endoskopową i histopatologiczną w grupie II, z wzjg w fazie remisji.

5.2.3. Współczynnik IL-1ra w stolcu / IL-1ra w surowicy

Współczynnik stężenia IL-1ra w stolcu do stężenia IL-1ra w surowicy, odzwierciedlający wzajemny stosunek IL-1ra uwalnianego miejscowo do przewodu pokarmowego względem uwalnianego do układu krążenia, w grupie I pacjentów z aktywnym wzjg, osiągał znacznie wyższe wartości, znamienne statystycznie przed leczeniem i po 4 tygodniach leczenia niż w grupie V kontrolnej oraz grupie III, z nzjg w fazie aktywnej, natomiast po 12 tygodniach leczenia nie stwierdzono istotnej różnicy. (Ryc. 11.)

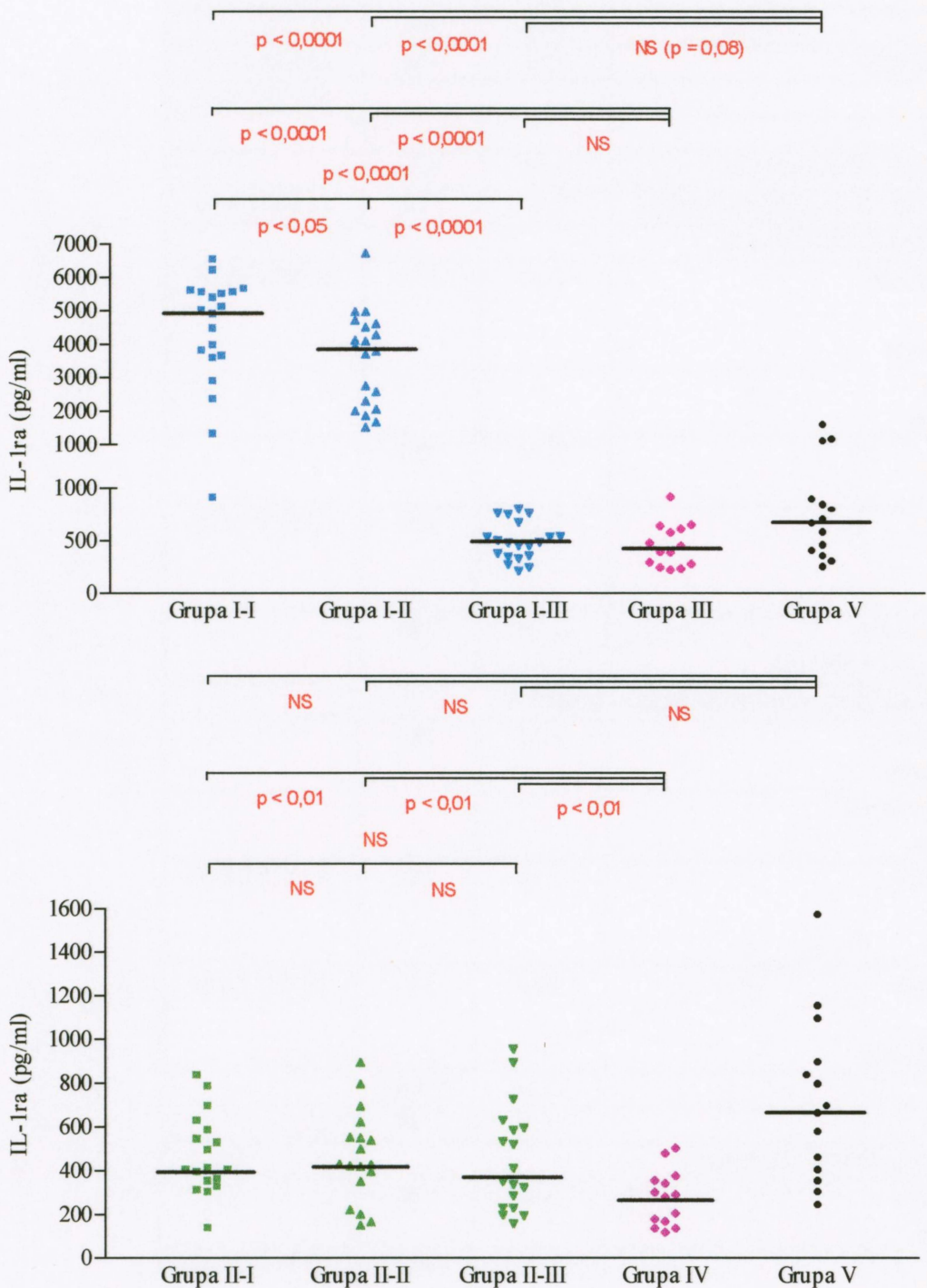
W grupie I, pacjentów z aktywnym wzjg, przed rozpoczęciem leczenia współczynnik ten wynosił 7,6 (2,2 – 14,3), po 4 tygodniach leczenia obniżał się do 6,9 (1,7 – 30,4), natomiast po 12 tygodniach leczenia do 1,2 (0,46 – 4,1).

W grupie II, z wzjg w fazie remisji, wartości współczynnika IL-1ra w stolcu / IL-1ra w surowicy nie ulegały zmianie w trakcie trwania remisji, pozostając na poziomie znamienne niższym niż w grupie V kontrolnej, ale wyższym niż w grupie IV z nzjg w remisji. (Ryc. 11.).

Porównując wartości współczynnika IL-1ra w stolcu / IL-1ra w surowicy w grupie I, z aktywnym wzjg z wartościami w grupie II, z wzjg w remisji stwierdzono istotne statystycznie różnice między oznaczeniem przed leczeniem ($p < 0,0001$) i po 4 tygodniach ($p < 0,001$), natomiast nie wykazano znamiennej różnicy po 12 tygodniach leczenia.

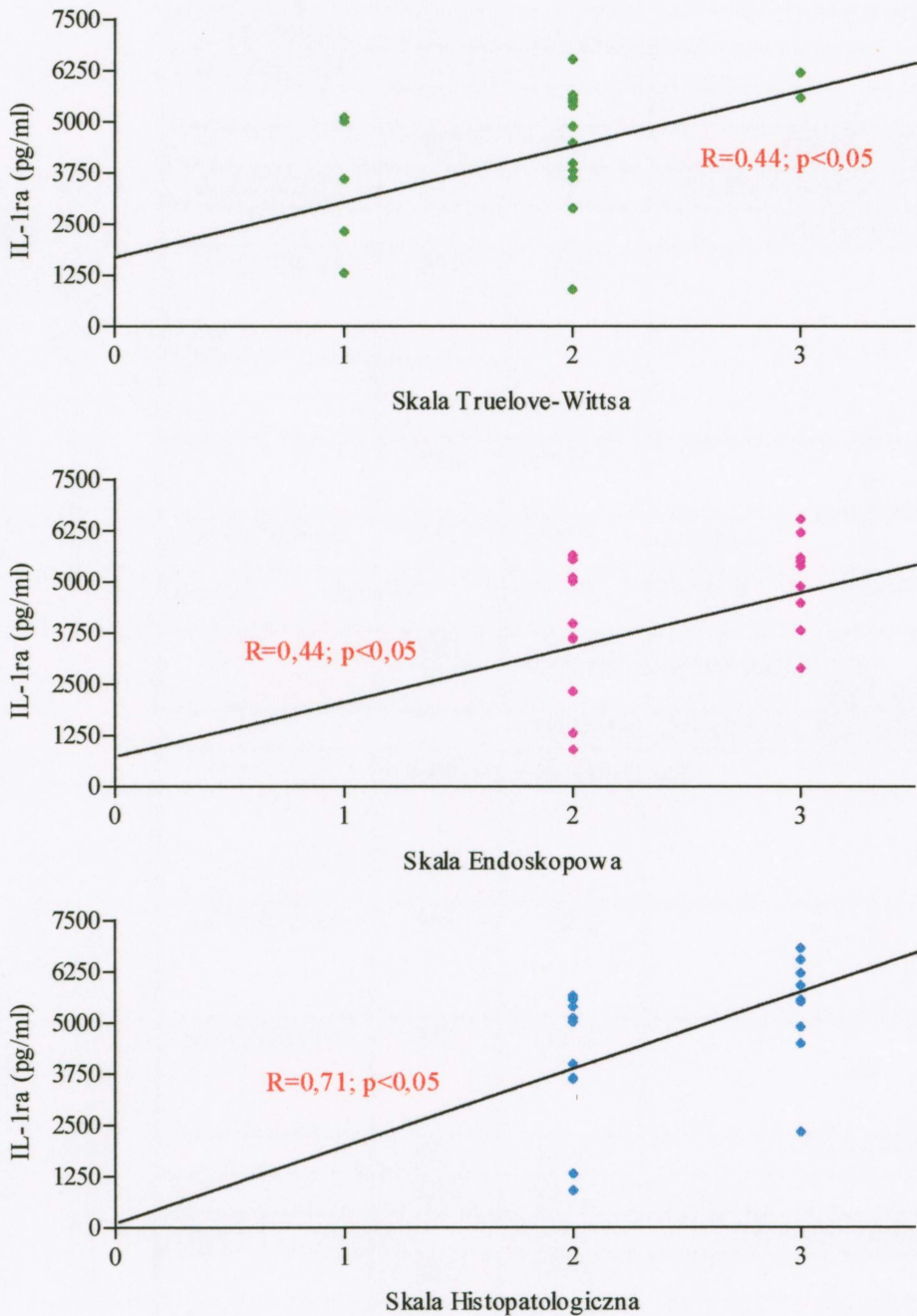
Nie stwierdzono korelacji istotnej statystycznie między wartościami współczynnika stężeń IL-1ra w stolcu / IL-1ra w surowicy a aktywnością kliniczną wzjg, ocenianą według skali Truelove – Wittsa, przed leczeniem w grupie I z aktywnym i grupie II z wzjg w remisji.

Wartości tego współczynnika nie korelowały również z aktywnością endoskopową i histopatologiczną wzjg w grupie I i II.

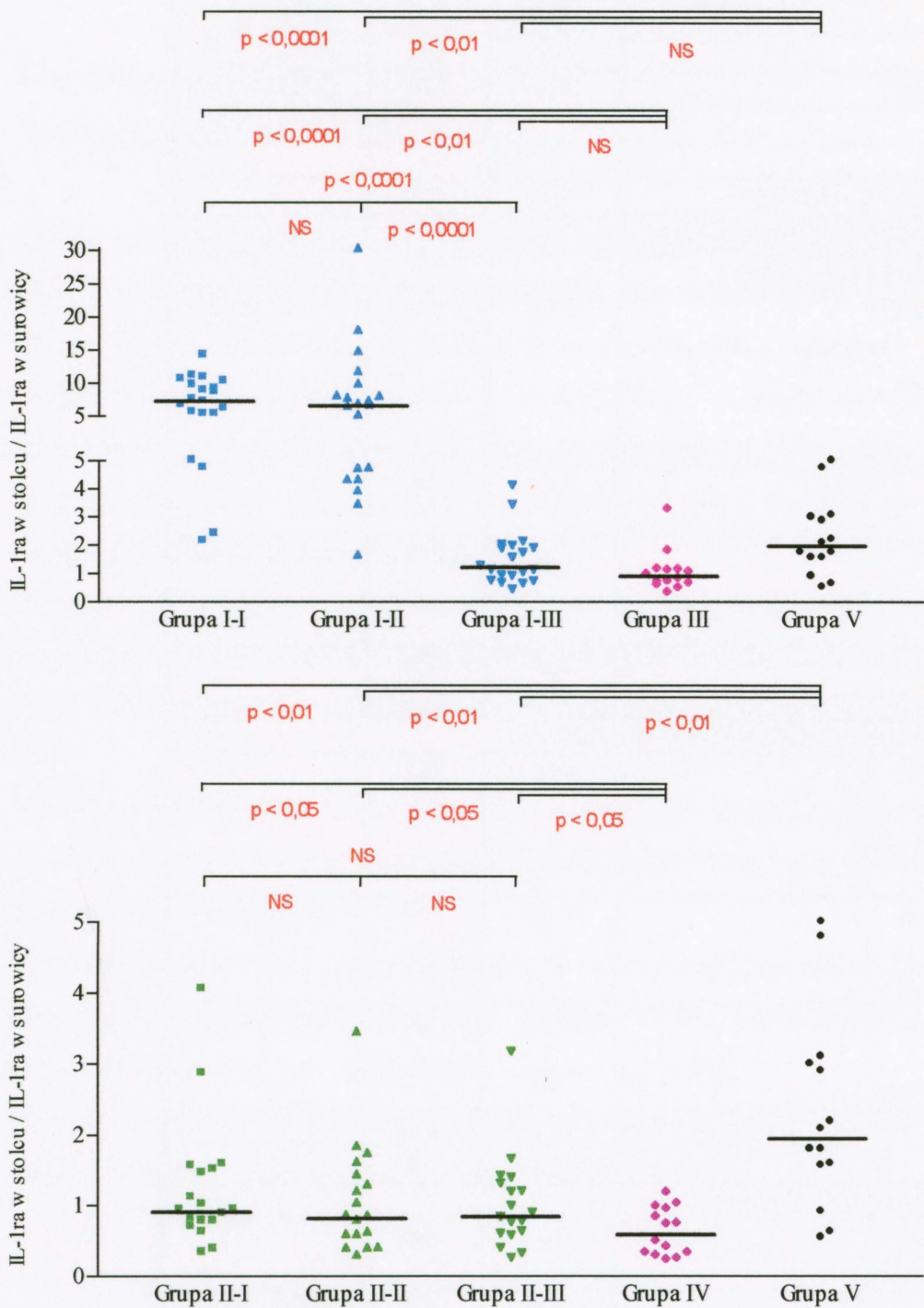


Ryc. 9. Stężenia IL-1ra w stolcu w grupie I, grupie II, grupach porównawczych i kontrolnej.

Na wykresie zaznaczono wartości mediany oraz poziom istotności statystycznej różnic między grupami (NS – brak różnicy istotnej statystycznie). Grupa I-I jest to grupa I przy włączeniu do badań, grupa I-II po 4 tygodniach leczenia i grupa I-III po 12 tygodniach leczenia, natomiast grupa II-I to grupa II przy włączeniu do badań, grupa II-II po 4 miesiącach obserwacji oraz grupa II-III po 8 miesiącach obserwacji.



Ryc. 10. Korelacja stężeń IL-1ra w stolcu w grupie I z aktywnością wzjg, ocenianą wg skali Truelove-Wittsa, endoskopowej i histopatologicznej. Stopniowi łagodnemu aktywności wzjg odpowiada 1, umiarkowanemu – 2, ciężkiemu – 3.



Ryc. 11. Współczynnik stężeń IL-1ra w stolcu / IL-1ra w surowicy w grupie I, grupie II, grupach porównawczych i kontrolnej.

Na wykresie zaznaczono wartości mediany oraz poziom istotności statystycznej różnic między grupami (NS – brak różnicy istotnej statystycznie). Grupa I-I jest to grupa I przy włączeniu do badań, grupa I-II po 4 tygodniach leczenia i grupa I-III po 12 tygodniach leczenia, natomiast grupa II-I to grupa II przy włączeniu do badań, grupa II-II po 4 miesiącach obserwacji oraz grupa II-III po 8 miesiącach obserwacji.

5.3. Współczynnik IL-1ra / IL-1 β

5.3.1. Współczynnik IL-1ra / IL-1 β w surowicy

Zmiany wartości współczynnika stężeń antagonisty receptora interleukiny 1 do interleukiny 1 β w surowicy, w grupie I, pacjentów z aktywnym wzjg nie miały stałego trendu.

W pierwszym okresie leczenia wartość tego współczynnika wzrastała, od 500,4 (267,4 – 1287) przed włączeniem leczenia do 637,6 (138,2 – 1701,6) po 4 tygodniach leczenia, natomiast po 12 tygodniach leczenia obniżała się do 469,7 (224,5 – 1163).

W czasie wszystkich tych oznaczeń współczynnik IL-1ra / IL-1 β w surowicy był jednak niższy niż w grupie V kontrolnej. (Ryc. 12.).

W obrębie grupy II, z wzjg w fazie remisji, wartości tego współczynnika nie ulegały istotnym zmianom w czasie trwania remisji, utrzymując się na poziomie znamienne niższym niż w grupie V kontrolnej, zbliżonym jednak do poziomu występującego w grupie IV z nzjg w remisji.

Wartości współczynnika IL-1ra / IL-1 β w surowicy w grupie I, z aktywnym wzjg w czasie poszczególnych oznaczeń, nie różniły się znamienne od wartości w grupie II, z wzjg w remisji. (Ryc. 12.).

