



ΝΟΣΟΣ CROHN ΚΑΙ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΗΣ ΙΝΤΕΡΛΕΥΚΙΝΗΣ- 6

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

ΑΝΤΩΝΟΠΟΥΛΟΥ Σ.

ΔΕΔΟΥΣΗΣ Γ.

ΣΚΟΠΟΥΛΗ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ:

ΔΕΔΟΥΣΗΣ ΓΙΩΡΓΟΣ

ΥΠΕΥΘΥΝΗ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ:

ΚΡΟΥΣΚΗ ΜΑΡΙΝΑ Α.Μ. 9937

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ευχαριστώ πολύ τον υπεύθυνο της πτυχιακής μου, κύριο Γιώργο Δεδούση, ο οποίος όχι μόνο πίστεψε σε μένα από την πρώτη στιγμή, αλλά με τη συνεχή υποστήριξή του με έκανε να πιστέψω κι εγώ στον εαυτό μου και να δοκιμάσω τις δυνατότητες μου σε ένα τόσο απαιτητικό πεδίο, όπως είναι αυτό της έρευνας στον τομέα της Γενετικής και της Μοριακής Βιολογίας.

Ευχαριστώ πολύ και την Δέσποινα Χουμαριανού, η οποία ήταν δίπλα μου, καθόλη τη διάρκεια του έτους και που με την εκπληκτική ικανότητα μεταδοτικότητας που την διακρίνει, κατάφερε να με κάνει να κατανοήσω τα δύσκολα σημεία της διεξαγωγής των πειραμάτων και των μεθόδων που απαιτούσε η έρευνα αυτή.

Ευχαριστώ πολύ και τον Ιατρό Ιωάννη Κ. Τριανταφυλλίδη, που μου παραχώρησε δείγματα και στοιχεία ασθενών απ' το Γενικό κρατικό Νοσοκομείο Νίκαιας «Αγ. Παντελεήμων», του οποίου η βοήθεια ήταν καθοριστική. Το ενδιαφέρον του για το συνάνθρωπο του, οι πληθώρα γνώσεων που κατέχει καθώς επίσης και η καλή του διάθεση, σφράγισαν τη συνεργασία αυτή, από την οποία αισθάνομαι ότι βγαίνω πραγματικά κερδισμένη.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω και την οικογένεια μου, χωρίς τη βοήθεια, την υποστήριξη και την κατανόηση των οποίων, όλο αυτό το διάστημα, δε θα είχα καταφέρει να αντεπεξέλθω στις δυσκολίες που μου παρουσιάστηκαν.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω την Αγγελική Τσιμπίνου για την πολύτιμη βοήθεια της στην κατανόηση στατιστικών προγραμμάτων MINITAB και SPSS.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω τους φίλους μου απ' το πανεπιστήμιο, οι οποίοι ήταν συνεχώς δίπλα μου και με στήριζαν ψυχολογικά σε όλο αυτό το διάστημα.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ελκώδης κολίτιδα και η νόσος Crohn αποτελούν εκδηλώσεις της Ιδιοπαθούς Φλεγμονώδους εντερικής νόσου, με ποικίλες ομοιότητες αλλά και διαφορές στην αιτιοπαθογένεια, την παθολογοανατομική εικόνα, τους παράγοντες που επιδρούν, την φαρμακευτική αγωγή καθώς επίσης και το διαιτητικό σχήμα που πρέπει να ακολουθηθεί.

Πέρα από την συντηρητική αντιμετώπιση της νόσου, προτείνονται και νέες πρωτοποριακές μέθοδοι θεραπείας. Τελευταία έχει δοθεί και ιδιαίτερη σημασία στην επίδραση της γενετικής στην θεραπευτική αντιμετώπιση.

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι ο συσχετισμός του πολυμορφισμού του γονιδίου της IL-6 με την νόσο Crohn, σε δείγμα 115 ατόμων με νόσο Crohn, ελκώδη και ιδιοπαθή κολίτιδα. Επίσης κρίθηκε σκόπιμος ο υπολογισμός της συγκέντρωσης της ιντερλευκίνης στον ορό του αίματος των ατόμων αυτών με τη μέθοδο elisa, αποσκοπώντας στη διαπίστωση των επιπέδων της ιντερλευκίνης και της σύγκρισής τους με αυτά στον ορό αίματος υγιών ατόμων.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.1 ΟΡΙΣΜΟΣ

Ο όρος «ιδιοπαθής φλεγμονώδης νόσος του εντέρου» (ΙΦΝΕ) αναφέρεται σε δύο άγνωστης αιτιολογίας χρόνιες διαταραχές, την ελκώδη κολίτιδα (ΕΚ) και τη νόσο του Crohn (CD), οι οποίες συζητούνται μαζί στο παρόν κεφάλαιο, με σκοπό να τονισθούν οι ομοιότητες και οι διαφορές τους. Γενικά, η ΙΦΝΕ παρατηρείται περισσότερο σε λευκούς, περίπου εξίσου συχνά σε άνδρες και γυναίκες, και μεταξύ των Εβραϊκών φύλων συχνότερα στους Ashkenazy από όσο στους Sephardic. Η ΕΚ έχει σε όλο τον κόσμο περίπου ίδια συχνότητα με τη CD. Τα συμπτώματα αρχίζουν συχνά στην αρχή της ενήλικης ζωής (από 15-30 ετών), αλλά μπορεί να αρχίσουν και στη μεγάλη ηλικία.

1.1.2 ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ

Έχουν προταθεί διάφορα αίτια, αλλά κανένα δεν έχει αποδειχθεί. Και στις δύο μορφές παίζουν σημαντικό ρόλο γενετικοί παράγοντες και δυσλειτουργίες του ανοσολογικού συστήματος. Η συχνότητα της ΙΦΝΕ είναι μεγαλύτερη στους μονοζυγωτικούς διδύμους από αυτήν στους διζυγωτικούς.

Ανοσολογική προέλευση

Οι εξωεντερικές εκδηλώσεις της πάθησης, η εμφανής διήθηση του πάσχοντος βλεννογόνου από λεμφοκύτταρα και η αναφερόμενη παρουσία αντισωμάτων προς τα επιθηλιακά κύτταρα του παχέος εντέρου και κυτταροτοξικών κυττάρων Τ είναι ενδείξεις ανοσολογικής αιτιολογίας της βλεννογονίας βλάβης. Πολλές έρευνες εστιάζονται στους ανοσορρυθμιστικούς μηχανισμούς, αλλά δεν έχει ακόμα γίνει γνωστή η παθογένεια των δυο νόσων.

Λοιμώδης προέλευση

Έχουν διατυπωθεί διάφορες υποθέσεις με τις οποίες υποστηρίζεται, πάντως χωρίς τεκμηρίωση, η ενδεχόμενη δράση λοιμογόνων παραγόντων. Κανένας μικροοργανισμός δεν έχει απομονωθεί σε σταθερό συνδυασμό με τη ΙΦΝΕ, ωστόσο συγκριτικές μελέτες μεταγονιδιακών ως προς το HLA-B27 επιμύων, που αναπτύσσονται σε κανονικό και σε ελεύθερο μικροβίων περιβάλλον, υποδηλώνουν ότι για την ανάπτυξη πειραματικής φλεγμονώδους νόσου του εντέρου είναι απαραίτητη η ύπαρξη εντερικής χλωρίδας¹.

Αν και έχουν περιγραφεί μεμονωμένες περιπτώσεις κολίτιδας από CMV που επιπλέκουν ΙΦΕΝ, εντούτοις η λοίμωξη απ' τον ιό αυτό δε φαίνεται να υπεισέρχεται στην παθογένεια της ΙΦΕΝ¹⁷.

Παράγοντες του περιβάλλοντος

Φαίνεται ότι παράγοντες του περιβάλλοντος διεγείρουν μια σειρά από αντιδράσεις που οδηγούν στην ανάπτυξη φλεγμονώδους νόσου του εντέρου. Για παράδειγμα η τεχνολογική ανάπτυξη στην Ασία συνοδεύεται από αύξηση των περιπτώσεων φλεγμονώδους νόσου του εντέρου.

Ψυχολογικά αίτια

Λίγοι γαστρεντερολόγοι πιστεύουν ότι η πάθηση οφείλεται σε ψυχολογικούς παράγοντες, είναι όμως πολλοί εκείνοι που πιστεύουν ότι συναισθηματικές καταστάσεις μπορεί να προκαλούν έξαρση των συμπτωμάτων της πάθησης και να επιπλέκουν τη μακροπρόθεσμη αντιμετώπιση της λόγω της εξαντλητικής φύσης της.

ΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ

Η διάκριση μεταξύ ΕΚ και CD απαιτεί συχνά εξέταση του ιστού που έχει προσβληθεί από ΙΦΝΕ.

Ελκώδης κολίτιδα (ΕΚ)

Στην **EK** οι οξείες αλλοιώσεις είναι διάχυτες και επιφανειακές, αρχίζουν από το χείλος του δακτυλίου του πρωκτού και καταλαμβάνουν μόνο το βλεννογόνο και τον υποβλεννογόνο χιτώνα. Οι αλλοιώσεις αρχίζουν από το τελικό τμήμα του ορθού και εκτείνονται προς τα άνω σε ποικίλους βαθμούς. Οι ασθενείς με παγκολίτιδα (καθολική προσβολή του παχέος εντέρου) είναι δυνατό να παρουσιάζουν και πολύ ελαφρά ειλεΐτιδα, αλλά η EK είναι βασικά νόσος του παχέος εντέρου. Το επιθήλιο είναι τυπικά διηθημένο από ουδετερόφιλα, παρουσιάζει διάχυτη φλεγμονή και ο βλεννογόνος είναι εύθρυπτος λόγω των διάχυτων επιπολής ελκών. Γύρω από τις εντερικές κρύπτες συνήθως υπάρχουν πολλαπλά μικροαποστήματα. Σε περιπτώσεις βαριάς φλεγμονής το παχύ έντερο μπορεί να παρουσιάσει μεγάλη διάταση και λέπτυνση των τοιχωμάτων του, μια κατάσταση που είναι γνωστή ως "τοξικό megacolon» και συνοδεύεται από άμεσο κίνδυνο διάτρησης. Η χρόνια EK προκαλεί υπερπλασία της υποβλεννογόνιας μυϊκής στιβάδας με αποτέλεσμα βράχυνση του παχέος εντέρου και εξαφάνιση των κολικών κυψελών. Η ενδοσκοπική εξέταση του πάσχοντος βλεννογόνου αποκαλύπτει συχνά την παρουσία προσεκβολών κοκκιώδους ιστού που αναπτύσσονται μεταξύ των φλεγμαινουσών περιοχών και ονομάζονται ψευδοπολύποδες διότι δεν έχουν νεοπλασματικό επιθήλιο. Το επιθήλιο του παχέος εντέρου μπορεί να εμφανίσει δυσπλασία ή καρκίνο. Το καρκίνωμα είναι η μόνη επιπλοκή της EK που είναι πιθανό να προκαλέσει στένωση ή συρίγγιο.

Νόσος του Crohn (CD)

Επειδή προσβάλλει συχνά τον τελικό ειλεό, η CD ονομάζεται και κατά τόπους εντερίτιδα. Σε αντίθεση με την EK, στη CD η φλεγμονή είναι ασυνεχής και διατοιχωματική. Επιπλέον, ενώ στην EK το ορθό προσβάλλεται σε όλες τις περιπτώσεις, στη CD προσβάλλεται σε λιγότερες από τις μισές. Η CD μπορεί να προσβάλλει οποιαδήποτε περιοχή του γαστρεντερικού σωλήνα από το στόμα μέχρι

τον πρωκτό, αφορώντας στο 1/3 περίπου των περιπτώσεων κυρίως το παχύ έντερο, στο 1/3 τον ειλέο και στο 1/3 και τα δύο. Σε σπάνιες περιπτώσεις είναι δυνατό να προσβληθούν και κεντρικότερες περιοχές, όπως τα ανώτερα τμήματα του λεπτού εντέρου, ο στόμαχος ή ακόμα και το στόμα. Εξαιτίας της φλεγμονής ολόκληρου του τοιχώματος είναι δυνατό να δημιουργηθούν συμφύσεις εντερικών ελίκων μεταξύ τους και προς άλλα όργανα και να προκύψουν ψηλαφητές μάζες, συρίγγια ή απόφραξη του εντέρου. Ο βλεννογόνος μπορεί να φαίνεται σχετικά φυσιολογικός ή να παρουσιάζει όψη πλακόστρωτου ή να είναι εξελκωμένος, συχνά με βαθιά γραμμοειδή έλκη παράλληλα προς τον επιμήκη άξονα του εντέρου. Τα παχιά και άκαμπτα τοιχώματα είναι διηθημένα από ουδετερόφιλα, λεμφοκύτταρα και μακροφάγα, με σχηματισμό κοκκιωμάτων περίπου στο 50% των περιπτώσεων. Ο σχηματισμός συριγγίων και η περιορθική νόσος είναι συχνά φαινόμενα στη CD, στην οποία όμως δεν παρατηρείται δυσπλασία των επιθηλιακών κυττάρων τόσο συχνά όσο στην ΕΚ. Κίνδυνος καρκίνου υπάρχει και στη νόσο του Crohn (CD) αλλά πολύ μικρότερος σε σχέση με την ΕΚ.

1.1.3 ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ

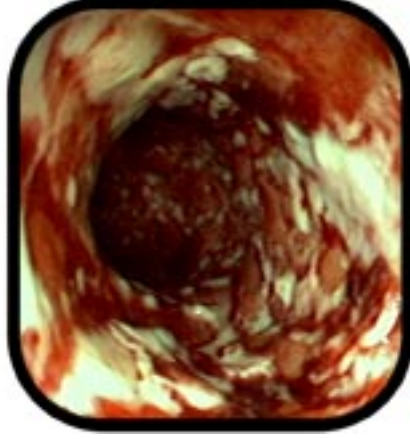
Οι κλινικές εκδηλώσεις της **ΙΦΝΕ** μπορούν να είναι εντερικές ή εξωεντερικές.

Εντερικές εκδηλώσεις

Οι κυριότερες εκδηλώσεις της οξείας ΕΚ είναι διάρροια, τινεσμός, αιμορραγία από το ορθό, πυρετός, απώλεια βάρους και μερικές φορές κοιλιακός πόνος. Η πάθηση μπορεί να είναι ελαφρά, να εκδηλώνεται μόνο με μικρή αύξηση του αριθμού των κενώσεων και να περιορίζεται ανατομικά στο ορθό (ελκώδης πρωκτίτιδα) ή, αντίθετα, σε μικρή αναλογία περιπτώσεων (10-15%) μπορεί να αρχίζει με τη μορφή οξείας νόσου που απαιτεί άμεση εισαγωγή σε νοσοκομείο προκειμένου να προληφθούν ή θεραπευθούν οι επιπλοκές: τοξικό megacolon, καταπληξία,

υποκαλαιμία ή διάτρηση του παχέος εντέρου. Ανάλογα με τη βαρύτητα της διάρροιας και την έκταση της φλεγμονής ο ασθενής μπορεί να παρουσιάζει πρόσθετες διαταραχές, όπως υποκαλαιμία, αναιμία, λευκοκυττάρωση, πυρετό, αδυναμία, ανορεξία, ταχυκαρδία και υπόταση. Μπορεί επίσης να παρατηρηθούν διάταση και διάχυτη ευαισθησία της κοιλιάς. Οι περισσότερες περιπτώσεις ΕΚ παρουσιάζουν υποτροπές και υφέσεις των συμπτωμάτων (τα οποία είναι δυνατό να υποχωρούν για εβδομάδες, μήνες ή ακόμη και για χρόνια) διακοπτόμενες από βαριές εξάρσεις. Στη CD πολλές φορές τα αρχικά συμπτώματα είναι ακόμα πιο αμβληχρά από της ΕΚ, ίσως διότι οι αλλοιώσεις δεν βρίσκονται εξίσου κοντά στο ορθό. Όταν έχει προσβληθεί κυρίως ο ειλεός, τα συμπτώματα μπορεί να υποδηλώνουν μικρού βαθμού εντερική απόφραξη, με κολικοειδή πόνο με ή χωρίς διάρροια, και μερικές φορές με ψηλαφητή μάζα στο δεξιό κάτω τεταρτημόριο της κοιλιάς. Αιμορραγία από το ορθό εντυπωσιακή όσο στην ΕΚ συνήθως δεν παρατηρείται συχνά, όμως ανιχνεύεται αίμα στα κόπρανα. Επειδή ο ειλεός βρίσκεται στο δεξιό κάτω κοιλιακό τεταρτημόριο και η CD προκαλεί φλεγμονώδη αντίδραση, η νόσος μπορεί να υποδυθεί την εικόνα οξείας σκωληκοειδίτιδας. Όταν η CD εντοπίζεται στο παχύ έντερο συνοδεύεται από διάρροια πολύ πιο συχνά από όσο όταν προσβάλλει μόνο το λεπτό έντερο. Η εντόπιση στο παχύ έντερο προδιαθέτει επίσης σε σχηματισμό περιορθικών συριγγίων, αποστημάτων και ραγάδων. Η CD συνοδεύεται από εξωεντερικές εκδηλώσεις συχνότερα αλλά προκαλεί τοξικό megacolon λιγότερο συχνά από όσο η ΕΚ, διότι οι περισσότεροι ασθενείς με CD δεν έχουν παγκολίτιδα. Σπάνια επίσης παρατηρείται διάτρηση του εντέρου στην περιτοναϊκή κοιλότητα. Όπως θα αναμενόταν από τις παθολογοανατομικές αλλοιώσεις των δύο νόσων, η μεν CD τείνει περισσότερο να προκαλεί το σχηματισμό εντεροδερματικών, εντεροκυστικών ή εντεροκολπικών συριγγίων ή απόφραξη, η δε ΕΚ αιμορραγίες ή διάτρηση. Η νόσος μπορεί να προσβάλλει οποιοδήποτε τμήμα του γαστρεντερικού σωλήνα, ακόμα και το στοματικό

βλεννογόνο.



