

ENDOTOXINOK, CITOKINEK, SZABAD GYÖKÖK SZEREPÉNEK, FARMAKOGENETIKAI ELTÉRÉSEKNEK A VIZSGÁLATA CROHN-BETEGSÉG KEZELÉSÉBEN ÉS AKTIVITÁSÁNAK NYOMON KÖVETÉSÉBEN

BEVEZETÉS

Bár a Crohn-betegség létrejöttét kiváltó közvetlen okok tulajdonképpen napjainkban sem ismertek egyértelműen, erre vonatkozó ismereteink az elmúlt évtizedek folyamán ugrásszerűen növekedtek. A kórkép kialakulásában szerepet játszó tényezők között elsők között *Mycobacterium tuberculosis* infectio kóroki szerepét feltételezték, azonban ezt később elvetették. Alátámasztani látszottak az utóbbi vélekedést a két betegség eltérő morbiditási adatai (Crohn betegszám növekedésével szemben csökkenni látszott a tbc-s esetek száma), valamint az antituberculosus terápia kísérletek sem voltak meggyőzőek. Felmerült még továbbá a *Mycobacterium paratuberculosis*, *Pasteurella pseudotuberculosis*, *Mycobacterium leprae*, *Mycobacterium ulcerans*, *Mycobacterium balnei* szerepe. Számos egyéb kórokozó primer oki jelentőségét is felvetették, így például a *Shigella*, *Proteus*, *E. coli*, *Yersinia*, *Clostridium*, Gram pozitív coccusok, valamint kanyaró vírus szerepét is.

1937-ben jelent meg egy elmélet, amely szerint a terminális ileum a szervezet speciális pontja, amely különféle fertőzésekre az immunháztartás zavara esetén lokális gyulladással válaszol. A mai elképzelések szerint – legalábbis részben – a saját enterális mikroflórával szembeni immuntolerancia elvesztése lehet az egyik kulcstényező.

A későbbiekben a **bakteriális eredet** mellett táplálkozási, ill. egyéb környezeti tényezők vizsgálata felé tolódott a hangsúly. Az elmúlt néhány évtized a Crohn-betegség patomechanizmusával kapcsolatban elsősorban az immunológia és genetikai ismereteink robbanásszerű gyarodását eredményezte. Napjainkban egy komplex szemlélet alapján azt feltételezzük, hogy környezeti (diétás, infektológiai) és genetikai tényezők egymásra hatása befolyásolja e sokszínű kórkép kialakulását. A tápcsatornába bejutó antigének lokális és globális immunválaszt indítanak meg. Ép szervezetben egy regulációs folyamat, down-reguláció biztosítja az immunválasz leállítását olyan szinten, ami nem okoz maradandó károsodást a bélfalban. Ennek a regulációs folyamatnak a károsodása vezet az antigénre adott válasz kóros felerősödésére. A beinduló folyamatok végeredménye a szöveti károsodás.

Az immunrendszer a folyamatban sejtes és szolubilis elemeivel vesz részt. Bonyolult térbeni és időbeni kölcsönhatásra alakul ki az immunválasz. Az autoimmun folyamatokban a major hisztokompatibilitási komplexnek (MHC) központi szerepet tulajdonítanak. Az MHC-I és

MHC-II szerkezeti variációi jellemzik az IBD-ben szenvedő betegeket. Colitis ulcerosában szenvedő betegeknél a HLA-A7, A11, Bw35, Bw52, DQw1, míg Crohn-betegekben a HLA-B12 és DRI variációk jelennek meg.

Az immunpatológiai háttér új megvilágításba helyezte a **bélflóra szerepét**. Egyesek a nem-specifikus immunfolyamatok felerősödésének tulajdonítják a gyulladós folyamatok felerősödését. A T-sejtek működésének zavarára vezethető vissza az egészséges, lokális immunszuppresszió megszűnése, amelynek következménye a krónikus gyulladás kialakulása. A betegség kialakulásában mind a humorális, mind a celluláris immunitás zavarának szerepe lehet. A celluláris **immunitás zavarának** vizsgálata több évtizede folyik. A kutatások során olyan lymphocytákat találtak, amelyek citotoxikus hatásuk voltak a bélnyálkahártya sejteivel szemben. Felismerték, hogy Crohn-betegségben a hiperreaktív T-sejtek apoptosissal szembeni ellenállása okozza a gyulladós folyamatot. A nem-specifikus immunfolyamatok zavarát jelzi a fokozottan működő monocyta-makrophag rendszer és az apoptosis útján történő eliminációs zavaruk.