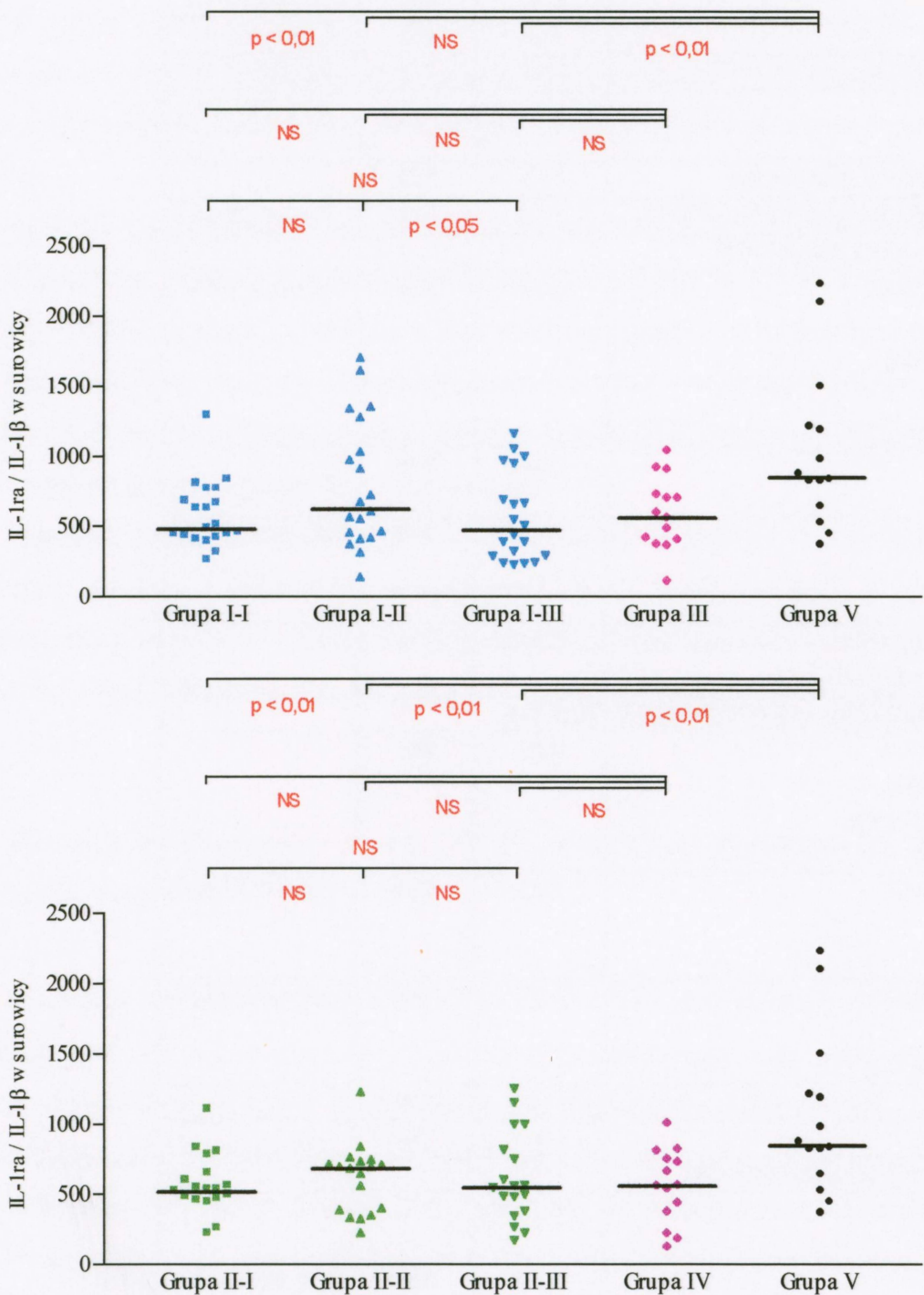
Nie stwierdzono korelacji istotnej statystycznie między współczynnikiem IL-1ra / IL-1 β w surowicy a aktywnością kliniczną wzjg, ocenianą według skali Truelove – Wittsa w grupie I, z aktywnym wzjg oraz w grupie II, z wzjg w fazie remisji.

Wartości współczynnika IL-1ra / IL-1 β w surowicy nie korelowały również z aktywnością endoskopową i histopatologiczną wzjg w grupie I i II.

5.3.2. Współczynnik IL-1ra / IL-1 β w stolcu

Współczynnik stężeń IL-1ra / IL-1 β w stolcu, w grupie I, pacjentów z aktywnym wzjg, w trakcie wszystkich trzech pomiarów osiągał znamienne niższe wartości niż w grupie V kontrolnej oraz grupie III z aktywnym nzjg. (Ryc. 13.).

Wartości tego współczynnika stopniowo wzrastały, od 10,8 (6 – 32) przed leczeniem, do 23 (13 – 74,6) i 35,4 (15,7 – 103) odpowiednio po 4 i 12 tygodniach leczenia.



Ryc. 12. Współczynnik IL-1ra / IL-1β w surowicy w grupie I, grupie II, grupach porównawczych i kontrolnej.

Na wykresie zaznaczono wartości mediany oraz poziom istotności statystycznej różnic między grupami (NS – brak różnicy istotnej statystycznie). Grupa I-I jest to grupa I przy włączeniu do badań, grupa I-II po 4 tygodniach leczenia i grupa I-III po 12 tygodniach leczenia, natomiast grupa II-I to grupa II przy włączeniu do badań, grupa II-II po 4 miesiącach obserwacji oraz grupa II-III po 8 miesiącach obserwacji.



W grupie II, pacjentów z wzjg w fazie remisji, współczynnik ten wykazywał zbliżone wartości jak w grupie V kontrolnej, utrzymujące się na niezmiennym poziomie w trakcie trwania remisji. Był on jednak znamienne wyższy niż w grupie IV, z nzjg w fazie remisji. (Ryc. 13.).

Wartości współczynnika IL-1ra / IL-1β w stolcu różniły się znamienne w trakcie oznaczeń przed leczeniem ($p < 0,0001$), po 4 tygodniach leczenia ($p < 0,01$) i 12 tygodniach leczenia ($p < 0,05$) w grupie I, z aktywnym wzjg względem grupy II, z wzjg w fazie remisji.

Nie stwierdzono korelacji istotnej statystycznie między współczynnikiem IL-1ra / IL-1β w stolcu a aktywnością kliniczną wzjg, ocenianą według skali Truelove – Wittsa w grupie I z aktywnym wzjg oraz w grupie II, z wzjg w remisji.

Wartości współczynnika IL-1ra / IL-1β w stolcu w grupie I z aktywnym wzjg wykazywały korelację z aktywnością endoskopową ($R = - 0,52$; $p < 0,05$) i aktywnością histopatologiczną wzjg ($R = - 0,51$; $p < 0,05$), nie stwierdzono natomiast podobnej korelacji w grupie II, z wzjg w fazie remisji. (Ryc. 14.).

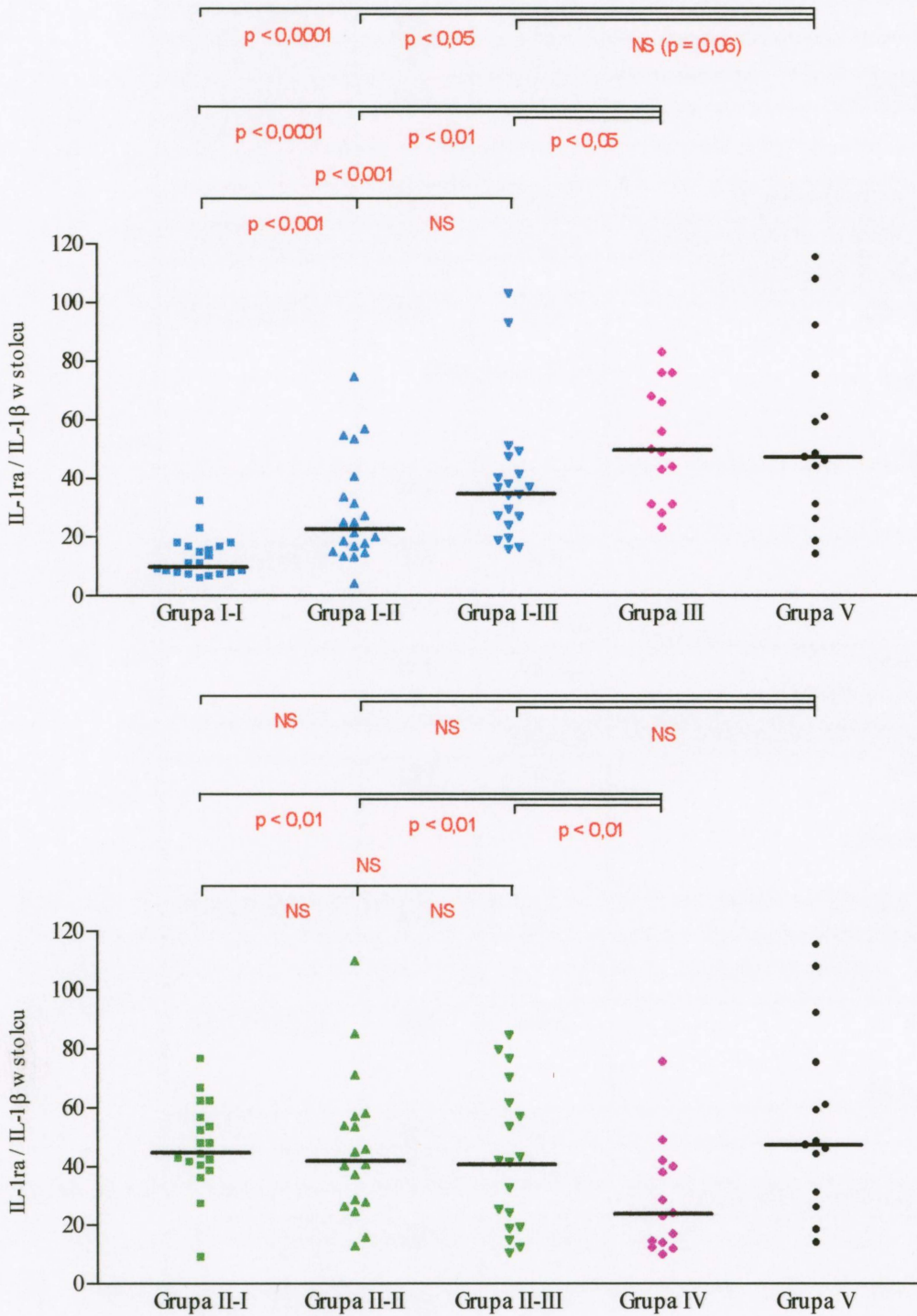
5.3.3. Stosunek współczynnika IL-1ra / IL-1β w stolcu do współczynnika IL-1ra / IL-1β w surowicy

Wzajemny stosunek współczynnika stężeń IL-1ra / IL-1β w stolcu do współczynnika stężeń IL-1ra / IL-1β w surowicy w grupie I, pacjentów z aktywnym wzjg, przed włączeniem leczenia, wynosił 0,03 (0,001 – 0,17) i stopniowo wzrastał do 0,042 (0,014 – 0,29) po 4 tygodniach leczenia i 0,07 (0,025 – 0,75) po 12 tygodniach leczenia.

W czasie wszystkich oznaczeń nie wykazywał on znamienych różnic względem grupy V kontrolnej, natomiast był istotnie statystycznie niższy przed leczeniem i po 4 tygodniach leczenia niż w grupie III z aktywnym nzjg. (Ryc. 15.).

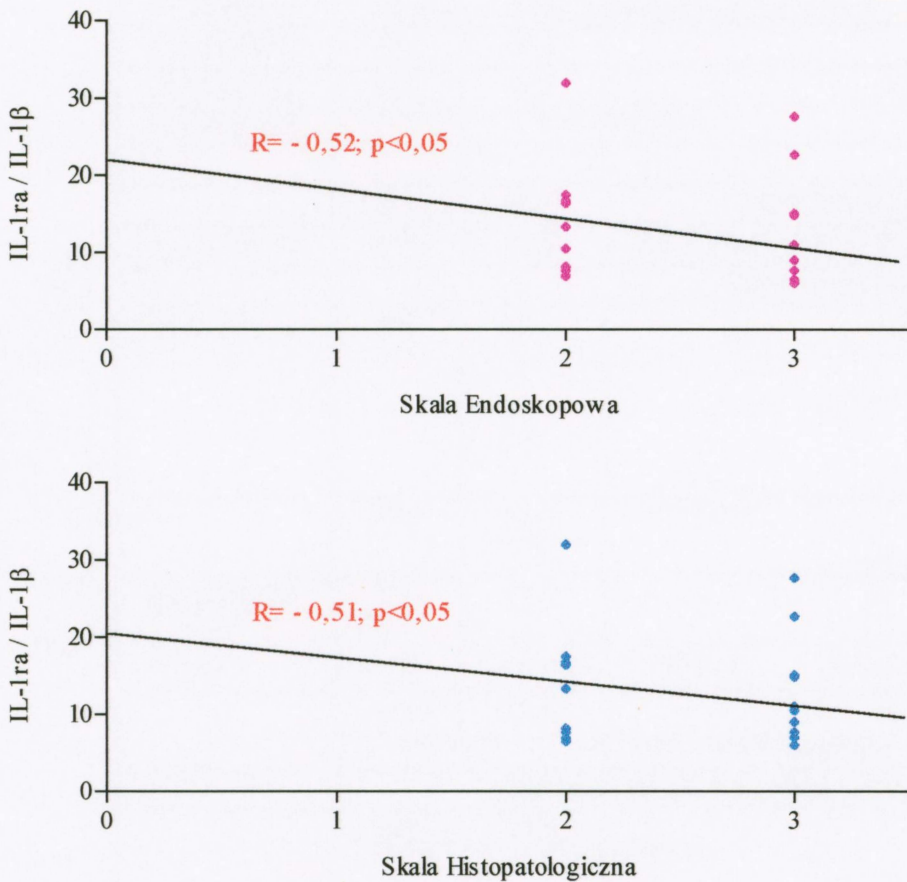
W grupie II, pacjentów z wzjg w fazie remisji, stosunek ten nie zmieniał się w trakcie trwania remisji, pozostając na niezmiennym poziomie, zbliżonym do wartości obserwowanych w grupie V kontrolnej i w grupie IV z nzjg w remisji.

Wartości stosunku współczynnika IL-1ra / IL-1β w stolcu do współczynnika IL-1ra / IL-1β w surowicy w grupie I, w porównaniu do wartości grupy II, wykazały istotne



Ryc. 13. Współczynnik IL-1ra / IL-1β w stolcu w grupie I, grupie II, grupach porównawczych i kontrolnej.

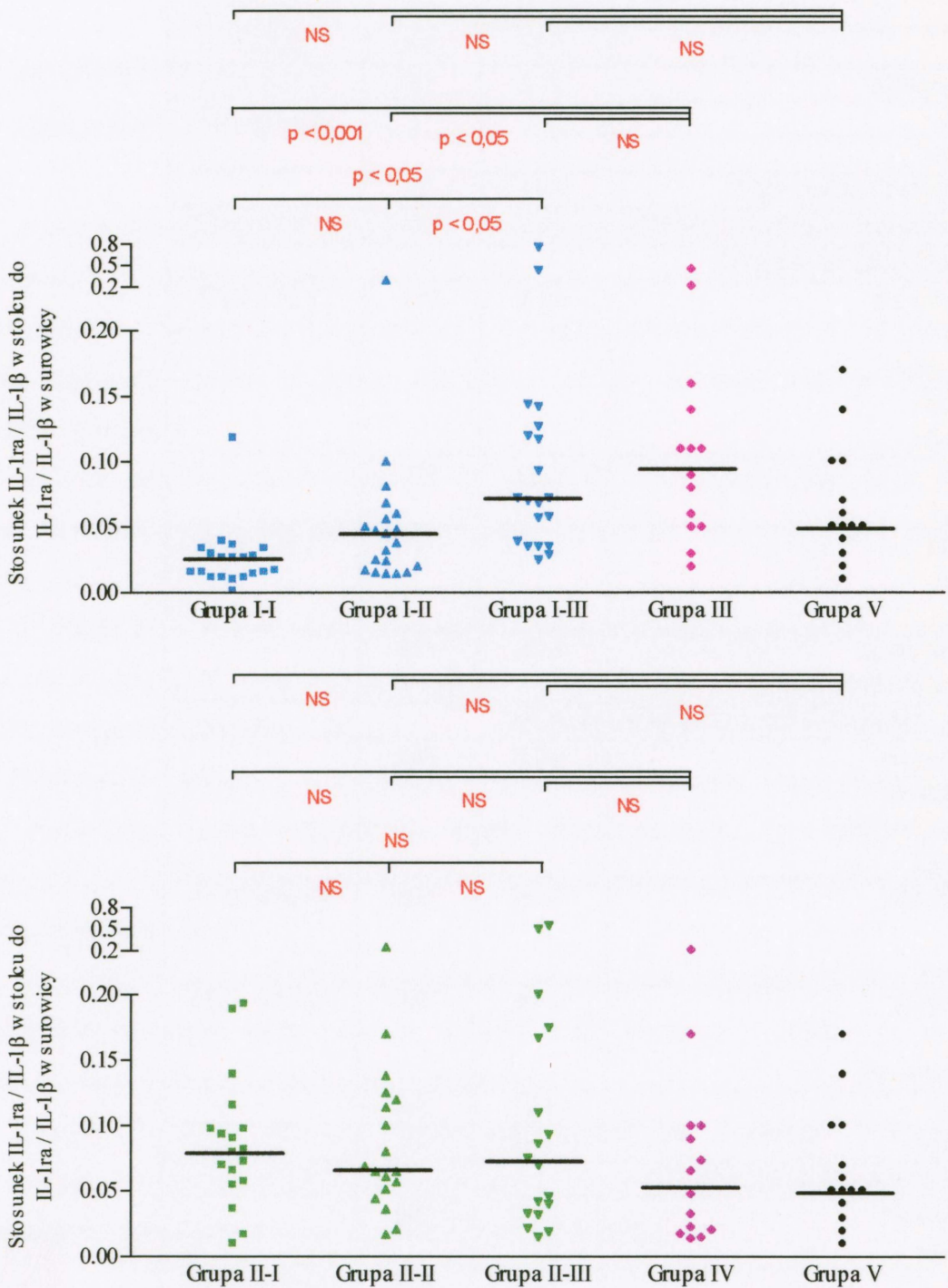
Na wykresie zaznaczono wartości mediany oraz poziom istotności statystycznej różnic między grupami (NS – brak różnicy istotnej statystycznie). Grupa I-I jest to grupa I przy włączeniu do badań, grupa I-II po 4 tygodniach leczenia i grupa I-III po 12 tygodniach leczenia, natomiast grupa II-I to grupa II przy włączeniu do badań, grupa II-II po 4 miesiącach obserwacji oraz grupa II-III po 8 miesiącach obserwacji.