Εξωεντερικές εκδηλώσεις

Η ΕΚ και η CD συνοδεύονται από εξωεντερικές εκδηλώσεις. Μερικές φορές παρατηρούνται διαταραχές της θρέψης οι οποίες όμως συνήθως είναι δευτεροπαθείς στην ανορεξία, στον πυρετό, στη διάρροια, στην απώλεια αίματος και στη δυσαπορρόφηση που είναι δυνατό να υπάρχουν, ιδιαίτερα στη CD.

Η ΙΦΝΕ συνοδεύεται από δύο ξεχωριστές μορφές αρθρίτιδας, η οποία μερικές φορές ονομάζεται εντεροπαθητική: (1) μια άγνωστης αιτιολογίας μη παραμορφωτική οξεία φλεγμονώδη αρθρίτιδα, που προσβάλλει μεγάλες αρθρώσεις, και (2) μια ιερολαγονίτιδα τύπου αγκυλοποιητικής σπονδυλίτιδας, η οποία παρατηρείται στους ασθενείς που έχουν το αντιγόνο HLA-B27. Η πρώτη μορφή συμβαδίζει με την πορεία της νόσου του παχέος εντέρου, αν και μπορεί να προηγείται της κλινικής εγκατάστασης της ΙΦΝΕ, είναι γενικά ολιγοαρθρική, ασύμμετρη και τείνει να προσβάλλει τα γόνατα και τους αγκώνες. Η δεύτερη επιμένει ακόμη και όταν η ΕΚ αντιμετωπίζεται με κολεκτομή, ενώ η πρώτη υποχωρεί με κολεκτομή. Η σχετιζόμενη με HLA-B27 αρθρίτιδα της ΙΦΝΕ έχει κλινικά και ακτινογραφικά ευρήματα σε μεγάλο βαθμό όμοια με της ιδιοπαθούς αγκυλοποιητικής σπονδυλίτιδας.

Οι ασθενείς με ΙΦΝΕ παρουσιάζουν και διάφορες διαταραχές του ηπατοχολικού συστήματος. Σύμφωνα με τις περιγραφές ερευνητών, παρατηρούνται λιπώδες ήπαρ και ελαφρά περιχολαγγειίτιδα, που συχνά εκδηλώνονται μόνο βιοχημικά με αύξηση της αλκαλικής φωσφατάσης του ορού, ενώ σε άλλες, σπάνιες, περιπτώσεις είναι δυνατό να αναπτυχθεί σκληρυντική χολαγγειίτιδα. Το σύνδρομο αυτό, που προσβάλλει τόσο τα ενδοηπατικά όσο και τα εξωηπατικά χοληφόρα αγγεία, προκαλεί προοδευτική στένωση των αγγείων αυτών, έχει όλες τις κλινικές εκδηλώσεις του αποφρακτικού ίκτερου και οδηγεί σε δευτεροπαθή χολική κίρρωση. Η σκληρυντική

χολαγγειίτιδα είναι συχνότερη στην ΕΚ, ενώ οι ασθενείς με CD παρουσιάζουν κυρίως χολολιθίαση η οποία οφείλεται σε ελαττωματική επαναρρόφηση των χολικών αλάτων από τον πάσχοντα ειλεό. Επίσης περιγράφεται η ανάπτυξη πρωτοπαθούς καρκινώματος του χοληδόχου πόρου, η οποία όμως είναι σπάνια. Οι οφθαλμικές εκδηλώσεις της ΙΦΝΕ είναι επισκληρίτιδα, ιρίτιδα και ραγοειδίτιδα και οι δερματικές οζώδες ερύθημα, που είναι δυνατό να εμφανισθεί στο 5% περίπου των ασθενών, ιδιαίτερα σε γυναίκες. 1-2% των ασθενών με ενεργό ΕΚ εμφανίζει γαγγραινώδη πυοδερμία, μια ανώδυνη νεκρωτική βλάβη του δέρματος. Οι νεφρικές βλάβες περιλαμβάνουν: (1) νεφρολιθίαση, κυρίως από σχηματισμό οξαλικών λίθων εξαιτίας της απορροφητικής υπεροξαλουρίας λόγω δυσασπορρόφησης του ασβεστίου που είναι συνδεδεμένο με τα λιπαρά οξέα (2) στη CD αποφρακτική ουροπάθεια λόγω ίνωσης γειτονικής προς τις ουροφόρες οδούς ή μέσα σε αυτές· (3) καλιοπενική νεφροπάθεια· ή (4) σπάνια, αμυλοείδωση, Επίσης αναφέρεται ότι στη ΙΦΝΕ παρατηρείται τάση για συχνότερη εμφάνιση θρομβοφλεβίτιδας. Τέλος, η πορεία της νόσου μπορεί να επιπλακεί με οστεοπόρωση και οστεομαλακία^{18-26,47}.

Οι εξωεντερικές εκδηλώσεις σε σπάνιες περιπτώσεις προηγούνται της εντερικής νόσου ή μερικές μπορεί να αποτελέσουν τα κυριότερα αίτια νοσηρότητας. Οι περισσότερες, πάντως, τείνουν να υποχωρούν με τη βελτίωση της κολίτιδας ή μετά από κολεκτομή.

1.1.4 ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Το διαγνωστικό πρόβλημα που θέτει ο ασθενής, ο οποίος παρουσιάζει διάρροια, κοιλιακό πόνο, αιμορραγία από το ορθό και πυρετό, είναι αν έχει ΙΦΝΕ, και σε τέτοια περίπτωση αν έχει ΕΚ ή CD. Το εύρος της διαφορικής διάγνωσης κυμαίνεται ανάλογα με τις κλινικές εικόνες, αλλά μπορεί να περιλαμβάνει πολλές νόσους, όπως: τη μικροβιακή δυσεντερία, την αμοιβάδωση, την ψευδομεμβρανώδη κολίτιδα, τη

δυσπλασία, την ισχαιμική κολίτιδα, τα νεοπλάσματα του παχέος εντέρου, την αγγειοδυσπλασία, την κολλαγονώδη κολίτιδα και τη μικροσκοπική κολίτιδα. Οι εργαστηριακές εξετάσεις, γενικά, δεν βοηθούν στη διάκριση των συνδρόμων της ΙΦΝΕ μεταξύ τους ή από καταστάσεις που δεν είναι ΙΦΝΕ. Η διάγνωση βασίζεται (1) στην άμεση επισκόπηση και βιοψία του βλεννογόνου του παχέος εντέρου ή του ειλεού, (2) στην ακτινολογική εξέταση που μπορεί να δείξει με ευκρίνεια την προσβολή του ειλεού στη CD, της οποίας η χαρακτηριστική εμφάνιση τη διακρίνει από την ελκώδη κολίτιδα, και (3) στον αποκλεισμό άλλων παθήσεων με παρόμοιες κλινικές εικόνες, όπως είναι τα σύνδρομα από υερσίνια της εντεροκολίτιδας, ιστολυτική αμοιβάδα, καμπυλοβακτηρίδιο, χλαμύδιο ή τοξίνη του κλωστηριδίου *difficile* ^{1,46}.

Τα χαρακτηριστικά ενδοσκοπικά ευρήματα στην οξεία ΕΚ είναι εκείνα που περιγράφονται παραπάνω: εύθρυπτη, συχνά κοκκιωματώδης, διάχυτη αλλοίωση του βλεννογόνου. Οι αλλοιώσεις αιμορραγούν εύκολα όταν ψαύονται με βαμβανοφόρο στυλέο ή με το ενδοσκόπιο. Σε περισσότερο χρόνιες περιπτώσεις μπορεί να βρεθούν βαθύτερα έλκη και ψευδοπολύποδες. Στη CD ο βλεννογόνος πολλές φορές παρουσιάζει τμηματικές αλλοιώσεις και μπορεί να έχει την «εικόνα πλακόστρωτου» ή γραμμοειδείς εξελκώσεις.

Οι ακτινογραφικές εξετάσεις έχουν μεγάλη σημασία για τη διάγνωση και αντιμετώπιση της ΙΦΝΕ. Στις ακτινογραφίες που παίρνονται μετά από βαριούχο υποκλυσμό διπλής αντίθεσης είναι δυνατό να διακρίνονται οι διάχυτες αλλοιώσεις της ελκώδους κολίτιδας ή ακόμα και να παρατηρηθεί η παρουσία ψευδοπολυπόδων. Στα αρχικά στάδια της πάθησης ο βαριούχος υποκλυσμός μπορεί να είναι αρνητικός και, οπωσδήποτε, έχει μικρότερη ευαισθησία από την ενδοσκόπηση. Σε μεταγενέστερα στάδια, το παχύ έντερο μπορεί να φανεί μικρότερο, άκαμπτο "σαν μολυβδοσωλήνας" και χωρίς κολικές κυψέλες. Τα τυπικά ακτινογραφικά γνωρίσματα της κολίτιδας του

Crohn είναι η παρουσία φυσιολογικών περιοχών και υγιούς ορθού (στο 50% των περιπτώσεων), το επιμήκη έλκη και η τμηματική στένωση του παχέος εντέρου. Ο βαριούχος υποκλυσμός αποτελεί επίσης αναντικατάστατη μέθοδο αναζήτησης των συριγγίων και βοηθά στη διάγνωση των αλλοιώσεων του επιθηλίου του ειλεού που συχνά παρουσιάζει το "σημείο της χορδής", αν και στα αρχικά στάδια της νόσου αυτές οι αλλοιώσεις μπορεί να μη διακρίνονται εύκολα.

1.1.5 ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΚΑΙ ΠΡΟΓΝΩΣΗ

Η θεραπεία της ΕΚ είναι παρόμοια με της CD: και στις δύο απαιτείται μακροχρόνια αγωγή με τα ίδια ή συγγενή φάρμακα και παρόμοια αντιμετώπιση των ψυχολογικών προβλημάτων, της αναιμίας και των άλλων συστηματικών και τροφικών διαταραχών. Ωστόσο, οι διαφορές της πρόγνωσης είναι αρκετές, ώστε να δικαιολογούν την ιδιαίτερη παρουσίαση τους.

1.1.6 ΕΠΙΠΛΟΚΕΣ

Οι επιπλοκές της ΙΦΝΕ έχουν ήδη συζητηθεί στα πλαίσια των κλινικών και των εξωεντερικών εκδηλώσεων των παθήσεων που την απαρτίζουν. Ανησυχίες θα πρέπει πάντως να προκαλούν και μερικά από τα μακροπρόθεσμα προβλήματα της νόσου, όπως η καθυστέρηση της ανάπτυξης των παιδιών, ο υποσιτισμός, η αδυναμία, η ατονία, οι υποτροπές του πόνου και η κατάθλιψη, που αποτελούν και επιπλοκές πολλών χρόνιων παθήσεων. Παρακάτω συζητούνται δύο ειδικές επιπλοκές.

Τοξική διάταση του παχέος εντέρου (τοξικό megacolon)

Η επιπλοκή αυτή, που τυπικά παρατηρείται στην ΕΚ και όχι στη CD, συνίσταται σε διάταση του παχέος εντέρου με ατονία και λέπτυνση των τοιχωμάτων του και συχνά

εισβάλλει εκρηκτικά με συστηματικά τοξικά σημεία, ταχυκαρδία, πυρετό και λευκοκυττάρωση, ενώ η διάρροια γενικά ελαττώνεται λόγω απώλειας της προωθητικής λειτουργίας του παχέος εντέρου. Συχνά η κατάσταση αυτή συνοδεύεται από υποκαλιαιμία και υπολευκωματιναιμία. Το τοξικό megacolon μπορεί να αναπτυχθεί αυτόματα ή να παρατηρηθεί μετά την έναρξη της χορήγησης οπιοειδών και αντιχολινεργικών φαρμάκων και κατά την προετοιμασία για κολονοσκόπηση ή για βαριούχο υποκλυσμό. Η διάγνωση τίθεται συνήθως από την απλή ακτινογραφία της κοιλιάς, στην οποία διαπιστώνεται ότι η διάμετρος του παχέος εντέρου, ιδιαίτερα του εγκάρσιου κόλου, υπερβαίνει τα 6 cm. Ωσπου να υποχωρήσει η διάταση, υπάρχει άμεσος κίνδυνος διάτρησης του εντέρου και, αν τα φαινόμενα δεν αναστραφούν με συντηρητική αγωγή σε λιγότερες από 48 ώρες, ενδείκνυται ή εκτέλεση χειρουργικής επέμβασης.

Καρκίνωμα του παχέος εντέρου

Η ΙΦΝΕ, και ιδιαίτερα η ελκώδης κολίτιδα, περισσότερο από τη CD συνοδεύεται από σημαντικό κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου. Η συχνότητα του καρκινώματος του παχέος εντέρου στην ΕΚ σχετίζεται με δύο μεταβλητές: (1) την προσβολή και φλεγμονή ολόκληρου του βλεννογόνου, δηλαδή παγκολίτιδα, και (2) τη διάρκεια της ενεργού κολίτιδας. Η συχνότητα του καρκινώματος αρχίζει να αυξάνεται σημαντικά μετά από 10 χρόνια ενεργού νόσου. Το καρκίνωμα που επιπλέκει την ΕΚ διαφέρει κάπως από το παρατηρούμενο στο γενικό πληθυσμό: (1) έχει περισσότερο ομοιόμορφη κατανομή στο παχύ έντερο, (2) συχνά εμφανίζεται σε πολλές θέσεις, (3) ανακαλύπτεται τυπικά σε πιο προχωρημένο στάδιο και συνεπώς έχει χειρότερη πρόγνωση, (4) η διάγνωση του είναι πολύ δύσκολη διότι τα συμπτώματα του συγκαλύπτονται από την υποκείμενη πάθηση και (5) αναπτύσσεται σε έδαφος πολύ ανώμαλου βλεννογόνου. Οι λόγοι αυτοί κάνουν επιτακτική την ανάγκη εφαρμογής μακροπρόθεσμων πρωτοκόλλων παρακολούθησης των ασθενών που παρουσιάζουν χρόνια παγκολίτιδα με κολονοσκοπήσεις και βιοψίες. Οι

βιοψίες χρησιμοποιούνται για να προσδιορίσουν το χρόνο της προληπτικής κολεκτομής¹.

1.2 ΣΥΝΤΗΡΗΤΙΚΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ

Η συντηρητική αντιμετώπιση της Ιδιοπαθούς Φλεγμονώδους Εντερικής Νόσου (ΙΦΕΝ) γίνεται με ορισμένες φαρμακευτικές ουσίες, με συμπτωματική υποστήριξη, με ψυχιατρική βοήθεια, και τέλος με κατάλληλη(από το στόμα ή παρεντερική) χορήγηση απαραίτητων θρεπτικών ουσιών.

Στην ανασκόπηση αυτή επιχειρείται να διατυπωθούν, με όσο το δυνατό συνοπτικότερο τρόπο, οι σύγχρονες απόψεις που αφορούν τη συντηρητική αντιμετώπιση της ΙΦΕΝ, όπως αυτές προκύπτουν τόσο από τα διεθνή δεδομένα, όσο και από τη μακρά προσωπική εμπειρία των συγγραφέων σε μεγάλο αριθμό ασθενών.

Θεραπευτικοί στόχοι

Οι θεραπευτικοί στόχοι σε περιπτώσεις ασθενών με ΙΦΕΝ αποβλέπουν: α) στη μείωση της εντάσεως ή στην εξάλειψη (προσωρινά έστω) της φλεγμονώδους διεργασίας μέσω διαφόρων φαρμακευτικών ουσιών, β) στη διαιτητική ρύθμιση και διατροφική υποστήριξη, γ) στη συμπτωματική αντιμετώπιση, δ) στην επαρκή κάλυψη ή αντικατάσταση των ελλειμμάτων σε υγρά, ηλεκτρολύτες, αίμα και βιταμίνες και τέλος ε) στην ψυχολογική υποστήριξη του αρρώστου. Η διαίρεση αυτή βοηθά και διευκολύνει για περιγραφικούς λόγους την ανάπτυξη των τρόπων θεραπείας της νόσου και αυτό ακολουθείται στη συνέχεια.

1.2.1 Φαρμακευτική θεραπεία

Η φαρμακευτική αγωγή της ΙΦΕΝ περιλαμβάνει 5 μεγάλες κατηγορίες φαρμάκων: α) Τα αντιφλεγμονώδη , β) τα ανοσοκατασταλτικά, γ) τα αντιβιοτικά, δ) τα φάρμακα της συμπτωματικής αντιμετώπισης και τέλος ε) διάφορες φαρμακευτικές ουσίες που δεν σχετίζονται χημικά μεταξύ τους και δεν συγγενεύουν με τις προηγούμενες.

Στον πίνακα 1 φαίνονται οι κατηγορίες των φαρμάκων που θεωρούνται σήμερα ότι βοηθούν αποτελεσματικά στον έλεγχο της νόσου, ενώ στον πίνακα 2 καταχωρούνται τα φάρμακα που τελούν υπό μελέτη ή στα οποία δεν έχει κατοχυρωθεί επαρκώς η ένδειξη χορηγήσεως τους. Τέλος, στον πίνακα 3 παρουσιάζονται τα φάρμακα που έχουν δοκιμασθεί και η χρήση τους, αν και θεωρητικά με ενδείξεις, εν τούτοις έχει εγκαταλειφθεί, αφού η χορήγηση τους δεν είχε ευνοϊκό θεραπευτικό αποτέλεσμα.

I. ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗ

α) Κορτικοστεροειδή

α1. Φαρμακολογία

Τα κορτικοστεροειδή αποτελούν το φάρμακο εκλογής στις οξείες φάσεις της ΕΚ και της CD. Το 1955 για πρώτη φορά οι Truelove και Witts απέδειξαν σε ελεγχόμενη μελέτη την υπεροχή των κορτικοστεροειδών σε σχέση με το placebo, για να επιβεβαιωθεί αυτό αργότερα και από άλλες μελέτες, όπως θα αναφερθεί στη συνέχεια.

Τα κορτικοστεροειδή που χρησιμοποιούνται σήμερα φαίνονται στον πίνακα 1. Αν και δεν είναι απόλυτα γνωστοί οι μηχανισμοί "δράσεως των κορτικοειδών στην ΦΕΝ, φαίνεται ότι ένας ή περισσότεροι από τους μηχανισμούς του πίνακα 4 είναι υπεύθυνοι για την ευνοϊκή τους επίδραση στη νόσο. Θα πρέπει πάντως να τονισθεί ότι το στοιχείο που εκμεταλλευόμαστε είναι η αντιφλεγμονώδης τους δράση και πολύ λιγότερο η ανοσοκατασταλτική.

Τα κορτικοστεροειδή απορροφώνται ικανοποιητικά τόσο στο λεπτό, όσο και στο παχύ έντερο (εφ' όσον χορηγηθούν υπό μορφήν υποκλυσμών). Η ημιδιάρκεια ζωής της πρεδνιζολόνης μετά ενδοφλέβια χορήγηση είναι 3-4 ώρες, ενώ η βιολογική ημιδιάρκεια ζωής είναι 18-36 ώρες.

Η αντιφλεγμονώδης δράση των κορτικοειδών έχει διαπιστωθεί ότι σχετίζεται

αναλογικά με τη συγκέντρωση τους στον φλεγμαίνοντα ιστό. Η απορρόφηση επίσης των κορτικοστεροειδών από το λεπτό έντερο σε περίπτωση χορηγήσεως από το στόμα εμφανίζεται ελαφρό διαταραγμένη σε σχέση με τα φυσιολογικά άτομα. Από τα υπάρχοντα δεδομένα που αφορούν την ενδοφλέβια χορήγηση, φαίνεται ότι δεν έχει σημασία η στάγδην ή η εφ' άπαξ χορήγηση, οι περισσότεροι όμως προτιμούν τη χορήγηση σε διηρημένες (ανά 12ωρο ή 8ωρο) δόσεις. Δεν είναι γνωστή με ακρίβεια η άριστη δόση της πρεδνιζολόνης που πρέπει να χορηγείται. Φαίνεται όμως ότι θα πρέπει να υπάρχει κάποιο επίπεδο κάτω από το οποίο το κορτικοειδές έχει σαφώς μικρότερη αποτελεσματικότητα.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1. Φάρμακα που χρησιμοποιούνται
σήμερα στη θεραπεία της ΙΦΕΝ

I. ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗ

Ια)

Κορτικοστεροειδή

Φλοιστρόπος ορμόνη (ACTH)

Υδροκορτιζόνη

Πρεδνιζολόνη

Βήταμεθαζόνη

Βεκλομεθαζόνη

Tixocortal pivalate

II. ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΑ

Μετρονιδαζόλη

III. ΑΝΟΣΟΚΑΤΑΣΤΑΛΤΙΚΑ

Αζαθειοπρίμη

6-

μερκαπτοπουρίνη

Κυκλοσπορίνη

IV. ΔΙΑΦΟΡΑ

Disodium cromoglycate (υποκλυσμοί)

V.

ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΙΚΑ

Αντιδιαρροϊκά (Λοπεραμίδη,
διφαινοξυλάτη)

Σπασμολυτικά

Αναλγητικά

Κατασταλτικά του ΚΝΣ

Χολεστυραμίνη

α2. Κορτικοειδή και ελκώδης κολίτιδα

Η δόση της πρεδνιζολόνης στις εξάρσεις της ΕΚ εξαρτάται από τη βαρύτητα της προσβολής. Έτσι σε ήπιας έως μέτριας βαρύτητας προσβολές ΕΚ, τόσο τα 40 όσο και τα 60 mg πρεδνιζολόνης είναι αποτελεσματικότερα από τα 20 mg. Για να αποφασίσει όμως ο κλινικός, αν θα χορηγήσει 40 ή 60 mg πρεδνιζολόνης σε μέτριας βαρύτητας προσβολή ΕΚ, θα πρέπει να λάβει υπ' όψη του ότι ενδεχομένως θα έχει ευνοϊκότερο αποτέλεσμα με τα 60 mg οι παρενέργειες όμως από τη χορήγηση τους θα είναι μεγαλύτερες. Η τακτική που ακολουθείται σήμερα από τους περισσότερους είναι να χορηγούνται σε διηρημένες δόσεις.

Η μελέτη των Truelove και Jewell επηρέασε για πλέον των 12 ετών την αντιμετώπιση των οξειών προσβολών της ΕΚ. Το θεραπευτικό σχήμα που πρότεινε η σχολή της Οξφόρδης συνίστατο σε χορήγηση 60 mg πρεδνιζολόνης ενδοφλεβίως, 1500 mg μετρονιδαζόλης, εντερική ανάπαυση και επαρκή χορήγηση υγρών, ηλεκτρολυτών και βιταμινών. Αν ο άρρωστος την 5η ημέρα της εφαρμογής του δεν παρουσίαζε ύφεση ή βελτίωση, οδηγείτο στο χειρουργείο για επείγουσα κολεκτομή. Το ποσοστό υφέσεως που επιτυγχάνεται με το ανωτέρω θεραπευτικό σχήμα είναι περίπου 60%. Εν τούτοις τα τελευταία δύο χρόνια προτάθηκαν δύο σημαντικές τροποποιήσεις. Η πρώτη αφορά τη χορήγηση μετρονιδαζόλης που φαίνεται ότι στερείται αποτελεσματικότητας, ενώ η δεύτερη αφορά το σύνολο των ημερών κατά τις οποίες πρέπει να χορηγείται το θεραπευτικό σχήμα. Έτσι οι 12 τουλάχιστον ημέρες θεωρούνται ως απαραίτητη προϋπόθεση για να οδηγηθεί ο ασθενής σε επείγουσα κολεκτομή, εφ' όσον δεν παρουσιάζει ύφεση ή βελτίωση.

Το 1959 οι Truelove και Witts περιέγραψαν τα αποτελέσματα τους από τη σύγκριση χορηγήσεως από το στόμα κορτιζόνης και ενδομυϊκώς ACTH σε πρώτη προσβολή ΕΚ. Διαπιστώθηκε ότι η αποτελεσματικότητα δεν διέφερε. Όμως η ACTH ήταν πιο αποτελεσματική στους αρρώστους με υποτροπή της νόσου. Ενδιαφέρον επίσης ήταν το γεγονός ότι υποτροπές παρατηρήθηκαν σε μεγαλύτερο ποσοστό στους αρρώστους που

πήραν ACTH. Άλλες μελέτες στη συνέχεια έδειξαν ότι άρρωστοι, που πήραν κορτικοστεροειδή ατή διάρκεια των τελευταίων παροξύνσεων της νόσου, ανταποκρίθηκαν καλύτερα στη χορήγηση υδροκορτιζόνης. Εν τούτοις η αποτελεσματικότητα της ACTH στην ΕΚ δεν έχει μελετηθεί επαρκώς μέχρι σήμερα.

Ο ρόλος των κορτικοειδών στη διατήρηση υφέσεως σε περιπτώσεις ΕΚ φαίνεται ότι είναι μικρός.

Τα κορτικοστεροειδή έχουν χρησιμοποιηθεί επίσης τοπικά στο ορθό υπό μορφήν υποκλυσμών ή ενσταλάξεων τόσο μόνα όσο και σε συνδυασμό με συστηματική ή από το στόμα χορήγηση. Η αποτελεσματικότητα της έναντι του placebo έχει διαπιστωθεί σε πολλές μελέτες. Υπόθετα πρεδνιζολόνης και αφρός στεροειδούς έχουν επίσης χρησιμοποιηθώ τοπικά με καλά αποτελέσματα.

ΠΙΝΑΚΑΣ 2. Φαρμακευτικές ουσίες που μελετώνται σήμερα
--

- | |
|---|
| a) N- (3,4 dimethoxycinnamoyl) anthranilic acid
b) Sucralfate enema
c) Thalidomide
d) Clonidine
e) Ornidazole |
|---|

ΠΙΝΑΚΑΣ 3. Φάρμακα των οποίων η χρήση στην ΙΦΕΝ αποδείχθηκε χωρίς θεραπευτικό όφελος

Disodium cromoglycate Transfer factor Αντιλεμφοκυτταρική σφαιρίνη Λεβαμιζόλη Ινδομεθασίνη Flubiprofen Benoxaprophen Rifampicin-Ethambutol B. c. G. (από το στόμα) Dapsone Sulphadoxine Pyrimethamine Αντιβιοτικά ευρέος φάσματος (βανκομυκίνη, τετρακυκλίνη)
--

α3. Tixocortate Pivalate (TP)

Το TP είναι ένα στεροειδές μη γλυκοκορτικοειδές, μη αλατοκορτικοειδές, που παρουσιάζει τοπική αντιφλεγμονώδη δράση, τουλάχιστον ισοδύναμη με την της υδροκορτιζόνης. Μετά υποδόρια ή από το στόμα χορήγηση, το φάρμακο παρουσιάζει συστηματική δράση εκατοντάδες φορές ασθενέστερη της υδροκορτιζόνης χωρίς αλατο-ή γλυκο-κορτικοειδή δράση, χωρίς φυσικά επηρεασμό του άξονα υποθάλαμος- υπόφυση - επινεφρίδια. Φαίνεται επομένως ότι η αντιφλεγμονώδης δράση του φαρμάκου ασκείται μόνον τοπικά, στη θέση δηλαδή εφαρμογής τους. Οι φαρμακοκινητικές μελέτες που έγιναν σε ανθρώπους και ζώα έδειξαν ότι η απουσία συστηματικών εκδηλώσεων μετά από χορήγηση του φαρμάκου δεν οφείλεται σε κακή απορρόφηση του, αλλά στον εξαιρετικά ταχύ μεταβολισμό του. Δεν παρατηρήθηκαν επιδράσεις στην κινητικότητα του γαστρεντερικού σωλήνα ή στο κεντρικό και περιφερικό νευρικό σύστημα.

Η κλινική εμπειρία με το TP είναι προς το παρόν περιορισμένη.

Η κλινική έρευνα του φαρμάκου συνεχίζεται την περίοδο αυτή με μεγάλες κλινικές μελέτες.

Φαίνεται πάντως ότι η αποτελεσματικότητα, ασφάλεια και ευκολία χορηγήσεως, όπως και η παντελής έλλειψη ανεπιθύμητων ενεργειών θα καταστήσουν το TP φάρμακο εκλογής για περιπτώσεις ορθίτιδας ή αριστερής κολίτιδας.

α4. Βεκλομεθαζόνη

Το ισχυρό αυτό γλυκοκορτικοειδές με την έντονη αντιφλεγμονώδη δράση ενδείκνυται κυρίως σε περιπτώσεις στις οποίες συνυπάρχει σαν εξωεντερική εκδήλωση της ΕΚ η αρθρίτιδα. Το φάρμακο βρίσκεται υπό μελέτη, Η χρήση του μπορεί να είναι τόσο τοπική (υπό μορφήν υποκλυσμών), όσο και συστηματική. Πλεονεκτήματα του είναι το γεγονός ότι δεν έχει

επίδραση στον υποθαλαμουποφυσιο-επινεφριδιακό άξονα.

α5. Κορτικοειδή και νόσος του Crohn

Τα κορτικοστεροειδή αποτελούν επίσης το φάρμακο εκλογής στην οξεία φάση της νόσου του Crohn, Η National Crohn's Disease Study ήταν η πρώτη προοπτική, πολυκεντρική, διπλή-τυφλή μελέτη, που αφορούσε μεταξύ άλλων και την αποτελεσματικότητα της πρεδνιζολόνης στη νόσο. Ογδονταπέντε άρρωστοι έλαβαν θεραπευτικά πρεδνιζολόνη σε δόση 0.25-0.75 mg ανά kg ΣΒ, ανάλογο με το δείκτη δραστηριότητας της νόσου. Στο τέλος 17 εβδομάδων της μελέτης η πρεδνιζολόνη υπερερούσε του placebo σε περιπτώσεις που η νόσος εντοπιζόταν στο λεπτό έντερο. Το ευνοϊκό αυτό αποτέλεσμα όμως ήταν πολύ λιγότερο σαφές, όταν η νόσος εντοπιζόταν στο παχύ έντερο. Οι εξωεντερικές εκδηλώσεις όπως και οι περιπρωκτικές βλάβες επηρεάστηκαν πολύ λίγο από την κορτιζόνη.

Η European Cooperative Crohn's Disease Study επιβεβαίωσε τα αποτελέσματα της Αμερικανικής μελέτης. Χρησιμοποιήθηκε μεθυλπρεδνιζολόνη σε 113 αρρώστους σε δόση ανάλογη με το δείκτη δραστηριότητας της νόσου. Το φάρμακο ήταν σημαντικά δραστικότερο του placebo ανεξάρτητα από την εντόπιση της νόσου. Το ότι η πρεδνιζολόνη φάνηκε στην Αμερικανική μελέτη πως δεν είχε ευνοϊκά αποτελέσματα, εφ' όσον η νόσος εντοπιζόταν στο παχύ έντερο, προφανώς οφείλεται στις μικρότερες δόσεις που χορηγήθηκαν. Εξ άλλου ο αριθμός των αρρώστων που μελετήθηκαν ήταν σχετικά μικρός. Ενδιαφέρον ήταν επίσης το γεγονός ότι στην Ευρωπαϊκή μελέτη η χορήγηση 8 mg μεθυλπρεδνιζολόνης στους αρρώστους στους οποίους επιτεύχθηκε ύφεση της νόσου, και για διάστημα περίπου 2 ετών, είχε σημαντικό αποτέλεσμα στο να διατηρήσει τη νόσο με ύφεση. Παρόμοιο επίσης ευνοϊκό αποτέλεσμα παρατηρήθηκε και στην Αμερικανική μελέτη. Φαίνεται επομένως ότι στη νόσο Crohn χορήγηση μικρής δόσεως πρεδνιζολόνης για αρκετούς μήνες σαν θεραπεία συντηρήσεως είναι σημαντικός παράγοντας για τη διατήρηση της υφέσεως. Αυτό όμως θα

πρέπει να ξεχωριστεί εντελώς από τον κλινικό και αφορά αρρώστους στους οποίους επιτεύχθηκε ύφεση. Στους αρρώστους που είναι σε ύφεση αρκετές μελέτες έδειξαν ότι η πρεδνιζολόνη δεν μειώνει το ρυθμό υποτροπής της νόσου σε σχέση με το placebo. Προφυλακτική επομένως χορήγηση κορτικοστεροειδών δεν ενδείκνυται στη CD.

Ένα απλοποιημένο θεραπευτικό σχήμα που αφορά τη χορήγηση κορτικοστεροειδών σε οξεία φάση της CD ανάλογα με τη βαρύτητα της προσβολής φαίνεται στον πίνακα 5.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4. Μηχανισμοί δράσεως των κορτικοειδών στην ΙΦΕΝ
1. Μείωση αριθμού κυκλοφορούντων λεμφοκυττάρων 2. Σταθεροποίηση λυσοσωμιακών μεμβρανών 3. Μείωση διαπερατότητας τριχοειδών 4. Μείωση μετανάστευσης μακροφάγων και πολυμορφοπύρηνων στη φλεγμαίνουσα περιοχή 5. Επίδραση στα μακροφάγα (όσον αφορά τη φαγοκυττάρωση από αυτά των αντιγόνων) 6. Μείωση κυτταρικής ανοσίας 7. Αναστολή σύνθεσης προσταγλανδινών

ΠΙΝΑΚΑΣ 5. Θεραπευτικό σχήμα χορήγησης κορτικοειδών σε ενεργό CD
1. Βαριά προσβολή Τίποτα από το στόμα Παρεντερική θρέψη (200 Kcal 10 gr αζώτου) Πρεδνιζολόνη 64 mg/24ωρο σε 2 δόσεις Μετρονιδαζόλη 1000 mg 2 φορές ημερησίως 2. Μέτρια προσβολή Πρεδνιζολόνη 40 mg/24ωρο (1η-7η ημέρα) Πρεδνιζολόνη 30 mg/24ωρο (8η-14η ημέρα) Πρεδνιζολόνη 20 mg/24ωρο (15η-45η ημέρα) 3. Ήπια προσβολή Πρεδνιζολόνη 20 mg/24ωρο (1η-30η ημέρα)

β) Σουλφασαλαζίνη (SASP) (azulfidine, salopyrine)

Η SASP αποτελεί πολύτιμο φάρμακο στη θεραπεία της ΙΦΕΝ. Η χημική της ονομασία είναι salicylazosulfapyridine και αποτελείται από ένα μόριο salicylate συνδεδεμένο με azo

δεσμό με ένα μόριο sulfapyridine (SP). Μετά από λήψη ορισμένης ποσότητας από το στόμα, το μεγαλύτερο μέρος του φαρμάκου φθάνει στο παχύ έντερο, χωρίς να υποστεί καμία μετατροπή. Τα βακτηρίδια του παχέος εντέρου διασπούν τον AZO δεσμό απελευθερώνοντας έτσι ένα μόριο SP και ένα μόριο 5-αμινοσα-λικυλικού οξέος (5-ASA). Η SP τελικά απορροφάται σχεδόν εξ ολοκλήρου από το παχύ έντερο και αποβάλλεται με τα ούρα. Αντίθετα, ελάχιστη ποσότητα 5-ASA απορροφάται από το παχύ έντερο, όπου παραμένει εκδηλώνοντας την αντιφλεγμονώδη του δράση. Η SP φαίνεται ότι ευθύνεται για το μέγιστο ποσοστό των παρενεργειών που εμφανίζονται μετά από τη χορήγηση SASP, παρενεργειών που σχετίζονται με τη στάθμη του φαρμάκου στο αίμα. Εν τούτοις και το 5-ASA δεν είναι άμοιρο παρενεργειών, κυριότερη των οποίων είναι η διάρροια.