Újabb eredmény volt a **citokinek** szerepének felismerése. A polimorfonukleáris sejtek és monocyta-makrophágok infiltrálják az intestinális mukozát és felszabadítják a proinflammatorikus citokinek (pl. interleukin 1, -6, -8 és tumor-necrosis faktor alpha). Elsősorban a proinflammatorikus citokinek, azaz az interleukin-1, interleukin-6 és a TNF- α szintjét észlelték emelkedettnek a betegek szöveteiben és vérében egyaránt. A TNF- α , amelyet a monocyta-makrophag sejtek termelnek, az egyik legfontosabb citokin a gyulladós folyamatokban. Multifunkcionális, mivel aktiválja a leukocitákat, indukálja a HLA-II típusú sejt felszíni antigéneket és adhéziós molekulákat, beindítja egyéb citokinek szekréciónak. A Crohn-betegek bélmucosájában a T helper (h) 1 citokinek (pl. interleukin-2, interferon gamma), ezzel szemben ulceratív colitisben a Th-2 típusú citokinek találhatóak meg elsősorban. Crohn-betegségben az IL-4 mRNS-ének, míg colitis ulcerosában az IL-10 mRNS-ének szintjeit írták le emelkedettnek bélnyálkahártyában. Ez a tény különbséget sugall a két betegség immunpatogenezisében.

Az **endotoxinok** vagy a lipopoliszaccharidok a Gram-negatív baktérium sejt fal fő alkotói jelen vannak a gyulladós bélbetegségekből a beteg keringésében, és magyarázatul szolgálnak mind a citokinek, mind a szabadgyökök felszabadulására.

Ma az endotoxinok mérésének jelentősége abban áll, hogy humán intravénás készítmények az FDA USA, ill. az Amerikai- és Európai Gyógyszerkönyvek által előírtak szerint, ne léphessenek túl egy megadott endotoxin koncentráció határt. Ezen határok nagyságrendekkel alatta lehetnek azon értékeknek, melyek különböző ivóvíz bázisokból

származó vizek vizsgálatánál jelentkeznek. Mivel az elfogadott elmélet szerint, intact gyomor-bél traktusból az endotoxin felszívódása nem történik meg egyáltalán, vagy olyan mértékben, hogy az a fiziológiás folyamatokat befolyásolja, így a táplálékkal (ivóvízzel) bevitt endotoxin mennyiségnek vajmi kevés jelentőséget tulajdonítanak. Ezért nem is léteznek eredmények amelyek ez irányban valódi tájékoztatást adhatnának. Sok esetben ezeknél a méréseknél már technikai problémák jelentkeznek, így speciális eljárásokat kell igénybevenni (hőinaktiválás, speciális hígítás, mérés technika, stb.).

Teljes humán vérből, plazmából, vagy szérumból történő endotoxin meghatározás a mai napig nem rutin feladat. A vér számos alkotó eleme erős gátló hatást fejt ki a mérésben szerepet játszó enzimreakciókra. Így ma sem igazán ismeretes az az endotoxin koncentráció tartomány, amely egy átlag, egészséges populációt jellemez. Ez ma kb. 25-30 pg LPS/ml-re tehető (Human Fever Threshold). Nyulaknál érzékenységtől függően 50-350 pg LPS/ml.

Az endotoxinok mérés technikai szempontból két, standardizált módszer szerint mérhetők: az in vivo, ún. nyúl teszttel, ill. az in vitro LAL teszttel, annak különböző technikai változataival. Sajnos a LAL módszerek érzékenysége, bár más tekintetben kiválóak, annyira a szükséges mérési határon mozognak a vérminták esetében, hogy azok csak „kiemelkedően” magas endotoxin koncentrációk esetében adhatnak szignifikáns eredményt.