Ryc. 14. Korelacja współczynnika IL-1ra / IL-1β w stolcu w grupie I z aktywnością wzjg, ocenianą wg skali endoskopowej i histopatologicznej. Stopniowi łagodnemu aktywności wzjg odpowiada 1, umiarkowanemu – 2, ciężkiemu – 3.

statystycznie różnice między oznaczeniami przed leczeniem ($p < 0,001$) i po 4 tygodniach ($p < 0,01$), natomiast nie wykazały znamiennej różnicy po 12 tygodniach leczenia.

Nie stwierdzono korelacji istotnej statystycznie między wartościami stosunku współczynnika IL-1ra / IL-1β w stolcu do współczynnika IL-1ra / IL-1β w surowicy a aktywnością kliniczną wzjg, ocenianą według skali Truelove – Wittsa przed leczeniem w grupie I z aktywnym wzjg oraz grupie II, z wzjg w fazie remisji. Wartości tego współczynnika nie korelowały również z aktywnością endoskopową i histopatologiczną wzjg w grupie I i II.



Ryc. 15. Stosunek współczynnika IL-1ra / IL-1β w stolcu do IL-1ra / IL-1β w surowicy w grupie I, grupie II, grupach porównawczych i kontrolnej.

Na wykresie zaznaczono wartości mediany oraz poziom istotności statystycznej różnic między grupami (NS – brak różnicy istotnej statystycznie). Grupa I-I jest to grupa I przy włączeniu do badań, grupa I-II po 4 tygodniach leczenia i grupa I-III po 12 tygodniach leczenia, natomiast grupa II-I to grupa II przy włączeniu do badań, grupa II-II po 4 miesiącach obserwacji oraz grupa II-III po 8 miesiącach obserwacji.

5.4. Interleukina 6

5.4.1. Interleukina 6 w surowicy

Stężenia interleukiny 6 w surowicy u pacjentów grupy I, z aktywnym wzjg, obniżały się stopniowo w trakcie leczenia, od 5,8 pg/ml (1,3 – 17,7 pg/ml) przed leczeniem, do 4,3 pg/ml (0,74 – 11,8 pg/ml) i 2,6 pg/ml (0,5 – 7,4 pg/ml) odpowiednio po 4 i 12 tygodniach leczenia, wykazując przed leczeniem znamienne wyższe wartości względem grupy V kontrolnej. (Ryc. 16.).

Różnice obserwowane w stosunku do grupy III z aktywnym nzjg, były bardziej nasilone. Stwierdzono istotność statystyczną zarówno przed leczeniem jak i po 4 tygodniach leczenia.

W grupie II, z wzjg w remisji, stężenia IL–6 nie zmieniały się w trakcie remisji i nie różniąc się od grupy V kontrolnej pozostawały na znamienne wyższym poziomie niż w grupie IV z nzjg w remisji. (Ryc. 16.).

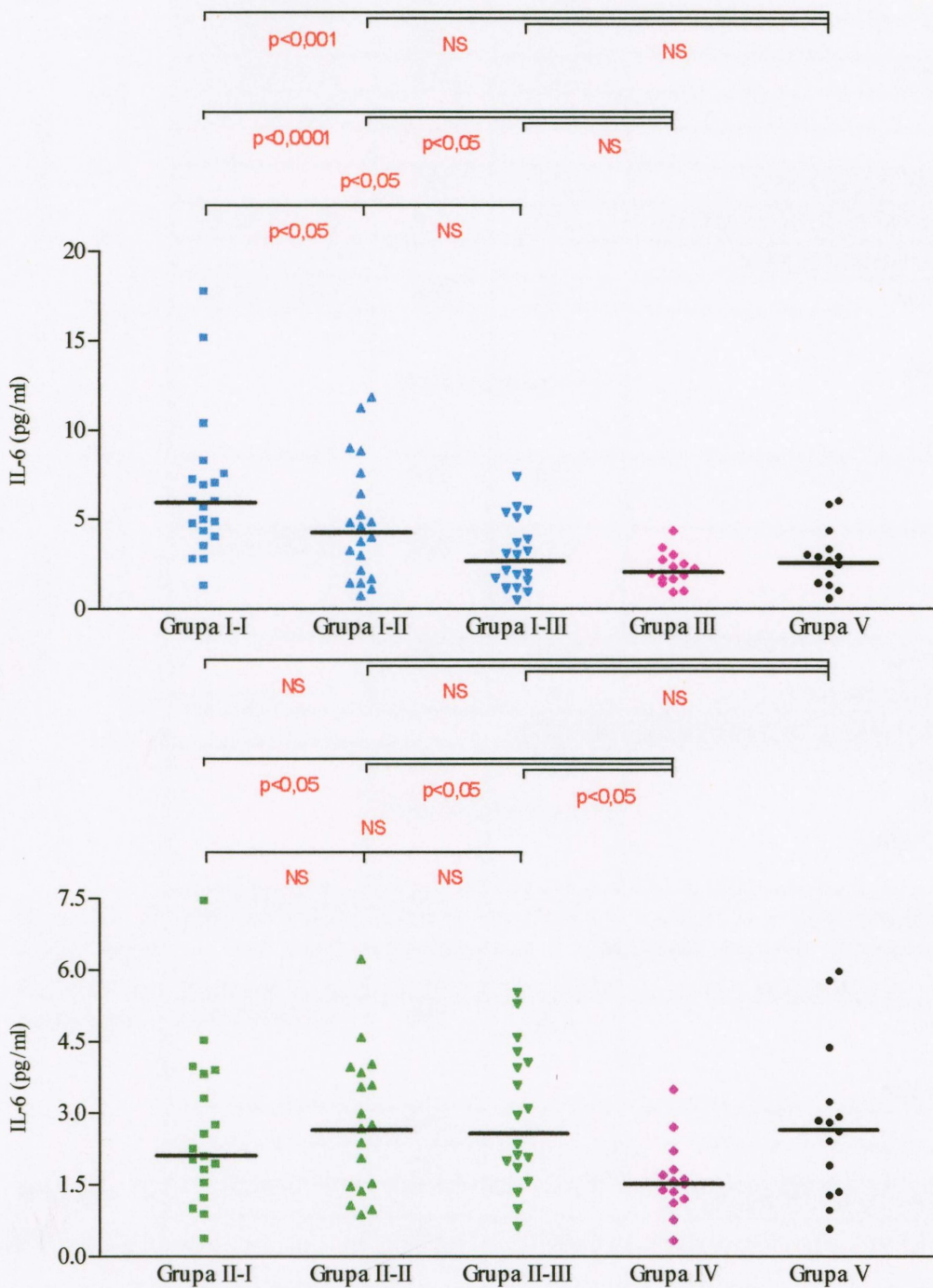
Porównując stężenia IL–6 w surowicy w grupie I, z aktywnym wzjg i grupy II w fazie remisji stwierdzono istotne statystycznie różnice przed leczeniem ($p < 0,0001$) oraz po 4 tygodniach ($p < 0,05$), natomiast brak było istotności statystycznej w przypadku oznaczenia po 12 tygodniach leczenia.

Nie stwierdzono korelacji istotnej statystycznie między stężeniami IL–6 w surowicy a aktywnością kliniczną wzjg, ocenianą według skali Truelove – Wittsa w grupie I, z aktywnym wzjg oraz w grupie II, z wzjg w remisji.

Stężenia IL–6 w surowicy wykazywały znamienne korelację z aktywnością endoskopową ($R = 0,40$; $p < 0,05$) i histopatologiczną wzjg ($R = 0,37$; $p < 0,05$) w grupie I, nie stwierdzono natomiast podobnej korelacji w grupie II. (Ryc. 17.).

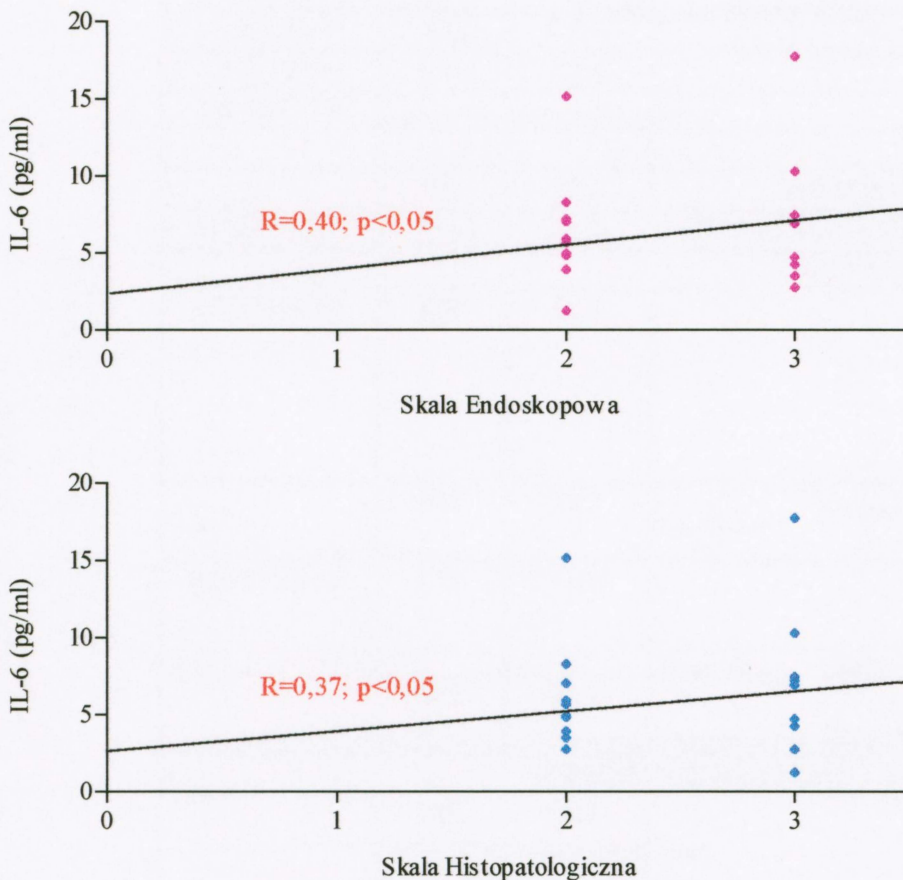
5.4.2. Interleukina 6 w stolcu

W grupie I, pacjentów z aktywnym wzjg, stężenia IL–6 w stolcu przy włączeniu do badań osiągały wartość 13 pg/ml (4,6 – 31,8 pg/ml) zbliżoną do grupy V kontrolnej i grupy III z aktywnym nzjg, obniżające się następnie w trakcie leczenia odpowiednio do 10,3 pg/ml (92,6 – 21,7 pg/ml) i 8,6 pg/ml (2,0 – 18,3 pg/ml) po 4 i 12 tygodniach leczenia.



Ryc. 16. Stężenia IL-6 w surowicy w grupie I, grupie II, grupach porównawczych i kontrolnej.

Na wykresie zaznaczono wartości mediany oraz poziom istotności statystycznej różnic między grupami (NS – brak różnicy istotnej statystycznie). Grupa I-I jest to grupa I przy włączeniu do badań, grupa I-II po 4 tygodniach leczenia i grupa I-III po 12 tygodniach leczenia, natomiast grupa II-I to grupa II przy włączeniu do badań, grupa II-II po 4 miesiącach obserwacji oraz grupa II-III po 8 miesiącach obserwacji.



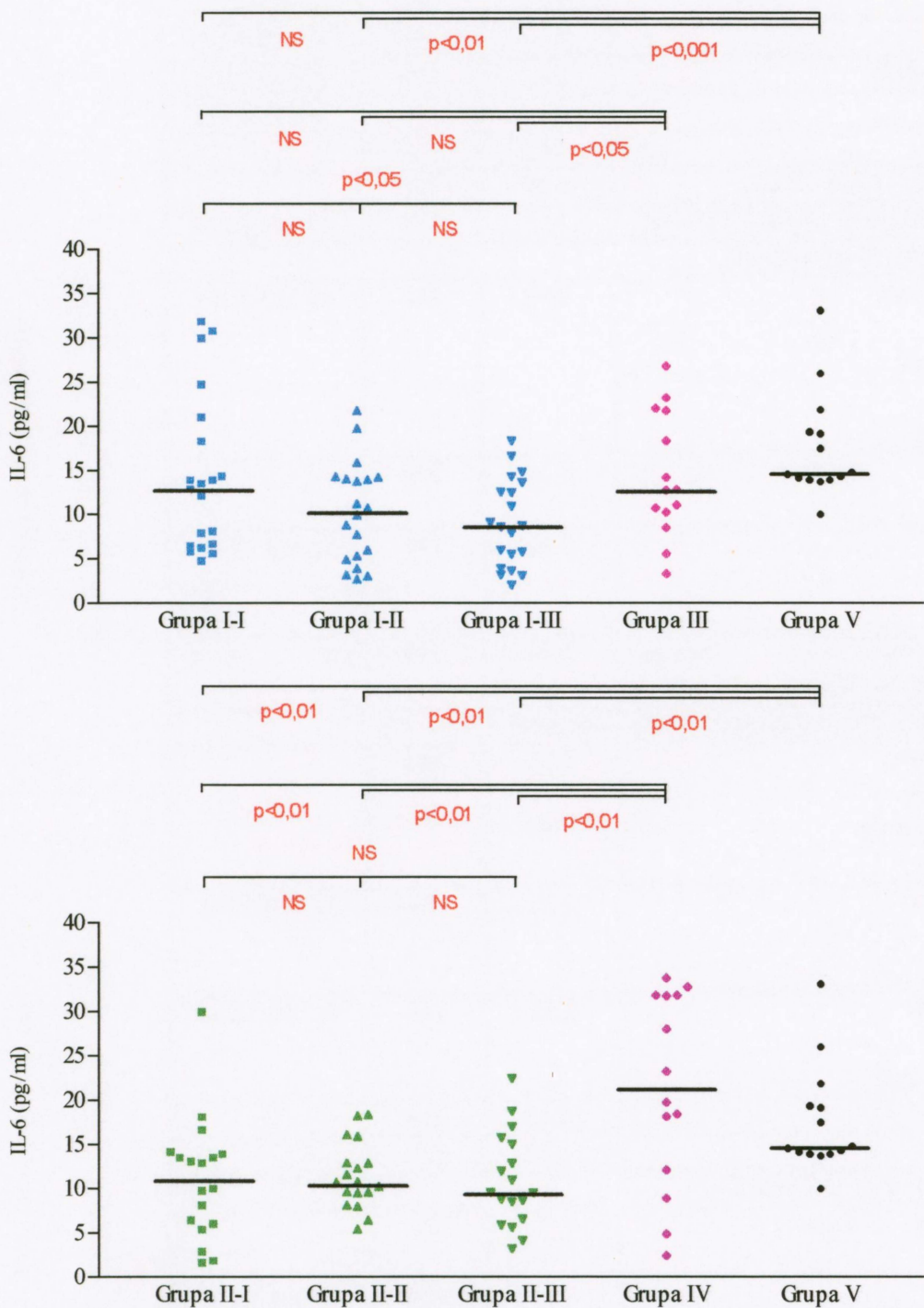
Ryc. 17. Korelacja stężeń IL–6 w surowicy w grupie I z aktywnością wzjg, ocenianą wg skali endoskopowej i histopatologicznej. Stopniowi łagodnemu aktywności wzjg odpowiada liczba 1, umiarkowanemu – 2, ciężkiemu – 3.

Stężenia IL–6 w stolcu w grupie II, pacjentów z wzjg w fazie remisji nie ulegały zmianie w czasie trwania remisji, utrzymując się jednak na znamienne niższym poziomie niż w grupie V kontrolnej i grupie IV z nzjg w fazie remisji. (Ryc. 18.).

W czasie poszczególnych oznaczeń, stężenia IL–6 w stolcu w grupie I z aktywnym wzjg nie różniły się znamienne od stężeń obserwowanych w grupie II, z wzjg w remisji.