Το φάρμακο έχει αποδειχθεί ότι έχει πολλές φαρμακολογικές δράσεις, είναι άγνωστο όμως ποια από τις γνωστές ή άγνωστες αυτές φαρμακολογικές ιδιότητες είναι υπεύθυνη για την ευνοϊκή θεραπευτική του επίδραση στην ΕΚ και τη CD.

Οι παρενέργειες του φαρμάκου είναι εν πολλοίς δόσοεξαρτώμενες, ενώ άλλες είναι μη δόσοεξαρτώμενες. Όλες οι παρενέργειες του φαρμάκου φαίνονται στον πίνακα 6- Σημαντική είναι η παρενέργεια που αφορά την ανδρική στειρότητα. Το φάρμακο μειώνει την κινητικότητα και τον ολικό αριθμό των σπερματοζωαρίων, ενώ προκαλεί εμφάνιση παθολογικών μορφών σπερματοζωαρίων. Οι αλλοιώσεις αυτές είναι αναστρέψιμες με τη διακοπή του φαρμάκου. Οι δόσοεξαρτώμενες παρενέργειες της SASP μπορεί να αποφευχθούν, αν αρχίσει κανείς από μικρή δόση την οποία αυξάνει βαθμιαία. Σε αρρώστους που παρουσιάζουν αντιδράσεις υπερευαισθησίας μπορεί να επιτευχθεί απευαισθητοποίηση αρχίζοντας από δόση 1 mg ημερησίως.

ΠΙΝΑΚΑΣ 6. Παρενέργειες της SASP
1. Αισθητική νευροπάθεια, παραισθησίες, μικτή αισθητοκινητική νευροπάθεια 2. Ηπατοτοξικότητα 3. Αζωοσπερμία, στέρωση

4. Δερματικά εξανθήματα, οζώδες ερύθημα
5. Σύνδρομο οιμοιάζον με ερυθηματώδη λύκο
6. Ναυτία, έμετοι, διάρροια, κεφαλαλγία
7. Αιματολογικές διαταραχές (θρομβοκυτταροπενία, ακοκκιοκυτταραιμία, αιμολυτική αναιμία)

β1) Θεραπευτική εφαρμογή της SASP στην ΙΦΕΝ

Τα ακόλουθα γίνονται σήμερα γενικώς αποδεκτά όσον αφορά τη θεραπευτική εφαρμογή της SASP:

1) Το φάρμακο πρέπει να χορηγείται εφ' όρου ζωής για την πρόληψη των υποτροπών της ΕΚ.

2) Η άριστη δόση τόσο στην οξεία φάση όσο και στη θεραπεία συντηρήσεως είναι 2gr/24h. Η δόση των 3g/ 24ωρο είχε ελαφρώς καλύτερα αποτελέσματα, οι παρενέργειες όμως ήταν σημαντικά περισσότερες.

3) Σε περιπτώσεις που υπάρχουν εξωεντερικές εκδηλώσεις του τύπου της αρθρίτιδας, προτιμάται η χρήση της SASP από τα νέα της ανάλογα, επειδή είναι πλέον αποδεδειγμένο ότι η δράση του φαρμάκου στη ρευματοειδή αρθρίτιδα οφείλεται στο μόριο της SP και επομένως αναμένει κανείς ύφεση της αρθρίτιδας της ΕΚ μέσω αυτού του μηχανισμού.

4) Αποτελεί σήμερα κύρια ένδειξη χορηγήσεως του φαρμάκου η ελκώδης ορθίτιδα. Το φάρμακο στην περίπτωση αυτή χορηγείται υπό μορφήν υποκλυσμών.

5) Στη νόσο του Crohn το φάρμακο δρα κυρίως, όταν η νόσος εντοπίζεται στο παχύ έντερο, και κατά δεύτερο λόγο, όταν ταυτόχρονα εντοπίζεται στο λεπτό και παχύ.

6) Η SASP δεν προλαμβάνει τις υποτροπές της CD τόσο σε χειρουργημένους, όσο και σε μη χειρουργημένους ασθενείς.

Αναλυτικότερα το φάρμακο έχει τις εξής εφαρμογές:

β2) SASP και ελκώδης κολίτιδα

Οξεία νόσος:

Η SASP υπερτερεί του placebo στη θεραπεία της οξείας φάσεως της ΕΚ, δεν είναι όμως τόσο αποτελεσματικό, όσο τα κορτικοειδή. Οι υποκλυσμοί SASP είναι χρήσιμο

θεραπευτικό μέσο για τη θεραπεία της ορθίτιδας ή αριστερής κολίτιδας.

Χρόνια νόσος:

Η πρόληψη των υποτροπών της ΕΚ αποτελεί την κύρια ένδειξη χορηγήσεως του φαρμάκου. Όπως προαναφέρθηκε, πρέπει να χορηγείται εφ' όρου ζωής, σε δόση 2 gr ημερησίως.

β3) SASP και νόσος του Crohn

Οξεία νόσος:

Στη μελέτη NCCDS (American National Cooperative Crohn's Disease Study), η SASP σε δόση 1gr·/15 kg ΣΒ (μέγιστη δόση 5gr·/24ωρο) μέχρι 4 μήνες, δεν υπερτερούσε του placebo περιπτώσεις CD τελικού ειλεού, ήταν όμως αποτελεσματική σε περιπτώσεις που η CD εντοπιζόταν στο παχύ έντερο μόνο ή ταυτόχρονα στο λεπτό και παχύ.

Σε άλλη μελέτη φάνηκε ότι βοηθάει και σε περιπτώσεις εντοπίσεως της νόσου στον ειλεό, όμως ο αριθμός των αρρώστων ήταν μικρός.

Στις μελέτες αυτές φάνηκε ότι καλύτερη γενικά ανταπόκριση είχαν άρρωστοι που δεν είχαν προηγουμένως υποβληθεί σε καμία θεραπεία. Η αποτελεσματικότητα της SASP στην οξεία φάση της νόσου Crohn αποδείχθηκε και στη μελέτη CCDSS (Cooperative Crohn's Disease Study in Sweden) όπως και στην ECCDS (European cooperative Crohn's Study). Ιδιαίτερα θα πρέπει να επισημανθεί ότι η δόση της SASP, για να είναι αποτελεσματική στη CD, πρέπει να υπερβαίνει τα 4 gr ημερησίως (4-6 gr/24ωρο).

Ανενεργός νόσος Crohn

Η SASP δεν μείωνε το ρυθμό υποτροπών της νόσου του Crohn χορηγούμενη σε δόση 0.5 gr /24ωρο και για διάστημα 1-2 ετών.

Μετά χειρουργική εκτομή:

Αρκετές κλινικές μελέτες απέδειξαν ότι η χορήγηση SASP δεν μειώνει το ρυθμό υποτροπών της CD σε αρρώστους που έχουν υποβληθεί σε χειρουργική εκτομή. Τα αποτελέσματα προς το παρόν δεν είναι ενθαρρυντικά.

β4) Ανάλογα της SASP

Φαρμακολογία

Η ύπαρξη παρενεργειών από τη χρήση της SASP και η ανακάλυψη ότι το 5-ASA αποτελεί το δραστικό μόριο της SASP, ήταν οι δύο παράγοντες που ώθησαν τη φαρμακευτική έρευνα προς την κατεύθυνση αναπτύξεως νέων παραγώγων της SASP. Τα παράγωγα αυτά αφορούσαν φυσικά φαρμακοτεχνικές μορφές σχετιζόμενες με το 5-ASA. Το 5-ASA παρουσιάζει βασικό φαρμακοκινητικό μειονέκτημα. Το μειονέκτημα αυτό αφορά την εξ ολοκλήρου σχεδόν απορρόφηση του από το λεπτό έντερο και την απέκκριση του με τα ούρα. Έτσι η χορήγηση του από το στόμα είναι ουσιαστικά χωρίς θεραπευτικό αποτέλεσμα, αφού για να εκδηλωθεί η αντιφλεγμονώδης δράση του θα πρέπει να βρίσκεται σε επαφή με τον φλεγμαίνοντα βλεννογόνο. Αυτό μπόρεσε να παρακαμφθεί φαρμακοτεχνικά με τρεις τρόπους:

Στον πρώτο από αυτούς το μόριο του 5-ASA καλύφθηκε με ακρυλική ρητίνη που έχει την ιδιότητα να διασπάται όταν το pH του περιβάλλοντος φθάσει ή υπερβεί το 7, πράγμα που συμβαίνει στον τελικό ειλεό και στο παχύ έντερο (κυρίως δεξιό κόλον) (σκεύασμα ASACOL). Με τον δεύτερο φαρμακοτεχνικό τρόπο ένα μόριο 5-ASA συνδέθηκε με ένα μόριο Aminobenzoyl Alanine (ABA) που στην περίπτωση αυτή δρα σαν μεταφορέας του μορίου του 5-ASA. Με τον τρόπο αυτό παρεμποδίζεται η απορρόφηση του 5-ASA στο λεπτό έντερο. Πειράματα σε φυσιολογικά άτομα έδειξαν ότι το 1/2 του 5-ASA και τα 3/4 του ABA ανιχνεύονται στα κόπρανα, πράγμα που σημαίνει ότι ικανοποιητική ποσότητα του φαρμάκου φθάνει στο παχύ έντερο (φαρμακευτικό σκεύασμα: BA-IA5A5IOE). Με την τρίτη

φαρμακοτεχνική μέθοδο δύο μόρια 5-ASA συνδέονται με έναν azo δεσμό ακριβώς, όπως στο μόριο της SASP το 5-ASA συνδέεται με το μόριο της SP.

Έτσι το διπλό μόριο του 5-ASA, όπως ακριβώς και το μόριο της SASP, διέρχεται το λεπτό έντερο, όπου απορροφάται ελάχιστα, και φθάνει στο παχύ έντερο όπου απελευθερώνει δύο μόρια 5-ASA. Η κοινόχρηστη ονομασία είναι disodium azodisalicylate. (Φαρμακευτικό σκεύασμα: Dipentum). Φαρμακολογικές μελέτες επιβεβαίωσαν τη διπλάσια ποσότητα απελευθερούμενης ποσότητας 5-ASA στο παχύ έντερο, όπως και την απουσία συστηματικών παρενεργειών και δερματικών εξανθημάτων.

Asacol (Mesalazine – 5-ASA)

Όπως προαναφέρθηκε, το ASACOL απελευθερώνει 5-ASA απ' ευθείας στο παχύ έντερο. Ανά δισκίο περιέχονται 400 gr 5-ASA, δηλαδή διπλάσια ποσότητα από 1 δισκίο azolfidine, επιτρέποντας έτσι τη μείωση του αριθμού των απαιτούμενων δισκίων ημερησίως. Το ASACOL απεκκρίνεται ταχύτατα από τους νεφρούς υπό τη μορφή του μεταβολίτου N-acetyl-5aminosalicytic acid. Αν και δεν έχει περιγραφεί νεφροτοξικότητα στον άνθρωπο, η χορήγηση του δεν συνιστάται σε αρρώστους με μειωμένη νεφρική λειτουργία. Το ASACOL δεν πρέπει να χορηγείται ταυτόχρονα με λακτουλόζη ή άλλα σκευάσματα που μειώνουν το pH του παχέος εντέρου, γιατί αναστέλλεται η απελευθέρωση του. Οι παρενέργειες συνίστανται κυρίως σε φαινόμενα από το ανώτερο πεπτικό (ναυτία, εμετός), σε διάρροια και κεφαλαλγία. Σπανιότατα μπορεί να επέλθει επιδείνωση της συμπτωματολογίας της ΕΚ. Δεν έχουν περιγραφεί μέχρι τώρα επιδράσεις στο μυελό των οστών και στη γονιμοποιητική ικανότητα των ανδρών. Αντενδείκνυται σε άτομα ηλικίας κάτω των 2 ετών και σε άτομα με υπερευαισθησία στα σαλικυλικά. Η ασφάλεια του στην κύηση και σε υπερήλικες δεν έχει ελεγχθεί.

Κλινικές μελέτες με το ASACOL έδειξαν τα ακόλουθα:

α) Το φάρμακο μπορεί να διατηρήσει την ύφεση σε αρρώστους με ΕΚ στο ίδιο ποσοστό όπως και η SASP (24). β) Άρρωστοι με ΕΚ που δεν ανέχονταν τη SASP λόγω παρενεργειών, σε ποσοστό μεγαλύτερο του 90% ανέχθηκαν το ASACOL. γ) Η μεγάλη αύξηση της ημερήσιας δόσεως του φαρμάκου δεν είχε καλύτερα αποτελέσματα από τη συνιστώμενη δόση. δ) Το 5-ASA είναι αποτελεσματικό στη θεραπεία ορθίτιδας ή αριστερής κολίτιδας χορηγούμενο υπό μορφήν υποκλυσμών. Η τελευταία αυτή δράση του 5-ASA φαίνεται ότι έχει μεγάλη σημασία, αφού περιπτώσεις ορθίτιδας ανθεκτικής σε άλλα συντηρητικά μέσα θεραπείας ανταποκρίθηκαν ευνοϊκά στη χορήγηση 5-ASA υπό μορφήν υποκλυσμών. Το φάρμακο δεν έχει δοκιμασθεί σε περιπτώσεις ασθενών με νόσο Crohn.

4-Αμινοσαλικυλικό οξύ

Το 4-aminosalicylic acid (4-ASA) είναι περισσότερο σταθερό μόριο από το 5-ASA λόγω της θέσεως του αζώτου στο δακτύλιο. Μελετάται εκτεταμένα. Χορηγείται υπό μορφήν υποκλυσμών για τη θεραπεία ορθίτιδας ή αριστερής κολίτιδας.

Azodisal sodium (Dipentum)

Το φάρμακο χορηγούμενο από το στόμα σε δόση μέχρι 2 gr/24ωρο για 6 εβδομάδες είναι καλό ανεκτό χωρίς να προκαλεί αξιόλογες παρενέργειες. Έτσι οι συνιστώμενες δόσεις για συνήθη κλινική χρήση είναι 1-3 gr/24ωρο). Διάρροια και ναυτία είναι οι μόνες παρενέργειες που όμως εμφανίζονται σε μικρό ποσοστό ασθενών. Το φάρμακο είναι αποτελεσματικό στο να διατηρεί την ΕΚ σε ύφεση, Στην ίδια μελέτη 160 άρρωστοι με αλλεργία ή δυσανεξία στη SASP πήραν μέρος σε ανοικτή μελέτη με σκοπό τη διαπίστωση ανοχής στο Azodisal sodium. Το 4/5 των αρρώστων ανέχθηκαν καλό το φάρμακο. Ένας στους δέκα αρρώστους (με δυσανεξία στη SASP) σταμάτησαν το φάρμακο λόγω εμφάνισης διάρροιας, που ήταν και η κύρια παρενέργεια. Η ανδρική γονιμότητα παρέμεινε αμετάβλητη στη διάρκεια της θεραπείας. Το φάρμακο επομένως ενδείκνυται στη θεραπεία της ΕΚ και σε

περιπτώσεις ασθενών με δυσανεξία στη SASP. Δεν έχει μελετηθεί στη CD.

II. ANTIBIOTIKA

α) Αντιβιοτικά ευρέος φάσματος

Δεν έχουν θέση στη θεραπεία της ΕΚ ή της CD. Αντίθετα έχουν ενοχοποιηθεί για εμφάνιση υποτροπών. Εν τούτοις σε περιπτώσεις υπόνοιας δευτεροπαθούς λοιμώξεως, τοξικού megacolon ή διατρήσεως, η χορήγηση τους επιβάλλεται.

Βανκομυκίνη

Ένα ενδιαφέρον ερώτημα είναι αν οι άρρωστοι με ΙΦΕΝ θα πρέπει να εξετάζονται για την παρουσία *clostridium difficile* ή της τοξίνης του στα κόπρανα. Από τα υπάρχοντα δεδομένα φαίνεται ότι αυτό θα πρέπει να γίνεται σε αρρώστους με βαριές υποτροπές. Ιδιαίτερα συνιστάται η ανίχνευση του κλωστηριδίου στις περιπτώσεις που ο άρρωστος είχε υποβληθεί σε αντιμικροβιακή θεραπεία τους προηγούμενους 1-2 μήνες από την εμφάνιση της βαριάς υποτροπής. Το αν θα πρέπει ή όχι στις βαριές περιπτώσεις ελκώδους κολίτιδας να χρησιμοποιείται βανκομυκίνη, τα υπάρχοντα δεδομένα είναι εναντίον αυτής της απόψεως. Σε περιπτώσεις όμως με θετικές καλλιέργειες θα πρέπει μάλλον να χορηγείται βανκομυκίνη. Πάντως το τελευταίο αυτό μελετάται και αναμένεται να δοθεί απάντηση σύντομα.