A Crohn-betegség **komplex kezelést** igényel, amelyben alábbiak a terápiás lehetőségeink.

Szulfaszalazin, 5-aminoszalicilsav: A betegség kezelésében évtizedek óta használt gyulladás gátló szulfaszalazin immunmoduláns hatással rendelkezik. A lymphocyták, a killer-sejtek, az epithelialis sejtek funkcióját módosítja. Napi 4-5 g dózisban alkalmazva hatásosnak bizonyult.

Kortikoszteroidok: Az akut szakban 1 mg/ttkg dózisban adva a vizsgálatok szerint 92 %-os remissziós ráta érhető el hét hét kezelés mellett.

A purin analógok (azathioprin, 6-merkaptopurin) adásának elméleti alapját a lymphocyta válaszra kifejtett hatása, a killer- és plazmasejt válasz elnyomása adja. Tartós alkalmazása megfelelő dózisban elengedhetetlen. Hatásának kialakulásához idő szükségeltetik, így az aktív szakban a remisszió elérésében szerepe másodlagos.

TNF- α antitest: 5 mg/ttkg dózisban a fistulák mintegy 50 %-a záródik, a teljes remisszió pedig 45 %-os alkalmazása mellett.

Antibiotikumok: Elsősorban metronidazol és fluorokinolonok adása jön szóba. Megfelelő dózisban és tartósan adva jó hatásúak lehetnek a remisszió elérésében és a fistulák záródásában (elsősorban a metronidazol nagy dózisban).

Enteralis táplálás: Bevezetésének alapja az a felismerés volt, hogy a parenterális táplálás mellett a bélmucosa atrophija alakul ki. A jejunális táplálás bevezetésének elméletét az a párhuzam adta meg, amit az akut pancreatitishez társuló bélmukóza barrier funkciójának károsodása és a gyulladós bélfal mukóza károsodása között találunk. Az akut pancreatitisben bevezetett és klinikailag megalapozott korai jejunális táplálás jelentős prognosztikai javulást eredményezett a pancreatitis mortalitásában és megváltoztatta a betegség lefolyását. E fenti gondolatmenet alapján vezettük be a Crohn-betegek terápiájába a jejunális táplálást. A módszer lényege, hogy az első jejunum kacsba vezetett szondán át folyamatosan és egyenlő intenzitással – kb 0,5-1 kal/perc dózisban - semielementáris tápszert juttatunk a bélrendszerbe. Klinikai kedvező hatása jól mérhető a CDAI index, praealbumin, We értékek változásával, ugyanakkor pontos patofiziológiai szerepének megismerése további vizsgálatokat igényel.

CÉLKITŰZÉSEINK

Az utóbbi években ugrásszerűen növekszik a Crohn-betegségben szenvedők száma. Ennek magyarázatát nem tudjuk. A betegség etiológiájában és patomechanizmusában számos nyitott kérdés van. Ebből adódóan a terápiás irányelvek javarészt tapasztalatokon alapulnak, csupán az utóbbi 1-2 évtizedben került előtérbe klinikai vizsgálatok eredményei alapján terápiás lehetőségek tanulmányozása.

Jelen vizsgálattal célul tűztük ki, hogy a klinikai gyakorlatban alkalmazott enterális táplálással kiegészített kezelés alkalmazása kapcsán vizsgáljuk összetett immunológiai paraméterek monitorozásán keresztül a bevezetett kezelés eredményességét. Több éve alkalmazzuk Crohn betegeink komplex kezelésében a jejunális táplálást. Megfigyeléseink és a klinikai vizsgálataink alapján feltételezzük, hogy a korán bevezetett jejunális táplálás hatására az endotoxinok, a citokinek szintjének csökkenése kifejezettebb.

Vizsgálatunk célja volt továbbá az, hogy újonnan diagnosztizált, ill. a betegség aktív stádiumában lévő Crohn betegeinknél az immunszuppresszív terápia mellett az endotoxin és a citokinek (TNF- α , IL-6) szintjeinek változását nyomon kövessük a hagyományosan is kontrollált laborparaméterek mellett.