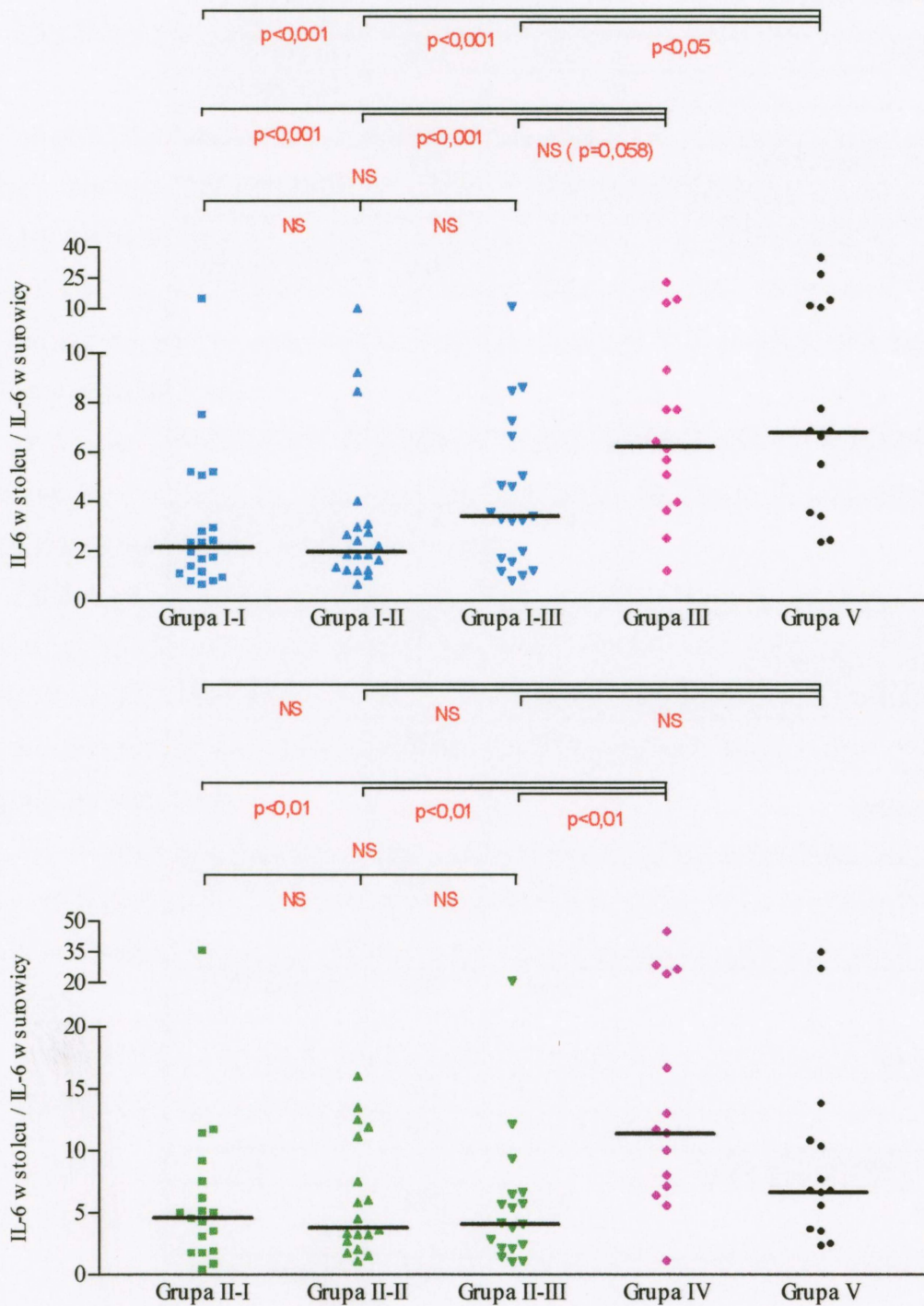
Oceniając zależność między stężeniami IL–6 w stolcu a aktywnością kliniczną wzjg, ocenianą według skali Truelove – Wittsa w grupie I z aktywnym wzjg i grupie II z wzjg w fazie remisji, nie stwierdzono korelacji istotnej statystycznie.

Stężenia IL–6 w stolcu nie wykazywały również korelacji z aktywnością endoskopową i histopatologiczną w grupie I i II.



Ryc. 18. Stężenia IL-6 w stolcu w grupie I, grupie II, grupach porównawczych i kontrolnej.

Na wykresie zaznaczono wartości mediany oraz poziom istotności statystycznej różnic między grupami (NS – brak różnicy istotnej statystycznie). Grupa I-I jest to grupa I przy włączeniu do badań, grupa I-II po 4 tygodniach leczenia i grupa I-III po 12 tygodniach leczenia, natomiast grupa II-I to grupa II przy włączeniu do badań, grupa II-II po 4 miesiącach obserwacji oraz grupa II-III po 8 miesiącach obserwacji.



Ryc. 19. Współczynnik stężeń IL-6 w stolcu / IL-6 w surowicy w grupie I, grupie II, grupach porównawczych i kontrolnej.

Na wykresie zaznaczono wartości mediany oraz poziom istotności statystycznej różnic między grupami (NS – brak różnicy istotnej statystycznie). Grupa I-I jest to grupa I przy włączeniu do badań, grupa I-II po 4 tygodniach leczenia i grupa I-III po 12 tygodniach leczenia, natomiast grupa II-I to grupa II przy włączeniu do badań, grupa II-II po 4 miesiącach obserwacji oraz grupa II-III po 8 miesiącach obserwacji.

5.4.3. Współczynnik IL-6 w stolcu / IL-6 w surowicy

Współczynnik stężenia IL-6 w stolcu do stężenia IL-6 w surowicy, odzwierciedlający wzajemny stosunek IL-6 uwalnianej miejscowo do przewodu pokarmowego względem uwalnianej ogólnoustrojowo, do układu krążenia w grupie I, w pierwszym okresie leczenia nie ulegał zmianie, natomiast po 12 tygodniach leczenia wzrastał nieznacznie. Przez cały okres pozostawał jednak znamienne niższy niż w grupie V kontrolnej oraz grupie IV z aktywnym nzjg. (Ryc. 19.).

W grupie II, pacjentów z wzjg w fazie remisji, współczynnik ten utrzymywał się na niezmiennym poziomie w czasie remisji, zbliżonym do grupy V kontrolnej, istotnie niższym jednak niż w grupie IV z nzjg w remisji.

Porównując wartości współczynnika IL-6 w stolcu / IL-6 w surowicy w grupie I względem grupy II, wykazano różnice znamienne statystycznie tylko po 4 tygodniach leczenia ($p < 0,01$). Stwierdzono różnicę w oznaczeniach przed leczeniem, ale nie wykazano istotności statystycznej ($p = 0,055$), natomiast po 12 tygodniach leczenia brak było różnicy między współczynnikami.

Nie stwierdzono korelacji istotnej statystycznie między wartościami współczynnika stężenia IL-6 w stolcu / IL-6 w surowicy a aktywnością kliniczną wzjg, ocenianą według skali Truelove – Wittsa w grupie I, z aktywnym wzjg przed leczeniem oraz w grupie II, z wzjg w fazie remisji.

Wartości tego współczynnika nie korelowały również w grupie I i II z aktywnością endoskopową i histopatologiczną wzjg.

VI. Dyskusja

Mimo iż bezpośrednia przyczyna wywołująca wrzodziejące zapalenie jelita grubego pozostaje nieznana, wyniki badań ostatnich lat w znacznej mierze wyjaśniły rolę mediatorów zapalnych w rozwoju stanu zapalnego i objawów klinicznych.

Zwiększone wchłanianie licznych bakterii, toksyn bakteryjnych oraz antygenów pokarmowych, obecnych w świetle jelita grubego, poprzez zmienioną zapalnie błonę śluzową stymuluje jelitowy układ immunologiczny do wydzielania mediatorów zapalnych. Głównymi mediatorami, biorącymi udział w rozwoju wzg są interleukiny, leukotrieny i tromboksany. Aktywacja układu immunologicznego prowadzi do zwiększonej rekrutacji komórek immunologicznych, a w efekcie do nasilenia procesu zapalnego na drodze sprzężenia zwrotnego i dalszego uszkodzenia ściany jelita.

Niektóre metabolity bakteryjne, jak FMLP, LPS oraz PG-PS stymulują monocyty, makrofagi oraz granulocyty obojętnochłonne do produkcji interleukin, eikozanoidów, proteaz i NO oraz aktywują układ dopełniacza i układ kalikreina/kinina [88, 118, 119, 120]. Aktywność limfocytów i makrofagów oraz ich zdolność do odpowiedzi na stymulację antygenową produkcją mediatorów immunologicznych, są uwarunkowane genetycznie. Nasilają one odpowiedź zapalną przez rekrutację krążących komórek efektorowych do ogniska zapalenia, wydzielanie mediatorów zapalnych oraz indukowanie aktywacji komórek układu immunologicznego, ich proliferacji i różnicowania [121]. Amplifikacja lub supresja odpowiedzi immunologicznej zależy od wzajemnej równowagi prozapalnych i przeciwzapalnych komórek i mediatorów. U pacjentów z wzg stwierdzono obniżony stosunek antagonisty receptora interleukiny 1 do interleukiny 1, w porównaniu do zdrowej

populacji oraz pacjentów z innymi chorobami zapalnymi [57, 58]. Wzajemny stosunek tych interleukin jest istotny, ponieważ 50-krotne zwiększenie stężenia IL-1ra całkowicie znosi biologiczne działanie IL-1, która uznawana jest za kluczowy mediator w patogenezie wzg [62, 122]. IL-1 i IL-1ra są produkowane przez pobudzone monocyty i makrofagi, a ich produkcja uwarunkowana jest genetycznie oraz podlega wpływowi szeregu innych mediatorów [34, 58, 121, 122, 123].

Wzajemny antagonizm limfocytów pomocniczych typu Th₁ i Th₂ również ma wpływ na przewlekanie się i nasilenie stanu zapalnego [40, 123]. U pacjentów z wzg stwierdzono prawidłowe poziomy interleukin produkowanych przez limfocyty Th₁ (interleukina 2, interferon γ), natomiast podwyższone poziomy interleukin wydzielanych przez limfocyty Th₂ (interleukina 4, interleukina 10) [59, 60, 61]. Wynikiem nasilenia odpowiedzi immunologicznej jest rozwój stanu zapalnego i uszkodzenie tkanek w wyniku działania enzymów proteolitycznych i wolnych rodników tlenowych. IL-1, która jest produkowana w największych ilościach przez pobudzone makrofagi oraz IL-2, produkowana przez limfocyty Th₂, są głównymi mediatorami nasilającymi odpowiedź zapalną. IL-1 i czynnik martwicy nowotworów α (TNF- α) stymulują produkcję cytokin, eikozanoidów i proteaz przez makrofagi, granulocyty obojętnochłonne, fibroblasty, komórki mięśni gładkich oraz komórki śródbłonka.

Nasilenie odpowiedzi immunologicznej zależy od rekrutacji krążących komórek immunologicznych do ogniska zapalenia [62]. IL-1, TNF- α i IFN- γ zwiększają ekspresję molekuł adhezyjnych i ich ligand na komórkach śródbłonka i komórkach immunologicznych, co powoduje adhezję granulocytów obojętnochłonnych, monocytów i limfocytów do ścian naczyń krwionośnych. Dalsza migracja komórek zapalnych do ogniska zapalnego stymulowana jest przez czynniki chemotaktyczne, uwalniane w trakcie rozwoju zapalenia, do których należą IL-8, TGF- β , LTB₄, PAF i aktywne fragmenty dopełniacza. Aktywacja komórek efektorowych, nabłonkowych i mezenchymalnych powoduje dalsze nasilenie odpowiedzi zapalnej poprzez zwiększenie produkcji mediatorów i znaczny wzrost liczby komórek biorących udział w reakcji zapalnej. Antygeny bakteryjne FMLP, PG-PS, LPS przy współdziałaniu innych mediatorów, powodują aktywację makrofagów, stymulując je do wydzielania IL-1, TNF- α , IL-6 i IL-8 [58, 61, 90, 121]. IL-1 i TNF- α pobudzają makrofagi, fibroblasty, komórki mięśni gładkich, komórki nabłonka i śródbłonka do wydzielania eikozanoidów, cytokin i enzymów proteolitycznych, natomiast IFN- γ zwiększa ekspresję

cząsteczek MHC klasy II na komórkach efektorowych i pobudza makrofagi [58]. IL-8 przy współdziałaniu PAF, LTB₄, bradykininy, kalikreiny oraz fragmentów dopełniacza, pobudza granulocyty obojętnochłonne do uwalniania wolnych rodników tlenowych, proteaz i eikozanoidów.

Wolne rodniki tlenowe oraz enzymy proteolityczne powodują degradację błon komórkowych oraz inaktywację enzymów wewnątrzkomórkowych, prowadząc do rozwoju objawów klinicznych wzjg.

Wpływ leków stosowanych w leczeniu wzjg, na stężenia mediatorów zapalnych również potwierdza sugerowany udział tych interleukin w rozwoju stanu zapalnego. W badaniach z użyciem hodowli komórkowych wycinków pobranych endoskopowo ze zmienionych zapalnie jelit dowiedziono, że 5-ASA oraz glikokortykosteroidy hamują wydzielanie IL-1 β oraz IL-6 przez komórki układu immunologicznego [124, 125, 126, 127]. Właściwości tych leków powodują wyhamowanie procesu zapalnego w śluzówce jelita grubego i poprawę stanu klinicznego pacjenta, ale wpływają również na obserwowane poziomy tych mediatorów w surowicy i stolcu. Jest to możliwa przyczyna niedokładności w oznaczaniu stężeń badanych interleukin, jednak na obecnym poziomie wiedzy o wpływie 5-ASA i glikokortykosteroidów na zachowanie się interleukin i innych mediatorów zapalnych w wzjg nie można dokładnie ocenić stopnia ingerencji danych leków w proces syntezy i uwalniania tych mediatorów. W niniejszej pracy, mimo stosunkowo małej liczby dzieci włączonych do badań, nie obserwowano istotnych statystycznie różnic w zakresie stężeń badanych interleukin pomiędzy podgrupami pacjentów, podzielonych według kryteriów zastosowanej terapii. Brak różnic stężeń badanych interleukin w podgrupach pacjentów poddanych terapii różnymi lekami sugeruje, że różnice w stosowanych lekach wywierały bardzo nieznaczny wpływ na uwalnianie badanych interleukin i nie odbijały się na ich stężeniach obserwowanych w stolcu i w surowicy.

6.1. Interleukina 1 β

W grupie pacjentów z aktywnym wzjg, stężenia IL-1 β w surowicy obniżały się w trakcie pierwszych 4 tygodni po rozpoczęciu leczenia, natomiast w ciągu następnych 8 tygodni nie ulegały zmianie, utrzymując się na takim poziomie, jaki występował w grupie

z wzjg w fazie remisji. W grupie pacjentów z wzjg w remisji, w czasie całego okresu obserwacji, stężenia IL – 1 β w surowicy pozostawały na niezmiennym poziomie. Osiągały one wyższe wartości w grupach badanych w odniesieniu do grupy kontrolnej, nie obserwowano natomiast różnic względem odpowiednich grup porównawczych. Wyniki te świadczą o stosunkowo szybkim obniżaniu się stężeń IL–1 β w surowicy w trakcie leczenia. Poziomy IL–1 β w surowicy już po 4 tygodniach leczenia osiągały wartości zbliżone do stężeń w surowicy u pacjentów w fazie remisji i nie ulegały zmianie w trakcie dalszego leczenia. Potwierdza to wcześniejsze doniesienia, stwierdzające podwyższone wartości IL–1 β w surowicy u pacjentów z aktywnym wzjg, w porównaniu do pacjentów z wzjg w remisji oraz pacjentów zdrowych [128]. Poziom IL–1 β w surowicy po włączeniu leczenia obniżał się tylko do pewnego poziomu, około 2 - krotnie wyższego niż występującego w populacji zdrowej. Na takim podwyższonym poziomie utrzymywały się również stężenia IL–1 β w surowicy w fazie remisji wzjg, co mimo braku objawów klinicznych choroby w fazie remisji, świadczy o utrzymywaniu się stanu pobudzenia układu immunologicznego. Brak różnic między stężeniami IL–1 β w surowicy u pacjentów z aktywnym wzjg i aktywnym nzjg oraz pacjentów z wzjg i nzjg w fazie remisji sugeruje podobny udział IL–1 β w patogenezie tych chorób. Obecność korelacji stężeń IL–1 β w surowicy z aktywnością endoskopową i histopatologiczną wzjg potwierdza tezę o udziale IL–1 β w rozwoju wzjg, jak również wcześniejsze doniesienia o korelacji z aktywnością kliniczną wzjg [128].

Stężenia IL–1 β w stolcu pacjentów z aktywnym wzjg osiągały wysokie wartości przed włączeniem leczenia i stopniowo obniżały się w trakcie leczenia, natomiast wśród pacjentów z wzjg w remisji stężenia IL–1 β w stolcu nie ulegały zmianie w całym okresie obserwacji. Były one nieznacznie niższe niż u pacjentów z aktywnym wzjg po 12 tygodniach leczenia. Wartości stężeń IL–1 β wśród pacjentów z aktywnym wzjg były znacznie wyższe w porównaniu do grupy z aktywnym nzjg i grupy zdrowej, od 40 razy przed włączeniem leczenia do 1,5 raza po 12 tygodniach leczenia. Nie obserwowano takich różnic, porównując stężenia IL–1 β w stolcu pacjentów z wzjg w remisji, pacjentów z nzjg w remisji i dzieci zdrowych. We wszystkich tych grupach osiągały one zbliżone wartości. Wyniki te wskazują na uwalnianie dużo większych ilości IL–1 β do światła przewodu pokarmowego oraz na wolniejsze obniżanie się poziomów IL–1 β w stolcu niż w surowicy, jak również na to, że w okresie remisji stężenia IL–1 β w stolcu nie odbiegają od stężeń obserwowanych u dzieci zdrowych.