β) Μετρονιδαζόλη (MT)

β1) Ελκώδης κολίτιδα:

Η MT χορηγήθηκε σε συνδυασμό με τις συνιστώμενες δόσεις πρεδνιζολόνης σαν μέρος του ακολουθούμενου στην Οξφόρδη έντονου πενθήμερου θεραπευτικού σχήματος, του οποίου πολύ πρόσφατα παρουσιάσθηκαν τα αποτελέσματα. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της εργασίας αυτής η χορήγηση της MT δεν είχε ευνοϊκό αποτέλεσμα σε σχέση με την ομάδα που δεν πήρε MT, Η μελέτη αυτή που αποτελεί την πρώτη ολοκληρωμένη, συστηματική,

διπλή τυφλή κλινική δοκιμασία, δεν συνιστά τη χορήγηση MT στην οξεία φάση της ΕΚ. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και από εμάς, αν και η μελέτη ήταν ανοικτή. Φαίνεται επομένως ότι η MT δεν δρα στην ΕΚ. Για τις ελληνικές όμως συνθήκες πραγματικότητας φαίνεται ότι δεν στερείται εντελώς σημασίας η χορήγηση MT στην οξεία φάση της ΕΚ σε συνδυασμό με τη ν υπολοίπη θεραπεία για διάστημα 5-7 ημερών, εφ' όσον υπάρχουν ενδείξεις ενδοκοιλιακής συλλογής, περιπρωκτικών βλαβών ή διατρήσεως ή εφ' όσον η παρασιτολογική εξέταση κοπράνων δείξει ιστολυτικές αμοιβάδες, κύστες ή και τα δύο. Εν τούτοις ακόμη και στην περίπτωση που δεν ανευρεθούν ιστολυτικές αμοιβάδες. ίσως έχει ένδειξη η χορήγηση της MT, τουλάχιστον για τις αρχικές πέντε ημέρες.

β2) Νόσος Crohn

Το 1975 ήταν το έτος που για πρώτη φορά περιγράφηκε η ευνοϊκή επίδραση της MT στη CD, Έκτοτε αρκετές μελέτες, ελεγχόμενες και μη, είδαν το φως της δημοσιότητας, ορισμένες με ευνοϊκά αποτελέσματα και ορισμένες όχι. Στην πρώτη από αυτές που περιέλαβε 20 ασθενείς, η MT δεν διέφερε σημαντικά από το placebo όσον αφορά την κλινική βελτίωση, οι άρρωστοι όμως που πήραν MT παρουσίασαν σημαντική αύξηση . της αιμοσφαιρίνης και σημαντική μείωση της ΤΚΕ,

Η δεύτερη μελέτη (CCDSS) συνέκρινε τη MT με τη SASP σε 78 ασθενείς. Η δόση της MT ήταν 0.4 gr x 2της δε SASP 0.5 gr x 3/24ωρο και για δύο περιόδους τεσσάρων μηνών η μία. Στο πρώτο τρίμηνο τα δύο φάρμακα δεν διέφεραν όσον αφορά το κλινικό αποτέλεσμα. Εν τούτοις η MT προκάλεσε σημαντικότερη πτώση των ορομουκοειδών του πλάσματος. Από τη μελέτη αυτή φάνηκε επίσης ότι οι άρρωστοι, στους οποίους η νόσος εντοπιζόταν στο παχύ έντερο, είχαν καλύτερη ανταπόκριση από αυτούς στους οποίους η νόσος εντοπιζόταν στο λεπτό. Η μέση ΤΚΕ έπεσε σημαντικά και στα δύο φάρμακα, αλλά η αύξηση της αιμοσφαιρίνης ήταν σημαντικότερη στην ομάδα που έπαιρνε MT.

Το 1982 οι Brandt και συν. δημοσίευσαν τα αποτελέσματα της χορηγήσεως MT σε 26 ασθενείς με περιπρωκτικές βλάβες οφειλόμενες σε CD. Η χορήγηση MT είχε ως αποτέλεσμα σημαντική μείωση της ποσότητας του αποβαλλόμενου από τα συρίγγια υγρού, όπως και μείωση των τοπικών φλεγμονωδών φαινομένων (ερυθρότητας, οιδήματος). Το τελικό αποτέλεσμα μετά τρίμηνη θεραπεία με δόση 20 mg/kg ΒΣ ήταν πλήρης επούλωση σε 10 από τους 26 ασθενείς και σημαντικού βαθμού βελτίωση στους υπόλοιπους 16. Η μείωση της δόσεως του φαρμάκου συνοδεύτηκε από αύξηση του δείκτη δραστηριότητας της νόσου. Όμοια ευνοϊκά αποτελέσματα παρατηρήθηκαν επίσης σε περιπτώσεις επιδερμικών συριγγίων. Οι Ambrose και συν. χρησιμοποίησαν σε μια προοπτική τυφλή μελέτη MT και κοτριμοξαζόλη σε ομάδα ασθενών με υποτροπή CD. Από τους 72 ασθενείς της μελέτης 18 πήραν MT, 16 κοτριμοξαζόλη, 21 και τα δύο μαζί και 17 placebo. Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις ομάδες μετά 4 εβδομάδων θεραπεία. Με βάση επομένως τα υπάρχοντα δεδομένα φαίνεται ότι η MT είναι ένα αποτελεσματικό φάρμακο στην οξεία φάση της CD. Ιδιαίτερη σημασία έχει η χορήγηση της πριν σχηματισθεί ίνωση. Το φάρμακο δρα ιδιαίτερα σε περιπτώσεις προσβολής του παχέος εντέρου ή εφ' όσον υπάρχουν περιπρωκτικές βλάβες ή συρίγγια.

Ο μηχανισμός δράσεως στη CD είναι άγνωστος. Οι παρενέργειες του φαρμάκου αφορούν κατά σειρά σπουδαιότητας το περιφερικό νευρικό σύστημα και σε μικρότερο βαθμό το αιμοποιητικό.

Άλλες παρενέργειες του φαρμάκου είναι μεταλλική γεύση, ναυτία, ανορεξία, πονοκέφαλος, πικρή γλώσσα. Δεν υπάρχουν ενδείξεις ότι το φάρμακο έχει μεταλλαξιογόνο δράση στον άνθρωπο, θα πρέπει να χορηγείται με προσοχή στη διάρκεια της κυήσεως.

Το προτεινόμενο θεραπευτικό σχήμα είναι το ακόλουθο:

1. Έναρξη θεραπείας με 750-1000 mg/24ωρο.

2. Συνέχιση της δόσεως μέχρις επιτεύξεως πλήρους κλινικοεργαστηριακής υφέσεως.

3. Συνέχιση του φαρμάκου σε χαμηλότερη δόση (400-500 mg) για 4-6 μήνες. Σε περίπτωση που δεν επιτευχθεί ευνοϊκό κλινικοεργαστηριακό αποτέλεσμα σε 4 εβδομάδες, το φάρμακο θα πρέπει να διακόπτεται.

Φαίνεται ότι ένα ακόμη φάρμακο προστίθεται στα ήδη υπάρχοντα αντιβιοτικά. Η ορνιδαζόλη, φάρμακο συγγενές της μετρονιδαζόλης, αποδείχθηκε ότι μειώνει το δείκτη δραστηριότητας της νόσου. Η μελέτη αυτή, που έγινε στον ελληνικό χώρο, ίσως δώσει με την εν συνεχεία διπλή τυφλή μελέτη τη δυνατότητα εναλλακτικής θεραπείας στους αρρώστους με CD ανεξάρτητα από την εντόπιση της νόσου.

III. ΦΑΡΜΑΚΑ ΜΕ ΔΡΑΣΗ ΣΤΟ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ:

α) Αζοθειοπρίμη (AZ), 6-Μερκαπτοπουρίνη (6-MP):

Οι ακριβείς μηχανισμοί δράσεως της 6-MP είναι αν οχ άγνωστοι, τουλάχιστον όχι πλήρως κατανοητοί. Το φάρμακο θεωρείται ότι ανήκει στην κατηγορία των άνοσο κατασταλτικών.

Κλινική εφαρμογή της AZ και 6-MP στην ΕΚ

Η πρώτη αναφορά στην ενδεχόμενη θεραπευτική επίδραση της 6-MP στην ΕΚ έγινε το 1962, Έκτοτε λιγοστές μη ελεγχόμενες μελέτες έδωσαν αλληλοσυγκρουόμενα αποτελέσματα. Το 1981 οι Theodor και συν. περιέγραψαν ευνοϊκή επίδραση της AZ σε αρρώστους με μη ανταποκρινόμενη στη συντηρητική θεραπεία ΕΚ. Προηγούμενες μελέτες κυρίως από τις ΗΠΑ έδειξαν ευνοϊκά αποτελέσματα σε 15 από 25 αρρώστους όπως επίσης ευνοϊκά αποτελέσματα σε παιδιά με αναστολή της αναπτύξεως.

Στη μελέτη των Korelitz και συν, το φάρμακο χορηγήθηκε για 3 μήνες σε 20 αρρώστους με οξεία ΕΚ. Η ομάδα αυτή συγκρίθηκε με ομάδα ασθενών υπό θεραπεία με SASP. Και τα δύο φάρμακα προκάλεσαν σημαντική βελτίωση των κλινικών συμπτωμάτων και

των εργαστηριακών δεικτών, όπως και των ιστολογικών και ενδοσκοπικών αλλοιώσεων. Στη μελέτη των Jewell και Truelove το φάρμακο δεν διέφερε από το placebo όσον αφορά την πρόληψη των υποτροπών της ΕΚ.

Φαίνεται επομένως από τα υπάρχοντα δεδομένα και από την κλινική εμπειρία πολλών γαστρεντερολόγων ότι: 1) η άριστη δόση της 6-MP ή AZ στην ΕΚ είναι 2.5 gr/kg ΒΣ και η δόση αυτή θα πρέπει οπωσδήποτε να χορηγείται χωρίς δισταγμό, 2} το φάρμακο δεν προλαμβάνει τις υποτροπές της ΕΚ και επομένως δεν χορηγείται σαν θεραπεία συντηρήσεως, 3) το φάρμακο μάλλον έχει ένδειξη στην προαναφερθείσα δοσολογία σε περιπτώσεις εξάρσεων ΕΚ, ανθεκτικών στη θεραπεία με άλλα μέσα (περιλαμβανομένων και των κορτικοειδών), ενώ φαίνεται ότι μπορεί και μόνο του να δράσει θεραπευτικά προκαλώντας ύφεση της νόσου, και 4) το φάρμακο επιτρέπει τη μείωση της δόσεως των χορηγουμένων κορτικοειδών χορηγούμενο ταυτόχρονα.

Κλινική εφαρμογή της AZ και της 6-MP στη CD

Το 1980 δημοσιεύθηκε η πρώτη διπλή-τυφλή ελεγχόμενη μελέτη που αφορούσε τη χρήση 6-MP (σε σχέση με ομάδα placebo σε αρρώστους με CD 67% της ομάδας 6-MP παρουσίασαν βελτίωση σε σχέση με 8% της ομάδας του placebo. Ταυτόχρονα φάνηκε η ευνοϊκή της επίδραση όσον αφορά τη διακοπή ή μείωση της δόσεως του κορτικοειδούς στη σύγκλειση των συριγγίων. Το τελευταίο αυτό διαπιστώθηκε και σε άλλη μεταγενέστερη μελέτη.

Φαίνεται ότι η ευνοϊκή επίδραση της 6-MP και AZ μπορεί να βραδύνει αρκετά (3-6 μήνες) πράγμα που σημαίνει ότι για να διαπιστώσει κανείς το ευνοϊκό αποτέλεσμα θα πρέπει να περιμένει τουλάχιστον 3 μήνες. Όσον αφορά τη διατήρηση υφέσεως, εφ' όσον επιτεύχθηκε ύφεση οξείας φάσεως της CD, φαίνεται ότι η χορήγηση της 6-MP υπερτερεί του placebo. Οι ενδείξεις εφαρμογής συνοπτικά φαίνονται στον πίνακα 8. Γενικό η χορήγηση 6-MP στην ΙΦΕΝ θα πρέπει να σταθμίζεται προσεκτικά. Με κατάλληλη επιλογή του αρρώστου, με

συστηματική παρακολούθηση και ενημέρωση του για τις πιθανές παρενέργειες, φαίνεται ότι αποτελεί χρήσιμο φάρμακο.

ΠΙΝΑΚΑΣ 8. Ενδείξεις εφαρμογής 6-MP ή AZ σε αρρώστους με CD

1. Ανεπαρκής ανταπόκριση στα κορτικοειδή ή SASP
2. Συρίγγια
3. Απόφραξη λεπτού εντέρου
4. Πρώιμη υποτροπή μετά εκτομή τελικού ειλεού
5. Βραχύ έντερο ως αποτέλεσμα εκτεταμένης νόσου λεπτού εντέρου ή επανειλημμένων χειρουργικών εκτομών
6. Ως προφυλακτική θεραπεία μετά από 2 χειρουργικές επεμβάσεις
7. Παρουσία κοιλιακών μαζών που δεν είναι αποστήματα
8. Παιδιά με χρόνια ενεργό νόσο ή καθυστέρηση της ανάπτυξης
9. CD στομάχου ή δωδεκαδακτύλου

ΠΙΝΑΚΑΣ 9. Επιπλοκές αποδιδόμενες στην 6-MP σε 400 ασθενείς

Επιπλοκή	Αριθμός ασθενών	Ποσοστό %
Παγκρεατίτιδα	13	3,3
Καταστολή μυελού	8	2
Αλλεργικές εκδηλώσεις	8	2
Φαρμακευτική ηπατίτιδα	3	0,8

β) Κυκλοσπορίνη

Η κυκλοσπορίνη αποτελεί αντιπρόσωπο σειράς φαρμάκων που εκλεκτικά και αναστρέψιμα καταστέλλουν την κυτταρική ανοσία.

Το φάρμακο φαίνεται ότι δρα ανοσοκατασταλτικά με πολλούς μηχανισμούς.

Η κλινική εμπειρία από τη χρήση της κυκλοσπορίνης στην ΙΦΕΝ είναι πολύ περιορισμένη. Αν και τα πρώτα αποτελέσματα κυρίως στη CD μπορούν να χαρακτηρισθούν ως ενθαρρυντικά, εν τούτοις αναμένεται να γίνουν γνωστά τα αποτελέσματα μεγαλύτερων κλινικών δοκιμών που αυτή τη στιγμή βρίσκονται σε εξέλιξη.

ΠΙΝΑΚΑΣ 10. Επιπλοκές κυκλοσπορίνης
1. Ηπατική και νεφρική δυσλειτουργία 2. Δυσπεψία, ανορεξία, έμετος 3. Υπερουριχαιμία, υπερκαλιαιμία 4. Παραισθήσεις 5. Υπερτρίχωση 6. Τρόμος 7. Αναιμία και λευκοκυττάρωση 8. Λέμφωμα (11 σε 3000 περιπτώσεις)

IV. ΑΛΛΑ ΦΑΡΜΑΚΑ

α) Κλονιδίνη

Η κλονιδίνη, ένας ευρέως γνωστός α_2 αγωνιστής, χρησιμοποιούμενος επιτυχώς στη θεραπεία της υπέρτασεως, φαίνεται ότι διαδραματίζει κάποιο ρόλο στη θεραπεία της ΕΚ. Στη μελέτη αυτή η αποτελεσματικότητα του φαρμάκου ήταν παρόμοια με την της πρεδνιζολόνης. Δράσεις του φαρμάκου φαίνεται ότι αποτελούν η αύξηση των επιπέδων ACTH του ορού (μέσω δράσεως στο κεντρικό νευρικό σύστημα), η μείωση κινητικότητας του εντέρου, η μείωση της γαστρικής και παγκρεατικής εκκρίσεως και η αναστολή 4 κεντρικών συμπαθητικών οδών. Οποσδήποτε ο αριθμός των κλινικών μελετών χρειάζεται να αυξηθεί.

β) Φάρμακα συμπτωματικής αντιμετώπισεως

Τα φάρμακα της συμπτωματικής αντιμετώπισεως όπως π.χ. αντιδιαρροϊκά (οπιούχα, λοπεραμίδη, συνδυασμός διφαινοξυλάτης και ατροπίνης) θα πρέπει να χορηγούνται στους αρρώστους με ΙΦΕΝ με εξαιρετική προσοχή και αυτό γιατί η χορήγηση τους είναι δυνατό να συγκαλύψει την κλινική εικόνα υποκείμενης φλεγμονής ή λοιμώξεως. Στους αρρώστους όμως με νόσο Crohn και ιδιαίτερα σε αυτούς που έχουν υποβληθεί σε. μερική εκτομή του λεπτού

εντέρου ή δεξιά ημικολεκτομή, η διάρροια της στην οποία συμμετέχει ασφαλώς η δυσαπορρόφηση των χολικών αλάτων, η χορήγηση χολεστυραμίνης από το στόμα (μέχρι 4 gr 3 φορές ημερησίως) μπορεί να βοηθήσει, θα πρέπει όμως ο θεράπων να γνωρίζει ότι επειδή μακρά χορήγηση χολεστυραμίνης μπορεί να προκαλέσει η ίδια, δυσαπορρόφηση, είναι καλύτερα να την χορηγεί υπό μορφή επικεκαλυμμένων εντεροδιαλυτών δισκίων.