A VIZSGÁLAT

Aktív szakban lévő, panaszokkal jelentkező, újonnan diagnosztizált Crohn betegeknel (n=12) a felvétel napján (0. nap), felvételt követően 1 hét múlva (± 2 nap), ill. 2-3 hét múlva (rendszerint az emissiot követően 1 hét múlva kontroll vérvétel történt (Imuran miatti t. vérkép kontroll céljából is). A vérvételek célja az alább vizsgálatok elvégzése volt: vérkép, süllyedés, szérum albumin, transferrin, szérum és immun elfo, májfunkciós vizsgálatok, szérum amiláz, szérum ionok (Na, K, Ca, P), vesefunkciós vizsgálatok, CRP mérése, endotoxin, IL-6 és TNF- α plazmakoncentráció meghatározása.

A betegek a diagnózis felállítását követően (CT enteroklízis, colonoscopia, hisztológia) immunszuppresszív kezelésben részesültek. Mivel a betegek különböző manifesztációval, különböző tünetekkel jelentkeztek, kezelésük az adott beteg számára a legmegfelelőbb immunszuppresszív kezelés volt (5-ASA + szteroid lökésterápia, 5-ASA + szteroid lökésterápia + azathioprin, ill. ha intraabdominalis tályog is állt a panaszok háttérében 5-ASA + ciprofloxacín + metronidazol kezelésben részesültek a sebészeti beavatkozásig). Jejunalis táplálásban az aktív Crohn betegségben szenvedők 41 %-a részesült; megkezdésének feltételei közé tartoztak a betegek beleegyezése a szondatáplálásba, tervezett CT enteroklízis vizsgálat, kiegészítő enterális táplálást szükségessé tevő tápláltsági állapot.

Betegeink jellemzői: Betegeink átlag életkora 30,7 év volt, a betegek kétharmada nő volt.

Terminalis ileum érintettséget betegeink 75%-ánál, colon érintettséget 50%-ánál észleltünk.

Fistula a vizsgált aktív Crohn betegeink 25%-ánál volt jelen. Intraabdominális abscessus képződéssel, ill. erre vonatkozó anamnesztikus adattal a betegeink harmadánál talákoztunk.

Stenosis okozta passage zavar miatt egy betegnél került sor a vizsgálat alatti megfigyelés során opusra.

Vizsgált paraméterek:

1. Vizsgáltuk aktív szakban lévő Crohn betegekben és a hagyományos gyulladásoos paraméterek alakulását a betegség lefolyása során.
2. TNF- α , IL-6, CRP és az endotoxin szintjének alakulásának vizsgáltuk aktív Crohn betegek kezelése során.
3. Gondozott, remisszióban lévő Crohn betegekben vizsgáltuk a fenti paramétereket annak megállapítására, hogy a klinikai aktivitást tükrözik-e a fenti paraméterek.

VIZSGÁLATI MÓDSZEREK

Rutin laboratóriumi vizsgálatok: vérkép, süllyedés, szérum albumin, transferrin, szérum és immunelfo, májfunkciós vizsgálatok, szérum amiláz, szérum ionok (Na, K, Ca, P), vesefunkciós vizsgálatok, CRP mérése

TNF- α , IL-6, endotoxin szint meghatározások:

Vérvétel: Betegeinknél számozással azonosított vérvétel heparinos csőben történt, majd az azt követő centrifugálás után a plazmák - 70°C-on tárolásra kerültek.

TNF- α szint mérés:

Tumor necrosis factor alpha pleiotrop cytokin, amely a gyulladós folyamatokban és apoptózisban központi szerepet játszik, elősegíti a gyulladós sejtekkel történő infiltrációját a szöveteknek az endothel sejteken lévő leukocytá adhesios molekulák up-regulációján keresztül, monocytákra kemotaktikus hatású, aktiválja a phagocytosist.