We wcześniejszych pracach, oceniających poziomy IL-1 β w błonie śluzowej jelita grubego u pacjentów z aktywnym wzjg, stwierdzono podwyższone stężenia tej interleukiny w homogenatach tkankowych wycinków pobranych endoskopowo oraz w hodowlach komórkowych komórek jednojądrzastych, wyizolowanych z blaszki właściwej błony śluzowej względem zdrowej populacji [95, 124, 126, 129]. Wykazano również wyższe stężenia IL-1 β w supernatantach wykonanych z bioptatów błony śluzowej pacjentów z aktywnym wzjg w porównaniu do pacjentów z wzjg w remisji, przy czym w obydwu grupach stężenia tej interleukiny były wyższe niż w grupie zdrowej [130]. Stężenia IL-1 β w błonie śluzowej jelita grubego oraz we wlewach doodbytniczych wykazywały korelację z aktywnością endoskopową wzjg [131, 132, 133, 134]. Dane te potwierdzają hipotezę o lokalnej produkcji IL-1 β w zmienionej zapalnie błonie śluzowej jelita grubego oraz o jej udziale w patogenezie wzjg.

W ostatnim czasie, już w trakcie przeprowadzania niniejszych badań, opublikowane zostało doniesienie dotyczące poziomów IL-1 β w stolcu dorosłych pacjentów z wzjg [135]. Przy zastosowaniu tej samej metody preparatyki stolca, wykazano wyższe stężenia IL-1 β w stolcu w aktywnym wzjg w porównaniu do wzjg w remisji oraz pacjentów zdrowych. W stolcu pacjentów z wzjg w remisji utrzymywały się wyższe stężenia IL-1 β niż w grupie zdrowej, ale niższe niż w grupie pacjentów z infekcyjnym zapaleniem jelita grubego.

Wykazano również korelację stężeń IL-1 β w stolcu z endoskopową aktywnością wzjg oraz biochemicznymi wykładnikami stanu zapalnego, jak OB, CRP oraz stężeniem elastazy w stolcu.

Wyniki tych badań znajdują potwierdzenie w niniejszej pracy, w części dotyczącej pacjentów z aktywnym wzjg, różnią się zaś w zakresie poziomów IL-1 β w stolcu pacjentów z wzjg w remisji. Przyczyną obserwowanej różnicy może być zarówno różnica wieku badanych pacjentów, jak też stosunkowo mała liczebność grup w obu badaniach. Rozbieżności te wymagają wyjaśnienia w badaniach na większej liczbie pacjentów.

W przedstawionej pracy, stężenia IL-1 β w stolcu pacjentów z aktywnym wzjg wykazywały korelację z aktywnością kliniczną, endoskopową oraz histopatologiczną wzjg, przy czym współczynniki korelacji osiągały znacznie wyższe wartości niż w przypadku oznaczeń IL-1 β w surowicy.

Stanowi to potwierdzenie wysuwanych sugestii o możliwym wykorzystaniu IL-1 β jako markera aktywności wzjg, zarówno w ocenie klinicznej pacjenta jak i zaawansowaniu stanu zapalnego błony śluzowej jelita grubego [136].

Wzajemny stosunek stężeń IL-1 β w stolcu do stężeń w surowicy, czyli współczynnik IL-1 β w stolcu / IL-1 β w surowicy, w grupie pacjentów z aktywnym wzjg, wykazywał wysokie wartości przed leczeniem, stopniowo obniżające się w trakcie leczenia. W grupie pacjentów z wzjg w remisji współczynnik ten utrzymywał się na niezmiennym poziomie w trakcie obserwacji, nieco niższym niż poziom stwierdzany w grupie z aktywnym wzjg po 12 tygodniach leczenia.

Współczynnik ten osiągał znacznie wyższe wartości u pacjentów z aktywnym wzjg przed leczeniem oraz po 4 tygodniach leczenia, w porównaniu do pacjentów z aktywnym nzjg oraz dzieci zdrowych. Po 12 tygodniach leczenia był on wyższy niż u pacjentów z aktywnym nzjg, natomiast niższy od stwierdzanego u dzieci zdrowych. Wartości tego współczynnika w grupie pacjentów z wzjg w remisji utrzymywały się na tym samym poziomie jak w grupie z nzjg w remisji, były natomiast 2 – krotnie niższe w porównaniu do grupy zdrowej.

Wyniki te świadczą o znacznie większym uwalnianiu IL-1 β z zapalnie zmienionej błony śluzowej jelita grubego do światła przewodu pokarmowego, niż do układu krwionośnego w aktywnej fazie wzjg.

Stosunkowo duża różnica wartości współczynnika IL-1 β w stolcu / IL-1 β w surowicy w aktywnej fazie wzjg i nzjg odzwierciedla różnicę w nasileniu stanu zapalnego oraz uszkodzeniu błony śluzowej jelita grubego i może być wykorzystana w różnicowaniu tych dwóch chorób.

Obniżone wartości tego współczynnika w grupie pacjentów z wzjg w remisji w stosunku do dzieci zdrowych spowodowane są utrzymywaniem się podwyższonych wartości stężeń IL-1 β w surowicy w fazie remisji wzjg wobec ich normalizacji w stolcu. Przyczyną utrzymywania się podwyższonych stężeń IL-1 β w śluzówce pacjentów z wzjg w remisji może być odbudowa nabłonka błony śluzowej jelita grubego po ustąpieniu ostrej fazy wzjg, i tym samym odizolowanie makrofagów tkankowych, tworzących nacieki w obrębie *lamina propria* błony śluzowej od światła przewodu pokarmowego.

6.2. Antagonista receptora interleukiny 1

Stężenia IL-1ra w surowicy pacjentów z aktywnym wzjg nie ulegały zmianie w ciągu pierwszych 4 tygodni leczenia, natomiast w ciągu następnych 8 tygodni obserwowano spadek stężeń do wartości występujących u pacjentów w fazie remisji wzjg. W grupie pacjentów z wzjg w remisji, przez cały okres obserwacji, stężenia IL-1ra w surowicy utrzymywały się na niezmiennym poziomie. W obydwu grupach pacjentów osiągały one wyższe wartości w porównaniu do grupy kontrolnej, przy czym u pacjentów z wzjg w remisji nie były to różnice znamienne statystycznie. Nie obserwowano natomiast różnic względem odpowiednich grup porównawczych.

Wyniki te świadczą o stosunkowo niewielkim obniżaniu się poziomów IL-1ra w surowicy w początkowym okresie leczenia wzjg, w przeciwieństwie do IL-1 β .

Zgodne są one z wynikami wcześniejszych badań, stwierdzających podwyższone wartości IL-1ra w surowicy u dorosłych pacjentów z aktywnym wzjg, w porównaniu do wzjg w remisji [137].

Bezwzględne wartości stężeń IL-1ra w surowicy, obserwowane w badaniach u ludzi dorosłych, wykazywały niższe wartości niż stwierdzane w obecnej pracy u dzieci. Korelowały one ponadto z niektórymi biochemicznymi wykładnikami stanu zapalnego, jak OB, CRP, liczbą płytek krwi oraz α_1 – glikoproteiną [137].

Stężenia IL-1ra w surowicy w niniejszej pracy wykazywały korelację z aktywnością kliniczną, endoskopową oraz histopatologiczną choroby u pacjentów z aktywnym wzjg, co jest zgodne z wcześniejszymi doniesieniami oraz stanowi potwierdzenie udziału IL-1ra w patogenezie wzjg [138].

Stężenia IL-1ra w stolcu pacjentów z aktywnym wzjg osiągały wysokie wartości przed włączeniem leczenia i stopniowo obniżały się w trakcie leczenia. W początkowym okresie leczenia, po 4 tygodniach, spadek ten był znacznie wolniejszy niż w następnych 8 tygodniach, kiedy stężenia IL-1ra w stolcu obniżały się prawie 10 – krotnie, osiągając poziom zbliżony do poziomu IL-1ra w stolcu pacjentów z wzjg w remisji.

Stężenia IL-1ra w stolcu pacjentów z wzjg w remisji nie ulegały zmianie w całym okresie obserwacji. Wartości stężeń IL-1ra, wśród pacjentów z aktywnym wzjg, były znacznie wyższe przed leczeniem i po 4 tygodniach w porównaniu do grup porównawczych

i grupy kontrolnej, natomiast po 12 tygodniach leczenia zmniejszały się one do wartości zbliżonych do stężeń IL-1ra w stolcu pacjentów z aktywnym wzjg, natomiast niższych niż w grupie kontrolnej.

W grupie pacjentów z wzjg w remisji nie obserwowano tak dużych różnic, jednak stężenia IL-1ra w stolcu również osiągały wyższe poziomy niż w grupie z wzjg w remisji i niższe od stwierdzanych wśród dzieci zdrowych, przy czym ta ostatnia różnica nie była istotna statystycznie.

We wcześniejszych pracach stwierdzono podwyższone poziomy IL-1ra w zmienionej zapalnie błonie śluzowej jelita grubego u pacjentów z aktywnym wzjg, zarówno w całych bioptatach pobranych endoskopowo, jak i w hodowlach makrofagów tkankowych, wyizolowanych z *lamina propria* błony śluzowej [139, 140]. Wykazano również korelację miejscowej produkcji IL-1ra z aktywnością wzjg [131].

W opublikowanych ostatnio badaniach dotyczących stężeń IL-1ra w stolcu pacjentów z wzjg, stwierdzono znacznie podwyższone poziomy IL-1ra w stolcu pacjentów z aktywnym wzjg względem grupy z wzjg w remisji i grupy zdrowej. Stężenia IL-1ra w grupie z wzjg w remisji nie różniły się od grupy zdrowej, niższe natomiast były w porównaniu do pacjentów z infekcyjnym zapaleniem jelita grubego.

Wykazano również korelację stężeń tej interleukiny z wykładnikami aktywności wzjg, jak OB, CRP i elastazą w stolcu [135]. Wyniki te zgodne są z wynikami niniejszej pracy.

Duże różnice obserwowane między stężeniami IL-1ra w grupie z aktywnym wzjg i wzjg, podobnie jak w przypadku IL-1β, odzwierciedlają różnice w nasileniu stanu zapalnego w jelicie grubym w tych dwóch chorobach.

Stężenia IL-1ra w stolcu pacjentów z aktywnym wzjg korelowały z aktywnością kliniczną, endoskopową oraz histopatologiczną wzjg, w przypadku aktywności klinicznej i histopatologicznej wykazując wyższy stopień korelacji niż przy ocenie stężeń IL-1ra w surowicy.

Wzajemny stosunek stężeń IL-1ra w stolcu do stężeń w surowicy, czyli współczynnik IL-1ra w stolcu / IL-1ra w surowicy, w grupie pacjentów z aktywnym wzjg wykazywał wysokie wartości przed leczeniem, nieznacznie obniżające się po 4 tygodniach, natomiast dużo gwałtowniej w następnych 8 tygodniach leczenia.

W grupie pacjentów z wzjg w remisji współczynnik ten utrzymywał się na niezmiennym poziomie w trakcie obserwacji, nieco niższym niż poziom stwierdzany w grupie z aktywnym wzjg po 12 tygodniach leczenia.

Współczynnik ten osiągał znacznie wyższe wartości u pacjentów z aktywnym wzjg przed leczeniem oraz po 4 tygodniach leczenia w porównaniu do pacjentów z aktywnym nzjg oraz dzieci zdrowych. Po 12 tygodniach leczenia był on nieznacznie wyższy niż u pacjentów z aktywnym nzjg, natomiast niższy od stwierdzanego u dzieci zdrowych.

Wartości tego współczynnika w grupie pacjentów z wzjg w remisji utrzymywały się na nieco wyższym poziomie niż w grupie z nzjg w remisji, były natomiast ponad 2 - krotnie niższe w porównaniu do grupy kontrolnej.

Niższe wartości współczynnika IL-1ra w stolcu / IL-1ra w surowicy w porównaniu do współczynnika IL-1β w stolcu / IL-1β w surowicy świadczą o uwalnianiu mniejszych ilości wydzielonego IL-1ra do światła przewodu pokarmowego niż do surowicy w porównaniu do IL-1β. Wyniki te zgodne są również z sugestią o lokalnej produkcji tych mediatorów zapalnych w zmienionej zapalnie błonie śluzowej jelita grubego.

6.3. Współczynnik IL-1ra / IL-1β

Wartości współczynnika IL-1ra / IL-1β w surowicy, w grupie pacjentów z aktywnym wzjg, nie ulegały zmianie w trakcie pierwszych 4 tygodni leczenia, natomiast w trakcie następnych 8 tygodni obniżały się do poziomu nieco niższego niż u pacjentów z wzjg w fazie remisji.

W obrębie grupy pacjentów z wzjg w remisji wartości tego współczynnika nie ulegały zmianie w czasie całego okresu obserwacji.

Współczynnik IL-1ra / IL-1β w surowicy, w obrębie grup z aktywnym wzjg i w remisji, wykazywał niższe wartości w porównaniu do grupy kontrolnej, natomiast nie obserwowano różnic względem odpowiednich grup porównawczych. Zmniejszanie się współczynnika IL-1ra / IL-1β w surowicy po 4 tygodniach leczenia świadczy o względnym zmniejszeniu stężenia IL-1ra w surowicy w stosunku do IL-1β.

Uwzględniając omawiane wcześniej zachowanie się stężeń IL-1ra i IL-1β w surowicy, w trakcie leczenia pacjentów z aktywnym wzjg, można wysunąć tezę o znacznie dłuższym utrzymywaniu się podwyższonych poziomów IL-1ra w surowicy pacjentów z aktywnym wzjg w trakcie leczenia w porównaniu do IL-1β, której stężenia szybko obniżają się do wartości obserwowanych u pacjentów z wzjg w remisji. Utrzymywanie się obniżonych

wartości współczynnika IL-1ra / IL-1 β w surowicy pacjentów z wzjg w remisji związane jest z podwyższonymi poziomami IL-1 β . Znajduje to potwierdzenie we wcześniejszych doniesieniach.

W dotychczas opublikowanych badaniach stwierdzono obniżony współczynnik IL-1ra / IL-1 β w śluzówce jelita grubego u pacjentów z aktywnym wzjg, zarówno w homogenatach tkankowych biopatów pobranych endoskopowo, jak przy użyciu wlewów doodbytniczych i filtrów bibułkowych. Wartości tego współczynnika wykazywały negatywną korelację z aktywnością endoskopową i histopatologiczną wzjg [131, 132, 133, 139, 140, 141, 142]. Podobne wyniki uzyskano, badając wzajemny stosunek mRNA IL-1ra i IL-1 β [92].

Dane te sugerują, że obniżenie współczynnika IL-1ra / IL-1 β ma związek z patogenezą wzjg i utrzymując się także w okresie remisji, stanowi jeden z czynników sprzyjających nawrotom choroby.

Brak różnic w wartościach tego współczynnika między pacjentami z wzjg i nzjg sugeruje, że zaburzenie równowagi między IL-1ra i IL-1 β może mieć podobny wpływ na rozwój nzjg, analogicznie jak w wzjg.

Współczynnik stężeń IL-1ra / IL-1 β w stolcu pacjentów z aktywnym wzjg wykazywał niskie wartości przed leczeniem, stopniowo wzrastające w trakcie leczenia i osiągające po 12 tygodniach leczenia poziom nieco niższy niż u pacjentów z wzjg w fazie remisji.

W obrębie grupy pacjentów z wzjg w remisji, w czasie całego okresu obserwacji, wartości tego współczynnika nie ulegały zmianie. Porównując wartości współczynnika IL-1ra / IL-1 β w stolcu w badanych grupach w odniesieniu do grupy porównawczej i kontrolnej, obserwowano niższe wartości u pacjentów z aktywnym wzjg względem pacjentów z aktywnym nzjg i grupy zdrowej. Wartości u pacjentów z wzjg w remisji nie różniły się od poziomów w grupie kontrolnej, były natomiast 2 - krotnie wyższe niż w grupie z nzjg w remisji.

Stopniowy wzrost współczynnika IL-1ra / IL-1 β w stolcu w trakcie leczenia świadczy o zwiększaniu się ilości IL-1ra w stosunku do IL-1 β w stolcu. Potwierdza to doniesienia innych autorów, opisujące niższe wartości współczynnika IL-1ra / IL-1 β w stolcu dorosłych pacjentów z aktywnym wzjg w porównaniu do wzjg w remisji oraz grupy zdrowej [135].

W badaniu tym obserwowano niższe wartości tego współczynnika w grupie pacjentów z wzjg w remisji względem grupy zdrowej, co nie znalazło potwierdzenia w niniejszej pracy.

Przyczyną obserwowanej różnicy może być różnica wieku badanych pacjentów, jak też stosunkowo mała liczebność grup w obu badaniach. Wartości współczynnika IL-1ra / IL-1β w stolcu pacjentów z aktywnym wzjg wykazywały negatywną korelację z aktywnością endoskopową oraz histopatologiczną wzjg, co również zgodne jest z wcześniejszymi badaniami [131, 132, 133].

W grupie pacjentów z aktywnym wzjg, stosunek współczynnika IL-1ra / IL-1β w stolcu do współczynnika IL-1ra / IL-1β w surowicy wykazywał niskie wartości przed leczeniem i wzrastał stopniowo w trakcie leczenia, osiągając poziom analogiczny jak u pacjentów z wzjg w remisji. W grupie pacjentów z wzjg w remisji, stosunek ten nie ulegał zmianie w czasie całego okresu obserwacji.

Obserwowano niższe wartości tego współczynnika u pacjentów z aktywnym wzjg względem pacjentów z aktywnym nzjg, nie różniły się one natomiast od grupy kontrolnej.