1.2.2 Διαιτητική αντιμετώπιση

Οι άρρωστοι με ΙΦΕΝ συχνά παρουσιάζουν μειονεκτική απορρόφηση των θρεπτικών ουσιών και μειωμένη πρόσληψη με την τροφή, πράγμα που έχει σαν συνέπεια αρνητικό θερμιδικό ισοζύγιο. Μειονεκτική είναι επίσης και η πρόσληψη του λευκώματος. Για τους υδατάνθρακες ειδικότερα, όλες οι μέχρι τώρα μελέτες έχουν δείξει ότι άρρωστοι με CD έχουν σημαντικά αυξημένη πρόσληψη σακχάρου σε σχέση με τον φυσιολογικό πληθυσμό. Αυτό συμβαίνει όχι μόνο στην περίοδο των εξάρσεων της νόσου αλλά ακόμη και στη διάρκεια των ετών που προηγήθηκαν της κλινικής εμφάνισης της νόσου. Αυτό συμβαίνει στους αρρώστους με ΕΚ. Η πιθανότερη ερμηνεία για την αυξημένη πρόσληψη σακχάρου από τους αρρώστους με CD φαίνεται ότι είναι η μείωση του ουδού γεύσεως για το γλυκό².

Επομένως η διαιτητική αγωγή στις παροξύνσεις της ΙΦΝΕ αποβλέπει, κατά κύριο λόγο, στο να προσφέρει στον ασθενή επαρκή θερμιδική κάλυψη καθώς και επαρκή ποσότητα λευκώματος υψηλής βιολογικής αξίας^{4,42-45}.

I. ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΕΣ ΣΥΣΤΑΣΕΙΣ ΣΕ ΑΡΡΩΣΤΟΥΣ ΜΕ CD:

Με βάση τα ανωτέρω θεωρητικά δεδομένα η σύσταση προς τους ασθενείς με CD, όσον αφορά τους υδατάνθρακες θα πρέπει να είναι η ακόλουθη: Να αποφεύγονται η ζάχαρη, το ρύζι και τα επεξεργασμένο προϊόντα καλαμποκιού. Άλλες διαφορές στη δίαιτα των αρρώστων με CD σε σχέση με τα φυσιολογικά άτομα φαίνεται ότι αφορούν: α) την πρόσληψη λιγότερων φρέσκων φρούτων αλλά και φυτικού υπολείμματος γενικά και β) την πρόσληψη

περισσότερου αμύλου, Η δίαιτα φαίνεται ότι μπορεί να διαδραματίζει κάποιο ρόλο στην εμφάνιση των υποτροπών της CD μέσω κυρίως της σουκρόζης της τροφής, Η σουκρόζη θα πρέπει ενδεχομένως να αποκλείεται από τη δίαιτα των αρρώστων με CD, ελεγχόμενες όμως μελέτες που βρίσκονται σε εξέλιξη θα επιβεβαιώσουν ή θα απορρίψουν αυτή την άποψη.¹⁰ Η ελεύθερη, πλούσιο σε φυτικό υπόλειμμα (εκτός αν υπάρχουν στενωτικές περιοχές στο έντερο) δίαιτα φαίνεται ότι γίνεται ανεκτή από αρρώστους με CD. Γενικά η διατροφική υποστήριξη των αρρώστων με CD θα πρέπει να περιλαμβάνει γεύματα πλούσια σε πρωτεΐνες και θερμίδες, αιματινικούς παράγοντες (σίδηρο, φυλλικό οξύ, βιταμίνη B12) και τέλος αποκλεισμό των ευαπορρόφητων (σακχαρόζη) υδατανθράκων. Σε περίπτωση δυσαπορρόφησης λίπους και επομένως βιταμίνης D , ενδείκνυται η χορήγηση της. Δεν θα πρέπει να παραγνωρίζεται το γεγονός ότι υπασβεστιασμία μπορεί να εμφανισθεί λόγω μειωμένης προσλήψεως ασβεστίου και λόγω της χορηγήσεως για θεραπευτικούς λόγους των κορτικοειδών. Υπομαγνησσαιμία μπορεί να είναι αποτέλεσμα χρόνιας απώλειας. Μερικοί από τους ασθενείς είναι δυνατό να παρουσιάσουν μείωση χαλκού, ψευδαργύρου και βιταμίνης A. Τέλος σε περιπτώσεις υπεροξαλουρίας σε CD, θα πρέπει να εκτιμάται προσεκτικά το διαιτολόγιο του ασθενούς όσον αφορά τα περιεχόμενα οξαλικά άλατα^{2,14,15}.

II. ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΕΣ ΣΥΣΤΑΣΕΙΣ ΣΕ ΑΡΡΩΣΤΟΥΣ ΜΕ ΕΚ:

Στις περιόδους υφέσεως της ΕΚ δεν συνιστάται ειδική δίαιτα, ούτε ακόμη η αποφυγή γάλακτος, εκτός εάν ο άρρωστος έχει δυσανεξία στη λακτόζη^{2,41}. Στις παροξύνσεις της ΕΚ, εφ' όσον πρόκειται για βαριά προσβολή, ορισμένοι μειώνουν σημαντικά την πρόσληψη της τροφής από το στόμα για περίπου 5-7 ημέρες, ενώ ο άρρωστος υποβάλλεται σε έντονη θεραπεία με κορτικοειδή. Η σίτιση των αρρώστων γίνεται βαθμιαία και η δίαιτα περιλαμβάνει

λεύκωμα υψηλής ποιότητας (χωρίς γάλα ή γαλακτερά). Σε μέτριες παροξύνσεις συνιστάται
δίαιτα υψηλή σε πρωτεΐνες και υδατάνθρακες και φτωχή σε φυτικό υπόλειμμα².

III. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΟΛΙΚΗΣ ΠΑΡΕΝΤΕΡΙΚΗΣ ΘΡΕΨΗΣ (ΟΠΘ) ΣΤΗΝ ΙΦΕΝ;

α) Νόσος Crohn

ΟΠΘ ενδείκνυται σε περιπτώσεις CD στις οποίες οι άλλες μορφές θεραπείας έχουν αποτύχει. Έτσι μπορεί να εφαρμοσθεί: 1) σε εκτεταμένη CD ιδιαίτερα εκεί όπου εντερική ή στοματική θρέψη είναι αδύνατη και όπου η έκταση της νόσου είναι τέτοια, ώστε να καθιστά την επέμβαση ιδιαίτερα βαριά, 2) σε ταχεία υποτροπή μετά από χειρουργική επέμβαση, 3) σε σύνδρομο βραχέος εντέρου, 4) σε αρρώστους στους οποίους άλλοι τύποι θεραπείας ενδέχεται να αποδώσουν αλλά των οποίων η διατροφική κατάσταση είναι πολύ επηρεασμένη, 5) σε αρρώστους που παρουσιάζουν σημαντικές παρενέργειες από τη χρήση των κορτικοστεροειδών και 6) για σύγκλειση συριγγίων.

Εκτιμώντας συνολικά τα υπάρχοντα δεδομένα φαίνεται ότι η λογική χρήση της ΟΠΘ έχει τη θέση της στην αντιμετώπιση αρρώστων με CD. Αυτό στηρίζεται σε αρκετές μελέτες που όλες τους δείχνουν ότι σημαντικό ποσοστό αρρώστων, που ποικίλλει μεταξύ διάφορων μελετών, ωφελείται. Έτσι έχουν περιγραφεί υφέσεις από 40-80% των ασθενών στη διάρκεια της ΟΠΘ. Εντούτοις ο ρυθμός υποτροπής των ασθενών με τη διακοπή της ΟΠΘ δεν διαφέρει σημαντικά από τον αναμενόμενο και πολλοί άρρωστοι είναι αναγκαίο να υποβληθούν σε χειρουργική επέμβαση. Άρρωστοι με CD και ένδειξη για ΟΠΘ μπορεί να υποβάλλονται σε θεραπεία στο σπίτι τους (HOME PARENTERAL NUTRITION)^{2,16}.

β) Ελκώδης κολίτιδα

Τόσο οι αρχικές, όσο και οι πρόσφατες μελέτες δεν θεωρούν ότι η ΟΠΘ έχει ένδειξη στη θεραπευτική αντιμετώπιση της ΕΚ. Ενδεχομένως η ΟΠΘ βοηθάει πριν από την εκτέλεση ορισμένων χειρουργικών επεμβάσεων για ΕΚ, αν και ακόμη αυτό αμφισβητείται.

γ) Κατάχρηση ΟΠΘ

Κατάχρηση ΟΠΘ συμβαίνει σε αρρώστους με στενώσεις του εντέρου οφειλόμενες σε ΙΦΕΝ. Δεν υπάρχει ένδειξη χρησιμοποίησης ΟΠΘ στους αρρώστους αυτούς για τον απλούστατο λόγο διότι δεν αναμένεται η στένωση να λυθεί με την εφαρμογή ΟΠΘ, ακόμα και αν στη δημιουργία της στενώσεως συμβάλλει φλεγμονώδης επεξεργασία. Η ΟΠΘ έχει ένδειξη μόνο για να βελτιωθεί η διατροφική κατάσταση των αρρώστων προκειμένου να υποβληθούν σε πλαστική της στενώσεως (stricturoplasty) ή τμηματική εντερεκτομή.

IV ΣΤΟΙΧΕΙΑΚΗ ΔΙΑΙΤΑ ΚΑΙ ΙΦΕΝ

Η χορήγηση στοιχειακής διαίτας μπορεί να βοηθήσει σε περιπτώσεις με CD με τους ακόλουθους μηχανισμούς: 1) βοηθά στην «ανάπαυση» του εντέρου, 2) μειώνει ή εξαλείφει τα αλλεργιογόνα της τροφής, 3) επιφέρει μεταβολές στην εντερική χλωρίδα και 4) βελτιώνει την κατάσταση θρέψεως των αρρώστων.

Υπάρχει μόνο μία διπλή τυφλή μελέτη που συγκρίνει πρεδνιζολόνη (0,75 mg/kg ΒΣ/24ωρο) με στοιχειακή διαίτα (Vivonex) για την αντιμετώπιση νέων περιπτώσεων CD. Το Vivonex (40-60 Kcal/kg ΒΣ και άζωτο 8-12 gr /24ωρο) προκάλεσε στο τέλος του πρώτου και του τετάρτου μηνός παρόμοια βελτίωση με την της πρεδνιζολόνης. Εν τούτοις θα πρέπει να έχει κανείς υπόψη του ότι οι δίαιτες αυτές γίνονται πολύ δύσκολα ανεκτές για μακρό χρονικό διάστημα, επειδή μειονεκτούν σημαντικά σε γεύση, ενώ εξ άλλου μπορεί να προκαλέσουν εμφάνιση διάρροιας².

1.2.3 Ψυχιατρική προσέγγιση

Η ψυχική προσέγγιση ασθενούς και θεράποντος ιατρού είναι εξαιρετικά απαραίτητο στοιχείο της θεραπευτικής προσπάθειας. Για να επιτευχθεί αυτό είναι αναγκαίο αυτός που έχει την κύρια ευθύνη του αρρώστου να εμφορείται από το ακόλουθα: α) Να είναι σχετικά αισιόδοξος όσον αφορά την πορεία του συγκεκριμένου ασθενούς και την αισιοδοξία του αυτή να μπορεί να τη μεταβιβάσει στον ασθενή, έτσι ώστε να κερδηθεί το δεύτερο στοιχείο της ψυχικής προσέγγισης που είναι β) η εμπιστοσύνη του αρρώστου που και πάλι είναι σε συνάρτηση με το τρίτο στοιχείο, γ) τη στενή παρακολούθηση και φροντίδα του αρρώστου από τον θεράποντα που θα είναι διαθέσιμος ανά πάσα στιγμή, έτσι ώστε να διαγνωσθεί έγκαιρα ενδεχόμενη επιπλοκή ή απορρύθμιση της καταστάσεως του ασθενούς. Αυτό όλα ασφαλώς προϋποθέτουν την ύπαρξη ατομικών χαρακτηριστικών που κοσμούν τον θεράποντα όπως π.χ. η ικανότητα να βλέπει σφαιρικά τον άρρωστο και να είναι εξαιρετικά προσεκτικός στο χειρισμό του.

Τέλος η συνεργασία με χειρουργό που ενδιαφέρεται για γαστρεντερολογικά περιστατικά και η γνωριμία του δευτέρου με τον ασθενή είναι στοιχεία που ασφαλώς διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην αντιμετώπιση των αρρώστων με ΙΦΕΝ όπως καθημερινά διαπιστώνεται στην κλινική πράξη.

Όπως φάνηκε από τα μέχρι τώρα εκτεθέντα, διαθέτουμε σήμερα αρκετά φάρμακα για την αντιμετώπιση των αρρώστων με ΙΦΕΝ με τη διαφορά ότι ο καλύτερος τρόπος και χρόνος χορηγήσεως τους δεν έχει ακόμη καθορισθεί με απόλυτη ακρίβεια. Από την άλλη πλευρά η έρευνα για την ανακάλυψη νέων δραστικών χημικών ενώσεων συνεχίζεται με αμείωτο ρυθμό. Μέχρις ότου όμως κατανοήσουμε εντελώς την παθογένεια της ΙΦΕΝ, η θεραπεία της θα παραμένει εμπειρική και εξατομικευμένη².

1.3 ΝΕΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ

Αν και η αιτιοπαθογένεια της Ιδιοπαθούς Φλεγμονώδους Εντερικής Νόσου παραμένει εν πολλοίς άγνωστη, εντούτοις θεωρείται βέβαιο ότι το ανοσιακό σύστημα διαδραματίζει αρκετά σημαντικό ρόλο. Πριν παρατεθούν τα πολύ ενδιαφέροντα νέα θεραπευτικά επιτεύγματα που ανατέλλουν στον ορίζοντα είναι αναγκαίο να αναφερθούν ορισμένα θεωρητικά δεδομένα τα οποία θα καταστήσουν πλέον κατανοητή τη θεραπευτική δράση αυτών των ουσιών.

Το ανοσιακό σύστημα του ανθρώπου αποτελείται από προφλεγμονώδεις και αντιφλεγμονώδεις συνιστώσες, που η μεταξύ τους ισορροπία διατηρεί αυτό καθαυτό το σύστημα σε ισορροπία. Παραδείγματα τέτοιων ζευγών ισορροπίας είναι η ιντερλευκίνη-1 και ο ανταγωνιστής του υποδοχέα της, ο παράγοντας νέκρωσης του όγκου (TNF) και η πρωτεΐνη που συνδέεται με τον TNF κ.λπ. Πιστεύεται σήμερα ότι η ύπαρξη μειονεκτικής ανοσορρύθμισης (και ιδιαίτερα μειονεκτικής ανοσοκαταστολής) είναι δυνατό να προκαλέσει χρόνια κολίτιδα. Είναι λογικό να καταλήξει κανείς στο συμπέρασμα ότι γενετικές παρεμβάσεις που προκαλούν απώλεια ανοσο-κατασταλτικών μορίων, όπως της ιντερλευκίνης-10 ή του Transforming Growth Factor- α , μπορεί να προκαλέσουν χρόνια φλεγμονή, πράγμα που έχει αποδειχτεί σε γενετικά μεταλλαγμένα πειραματόζωα.

Είναι σήμερα αποδεκτό ότι τα CD4 λεμφοκύτταρα διαφοροποιούνται είτε σε Th1 είτε σε Th2 κύτταρα. Τα Th1 κύτταρα ενεργοποιούνται από την ιντερλευκίνη-2, με αποτέλεσμα την παραγωγή ιντερφερόνης- α που προκαλεί αντίδραση κοκκιωματώδους τύπου και οδηγεί σε χρόνια φλεγμονή και ίνωση. Τα Th2 κύτταρα εκκρίνουν ιντερλευκίνες -4, -5, -6 και -10 που προκαλούν αντιδράσεις υπερευαισθησίας και αυτοπεριοριζόμενη φλεγμονώδη αντίδραση, ακολουθούμενη από ίνωση. Τα δύο αυτά συστήματα αναστέλλουν το ένα το άλλο, έτσι ώστε η ιντερφερόνη- α ευοδώνει τη συνεχή Th1 αντίδραση αναστέλλοντας την Th2 αντίδραση. Τα

συστήματα αυτά, έτσι, εξισορροπούνται συνεχώς. Η ανάπτυξη των αντιδράσεων αυτών καθορίζεται γενετικά και είναι αντι-γονοεξαρτώμενη.

Τα ευρήματα μελετών σχετικά με την ανοσορρύθμιση των μακροφάγων σε πειραματικά πρότυπα κολίτιδας υποστηρίζουν ότι θεραπευτικές προσπάθειες που κατατείνουν στο να αναστέλλουν κυτοκίνες όπως είναι η ιντερλευκίνη-1, ο TNF και άλλες χυμοκίνες μπορεί να είναι αποτελεσματικές στην οξεία, αλλά όχι στη χρονιά φάση των φλεγμονωδών αυτών νοσημάτων.

Ο πυρηνικός παράγοντας κάππα Β (nuclear factor kappa B, NF-κB)) μεταγράφει πολλές προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες όπως είναι οι ιντερλευκίνες-1, -8, και -12, η συνθετάση του μονοξειδίου του αζώτου και των ενδοκυττάρων προσκολλητικών μορίων (intracellular adhesive molecules όπως είναι το ICAM-1). Υπό φυσιολογικές συνθήκες ο NF-κB παραμένει ανενεργός στο κυτταρόπλασμα συνδεδεμένος με τον υποδοχέα του IκB. Εντούτοις, όταν το κύτταρο ενεργοποιείται το σύστημα φωσφορυλιώνεται και αποδομείται από πρωτεοσώματα απελευθερώνοντας NF-κB, που στη συνέχεια διεγείρει την παραγωγή πολλών κυτοκινών. Ο αποκλεισμός αυτής της οδού είναι δυνατό να μειώσει την παραγωγή των φλεγμονωδών μεταβιβαστών.