Plazma tumor necrosis factor alpha szint mérés elve: quantitativ enzim immunoassay /ELISA/ (Quantikine® Human TNF- α /TNFSF1A, R&D Systems), TNF- α specifikus monoklonális antitest bevont mikroplate segítségével. A mintákban jelen lévő TNF- α kötődik az immobilizált specifikus antitestekhez. Enzim kapcsolt poliklonális antitestek, amelyek a TNF- α - TNF- α antitest komplexhez kötődnek, színreakciót hoznak létre egy szubsztrát oldat segítségével. A szín intenzitása függ az adott mintában jelen lévő TNF- α koncentrációjától. Az assay szenzitivitása: legkisebb detektálható TNF- α dózis (MDD, mean detectable dose) 1,6 pg/ml.

Endotoxin mérés

Mintakezelés: a plazmák 37°C-os vízfürdőben történt felengedése után pyrogén mentes vízzel (LRW Endosafe) 4, 8 ill. 12x-re hígították, 15 sec vortexelték, majd 70°C-on 15 percig hőinaktiválták és mérték az endotoxin tartalmat; 10 szeresére hígították, 15 sec vortexelték, majd 70°C-on 15 percig hőinaktiválták. Ez utóbbi esetben az endotoxin meghatározáshoz a mintákat további 10, 50 és 100 szorosra hígították LRW-vel.

Endotoxin meghatározás: Kinetikus Kromogén Módszert alkalmaztak, a Charles River Laboratories Endosafe Ltd. (USA) mérőrendszerével (BioTek Reader – EndoScan V LAL software), reagensekkel (Endochrome K lysate, CSE, LRW) és eszközökkel (hígítócsövek, 96w-ELISA-lemez). A mintákat és a spike-okat 1-1 párhuzammal mérték. A 'spike-ok' szerepe, hogy az adott mintához történt ismert mennyiségű endotoxin hozzáadása után meghatározhassuk annak visszanyerhetőségét. Így következtethetünk az adott minta esetleges gátlására, vagy aktiválására az endotoxin meghatározásban. Az FDA ajánlásában ennek értéke, valid mérés esetén 50-200% közé kell, hogy essen.

IL-6 mérés

Az IL-6 multifunkcionális protein, amelyet lymphoid és számos nem lymphoid sejt termel. Antigének, lipopolysaccharidok, TNF serkenti a termelődését. Hatásai közé tartozik a B sejtek differenciálódásának, és az antitestek termelődésének elősegítése, így központi szerepet játszik a gyulladásos folyamatokban, mind infekciók kapcsán, mind pedig autoimmun betegségekben (pl. IBD-ben is).

Plazma IL-6 szint mérés elve: Quantikine® Human IL-6, R&D Systems, amely 4,5 órás kvantitatív szendvics ELISA teszt. Rekombináns IL-6 antitestet tartalmaz a mikroplate. A hozzáadott plazma mintában lévő IL-6 kötődése nyomán az ELISA teszt során létrejövő színreakció intenzitása arányos az IL-6 plazmakoncentrációjával.

Klinikai vizsgálatok

Antropometriai vizsgálatok elvégzése és ez alapján a szükséges kalória bevitel megtervezése CT vagy MR enteroklizis vizsgálatok elvégzése, endoscopos vizsgálatok, szövettani vizsgálatok a gyulladásos bélbetegség diagnózisának felállítására, ill. annak felmérésére, hogy a M. Crohn a gasztrointesztinális traktus melyik szakaszát érinti.

Statisztikai módszerek:

A vizsgálati eredményeket számítógépes adatbankban az előírt biztonság mellett tároljuk, csak a vizsgálók számára hozzáférhető módon. Az eredményeket az adott vizsgálati csoportban mért átlag értékben \pm S.E.M formájában mutatjuk be. Különbségek közti szignifikanciát variencia analízissel értékeltük (ANOVA), amelyet Tukey-teszt követett többszörös összehasonlítás céljából. $P < 0.05$ értéket tekintettük statisztikailag szignifikáns különbségnek.