Również w grupie pacjentów z wzjg w remisji nie stwierdzono różnic stosunku współczynnika IL-1ra / IL-1β w stolcu do współczynnika IL-1ra / IL-1β w surowicy względem grupy kontrolnej i grupy z nzjg w remisji.

Niskie wartości tego stosunku u pacjentów z aktywnym wzjg potwierdzają pogląd o miejscowej produkcji tych mediatorów zapalnych i związanym z tym wierniejszym odzwierciedleniem zaburzeń we wzajemnych stężeniach IL-1ra i IL-1β w stolcu niż w surowicy.

6.4. Interleukina 6

Stężenia IL-6 w surowicy pacjentów z aktywnym wzjg wykazywały wyższe wartości przed włączeniem leczenia i stopniowo obniżały się w trakcie leczenia, osiągając wartości występujące u pacjentów z wzjg w fazie remisji.

W grupie pacjentów z wzjg w remisji, przez cały okres obserwacji stężenia IL-6 w surowicy utrzymywały się na niezmiennym poziomie. Stężenia IL-6 w surowicy pacjentów z aktywnym wzjg wykazywały wyższe wartości przed leczeniem i po 4 tygodniach leczenia niż w grupie pacjentów z aktywnym nzjg i grupie zdrowej, natomiast nie obserwowano różnic względem tych grup po 12 tygodniach leczenia. W grupie pacjentów z wzjg w remisji, stężenia IL-6 w surowicy nie różniły się od stężeń w grupie kontrolnej, były

natomiast wyższe w porównaniu do grupy z nzjg w remisji. Wyniki te są zgodne z wcześniejszymi doniesieniami o podwyższonym stężeniu IL-6 w surowicy u pacjentów z aktywnym wzjg oraz obniżaniu się ich w okresie osiągania remisji choroby [93, 143, 144].

W trakcie leczenia poziom IL-6 obniżał się do wartości występujących w zdrowej populacji, również w fazie remisji nie obserwowano podwyższonych wartości IL-6 w surowicy, odwrotnie niż w przypadku IL-1 β .

Stężenia IL-6 w surowicy pacjentów z aktywnym wzjg korelowały z aktywnością endoskopową oraz histopatologiczną wzjg.

Zgodne jest to z doniesieniami innych autorów, w których poziomy IL-6 w surowicy wykazywały korelację z białkami ostrej fazy oraz biochemicznymi wykładnikami stanu zapalnego, jak OB i liczba płytek [143, 145]. Korelowały one również z aktywnością kliniczną wzjg [96, 144, 146].

Stężenia IL-6 w stolcu pacjentów z aktywnym wzjg w trakcie leczenia stopniowo obniżały się, osiągając po 12 tygodniach wartości analogiczne jak u pacjentów w fazie remisji. W grupie pacjentów z wzjg w remisji, stężenia IL-6 w stolcu utrzymywały się na niezmiennym poziomie w całym okresie obserwacji. W porównaniu do grup kontrolnych, stężenia IL-6 w stolcu w grupie pacjentów z aktywnym wzjg przed leczeniem znajdowały się na tym samym poziomie, co w grupie kontrolnej i z aktywnym nzjg, natomiast w trakcie leczenia osiągały wartości niższe względem tych grup. W grupie pacjentów z wzjg w remisji wartości stężeń IL-6 w stolcu wykazywały niższe wartości w porównaniu do grupy kontrolnej oraz grupy z nzjg w remisji.

We wcześniejszych pracach donoszono o podwyższonych poziomach IL-6 w błonie śluzowej jelita grubego u pacjentów z aktywnym wzjg względem wzjg w remisji i grupy kontrolnej, wykazywały one także korelację z aktywnością kliniczną i endoskopową wzjg [141, 147, 148, 149, 150]. Podobne zależności obserwowano oznaczając stężenia IL-6 we wlewach doodbytniczych [134, 143]. Natomiast badając poziom mRNA IL-6 w bioptatach z jelita grubego u pacjentów z aktywnym wzjg, nie stwierdzono różnic w porównaniu do grupy kontrolnej [151].

Opublikowano niewiele prac oceniających stężenia IL-6 w stolcu. W badaniu dotyczącym oznaczania IL-6 w stolcu u pacjentów z nieswoistymi zapaleniami jelit, autorzy stwierdzili obecność tej interleukiny w stolcu tylko u kilku pacjentów z aktywnym wzjg. Przypuszczalną przyczyną tak niewielkiej liczby pozytywnych oznaczeń IL-6 była degradacja jej struktury białkowej przez enzymy proteolityczne [111].

Wzajemny stosunek stężeń IL-6 w stolcu do stężeń w surowicy, czyli współczynnik IL-6 w stolcu / IL-6 w surowicy w grupie pacjentów z aktywnym wzjg wykazywał niskie wartości przed leczeniem, utrzymujące się na niezmiennym poziomie po 4 tygodniach i wzrastające po 12 tygodniach leczenia. W grupie pacjentów z wzjg w remisji współczynnik ten utrzymywał się na niezmiennym poziomie w trakcie całego okresu obserwacji, wyższym niż poziom stwierdzany w grupie z aktywnym wzjg po 12 tygodniach leczenia.

Współczynnik ten osiągał niższe wartości u pacjentów z aktywnym wzjg w porównaniu do pacjentów z aktywnym nzjg oraz dzieci zdrowych. Wartości tego współczynnika w grupie pacjentów z wzjg w remisji wykazywały niższe wartości niż w grupie z nzjg w remisji, natomiast w odniesieniu do grupy kontrolnej nie obserwowano różnic.

Niskie wartości współczynnika IL-6 w stolcu / IL-6 w surowicy u pacjentów z aktywnym wzjg świadczą o uwalnianiu większej części IL-6, wydzielonej przez makrofagi tworzące nacieki w *lamina propria* błony śluzowej jelita grubego, do naczyń krwionośnych niż do światła przewodu pokarmowego, odwrotnie niż w przypadku IL-1 β i IL-1ra.

Różnice stężeń obserwowane u pacjentów z wzjg i nzjg również sugerują, że IL-6 odgrywa nieco odmienną rolę w patogenezie tych dwóch chorób.

6.5. Praktyczne znaczenie uzyskanych wyników

Badania dotyczące interleukin, będących mediatorami zapalnymi biorącymi udział w rozwoju wzjg, poszerzają wiedzę odnośnie patogenezy tej choroby. Lepsze poznanie ich roli w powstaniu i przewlekaniu się stanu zapalnego przyczynia się do wyjaśnienia wielu szczegółowych aspektów, dotyczących funkcji układu immunologicznego i zaburzeń w jego funkcjonowaniu.

Inną możliwością wykorzystania znajomości zachowania się mediatorów zapalnych w trakcie trwania choroby jest wykorzystanie ich korelacji z przebiegiem procesu chorobowego i jego aktywnością, w celu wnioskowania o zaawansowaniu zmian chorobowych.

W nieswoistych zapaleniach jelit prowadzono badania oceniające stopień korelacji różnych czynników klinicznych i biochemicznych, również interleukin, z aktywnością

choroby, w celu oceny ich możliwego zastosowania jako markera zaawansowania procesu chorobowego [144, 147, 152, 153, 154, 155].

Wyniki niniejszych badań stanowią potwierdzenie dotychczasowych doniesień i zarazem zachętę do dalszych prac. Zwłaszcza celowe wydaje się oznaczanie stężeń IL-1 β i IL-1ra w stolcu, które wykazują najwyższy stopień korelacji z aktywnością wzjg, ocenianą w sposób kompleksowy, uwzględniającą stan kliniczny, wyniki badań biochemicznych oraz zaawansowanie zmian patologicznych w obrębie jelita grubego.

W przypadku IL-6, zmiany aktywności wzjg wierniej odzwierciedlane są przez zmiany jej stężeń w surowicy, ale wykazują niższy stopień korelacji niż w przypadku IL-1 β i IL-1ra.

Wyniki niniejszych badań zachęcają do dalszych prac w tym kierunku, ale aby definitywnie określić przydatność oznaczeń IL-1 β i IL-1ra w praktyce klinicznej we wrzodziejącym zapaleniu jelita grubego, konieczne jest przeprowadzenie badań na znacznie większych grupach pacjentów niż to zostało dokonane w obecnej pracy.

VII. Wnioski

Na podstawie uzyskanych wyników można wyciągnąć następujące wnioski:

1. Stężenia interleukiny 1β oraz antagonisty receptora interleukiny 1 w stolcu i surowicy wykazują korelację z aktywnością kliniczną wrzodziejącego zapalenia jelita grubego oraz nasileniem zmian patologicznych w obrębie jelita grubego, natomiast stężenia interleukiny 6 w surowicy korelują tylko z nasileniem zmian patologicznych w jelicie grubym.
2. Wartości współczynnika $IL-1ra / IL-1\beta$ w stolcu wykazują niskie wartości w fazie aktywnej wrzodziejącego zapalenia jelita grubego, rosnące w trakcie leczenia oraz ujemną korelację z nasileniem zmian patologicznych w obrębie jelita grubego.
3. Stężenia interleukiny 1β , antagonisty receptora interleukiny 1 oraz interleukiny 6 osiągają znacznie wyższe wartości w stolcu niż w surowicy we wszystkich badanych grupach oraz w surowicy i stolcu pacjentów w aktywnej fazie wrzodziejącego zapalenia jelita grubego w porównaniu do pacjentów w remisji oraz pacjentów z niespecyficznym zapaleniem jelita grubego i dzieci zdrowych; wartości te stopniowo obniżają się w trakcie leczenia.
4. Stężenia badanych interleukin w surowicy i stolcu nie ulegają zmianie w grupie pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego w remisji.
5. Stężenia interleukiny 1β w surowicy obniżają się szybciej w stosunku do antagonisty receptora interleukiny 1 w aktywnej fazie wrzodziejącego zapalenia jelita grubego, natomiast w remisji utrzymują się na poziomie wyższym niż u dzieci zdrowych.
6. Stwierdzenie stosunkowo ścisłej korelacji stężeń interleukiny 1β i antagonisty receptora interleukiny 1 w stolcu stanowi zachętę do dalszych badań w tym kierunku oraz stwarza możliwość wykorzystania tych oznaczeń w praktyce klinicznej jako markera zaawansowania wrzodziejącego zapalenia jelita grubego.

VIII. Streszczenie

Wrzodziejące zapalenie jelita grubego jest to nieswoista choroba zapalna jelit, charakteryzująca się przewlekłym, nawracającym zapaleniem jelita grubego. Bezpośrednia przyczyna tego schorzenia pozostaje nieznana, a patogenezą nie została ostatecznie wyjaśniona. Współczesne koncepcje etiopatogenetyczne wzjg obejmują udział wielu czynników, wśród których istotną rolę odgrywają zaburzenia immunologiczne. Wyniki dotychczasowych badań sugerują udział mediatorów zapalnych, m.in. IL-1 β , IL-1ra oraz IL-6 w rozwoju zmian zapalnych w wzjg.

Celem obecnej pracy była ocena zachowania się stężeń IL-1 β , IL-1ra, IL-6 oraz współczynnika IL-1ra / IL-1 β w surowicy i stolcu u dzieci z aktywnym wzjg oraz wzjg w remisji w trakcie leczenia. Przeprowadzono również ocenę korelacji tych parametrów z aktywnością wzjg.

Grupę badaną stanowiło 38 dzieci chorych na wzjg, w wieku 2 – 18 r.ż., u których rozpoznanie zostało postawione na podstawie kryteriów klinicznych, endoskopowych i histopatologicznych. Grupa badana została podzielona na dwie grupy, grupę z aktywnym wzjg, obejmującą 20 dzieci oraz grupę z wzjg w remisji, liczącą 18 pacjentów. Grupy porównawcze stanowiły dzieci z aktywnym niespecyficznym zapaleniem jelita grubego i nzjg w remisji, natomiast grupę kontrolną dzieci zdrowe, bez dolegliwości ze strony przewodu pokarmowego, liczące po 14 pacjentów każda. Grupy badane, porównawcze i kontrolna nie różniły się znamienne między sobą w zakresie wieku pacjentów, płci oraz czasu trwania choroby.

Surowica i stolec w celu oznaczenia badanych interleukin pobierane były trzykrotnie w trakcie trwania badania. U pacjentów z aktywnym wzjg pobierano materiał do badań

w momencie postawienia diagnozy, następnie po upływie 4 i 12 tygodni leczenia, natomiast u pacjentów z wzjg w remisji w momencie włączenia do badań oraz w trakcie wizyt kontrolnych po 4 i 8 miesiącach. Oceniając aktywność wzjg, oceniono nasilenie choroby wg skali klinicznej Truelove–Wittsa oraz zaawansowanie zmian endoskopowych i histopatologicznych w obrębie jelita grubego. Stężenia badanych interleukin oznaczane były w surowicy i supernatantach wytworzonych ze stolca metodą ELISA, przy pomocy zestawów Quantikine firmy R&D Systems, USA.

Stężenia IL-1 β , IL-1ra oraz IL-6 u pacjentów z wzjg osiągały znacznie wyższe wartości w stolcu niż w surowicy. W grupie pacjentów z aktywnym wzjg, stężenia badanych interleukin osiągały wyższe wartości w surowicy i stolcu w porównaniu do grupy z wzjg w remisji. W trakcie leczenia dochodziło do stopniowego obniżania się tych wartości. Natomiast w grupie pacjentów z wzjg w remisji, stężenia badanych interleukin utrzymywały się na niezmiennym poziomie przez cały okres badań. Stężenia IL-1 β w surowicy obniżały się szybciej w trakcie leczenia niż stężenia IL-1ra w aktywnym wzjg. W trakcie remisji wzjg stężenia IL-1 β w surowicy utrzymywały się na wyższym poziomie niż u dzieci zdrowych, natomiast poziom IL-1ra nie odbiegał od wartości obserwowanych w grupie zdrowej. Stężenia IL-1 β i IL-1ra w stolcu w aktywnym wzjg wykazywały korelację z aktywnością kliniczną ($R=0,44$; $p<0,05$) i ($R=0,44$; $p<0,05$), endoskopową ($R=0,56$; $p<0,01$) i ($R=0,44$; $p<0,05$) oraz histopatologiczną ($R=0,53$; $p<0,01$) i ($R=0,71$; $p<0,05$) wzjg. W surowicy poziom IL-1ra korelował z aktywnością kliniczną ($R=0,43$; $p<0,05$), endoskopową ($R=0,52$; $p<0,05$) i histopatologiczną ($R=0,46$; $p<0,05$) wzjg, natomiast poziom IL-1 β wykazywał korelacje tylko z aktywnością endoskopową ($R=0,38$; $p<0,05$) i histopatologiczną ($R=0,51$; $p<0,05$) wzjg. Współczynnik IL-1ra / IL-1 β w stolcu osiągał niskie wartości w aktywnym wzjg, które zwiększały się w trakcie leczenia. Wykazywał także negatywną korelację z aktywnością endoskopową i histopatologiczną wzjg ($R= - 0,52$; $p<0,05$) i ($R= - 0,51$; $p<0,05$). Stężenia IL-6 w surowicy korelowały z aktywnością endoskopową i histopatologiczną wzjg ($R=0,40$; $p<0,05$) i ($R=0,37$; $p<0,05$), nie wykazywały natomiast korelacji z aktywnością kliniczną wzjg. Zmiany stężeń IL-1 β i IL-1ra w stolcu, lepiej niż w surowicy odzwierciedlały zmiany aktywności wzjg, w przeciwieństwie do IL-6, której stężenia w stolcu nie wykazywały korelacji z aktywnością wzjg.

Wyniki obecnych badań potwierdzają wysuwane wcześniej sugestie, dotyczące możliwości wykorzystania oznaczania mediatorów zapalnych jako markerów stanu zapalnego

i zaawansowania wrzodziejącego zapalenia jelita grubego. Zwłaszcza wyniki badań dotyczące oceny IL-1 β i IL-1ra w stolcu oraz nieinwazyjność badań stolca stanowią zachętę do dalszych prac w tym kierunku.

IX. Spis tabel

Tabela 1. Zmodyfikowana skala aktywności klinicznej Truelove - Wittsa.....	str.26.
Tabela 2. Skala endoskopowa Rotha	str.27.
Tabela 3. Skala histopatologiczna	str.28.
Tabela 4. Charakterystyka grup	str.33.
Tabela 5. Leczenie dietetyczne pacjentów grupy I.....	str.34.
Tabela 6. Leczenie farmakologiczne pacjentów grupy I.....	str.34.
Tabela 7. Leczenie dietetyczne pacjentów grupy II	str.35.
Tabela 8. Leczenie farmakologiczne pacjentów grupy II.....	str.35.
Tabela 9. Leczenie dietetyczne pacjentów grup porównawczych i grupy kontrolnej.....	str.36.
Tabela 10. Leczenie farmakologiczne pacjentów grup porównawczych i grupy kontrolnej.....	str.36.
Tabela 11. Aktywność kliniczna wrzodziejącego zapalenia jelita grubego wg skali Truelove – Wittsa u pacjentów grupy I.....	str.37.
Tabela 12. Aktywność endoskopowa i histopatologiczna wrzodziejącego zapalenia jelita grubego u pacjentów grupy I.....	str.38.
Tabela 13. Aktywność endoskopowa i histopatologiczna wrzodziejącego zapalenia jelita grubego u pacjentów grupy II.....	str.38.