1.3.1 Αντι-TNF μονοκλωνικό αντίσωμα (cA2)

Το χιμαιρικό αντίσωμα έναντι του παράγοντα νέκρωσης του όγκου (μονοκλωνικό αντίσωμα ανθρώπου-ποντικού) είναι μια νέα βιολογική ουσία παραγόμενη με την τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA, η οποία συνδέεται ισχυρά τόσο με τους διαλυτούς όσο και με τους διαμεμβρανικούς τύπους του ανθρώπινου TNF. Επομένως, κύτταρα τα οποία εκφράζουν στην επιφάνεια τους TNF-α καταστρέφονται μέσω του συμπληρώματος ή άλλων κυτταρικών μηχανισμών μετά τη σύνδεση τους με το χιμερικό αντίσωμα. Ο TNF παράγεται από μονοκύτταρα-μακροφάγα Th1 κύτταρα και κερατινοκύτταρα. Η παραγωγή του TNF αυξάνεται στους αρρώστους με νόσο Crohn αντικατοπτρίζοντας τη στροφή της ισορροπίας

μεταξύ παραγωγής κυτοκινών από τα T-κύτταρα προς την κατεύθυνση της υπόταξης Th1. Ο ρόλος του TNF στις φλεγμονώδεις διεργασίες της νόσου του Crohn είναι καθοριστικός και αυτό είχε ως αποτέλεσμα τη θεραπευτική δοκιμή του αντισώματος σε περιπτώσεις ασθενών με νόσο Crohn. Η εξουδετέρωση του TNF έχει ως αποτέλεσμα αναστολή της άθροισης των φλεγμονωδών κυττάρων και του σχηματισμού κοκκιωμάτων. Το φάρμακο ενδείκνυται σε περιπτώσεις ασθενών με νόσο Crohn μετρίου ή σοβαρής βαρύτητας με ή χωρίς εντερικά συρίγγια και στους οποίους οι συμβατικές θεραπείες απέτυχαν. φάρμακο (infliximab, remicade) χορηγείται σε δόση 5 mg/kg BW σε στάγδην ενδοφλέβια έγχυση, με ειδικό περιέκτη, εντός δύο έως τριών ωρών. Η δόση επαναλαμβάνεται σε δύο εβδομάδες για αρρώστους χωρίς συρίγγια, ενώ σε ασθενείς με εντεροδερματικά συρίγγια χορηγείται τρίτη δόση 4 εβδομάδες μετά από τη δεύτερη έγχυση. Οι κυριότερες παρενέργειες του φαρμάκου σχετίζονται με αλλεργικές εκδηλώσεις, λοιμώξεις του ανώτερου αναπνευστικού, ναυτία και κοιλιακό πόνο. Η θεραπεία με το αντι-TNF μονοκλωνικό αντίσωμα σύντομα θα αποδειχθεί ως μια εξαιρετικά αποτελεσματική μέθοδος στην αντιμετώπιση των ασθενών με νόσο Crohn

1.3.2 Ανασυνδυασμένη ιντερλευκίνη-10 (rHuIL-10)

Η ιντερλευκίνη-10 (IL-10) είναι μια αντιφλεγμονώδης κυτοκίνη η οποία παράγεται κυρίως από τα T-βοηθητικά-2 κύτταρα (Th2), τα οποία παίζουν σημαντικό ρόλο στη διατήρηση φυσιολογικής ομοιόστασης σε φλεγμονώδεις καταστάσεις, όπου επαναστρέφει τη φλεγμονώδη αντίδραση μετά την επιτυχή κάθαρση των αντιγόνων. Η IL-10 δρα τόσο στα μακροφάγα όσο και στις προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες. Πιστεύεται ότι δρα θεραπευτικά επιδρώντας σε ενδοκυττάριους μηχανισμούς και κυρίως στον παράγοντα NF-kB, αναστέλλοντας την έκφραση των αντιγόνων του μείζοντος συστήματος ιστοσυμβατότητας τάξης I, καθώς και την έκφραση του B27 στα μακροφάγα. Πιστεύεται επίσης ότι η ιντερλευκίνη-10 καταστέλλει την παραγωγή της IL-12 από τα μακροφάγα, η οποία παίζει ρόλο-κλειδί στη διέγερση των Th2 λεμφοκυττάρων. Αναστέλλει επίσης την παραγωγή

ιντερφερόνης-γ, νιτρικού οξειδίου και προφλεγμονωδών κυτοκινών. Αν και δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα φαίνεται ότι η χορήγηση της προκαλεί ύφεση στο 1/3 των ανθεκτικών περιπτώσεων. Όσον αφορά στη νόσο του Crohn σε τυχαιοποιημένη, διπλή-τυφλή μελέτη 46 ασθενών με ανθεκτική νόσο Crohn ήπιας έως μέτριας βαρύτητας, το φάρμακο χορηγήθηκε σε διαφορετικά δασολογικά σχήματα για 4-20 εβδομάδες. Η δόση των 5 mg/kg BW προκάλεσε τα πλέον ευνοϊκά αποτελέσματα.

1.3.3 Ανασυνδυασμένη ιντερλευκίνη-11 (rhIL-11)

Η IL-11 είναι ένας αντιφλεγμονώδης παράγοντας που δρα ευνοϊκά στην ακεραιότητα των επιθηλιακών κυττάρων. Μειώνει την παραγωγή TNFα, 11-1 και ιντερφερόνης-γ. Σε πρόσφατη μελέτη που αφορούσε ασθενείς με νόσο Crohn το φάρμακο σε δόση 16 mg/ kg BW είχε τα καλύτερα αποτελέσματα, σε σχέση με το εικονικό φάρμακο. Η ουσία αυτή φαίνεται ότι μπορεί να είναι αποτελεσματική σε ασθενείς με νόσο Crohn.

1.3.4 Ενδοκυττάριο προσκολλητικό μόριο-1 (ICAM-1)

Υπάρχουν πρόδρομα μόνο αποτελέσματα σχετικά με την ουσία αυτή σε ασθενείς με νόσο Crohn, στους οποίους προκάλεσε ύφεση της νόσου σε ποσοστό 53%.

1.3.5 CD4-αντίσωμα

Η χορήγηση του αντισώματος αυτού στηρίζεται στο θεωρητικό δεδομένο της αλληλεπίδρασης μεταξύ του μορίου CD4 και των μορίων τάξης II των HLA. Αναστέλλει τη διεργασία παρουσίασης των αντιγόνων. Επιπλέον, τα αντισώματα αυτά μειώνουν τη δεξαμενή των CD4 κυττάρων.

1.3.6 Ιντερφερόνη-α

Η ιντερφερόνη-α έχει χρησιμοποιηθεί σε μεμονωμένες περιπτώσεις ασθενών με ελκώδη κολίτιδα ή νόσο του Crohn με αλληλοσυγκρουόμενα αποτελέσματα.

1.3.7 Λευκαφαίρεση

Η αφαίρεση λευκοκυττάρων από το περιφερικό αίμα ασθενών με ελκώδη κολίτιδα και νόσο του Crohn με ειδικό φίλτρο, μία φορά την εβδομάδα και για 5 εβδομάδες (οξεία φάση) και ακολούθως ανά μήνα (5 μήνες συνολικά), είχε ως αποτέλεσμα εξαιρετική ανταπόκριση σε ποσοστό 84,5%.

1.3.8 Υπερβαρικό οξυγόνο

Το υπερβαρικό οξυγόνο έχει χρησιμοποιηθεί με επιτυχία σε ασθενείς με περιπρωκτικές βλάβες σε υποκείμενη νόσο του Crohn. Αποτελεί χρήσιμη μέθοδο για τους ασθενείς αυτούς στους οποίους έχουν αποτύχει άλλες συντηρητικές μέθοδοι. Η μέθοδος μπορεί ακόμη να θεωρηθεί ως συμπληρωματική της χειρουργικής αντιμετώπισης³.

1.3.9 Λιπαρά οξέα βραχείας αλυσίδας

Υπάρχουν αρκετές μελέτες που υποστηρίζουν ότι τα λιπαρά οξέα βραχείας αλυσίδας (οξικό, προπιονικό, βουτυρικό), που προέρχονται από την αποδόμηση πολυσακχαριτών, ολιγοσακχαριτών, ολιγοπεπτιδίων και φυτικού υπολλείμματος στο παχύ έντερο, μπορούν να χρησιμοποιηθούν επιτυχώς στη θεραπεία των ασθενών με ενεργό ορθοσιγμοειδίτιδα, χορηγούμενα υπό μορφή υποκλυσμών. Φαίνεται ότι υπάρχει μειωμένη ικανότητα μεταβολισμού των λιπαρών οξέων βραχείας αλυσίδας σε περιπτώσεις ασθενών με ελκώδη κολίτιδα, γεγονός που έχει ως αποτέλεσμα κακή ενεργειακή πρόσληψη από τα επιθηλιακά κύτταρα. Χαμηλό ενδοαυλικό pH και υψηλή συγκέντρωση βουτυρικού οξέος, λόγω αδυναμίας οξείδωσης του η-βουτυρικού οξέος σε CO₂ και κετονικά σώματα έχουν συσχετιστεί με τη βαρύτητα της φλεγμονώδους διεργασίας στο έντερο. Τα επιθηλιακά κύτταρα του εντερικού βλεννογόνου σε ασθενείς με ενεργό ελκώδη κολίτιδα παρουσιάζουν αυξημένη δυνατότητα β-οξείδωσης της γλουταμίνης, γεγονός που σημαίνει ότι μπορούν να χρησιμοποιούν εναλλακτικές πηγές ενέργειας.

1.3.10 ω-3 λιπαρά οξέα

Έχουν διαπιστωθεί αυξημένα επίπεδα λευκοτριενών και προσταγλανδίνης E2 στο εντερικό περιεχόμενο ασθενών με ενεργό ελκώδη κολίτιδα. Η ακριβής προέλευση των μεταβολιτών αυτών του αραχιδονικού οξέος είναι άγνωστη, είναι όμως πιθανό να προέρχονται από τα ουδετερόφιλα που συμμετέχουν στη φλεγμονώδη διεργασία. Η χορήγηση ιχθυελαίων που περιέχουν μεγάλες ποσότητες εικοσιπεντανοειδών (με χημική σύνθεση παρόμοια με αυτήν του αραχιδονικού οξέος), αναμένεται να αυξήσει το μεταβολισμό προς λευκοτριένη B5 και προσταγλανδίνη E3, με επακόλουθο τη μείωση των επιπέδων της (βλαπτικής) λευκοτριένης B4.

1.3.11 Λιδοκαΐνη

Η εφαρμογή της λιδοκαΐνης στη θεραπευτική αντιμετώπιση των ασθενών με ελκώδη κολίτιδα βασίζεται στην υπόθεση ότι η υπερδραστηριότητα του αυτόνομου νευρικού συστήματος συμμετέχει στην παθογένεση της νόσου. Φαίνεται όμως ότι αυτή δεν είναι η μοναδική δράση των τοπικών αναισθητικών, αφού δρουν και στα επιθηλιακά κύτταρα του εντέρου μειώνοντας τον πολλαπλασιασμό τους.

1.3.12 Νικοτίνη

Η διαπίστωση ότι οι καπνιστές παρουσιάζουν μικρότερη συχνότητα ελκώδους κολίτιδας οδήγησε στην εμπειρική εφαρμογή νικοτίνης υπό μορφή δερματικών επιθεμάτων ή υποκλυσμών με ικανοποιητικό αποτελέσματα. Αν και η πραγματική αξία της νικοτίνης τόσο στην ενεργό όσο και στην ανενεργό, ελκώδη κολίτιδα αναμένεται να διευκρινιστεί καλύτερα στα προσεχή χρόνια, εντούτοις τα μέχρι στιγμής αποτελέσματα είναι αρκετά ενθαρρυντικά.

1.3.13 Ηπαρίνη

Η ηπαρίνη, εκτός από τις αντιπηκτικές της ιδιότητες παρουσιάζει και σημαντικού βαθμού αντιφλεγμονώδη δράση μέσω αναστολής της ελαστάσης των ουδετερόφιλων και

αδρανοποίησης κυτταροκινών. Η ανταπόκριση μικρού προς το παρόν, αριθμού ασθενών στη χορήγηση ηπαρίνης είναι αρκετά ικανοποιητική^{3,5}.

1.3.14 Tacrolimus (FK 506)

Το φάρμακο αυτό είναι μια μακρολίδη παραγόμενη από ένα είδος μύκητα, που παρουσιάζει ισχυρότατη ανοσοκατασταλτική δράση. Ο μηχανισμός δράσης σχετίζεται με τη σύνδεση του με ειδικούς ενδοκυττάριους υποδοχείς, που έχει ως αποτέλεσμα την αναστολή της μέσω του ασβεστίου προκαλούμενης μετάθεσης ενός παράγοντα μεταγραφής των γονιδίων που ενεργοποιούν τα Τα-λεμφοκύτταρα. το φάρμακο αναστέλλει τη σύνθεση διαφόρων κυτοκινών και ιδιαιτέρως της IL-2. Η δράση του μελετάται αυτή την περίοδο, κυρίως όσον αφορά την πειραματικά προκαλούμενη κολίτιδα³.

1.4 ΚΑΠΝΙΣΜΑ ΚΑΙ ΝΟΣΟΣ CROHN

Από το 1982 είναι γνωστή η σχέση καπνίσματος και ελκώδους κολίτιδας⁶. Από τότε, αρκετές μελέτες διεθνώς, μεταξύ των οποίων και στον ελληνικό χώρο^{7,8}, επιβεβαίωσαν την προστατευτική δράση που ασκεί το κάπνισμα στην εμφάνιση και την πορεία της ελκώδους κολίτιδας. Για τη νόσο Crohn, τα υπάρχοντα δεδομένα ενισχύουν την άποψη ότι υπάρχει θετική συσχέτιση μεταξύ καπνίσματος και νόσου του Crohn^{9,10}, ενώ υπάρχουν και αντίθετες απόψεις⁶.

Όμως από τα αποτελέσματα πρόσφατης μελέτης φάνηκε ότι, και σε Έλληνες ασθενείς, το κάπνισμα σχετίζεται θετικά με τη νόσο του Crohn. Απ' τη λεπτομερειακή ανάλυση των αποτελεσμάτων κατά κατηγορίες ασθενών φάνηκε ότι οι γυναίκες καπνίστριες έχουν υψηλότερο σχετικό κίνδυνο ανάπτυξης της νόσου σε σχέση με τους άνδρες καπνιστές, όπως και οι διακόψαντες το κάπνισμα σε σχέση με τους τωρινούς καπνιστές. Το τελευταίο εξηγείται εύκολα, αν ληφθεί υπόψη ότι στην πλειονότητα των αρρώστων που διέκοψαν το κάπνισμα, η διακοπή έγινε μετά την έναρξη των συμπτωμάτων της νόσου. Διαπιστώθηκε επίσης ότι δεν υφίσταται συσχέτιση μεταξύ καπνίσματος και παρουσίας εξωεντερικών εκδηλώσεων της νόσου ή μεταξύ συνηθειών καπνίσματος και ανάγκης για χειρουργική επέμβαση, πράγμα που σημαίνει ότι μετά την εμφάνιση της νόσου το κάπνισμα δε επηρεάζει την πορεία της¹¹.

1.5 Γενετική και ΙΦΝΕ

Μετά από μια μακρά περίοδο σχετικής αδράνειας^{27,36}, τα τελευταία χρόνια έχει γίνει πραγματική πρόοδος στην κατανόηση της παθογένεσης της ελκώδους κολίτιδας. Ιδιαίτερα η γενετική των παθήσεων αυτών που περιλαμβάνονται στην ΙΦΝΕ έχει γνωρίσει ραγδαίες εξελίξεις. Η πρόσφατη ανακάλυψη του πρώτου ισχυρά σχετιζόμενου με τη νόσο Crohn γονιδίου NOD2/CARD15 αποτέλεσε μια αρκετά σημαντική εξέλιξη^{27,32}. Η νόσος Crohn θεωρείται σήμερα η πρώτη πολυγονιδιακή νόσος στην οποία έχει γίνει ταυτοποίηση συγκεκριμένης εστίας κληρονομικότητας. Επιπλέον, η ΙΦΝΕ αποτελεί την χαρακτηριστικότερη περίπτωση από τις πολυγονιδιακές νόσους, όπου η αναλυτική γενετική χαρτογράφηση έχει αποδώσει σημαντικά και αναπαραγόμενα αποτελέσματα με γνωστές σήμερα σχετιζόμενες περιοχές κληρονομικότητας στα χρωμοσώματα 1, 3, 6, 12, 14 και 16^{27,28}.

Το 1996 με χρήση κατάλληλων τεχνικών γενετικής χαρτογράφησης σε οικογένεις με πολλαπλά πάσχοντα μέλη διαπιστώθηκε μια εστία κληρονομικότητας για τη νόσο του Crohn στο χρωμόσωμα 16. Το γονίδιο αυτό ονομάζεται NOD2/CARD15 και είναι όμοιο με τα γονίδια του παράγοντα R των φυτών που παρέχει αντίσταση στις λοιμώξεις. Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι οι μεταλλαγές του γονιδίου αυτού σχετίζονται με πρόωρη έναρξη της νόσου, με εντόπιση στον ειλεό και με τη στενωτική μορφή της νόσου²⁷.

Στο σημείο αυτό θα πρέπει να αναφέρουμε την ύπαρξη πολλών ,μελετών που υποστηρίζουν ακριβώς το αντίθετο^{33,34,35}.