EREDMÉNYEINK

1. Aktív és remisszióban lévő Crohn betegek követése során mért CRP, IL-6, és TNF- α értékek alakulása, ill. rutin laborvizsgálatok során észlelt laborparaméterek változása

A CRP, amelyet Crohn betegek kezelése, gondozása során a rutinszerűen használunk a betegség aktivitásának követésére, a vizsgált betegeinkben bár a kezelés során csökkent, a változás nem bizonyult szignifikánsnak a kezelés első hónapja alatt. Ennek valószínűleg magyarázatául szolgál, hogy a vizsgált, relatíve kis betegszámnál a CRP szintek rendkívül széles tartományban mozogtak, ill. a betegek egy részénél a kifejezett klinikai tünetek és endoszkópos aktivitás ellenére alacsony CRP értékeket adódtak.

A vizsgált betegcsoportban a TNF- α szintek a kezelés során a kezelés előtti értékekhez képest a 2. kontroll vérvétel során szignifikáns csökkenést mutattak. Az IL-6 esetében ez a csökkenés még kifejezettebbnek bizonyult.

A rutinszerűen végzett laborvizsgálatok során ellenőrzött paraméterek egyike sem mutatott szignifikáns változást a Crohn-betegeink kezelése során.

Érdekes, hogy kontrollra jelentkezett, CRP értékek szempontjából remisszióban lévő betegeknél magas TNF- α és IL-6 értékeket észleltünk. Lehetséges, hogy e két vizsgált paraméter a betegség aktivitásában bekövetkező változásokat hamarabb, korábban jelzi, mint a hagyományos laborparaméterek. Másrészt ebben szerepet játszhat, hogy a remisszióban lévő betegek nagy része csak 5-ASA vagy 5-ASA+azathioprin fenntartó kezelésben részesül, míg az aktivitást mutató Crohn-betegeink kezelése során (amennyiben nem volt ennek kontraindikációja) szteroid lökésterápiát alkalmaztunk.

2. Jejunalis táplálás hatása a TNF- α és IL6 szintek alakulására

Jejunalis táplálásban részesülő, aktív CD-ben szenvedő betegeinknél a kombinált kezelés során bár a TNF- α és IL-6 szintek csökkenő tendenciát mutattak, ennek mértéke nem volt szignifikáns.

3. Endotoxin szint mérések

A mintákat 6 féle hígításban mértük; 4, 8 és 12x, ill. 10x, majd ismételtén 10, 50 és 100x.

A 4, 8 és 12x-es hígításoknál, hígítás növekvő mértékével bár csökkenő, de igen erőteljes gátlást kaptunk (spike% nem érte el az 50%-ot). A gátlás nagysága mintáról mintára jelentősen változott. Bár sok mintánál a mérés számszerű eredményt produkált, számos esetben a mérés bizonytalansága miatt a software, az adott hígításnak megfelelően, a 'EU/ml <0.1200' értéket jelenítette meg. Értékelhetően, kiugróan magas értékeket nem találtunk.

Az 500x-os véghígítást követően elértük ugyan hogy a visszanyerési érték (a spike%) 50% fölé emelkedjen, de így az értékek annyira az érzékenységi határ alá estek, hogy a software egyöntetűen a '<5.000 EU/ml' értéket adta a hígításnak megfelelően.

KÖVETKEZTETÉSEK:

1. Gondozott Crohn betegek citokin (TNF- α , IL-6) szintjeinek a klinikummal és a szokásos gyulladásos paraméterekkel való összevetése alkalmas lehet a kiújulás korai szakaszának jelzésére.
2. E két vizsgált paraméter valószínűleg felhasználható a betegség aktivitásának követésére immunszuppresszív kezelés bevezetését követően.
3. Az endotoxin szint meghatározás a CD aktivitás jelzésére nem alkalmas, valószínűleg metodikai problémák, ill. endotoxin gyors degradációja játszhat szerepet ebben.
4. A szokványos laborparaméterek rövidtávon nem alkalmasak a CD aktivitás, a terápiára jelentkező válasz felmérésére.
5. A CRP értékeket számos más paraméter befolyásolja. A Crohn-betegek egy jelentős részében klinikai és endoszkópos aktivitás ellenére alacsony CRP értékek észlelhetők. E betegcsoportban a CRP a terápia hatásának lemerésére kevésbé alkalmas, míg a fenti két laborparaméter (TNF- α és IL-6) alkalmas lehet e betegek állapotának követésére.
6. Jejunalis táplálás során a TNF- α és IL-6 értékek nem csökkentek szignifikáns mértékben. A TNF- α és IL-6 szintek csökkenésére vonatkozó tendencia azonban a jejunalis táplálásban részesülőkben is megfigyelhető. Korlátozza azonban a jejunalis táplálás gyulladásos paraméterekre gyakorolt hatásának vizsgálatát a kis esetszám (n=5), ill. a CD aktivitás jelentős eltérései az adott betegcsoporton belül. A jejunalis táplálás hatásának egyértelmű lemerésére a betegszám további növelése, ill. CD aktivitás szempontjából homogénebb betegcsoportok összehasonlítása lenne szükséges jelen vizsgálat rövid, 2 éves beválasztási időtartamának kinyújtásával.
7. Az endotoxin szint mérésekből két alapvető feltételezés származhat:
 - A Crohn-betegségben szenvedő páciensek vérében megjelenő endotoxin koncentrációk nem mutatnak kiugróan magas értékeket, így a gyulladásos folyamat más faktoraik jelentősebb szerepet játszhatnak az akut és krónikus folyamatokban.
 - A konvencionális endotoxin meghatározó LAL módszerek érzékenysége nem megfelelő azoknak a csekély különbségeknek a kimutatására, amely a kórkép folyamatát jellemezhetné. Az elmúlt másfél-két év során az CRL Endosafe USA kifejlesztett egy a világon egyedül álló, IPT[®] (In vitro Pyrogen Test) Kit-tet, amelynek méréselvé teljesen eltér a konvencionális LAL (enzim-kaszádós) méréselvtől. Az IPT[®] humán monociták makrofág sejtekből pyrogen anyagok jelenlétében felszabaduló IL-1 mennyiségének ELISA módszerrel történő mérését teszi lehetővé. Érzékenysége endotoxinok (LPS-ek) esetében jóval alatta van a 'lázküszöbnek'. A kérdés a Crohn esetében, hogy az amúgy is jelentősen emelkedett interleukin koncentrációk az endotoxin-invázió következményei, vagy független jelenség? Az IPT[®] Kit jelenleg még nem törzskönyvezett, kutatási célokat szolgál. Költségvonzata mintegy négyszerese a konvencionális LAL módszereknek. Mivel ez utóbbiak nem eléggé érzékenyek, érdemes lenne, megfelelő protokollok kidolgozását követően az IPT[®] Kit-tet alkalmazni.