X. Spis rycin

- Rycina 1. Stężenia IL-1 β w surowicy w grupie I, grupie II, grupach porównawczych i kontrolnej str. 40.
- Rycina 2. Korelacja stężeń IL-1 β w surowicy w grupie I z aktywnością wzjg, ocenianą wg skali endoskopowej i histopatologicznej str. 41.
- Rycina 3. Korelacja stężeń IL-1 β w surowicy w grupie II z aktywnością wzjg, ocenianą wg skali endoskopowej str. 41.
- Rycina 4. Stężenia IL-1 β w stolcu w grupie I, grupie II, grupach porównawczych i kontrolnej str. 43.
- Rycina 5. Korelacja stężeń IL-1 β w stolcu w grupie I z aktywnością wzjg, ocenianą wg skali Truelove – Wittsa, endoskopowej i histopatologicznej..... str. 44.
- Rycina 6. Współczynnik stężeń IL-1 β w stolcu / IL-1 β w surowicy w grupie I, grupie II, grupach porównawczych i kontrolnej..... str. 46.
- Rycina 7. Stężenia IL-1 α w surowicy w grupie I, grupie II, grupach porównawczych i kontrolnej str. 48.
- Rycina 8. Korelacja stężeń IL-1 α w surowicy w grupie I z aktywnością wzjg, ocenianą wg skali Truelove – Wittsa, endoskopowej i histopatologicznej..... str. 49.
- Rycina 9. Stężenia IL-1 α w stolcu w grupie I, grupie II, grupach porównawczych i kontrolnej str. 51.
- Rycina 10. Korelacja stężeń IL-1 α w stolcu w grupie I z aktywnością wzjg, ocenianą wg skali Truelove – Wittsa, endoskopowej i histopatologicznej..... str. 52.
- Rycina 11. Współczynnik stężeń IL-1 α w stolcu / IL-1 α w surowicy w grupie I, grupie II, grupach porównawczych i kontrolnej..... str. 53.

- Rycina 12. Współczynnik IL-1ra / IL-1 β w surowicy w grupie I, grupie II, grupach porównawczych i kontrolnej..... str. 55.
- Rycina 13. Współczynnik IL-1ra / IL-1 β w stolcu w grupie I, grupie II, grupach porównawczych i kontrolnej..... str. 57.
- Rycina 14. Korelacja współczynnika IL-1ra / IL-1 β w stolcu w grupie I z aktywnością wzjg, ocenianą wg skali endoskopowej i histopatologicznej str. 58.
- Rycina 15. Stosunek współczynnika IL-1ra / IL-1 β w stolcu do IL-1ra / IL-1 β w surowicy w grupie I, grupie II, grupach porównawczych i kontrolnej str. 59.
- Rycina 16. Stężenia IL-6 w surowicy w grupie I, grupie II, grupach porównawczych i kontrolnej str. 61.
- Rycina 17. Korelacja stężeń IL-6 w surowicy w grupie I z aktywnością wzjg, ocenianą wg skali endoskopowej i histopatologicznej str. 62.
- Rycina 18. Stężenia IL-6 w stolcu w grupie I, grupie II, grupach porównawczych i kontrolnej str. 63.
- Rycina 19. Współczynnik stężeń IL-6 w stolcu / IL-6 w surowicy w grupie I, grupie II, grupach porównawczych i kontrolnej..... str. 64.

XI. Piśmiennictwo

1. Langholz E, Munkholm P, Nielsen OH, Kreiner S, Binder V: Incidence and prevalence of ulcerative colitis in Copenhagen County from 1962 to 1987. *Scand J Gastroenterol.* 1991; 26: 1247-56.
2. Slewenius J, Adnerhill J, Ekelund G, Floren GH, Fork FT, Janzon L, Linstrom C: Ulcerative colitis and indeterminate colitis in the city of Malmö, Sweden. a 25 year incidence study. *Scand J Gastroenterol.* 1995; 30(1): 38-43.
3. Haug K, Schrumpf E, Barstad S: Epidemiology of ulcerative colitis in western Norway. *Scand J Gastroenterol* 1988; 23: 517-522.
4. Radhakrishnan S, Zubaidi G, Daniel M, Sachdev GK, Mohan AN: Ulcerative colitis in Oman. a prospective study of the incidence and disease pattern from 1987 to 1994. *Digestion.* 1997; 58(3): 266-70.
5. Sola-Langlia R, Garcia-Puges AM, Mones-Xioly B, Badosa-Gallant C: Chronic inflammatory intestinal disease in Catalonia (Barcelona i Gerona). *Rev Esp Enferm Dig.* 1992; 81(1): 7-14.
6. Martines-Salmeron JF, Rodrigo M, de Teresa J: Epidemiology of inflammatory bowel disease in the province of Granada, Spain: a retrospective study from 1979 to 1988. *Gut* 1993; 34: 1207-1209.
7. Tragnone A, Hanau C, Bazzocchi G: Epidemiological characteristics of inflammatory bowel disease in Bologna, Italy – incidence and risk factors. *Digestion* 1993; 54: 183-188.
8. Ekblom A, Helmick C, Zack M, Adami HO: The epidemiology of inflammatory bowel disease: a large population-based study in Sweden. *Gastroenterology* 1991; 100: 350-358.
9. Berner J, Kiaer J: Ulcerative colitis and Crohn's disease on the Faroe Islands, 1964-1983, a retrospective epidemiological study. *Scand J Gastroenterol* 1986; 21: 188-192.

10. Sonnenberg A, McCarty DJ, Jacobsen SJ: Geographic variation of inflammatory bowel disease within the United States. *Gastroenterology* 1991; 100: 143-9.
11. Odes HS, Fraser D, Krawiec J: Ulcerative colitis in the Jewish population of Southern Israel 1961-1985: epidemiological and clinical study. *Gut* 1987; 28: 1630-1636.
12. Chang DK, Lee KL, Kim JG, Kim YT, June HC, Song IS, Choi KW, Kim CY, Park JG, Rhee PL, Choi SW: Follow up of ulcerative colitis. Short term outcome to medical treatment and relapse rates. *Kor J Gastroenterol.* 1994; 26(6): 907-918.
13. Stow SP, Redmont SR, Stormont JM: An epidemiological study of inflammatory bowel disease in Rochester, New York, hospital incidence. *Gastroenterology* 1993; 98: 104-110.
14. Langholz E, Munkholm P, Krasilnikoff PA, Binder V: Inflammatory bowel diseases with onset in childhood. Clinical features, morbidity and mortality in a regional cohort. *Scand J Gastroenterol.* 1997; 32(2): 139-47.
15. Ferguson A: Assessment and management of ulcerative colitis in children. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 1997; 9(9): 858-63.
16. Hildebrand H, Fredrikzon B, Holmquist L, Kristiansson B, Lindquist B: Chronic inflammatory bowel disease in children and adolescents in Sweden. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1991; 13(3): 293-7.
17. Gryboski J: Crohn's disease in children 10 years old and younger: Comparison with ulcerative colitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1994; 18: 174-182.
18. Hildebrand H, Karlberg J, Kristiansson B: Longitudinal growth in children and adolescents with inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1994; 18: 165-173.
19. Motil KJ, Grand RJ, Davis-Kraft L: Growth failure in children with inflammatory bowel disease: a prospective study. *Gastroenterology* 1993; 105: 681.
20. Kocoshis S.A., Gartner JC Jr, Gaffney PC, Gryboski JD: Thrombocytopenia in ulcerative colitis. *J Pediatr* 1979; 95: 83-4.
21. Lindsley CB, Schaler JG: Arthritis associated with inflammatory bowel disease. *J Pediatr* 1974; 84: 16.
22. Monson U, Sorstad J, Hellers G: Extracolonic diagnosis in ulcerative colitis: An epidemiological study. *Am J Gastroenterol* 1990; 85: 711-716.
23. 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: 906-10.
24. Hyams JS: Extraintestinal manifestations of inflammatory bowel disease in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1994; 19: 7-21.

25. Compston JE, Judd D, Crawley EO: Osteoporosis in patients with inflammatory bowel disease. *Gut* 1987; 28: 410-5.
26. Werlin SL, Grand RJ: Severe colitis in children and adolescents: Diagnosis, course and treatment. *Gastroenterology* 1977; 73: 828
27. Collins RH, Feldman M, Fordtran JS: Colon cancer, dysplasia and surveillance in patients with ulcerative colitis. *N Engl J Med.* 1987; 316: 1654.
28. Satsangi J, Jewell DP, Rosenberg WMC, Bell JI: Genetics of inflammatory bowel disease. *Gut* 1994; 35: 696-700.
29. Satsangi J, Welsh KI, Bunce M: Contribution of genes of the major histocompatibility complex to susceptibility and disease phenotype in inflammatory bowel disease. *Lancet* 1996; 347: 1212-17.
30. Yang H, Rotter JI, Toyoda H: Ulcerative colitis: a genetically heterogeneous disorder defined by genetic (HLA class II) and subclinical (antineutrophil cytoplasmic antibodies) markers. *J Clin Invest* 1993; 92: 1080-84.
31. Satsangi J, Parkes M, Louis E: Two-stage genome-wide search in inflammatory bowel disease: evidence for susceptibility loci on chromosomes 3, 7 and 12. *Nature Genet* 1996; 14: 199-202.
32. Jewell DP: Susceptibility genes for IBD. Falk Symposium No 111: IBD at the End of its First Century. 19-20 czerwiec 1999. Freiburg, Niemcy. Materiały zjazdowe.
33. Parkes M, Satsangi J, Lathrop GM, Jewell DP: Fine mapping the IBD linkages on chromosomes 3 and 12. Falk Symposium No 111: IBD at the End of its First Century. 19-20 czerwiec 1999. Freiburg, Niemcy. Materiały zjazdowe.
34. Mansfield JC, Holden H, Tarlow JK: Novel genetic association between ulcerative colitis and the anti-inflammatory cytokine interleukin-1 receptor antagonist. *Gastroenterology* 1994; 106: 637-642.
35. Plevy SE, Targan SR, Rotter JI: Tumor necrosis factor (TNF) microsatellite associations within HLA-DR₂⁺ patients define Crohn's disease (CD) and ulcerative colitis (UC) – specific genotypes. *Gastroenterology* 1994; 106: A754.
36. Yang H, Vora D, Targan S: Genetic heterogeneity within UC and Crohn's defined by antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) and intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) polymorphisms. *Gastroenterology* 1994; 106: A794.
37. Elmgreen J, Sorensen W, Berkowica A: Polymorphism of complement C3 in chronic inflammatory bowel disease. *Acta Med. Scand* 1994; 215: 375-8.
38. Tysk C, Riedesel H, Lindberg E: Colonic glycoproteins in monozygotic twins with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1991; 100: 419-23.

39. Desreumaux P, Huet G, Sansonetti P, Bisiaux C, Cortot A, Colombel JF: Mucins protect intestinal epithelial cells against bacterial infection. Falk Symposium No 111: IBD at the End of its First Century. 19-20 czerwiec 1999. Freiburg, Niemcy. Materiały zjazdowe.
40. Else KJ, Finkelman FD, Maliszewski CR: Cytokine-mediated regulation of chronic intestinal helminth infection. *J Exp Med.* 1994; 179: 347-51.
41. Pullan RD, Thomas GAO, Rhodes M: Thickness of adherent mucus gel on colonic mucosa in humans and its relevance to colitis. *Gut* 1994; 35: 353-9.
42. McCormick DA, Horton LW, Mee AS: Mucin depletion in inflammatory bowel disease. *J Clin Pathol* 1990; 43: 143-6.
43. Tętnowski J, Bogdał J, Skulina D, Szulewski P, Stachura J: Badania składu śluzu we wrzodziejącym zapaleniu jelita grubego. *Gastroent. Pol.* 1996; 3; 64.
44. Rhodes JM: Colonic mucus and mucosal glycoproteins: The key to colitis and cancer? *Gut* 1989; 30: 1660-6.
45. Ekblom A, Adami H, Helmick CG: Perinatal risk factors for inflammatory bowel disease: a case controlled study. *Am J Epidemiol* 1990; 132: 1111-19.
46. Kangro H, Chang S, Hardiman A: a prospective study of viral and mycoplasma infection in chronic inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1990; 98: 548.
47. Smith MSH, Sawyerr AM, Sim R: The distribution of herpes virus DNA within the gastrointestinal tract in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1994; 106: A775.
48. Roediger WE, Duncan A, Kapaniris O: Reducing sulfur compounds of the colon impair colonocyte nutrition: Implications for ulcerative colitis. *Gastroenterology* 1993; 104: 802-9.
49. Chapman MA, Grahn MF, Boyle MA: Butyrate oxidation is impaired in the colonic mucosa of sufferers of quiescent ulcerative colitis. *Gut* 1994; 35: 73-6.
50. Shanahan F: Pathogenesis of ulcerative colitis. *Lancet* 1993; 342: 407-11.
51. Cambridge G, Rampton DS., Stevens TR, McCarthy DAA, Kamm M, Leaker B: Anti-neutrophil antibodies in inflammatory bowel disease: prevalence and diagnostic role. *Gut* 1992; 33: 668-74.
52. Seibold F, Weber P, Klein R, Berg PA, Wiedmann KH: Clinical significance of antibodies against neutrophils in patients with inflammatory bowel disease and primary sclerosing cholangitis. *Gut* 1992; 33: 657-662.
53. Shanahan F, Neutrophil autoantibodies in inflammatory bowel disease: Are they important? *Gastroenterology* 1994; 107: 576-89.
54. Shanahan F, Duerr R, Rotter JI: Neutrophil auto-antibodies in ulcerative colitis: Familial aggregation and genetic heterogeneity. *Gastroenterology* 1994; 103: 456-61.

-
55. Seibold F, Slametschka D, Gregor M: Neutrophil autoantibodies: a genetic marker in primary sclerosing cholangitis and ulcerative colitis. *Gastroenterology* 1994; 107: 532-6.
56. Fiocchi C, Roche JK, Michener WM: High prevalence of antibodies to intestinal epithelial antigens in patients with inflammatory bowel disease and their relatives. *Ann Int Med.* 1989; 110: 786-94.
57. Das KM, Dasgupta A, Mandal A: Autoimmunity to cytoskeletal protein tropomyosin. a clue to the pathogenetic mechanism for ulcerative colitis. *J Immunol* 1993; 150: 2487-93.
58. Halstensen TS, Das KM, Brandtzaeg P: Epithelial deposits of immunoglobulin G1 and activated complement colocalise with the M(r) 40 KD putative autoantigen in ulcerative colitis. *Gut* 1993; 34: 650-7.
59. Hibi T, Ohara M, Kobayashi K: Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) and immunoprecipitation studies on anti-goblet cell antibody using a mucin producing cell line in patients with inflammatory bowel disease. *Gut* 1994; 35: 224-30.
60. Berberian LS, Valles-Ayoub Y, Gordon LK, Targan SR, Braun J: Expression of a novel autoantibody defined by the V_H3-15 gene in inflammatory bowel disease and *Campylobacter jejuni* enterocolitis. *J Immunol* 1994; 153: 3756-63.
61. Bjarnason I, Macpherson AJS, Teahon K: Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and inflammatory bowel disease. *Can J Gastroenterol* 1993; 7: 160-9.
62. Dinarello CA: Interleukin-1 and interleukin-1 antagonism. *Blood* 1991; 77: 1627-52.
63. Colgan SP, Parkos CA, Dep C: Neutrophil migration across cultured intestinal epithelial monolayers is modulated by epithelial exposure to IFN-gamma in a highly polarized fashion. *J Cell Biol* 1992; 120: 785-98.
64. Madara JL, Stafford J: Interferon-gamma directly affects barrier function of cultured intestinal epithelial monolayers. *J Clin Invest* 1989; 83: 724-7.
65. MacDonald TT, Spencer J: Evidence that activated mucosal T cells play a role in the pathogenesis of enteropathy in human small intestine. *J Exp Med.* 1988; 167: 1341-9.
66. Kandil HM, Berschneider HM, Argenzio RA: Tumour necrosis factor α changes porcine intestinal ion transport through a paracrine mechanism involving prostaglandins. *Gut* 1994; 35: 934-40.
67. Bern MJ, Sturbaum CW, Karayalcin SS: Immune system control of rat and rabbit colonic electrolyte transport. *J Clin Invest* 1989; 83: 1810-20.
68. Ciancio MJ, Dhar A, Chang EB: Endotoxin-induced alterations in rat colonic water and electrolyte transport. *Gastroenterology* 1992; 103: 1437-43.