1. táblázat

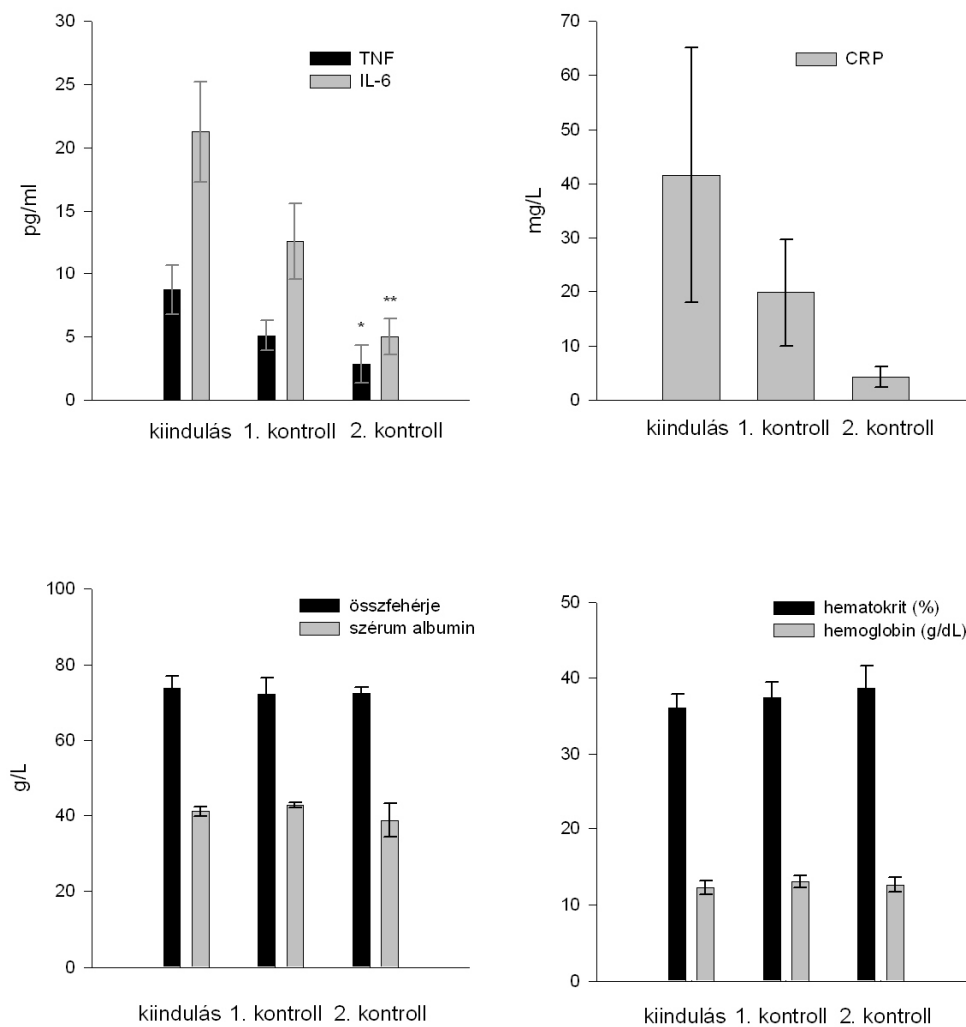
Aktív Crohn betegek követése során, remisszióban lévő Crohn betegeknél, ill. kontroll csoportnál mért TNF- α , IL-6 és CRP plazmakoncentrációk összevetése

(A kontroll csoport olyan betegekből került ki, akiknél a CT enteroklízis eredménye negatívnak bizonyult)

	Crohn betegeink				
	Kontroll	Kezelési előtti, kiindulási érték	1. kontroll során mért érték	2. kontroll során mért érték	Remisszió
TNF	7,32 \pm 1,75	8,75 \pm 1,98 (p=0,64, kontroll csoporttal összehasonlítva)	5,108 \pm 1,18 (p=0,13, kiindulási értékkel összehasonlítva)	2,85 \pm 1,51 (p=0,046, kiindulási értékkel összehasonlítva)	15,16 \pm 8,75 (p=0,31, kiindulási értékkel összehasonlítva)
IL-6	3,51 \pm 1,54	21,25 \pm 3,97 (p=0,0043, kontroll csoporttal összehasonlítva)	12,5 \pm 3,03 (p=0,09 kiindulási értékkel összehasonlítva)	5,01 \pm 1,41 (p=0,004, kiindulási értékkel összehasonlítva)	34,9 \pm 14,83 (p=0,23, kiindulási értékkel összehasonlítva)
CRP	15,78 \pm 13,1	41,54 \pm 23,61 (p=0,403, kontroll csoporttal összehasonlítva)	19,89 \pm 9,89 (p=0,43 kiindulási értékkel összehasonlítva)	4,3 \pm 1,92 (p=0,302 kiindulási értékkel összehasonlítva)	5,35 \pm 2,804 (p=0,25 kiindulási értékkel összehasonlítva)

1. ábra

TNF- α , IL-6, CRP plazmakoncentrációk, ill. szérum összfehérje, szérum albumin, haematokrit és haemoglobin értékek változása aktív Crohn-betegségben szenvedő pácienseknél immunszuppresszív kezelés során (* $p < 0,05$ kezelés előtti kiindulási plazmakoncentrációkkal összevetve, ** $p < 0,01$ kezelés előtti kiindulási plazmakoncentrációkkal összevetve)



2. ábra

TNF- α és IL-6 plazmakoncentrációk változása aktív Crohn-betegségben szenvedő pácienseknél jejunális táplálás során ill. jejunális táplálásban nem részesülő betegeknél.

(* $p < 0,05$ kezelés előtti kiindulási plazmakoncentrációkkal összevetve)