-
69. Wilson KT, Xie Y, Musch MW: Sodium nitroprusside stimulates anion secretion and inhibits sodium and chloride absorption in rat colon. *J Pharmacol Exp Ther* 1993; 266: 224-30.
70. Fargeas MJ, Fioramonti J, Bueno L: Central action of interleukin 1 β on intestinal motility in rats: Mediation by two mechanisms. *Gastroenterology* 1993; 104: 377-83.
71. Hurst SM, Stanisiz AM, Sharkey KA: Interleukin 1 β -induced increase in substance P in rat myenteric plexus. *Gastroenterology* 1993; 105: 1754-60.
72. Main C, Blennerhassett P, Collins SM: Human recombinant Interleukin 1 β supresses acetylcholine release from rat myenteric plexus. *Gastroenterology* 1993; 104: 1648-54.
73. Mosmann TR, Coffman RL: TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Ann Rev Immunol* 1989; 7: 145-73.
74. Maggi E, Parronchi P, Manetti R: Reciprocal regulatory effects of IFN-gamma and IL-4 on the in vitro development of human Th1 and Th2 clones. *J Immunol* 1992; 148: 2142-47.
75. Crown J, Jakubowski A, Gabilove J: Interleukin 1: biological effects in human hematopoiesis. *Leuk Lymph* 1993; 9: 433-40.
76. Dripps DJ, Brandhuber BJ, Thompson RC, Eisenberg SP: Interleukin-1 (IL-1) receptor antagonist binds to the 80-kDa IL-1 receptor, but does not initiate IL-1 signal transduction. *J Biol Chem* 1991; 266: 10331-36.
77. Granowitz E, Clark BD, Mancilla J, Dinarello CA: Interleukin-1 receptor antagonist competitively inhibits the binding of interleukin-1 to the type II interleukin-1 receptor. *J Biol Chem* 1991; 266: 14147-50.
78. Van Snick J: Interleukin 6, an overview. *Ann Rev Immunol* 1990; 8: 253-78.
79. Elias JA: Interleukin 6: on target for disease and approaching the bedside. *J Lab Clin Med.* 1992; 120: 672-74.
80. Borden EC, Chin P: Interleukin 6: a cytokine with potential diagnostic and therapeutic roles. *J Lab Clin Med.* 1994; 123: 824-29.
81. Houssian F, van Snick J: IL-6 and T-cell response. *Res Immunol* 1992; 143: 740-43.
82. Gauldie J, Richards C, Baumann H: IL-6 and the acute phase reaction. *Res Immunol* 1992; 143: 755-59.
83. Mullin GE, Lazenby AJ, Harris ML: Increased interleukin-2 messenger RNA in the intestinal mucosal lesions of Crohn's disease but not ulcerative colitis. *Gastroenterology* 1992; 102: 1620-7.

84. Zeidler C, Kanz L, Hurkuck F, Kittmann KL, Wildfang, Kadoya T, Mikayama T, Souza L, Welte K: *In vivo* effects of interleukin 6 on thrombopoiesis in healthy and irradiated primates. *Blood* 1992; 80: 2740-45.
85. Kishimoto T: The biology of interleukin 6. *Blood* 1989; 74: 1-10.
86. Ogawa M: IL-6 and haematopoietic stem cells. *Res Immunol* 1992; 143: 749-51.
87. Dinarello CA, Wolff SM: The role of interleukin-1 in disease. *N Engl J Med.* 1993; 328: 106-113.
88. Chester JF, Ross JS, Malt RA: Acute colitis produced by chemotactic peptides in rats and mice. *Am J Pathol* 1985; 121: 284-90.
89. Youngman KR, Simon PL, West GA: Localization of intestinal interleukin-1 activity and protein and gene expression to lamina propria cells. *Gastroenterology* 1993; 104: 749-58.
90. Yamada T, Sartor RB, Marshall S: Mucosal injury and inflammation in a model of chronic granulomatous colitis in rats. *Gastroenterology* 1993; 104: 759-771.
91. Cominelli F, Kam L, Casini-Raggi V: Specific mucosal imbalance of IL-1 and IL-1 receptor antagonist (IL-1ra) in IBD: a potential mechanism of chronic inflammation. *Gastroenterology* 1994; 106: A667.
92. Isaacs KL, Sartor RB, Haskill S: Cytokine messenger RNA profiles in inflammatory bowel disease mucosa detected by polymerase chain reaction amplification. *Gastroenterology* 1992; 103: 1587-95.
93. Breese E, Braegger CP, Corrigan CJ: Interleukin-2 and interferon-gamma-secreting T cells in normal and diseased human intestinal mucosa. *Immunology* 1993; 78: 127-31.
94. Mullin GE, Vezza FR, Sampat A: Abnormal IL-10 mRNA production in the intestinal mucosal lesions of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1993; 104: A751.
95. Mahida YR, Wu K, Jewell DP: Enhanced production of interleukin 1 β by mononuclear cells isolated from mucosa with active ulcerative colitis or Crohn's disease. *Gut* 1989; 30: 835-38.
96. Mitsuyama K, Sata M, Tanikawa K: Significance of interleukin-6 in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Jap* 1991; 26: 20-28.
97. Lobo A, Evans S, Jones S: Plasma interleukin-6 in inflammatory bowel disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1992; 4: 367-72.
98. Murch SH, Braegger CP, Walker SJ, Mac DT: Location of tumor necrosis factor alpha by immunohistochemistry in chronic inflammatory bowel disease. *Gut* 1993; 34: 1705-9.
99. Stevens C, Walz G, Singaram C: Tumor necrosis factor-alpha, interleukin 1-beta, and interleukin-6 expression in inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci* 1992; 37: 818-26.

-
100. Reinecker HC, Loh E, Ringler D, Mehta A, Rombeau J, MacDermott R: Monocyte-chemoattractant protein 1 gene expression in intestinal epithelial cells and inflammatory bowel disease mucosa. *Gastroenterology* 1995; 108: 40-50.
101. Truelove SC, Witts LJ: Cortisone in ulcerative colitis: final report on a therapeutic trial. *Br Med. J* 1955; 2: 1041-1048.
102. Ryżko J, Woynarowski M: Zastosowanie skali punktowej w ocenie aktywności choroby Leśniowskiego-Crohna i wrzodziejącego zapalenia jelita grubego u dzieci. *Pediatr Pol* 1995; 70 (7): 585-9.
103. Ryżko J, Woynarowski M; Ocena przebiegu nieswoistych zapaleń jelit u dzieci według systemu punktowego. *Pediatr Pol* 1995; 70 (7): 569-73.
104. Ryżko J, Socha P, Zujko P: Ocena stanu odżywienia u dzieci z nieswoistymi zapaleniami jelit. *Pediatr Pol* 1991; 66 supl 1-2: 112-119.
105. Roth JLA. Ulcerative colitis. W: Bockus HL: *Gastroenterology*, 3rd edition, Volume 2, Philadelphia. WB Saunders 1976; 645-749.
106. Nostrant TT, Kumar NB, Appelman HD: Histopathology differentiates acute self – limited colitis from ulcerative colitis. *Gastroenterology* 1987; 92: 318-28.
107. Cuvelier C, Barbatis C, Mielants H, De Vos M, Roels H, Veys A: Histopathology of intestinal inflammation related to reactive arthritis. *Gut* 1987; 28: 394-401.
108. Quantikine HS Human IL-1 β Immunoassay. Cat.No. HSLB50. R&D Systems, USA. Ulotka producenta.
109. Quantikine Human IL-1 α Immunoassay. Cat.No. DRA00. R&D Systems, USA. Ulotka producenta.
110. Quantikine HS Human IL-6 Immunoassay. Cat.No. HS600. R&D Systems, USA. Ulotka producenta.
111. Nicholls S, Stephens S, Braegger CP, Walker-Smith JA, MacDonald TT: Cytokines in stools of children with inflammatory bowel disease or infective diarrhoea. *J Clin Pathol* 1993; 46: 757-760.
112. Raqib R, Wretling B, Andersson J, Lindberg AA: Cytokine secretion in acute shigellosis is correlated to disease activity and directed more to stool than to plasma. *J Infect Dis* 1995; 171: 376-84.
113. Kelly DG, Fleming CR: Nutritional considerations in inflammatory bowel diseases. W: Peppercorn M: *Gastroenterology Clinics of North America: Inflammatory bowel disease*. Vol 24 (3), Philadelphia, WB Saunders 1995; 597-612.

-
114. Hanauer SB: Therapy for acute and severe ulcerative colitis. Falk Symposium No 111: IBD at the End of its First Century. 19-20 czerwiec 1999. Freiburg, Niemcy. Materiały zjazdowe.
115. Griffin MG, Miner PB: Conventional drug therapy in inflammatory bowel disease. W: Peppercorn M: Gastroenterology Clinics of North America: Inflammatory bowel disease. Vol 24 (3), Philadelphia, WB Saunders 1995; 509-522.
116. Marion JF, Present DH: Nowoczesne zachowawcze metody leczenia ciężkich rzutów wrzodziejącego zapalenia jelita grubego. Eur J Gastroenterol Hepatol. Wydanie Polskie. 1998; 1 (10): 2-5.
117. Ardizzone S, Molteni P, Bollani S, Porro GB: Leczenie wrzodziejącego zapalenia jelita grubego w okresie remisji. Eur J Gastroenterol Hepatol. Wydanie Polskie. 1998; 1 (10): 6-11.
118. Hsueh W, Gonzalez-Crussi F, Arroyave JL: Platelet-activating factor: An endogenous mediator for bowel necrosis in endotoxemia. FASEB J 1987; 1; 403-5.
119. Sartor RB, Cromartie WJ, Powell DW: Granulomatous enterocolitis induced in rats by purified bacterial cell wall fragments. Gastroenterology 1985; 89: 587-95.
120. McCall RD, Haskill S, Zimmerman E: Tissue IL-1 and IL-1 receptor antagonist expression in enterocolitis in resistant and susceptible rats. Gastroenterology 1994; 106: 960-72.
121. Sartor RB: Cytokines in intestinal inflammation: Pathophysiological and clinical considerations. Gastroenterology 1994; 106: 533-9.
122. Herfarth HH, Sartor RB: Cytokine regulation of experimental intestinal inflammation. Curr Opin Gastroenterol 1994; 10: 625-32.
123. Schreiber S, Heinig T, Theile HG: Immunoregulatory role of IL-10 in patients with inflammatory bowel disease. Gastroenterology 1995; 108: 1434-44.
124. Mahida YR, Lamming CED, Gallagher A, Hawthorne AB, Hawkey CJ: 5-aminosalicylic acid is a potent inhibitor of interleukin 1 β production in organ culture of colonic biopsy specimens from patients with inflammatory bowel disease. Gut 1991; 32: 50-54.
125. Kern JA, Lamb RJ, Reed JC, Daniele RP, Nowell PC: Dexamethasone inhibition of interleukin 1 beta production by human monocytes. Post-transcriptional mechanisms. J Clin Invest 1988; 81: 237-44.
126. Ligumsky M, Simon PL, Karmeli F, Rachmilewitz D: Role of interleukin 1 in inflammatory bowel disease – enhanced production during active disease. Gut 1990; 31: 686-689.
127. Woloski BM, Smith EM, Meyer WL, Fuller GM, Blalock JE: Corticotropin-releasing activity of monokines. Science 1985; 230: 1035-7.

128. Nakamura M, Saito H, Tamura Y, Yoshida S: Cytokine production in patients with inflammatory bowel disease. *Gut* 1992; 33: 933-937.
129. Gionchetti P, Campieri M, Belluzzi A, Tampieri M, Bertinelli E, Brignola C, Ferretti M, Boni P, Iannone P, Miglioli M, Barbara L: Interleukin 1 β (IL-1 β) release from fresh and cultured colonic mucosa in patients with ulcerative colitis. *Agents Actions* 1992; Special Conference Issue: C50-52.
130. Brynskov J, Tvede N, Andersen CB, Vilien M: Increased concentrations of interleukin -1 β , interleukin -2 and soluble interleukin -2 receptors in endoscopical mucosal biopsy specimens with active inflammatory bowel disease. *Gut* 1992; 33: 55-58.
131. Hendel J, Nielsen OH, Madsen S, Brynskov J: a simple filter-paper technique allows detection of mucosal cytokine levels *in vivo* in ulcerative colitis. Interleukin -1 and interleukin -1-receptor antagonist. *Dig Dis Sci* 1996; 41: 1775-79.
132. Troncone R, Caputo N, Cucciardi M, Campanozzi A, Esposito V, De Vizia B, Cucchiara S, Auricchio S: Low IL-1 α / IL-1 β ratio in the gut lavage fluid of children with inflammatory bowel disease. 29th Annual Meeting ESPGAN, Munich 1996. *Materiały zjazdowe*.
133. Troncone R, Caputo N, Campanozzi A, Cucciardi M, Esposito V, Russo R, De Vizia B, Greco L, Cucchiara S: Gut lavage IgG and interleukin 1 receptor antagonist : interleukin 1 beta ratio as markers of intestinal inflammation in children with inflammatory bowel disease. *Gut* 1997; 41(1): 60-5.
134. Guimbaud R, Bertrand V, Chauvelot-Moachon L, Quartier G, Vidon N, Giroud JP, Couturier D, Chaussade S: Network of inflammatory cytokines and correlation with disease activity in ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 1998; 93: 2397-2404.
135. Saiki T, Mitsuyama K, Toyonaga A, Ishida H, Tanikawa K: Detection of pro- and anti-inflammatory cytokines in stools of patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 1998; 33: 616-622.
136. Koutroubakis I, Crusius JBA, Pena AS: Immunogenetics of cytokines. Relevance for future research on inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 1995; 30: 1139-1146.
137. Propst A, Propst T, Herold M, Vogel W, Judmaier G: Interleukin-1 receptor antagonist in differential diagnosis of inflammatory bowel diseases. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1995; 7: 1031-36.
138. MacDermott RP: Alterations in the mucosal immune system in ulcerative colitis and Crohn's disease. *Med Clin North Am* 1994; 78: 1207-31.
139. Nishiyama T, Mitsuyama K, Toyonaga A, Sasaki E, Tanikawa K: Colonic mucosal interleukin 1 receptor antagonist in inflammatory bowel disease. *Digestion* 1994; 55: 368-73.
140. Casini-Raggi V, Kam L, Chong YJT, Fiocchi C, Pizarro TT, Cominelli F: Mucosal imbalance of IL-1 and IL-1 receptor antagonist in inflammatory bowel disease. a novel mechanism of chronic intestinal inflammation. *J Immunol* 1995; 154: 2434-40.

-
141. Hyams JS, Fitzgerald JE, Wyzga N, Muller R, Treem WR, Justinich CJ, Kreutzer DL: Relationship of interleukin-1 receptor antagonist to mucosal inflammation in inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1995; 21: 419-25.
142. Andus T, Daig R, Aschenbrenner E, Lock G, Hollerbach S, Kollinger M, Scholmerich J: Imbalance of the interleukin-1 system in colonic mucosa – association with intestinal inflammation and interleukin 1 receptor antagonist genotype 2. *Gut* 1997; 41: 651-657.
143. Raab Y, Hallgren R, Gerdin B: Enhanced intestinal synthesis of interleukin-6 is related to the disease severity and activity in ulcerative colitis. *Digestion* 1994; 55: 44-49.
144. Niederau C, Backmerhoff F, Schumacher B, Niederau C: Inflammatory mediators and acute phase proteins in patients with Crohn's disease and ulcerative colitis. *Hepatogastroenterology* 1997; 44: 90-107.
145. Mitsuyama K, Toyonaga A, Sasaki E, Ishida O, Ikeda H, Tsuruta O, Harada K, Tateishi H, Nishiyama T, Tanikawa K: Soluble interleukin-6 receptors in inflammatory bowel disease: relation to circulating interleukin-6. *Gut* 1995; 36: 45-49.
146. Holtkamp W, Stollberg T, Reis HE: Serum interleukin-6 is related to disease activity but not disease specificity in inflammatory bowel disease. *J Clin Gastroenterol* 1995; 20: 123-6.
147. Grottrup-Wolfers E, Moeller J, Karbach U, Muller-Lissner S, Endres S: Elevated cell-associated levels of interleukin 1 β and interleukin 6 in inflamed mucosa of inflammatory bowel disease. *Eur J Clin Invest* 1996; 26: 115-22.
148. Mitsuyama K, Sasaki E, Toyonaga A, Ikeda H, Tsuruta O, Irie A, Arima N, Oriishi T, Harada K, Fujisaki K, Sata M, Tanikawa K: Colonic mucosal interleukin-6 in inflammatory bowel disease. *Digestion* 1991; 50: 104-111.
149. Jones S.C., Crabtree JE, Rembacken BJ, Dixon MF, Trejdosiewicz LK, Whicher JT, Axon ATR: Mucosal interleukin-6 secretion in ulcerative colitis. Effects of anti-inflammatory drugs and T-cell stimulation. *Scand J Gastroenterol* 1994; 29: 722-728.
150. Gross V, Andus T, Caesar I, Roth M, Scholmerich J: Evidence for continuous stimulation of interleukin-6 production in Crohn's disease. *Gastroenterology* 1992; 102: 514-519.
151. Arai F, Takahashi T, Furukawa K, Matsushima K, Asakura H: Mucosal expression of interleukin-6 and interleukin-8 messenger RNA in ulcerative colitis and in Crohn's disease. *Dig Dis Sci* 1998; 43: 2071-9.
152. Balzano B, Bove A, Leonardi E, Bevilacqua N, Grande G, Ascierio PA, Castello G: The soluble interleukin-2 receptor as an indicator of clinical evolution in patients with ulcerative colitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1997; 9: 173-7.
153. Mahmud N, McDonald GSA, Kelleher D, Weir DG: Microalbuminuria correlates with intestinal histopathological grading in patients with inflammatory bowel disease. *Gut* 1996; 38: 99-103.

154. Bortoluzzi F, Valentini M, Cernigoi C, Toffoli G, Boiocchio M, Poletti M, Sozzi M, Fornasarig M, Cannizzaro R, Bertolissi E: DNA flow cytometric evaluation of cell cycle distribution in ulcerative colitis: a proposed method for assessing severity of disease. *Gut* 1995; 36: 50-54.

155. Cellier C, Sahnoud T, Froguel E, Adenis A, Belaiche J, Bretagne JF, Florent C, Bouvry M, Mary JY, Modigliani R: Correlations between clinical activity, endoscopic severity and biological parameters in colonic or ileocolonic Crohn's disease. a prospective multicentre study of 121 cases. *Gut* 1994; 35: 231-235.