Η επίδραση της βακτηριακής εντερικής χλωρίδας στην παθογένεση της ΙΦΕΝ είναι καθοριστικής σημασίας, και δημιουργεί το υπόβαθρο για νέες θεραπευτικές αναζητήσεις. Εξετάζεται επομένως η προοπτική της αναστολής των βλεννογονικών εκτελεστικών Τακκυτάρων έναντι του TNFα (κάτι που γίνεται ήδη με τα αντισώματα). Επιπρόσθετα, ως άλλη λύση προτείνεται η διέγερση των ρυθμιστικών κυττάρων Τα που αναστέλλουν τα εκτελεστικά

Τα-κύτταρα. Τέλος, θα μπορούσε να γίνει προσπάθεια αποκατάστασης της λειτουργίας του εντερικού επιθηλίου με βιολογικούς παράγοντες, όπως προβιοτικά ή μικρόβια γενετικά ρυθμισμένα ώστε να αναστείλουν την ανοσολογική απάντηση²⁹.

Τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει επίσης διάφορες προσπάθειες αναζήτησης γενετικών δεικτών που σχετίζονται με την θεραπευτική ανταπόκριση και θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για ταξινόμηση των ασθενών σε υπομονάδες. Από τα υπάρχοντα δεδομένα η σημαντικότερη ίσως συσχέτιση αφορά τη θεραπεία με αζαθειοπρίνη. Η καταστολή του μυελού των οστών που είναι η σοβαρότερη επιπλοκή της θεραπείας αυτής έχει αποδοθεί σε χαμηλή δραστηριότητα της θειοπουρινικής S μεθυλοτρανσφεράσης. Η μεταλλαγή του γονιδίου αυτού βρέθηκε ισχυρά σχετιζόμενη με τη μυελοτοξικότητα της αζαθειοπρίνης σε ασθενείς με CD^{27,30}. Πιθανόν λοιπόν, να πρέπει να γίνεται αναζήτηση με γενετικές μεθόδους των ομοζυγωτών του γονιδίου αυτού που πρέπει να αποφεύγουν τη λήψη αζαθειοπρίνης²⁷.

Η ιντερλευκίνη 6 (IL-6), είναι μια πολυπαραγοντική κυτοκίνη που παράγεται από διάφορους τύπους κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων και των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος υποδηλώνοντας απάντηση σε φλεγμονές και καταστάσεις stress³¹. Πρόσφατες έρευνες απέδειξαν ότι η διερεύνηση του πεδίου της IL-6 και του υποδοχέα της, αποτελεί σημαντική κατευθυντήρια δύναμη όσον αφορά της ανεύρεση θεραπευτικού σχήματος χρησιμοποιώντας τον ανθρώπινο anti IL-6R mAb (μονόκλωνο αντίσωμα του υποδοχέα της IL-6)³⁷. Αυτά τα αποτελέσματα προτείνουν ότι IL-6 είναι ένας μεσολαβητής των αποτελεσμάτων των δειγμάτων του ορού ασθενών με Crohn στην in vitro μεταλλοποίηση και μπορούν να είναι ένας συμβάλλοντας παράγοντας στην οστεοπενία που συνδέεται με το CD². Η IL-6 του ορού είναι μια κλινικά σχετική παράμετρος για τη CD που συσχετίζεται με την εμπρηστική δραστηριότητα και υπονοεί μια προγνωστική αξία μετά από την στεροειδής-προκληθείσα ύφεση⁴⁰.

2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1 ΣΚΟΠΟΣ

Η παρούσα μελέτη αποσκοπεί στην είναι η ανίχνευση του πολυμορφισμού στο γονίδιο της IL-6 και η συσχέτιση του πολυμορφισμού με εργαστηριακές παραμέτρους (εργαστηριακά ευρήματα από εξέταση αίματος), με τα επίπεδα της ιντερλευκίνης-6 στον ορό των ασθενών καθώς επίσης με ποιοτικές παραμέτρους (φύλο, τύπος νόσου, κατάσταση ύφεσης/ έξαρσης, προσβεβλημένο μέρος).

Τέλος, μέσα από την στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων, θα είναι δυνατή η διαπίστωση της συχνότητας εμφάνισης του πολυμορφισμού στον πληθυσμό.

2.2 ΔΕΙΓΜΑ

Το δείγμα αποτελούσαν 112 άτομα, τα οποία ήταν ασθενείς στο Γενικό Κρατικό Νοσοκομείο Νίκαιας «Αγ. Παντελεήμων», 53 εκ των οποίων είχαν νόσο Crohn, 52 ελκώδη κολίτιδα και 7 ιδιοπαθή κολίτιδα. Το δείγμα είναι τυχαίο και αντιπροσωπευτικό του πληθυσμού που κατά καιρούς επισκέπτεται τα εξωτερικά ιατρεία.

2.3 ΣΥΛΛΟΓΗ ΣΤΟΙΧΕΙΩΝ

Για την συλλογή στοιχείων χρησιμοποιήθηκε η παρακάτω ειδικά τυποποιημένη φόρμα, προκειμένου να καταγραφούν σημαντικά δεδομένα για τον κάθε ασθενή. Έτσι, καταγράφηκε το βάρος και το ύψος, η ηλικία, το φύλο, η εθνικότητα, η ημερομηνία εμφάνισης των συμπτωμάτων, οι συνήθειες καπνίσματος, το προσβεβλημένο μέρος του γαστροεντερικού σωλήνα, η φαρμακευτική αγωγή που ακολουθεί ο ασθενής και τέλος τυχόν εξωεντερικές

εκδηλώσεις.

Κατά την συμπλήρωση των στοιχείων αυτών, δεν κρίθηκε απαραίτητη προηγούμενη κατάσταση νηστείας.

PATIENT DATA FORM INFLAMMATORY BOWEL DISEASES

Crohn's disease ☐ **Ulcerative colitis** ☐ **Indeterminate Colitis** ☐

Patient initials _____ **born** ____/____/19____ **male** ☐ **female** ☐

Weight _____ kg **Height** _____ cm

Ethnic group caucasian ☐ asian ☐ black ☐ other ☐

Jewish yes ☐ no ☐

Date of diagnosis _____ **Date of first symptoms** _____

Smoking habits currently smoking ☐ ex-smoker ☐ non-smoker ☐

Family history of Crohn's disease/Ulcerative colitis yes ☐ no ☐

If **yes**, which relative is affected: sibling ☐ child ☐ parent ☐ other _____

you may specify in drawing a pedigree:

Disease Localisation upper GI ☐ Jejunum/upper Ileum ☐

terminal Ileum ☐ Colon ☐ left side Colitis ☐

Rectum ☐ Pouchitis ☐ Perianal ☐

Disease Behaviour Stenosis ☐ Fistulae ☐

Surgery Ileocecal resection ☐ Resection neoterminal ileum ☐

other _____ Colon Cancer ☐

Medical Treatment so far

Treatment with syst. corticosteroids <10mg ☐ syst. corticosteroids >10mg ☐ **Steroid response** yes ☐ steroiddependent ☐ steroidrefractory ☐

Budesonide ☐ rectal/local steroids ☐

5-ASA oral ☐ 5-ASA rectal ☐ Sulfasalazine ☐

Azathioprine/6-Mercaptopurine ☐ Antibiotics ☐ Probiotics ☐

Infliximab-responder ☐ Infliximab-non-responder ☐ other _____

Extraintestinal Manifestations Eyes ☐ Joints ☐ Skin ☐

Osteoporosis ☐ Liver (PSC) ☐ other _____

Other comments _____

2.4 ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ DNA

Η απομόνωση DNA έγινε από λευκοκύτταρα ολικού αίματος 2 ml με το πακέτο PUREGENE DNA Isolation Kit της Centra SYSTEMS.

Περιλαμβάνει τα εξής βήματα:

Cell Lysis

1. Προσθέτουμε 2 ml του αίματος σε σωλήνα Falcon των 15 ml, ο οποίος περιλαμβάνει 6 ml RBC Lysis Solution. Ανακινούμε ελαφρά 2-3 φορές μόλις γίνει η πρώτη ανάμιξη, επαναλαμβάνουμε μετά από 5 λεπτά και αφήνουμε σε ηρεμία για τα επόμενα 5 λεπτά (συνολικός χρόνος 10 λεπτά).
2. Φυγοκεντρούμε το προαναφερόμενο μίγμα στις 2000 στροφές για 10 λεπτά. Στη συνέχεια απομακρύνουμε το υπερκείμενο υγρό, ενώ παρατηρούμε ότι στο κάτω μέρος του σωλήνα έχει καθιζάνει σαν λευκό ίζημα το σύνολο των περιεχομένων λευκοκυττάρων.
3. Με Vortex διαλύουμε το ίζημα αυτό, μέχρι να αποκολληθούν τα λευκοκύτταρα.
4. Προσθέτουμε 2 ml Cell Lysis Solution στα αποκολλημένα πλέον λευκοκύτταρα, και με τη βοήθεια πλαστικής πιπέτας Pasteur αναδεύουμε το νέο μίγμα (το οποίο μπορεί να διατηρηθεί σε αυτή τη μορφή σε θερμοκρασία δωματίου για τουλάχιστον 18 μήνες)

Protein Precipitation

1. Αφήνουμε το μίγμα να αποκτήσει θερμοκρασία δωματίου.
2. Προσθέτουμε 667 µl Protein Precipitation Solution.
3. Αναδεύουμε με τη βοήθεια Vortex για 20'', ώστε να αναδευτεί καλά το νεοπροστιθέμενο διάλυμα με το προυπάρχον μίγμα.

4. Φυγοκεντρούμε στις 2000 στροφές για 10 λεπτά. Μετά το τέλος της φυγοκέντρωσης παρατηρούμε ότι στο κάτω μέρος του σωλήνα μας, έχουν καθιζάνει με τη μορφή σκουρόχρωμου ιζήματος οι μετουσιωμένες πρωτεΐνες. Αν δε σχηματιστεί ίζημα σε «σφιχτή» μορφή και αιωρούνται ακόμα σωματίδια, τότε επαναλαμβάνουμε το 3^ο βήμα, αφήνουμε το μίγμα σε πάγο για 5 λεπτά και συνεχίζουμε πάλι με το 4^ο βήμα.

DNA Precipitation

1. Ρίχνουμε το υπερκείμενο διάλυμα που περιέχει το DNA (αφήνοντας πίσω τις μετουσιωμένες πρωτεΐνες) σε νέο σωλήνα Falcon 15 ml, ο οποίος περιέχει 2 ml 100% ισοπροπανόλη.
2. Ανακινούμε ελαφρά 50 φορές.
3. Φυγοκεντρούμε στις 2000 στροφές για 3 λεπτά. Έπειτα το DNA βρίσκεται με τη μορφή μικρής λευκής στοιβάδας στον πάτο του σωλήνα.
4. Απομακρύνουμε το υπερκείμενο υγρό, με προσοχή, και αφήνουμε τον σωλήνα να στεγνώσει πάνω σε απορροφητικό χαρτί. Στη συνέχεια, προσθέτουμε 2 ml 70% Αιθανόλη και αναδεύουμε αρκετές φορές ώστε να ξεπλυθεί καλά το DNA.
5. Φυγοκεντρούμε στις 2000 στροφές για 1 λεπτό. Απομακρύνουμε πολύ προσεκτικά την αιθανόλη. (Η στοιβάδα ίσως είναι πιο «χαλαρή»)
6. Αναποδογυρίζουμε το σωλήνα και αφήνουμε να στεγνώσει τελείως (περίπου 20 λεπτά)

DNA Hydration

1. Προσθέτουμε 200 μ l DNA Hydration Solution
2. Αφήνουμε το διάλυμα σε θερμοκρασία δωματίου για 1-2 μέρες ή σε υδατόλουτρο στους 60°C για 1 ώρα περίπου, μέχρι να διαλυθεί καλά το DNA.
3. Μεταφέρουμε σε ειδικά tubes και τα αποθηκεύουμε στο ψυγείο σε θερμοκρασία 2-8°C.

2.5 ΑΛΥΣΙΔΩΤΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗΣ

POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)

Μετά την απομόνωση ακολούθησε εφαρμογή της μεθόδου PCR, η οποία χρησιμεύει στην εκλεκτική αντιγραφή κατά εκατομμύρια φορές ειδικών τμημάτων DNA. Η μέθοδος είναι εξαιρετικά ευαίσθητη και επιτρέπει τη γρήγορη ανάλυση περιοχών του DNA που περιέχονται σε ένα πολύ μικρό δείγμα. Πρόκειται για μία αντίδραση πολυμερισμού, η οποία μιμείται *in vitro* τον τρόπο με τον οποίο τα ένζυμα του πυρήνα (DNA πολυμεράσες) αντιγράφουν το DNA του κυττάρου. Η εφαρμογή της μεθόδου προϋποθέτει να είναι γνωστή η νουκλεοτιδική αλληλουχία που πρόκειται να πολλαπλασιαστεί. Η αλληλουχία αυτή χρησιμοποιείται για το σχεδιασμό δύο συνθετικών ολιγονουκλεοτιδίων, ενός συμπληρωματικού προς το 3' άκρο της μίας αλυσίδας του DNA και ενός συμπληρωματικού προς το 3' άκρο της άλλης αλυσίδας. Τα ολιγονουκλεοτίδια αυτά μήκους 20-30 βάσεων χρησιμοποιούνται ως πρωταρχικά τμήματα (εκκινητές-primers) για την *in vitro* σύνθεση DNA και οριοθετούν τα άκρα του τελικού προϊόντος. Παρουσία περίσσειας των τεσσάρων τριφωσφορικών δεοξυριβονουκλεοτιδίων (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), ιόντων μαγνησίου και της κατάλληλης DNA πολυμεράσης επιτυγχάνεται η αντίδραση πολυμερισμού. Το ένζυμο που χρησιμοποιείται για τον πολυμερισμό είναι η Taq πολυμεράση, η οποία είναι ανθεκτική στις υψηλές θερμοκρασίες.

Η τεχνική της PCR περιλαμβάνει την κυκλική επανάληψη τριών αντιδράσεων:

1. Αποδιάταξη (template denaturation). Το δίκλωνο DNA αποδιατάσσεται σε μονόκλωνες αλυσίδες σε υψηλή θερμοκρασία (94°C).
2. Σύνδεση εκκινητών (primer annealing). Οι δύο εκκινητές συνδέονται με τις συμπληρωματικές προς αυτούς αλληλουχίες που βρίσκονται στις 2 αλυσίδες

του DNA. Η σύνδεση αυτή πραγματοποιείται σε θερμοκρασία που εξαρτάται αποκλειστικά από την αλληλουχία των εκκινητών.

3. Επιμήκυνση (primer extension). Στο στάδιο αυτό γίνεται σύνθεση DNA με επιμήκυνση των εκκινητών κατά την 5'-3'κατεύθυνση, χρησιμοποιώντας τα νουκλεοτίδια που βρίσκονται στο διάλυμα και έχοντας ως καλούπι τις μονόκλωνες αλυσίδες του DNA. Η αντίδραση πολυμερισμού καταλύεται από την Taq DNA πολυμεράση.
4. Οι νεοσυντιθέμενες αλυσίδες αποδιατάσσονται ξανά και οι μονόκλωνες αλυσίδες επανυβριδίζονται με τους εκκινητές και ο κύκλος αυτός επαναλαμβάνεται 25-35 φορές^{12,13}.

Το κύριο προϊόν της εκθετικής αυτής αντίδρασης είναι ένα δίκλωνο τμήμα DNA του οποίου τα άκρα ορίζονται από τα 5' άκρα των εκκινητών και έχει μήκος ίσο με την απόσταση των εκκινητών. Για παράδειγμα 30 κύκλοι PCR δίνουν πολλαπλασιασμό της τάξης του εκατομμυρίου. Το προϊόν της PCR χρησιμοποιείται στη συνέχεια για τη μελέτη του τμήματος DNA που πολλαπλασιάστηκε¹².

<u>Master Remix</u>	
ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟ	ΟΓΚΟΣ
Taq ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗ	0,2 µl
PCR BUFFER	1,25 µl
MgCl ₂	0,25 µl
dNTP's	0,1 µl
ΔΕΞΙΟΣ ΕΚΚΙΝΗΤΗΣ	0,2 µl
ΑΡΙΣΤΕΡΟΣ ΕΚΚΙΝΗΤΗΣ	0,2 µl
ΝΕΡΟ ΑΠΕΣΤΑΓΜΕΝΟ ΚΑΙ ΑΠΟΣΤΕΙΡΩΜΕΝΟ	10 µl
DNA stock	0,5 µl
<u>ΣΥΝΟΛΙΚΟΣ ΟΓΚΟΣ</u>	12,5 µl

➤ Εκκινητές:

1. IL-6L: 5'- TGA CTT CAG CTT TACT CT TGT – 3'
2. IL-6R: 5' - CTG ATT GCA AAC CTT ATT AAG- 3'

Από το πυκνό διάλυμα των εκκινητών παρασκευάζουμε αραιούς με αρραίωση 1:8 (1 µl primer ανά 7 µl απεσταγμένο νερό)

Παρασκευάζεται το μίγμα των αντιδραστηρίων της PCR (master remix). Τα αντιδραστήρια διατηρούνται σε πάγο σε όλη τη διάρκεια της διαδικασίας. Η ποσότητα από το κάθε αντιδραστήριο πολλαπλασιάζεται με τον αριθμό των δειγμάτων στα οποία θα γίνει PCR συν 1 δείγμα ανά 8 δείγματα για τυχόν απώλειες. Αφού παρασκευαστεί το μίγμα αναδεύεται σε Vortex και διατηρείται σε πάγο.

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ PCR

ΒΗΜΑ 1ο: 94°C για 10 λεπτά

ΒΗΜΑ 2ο: 94°C για 1 λεπτό

ΒΗΜΑ 3ο: 55°C για 1 λεπτό

ΒΗΜΑ 4ο: 72°C για 1 λεπτό

ΒΗΜΑ 5ο: επανάληψη των βημάτων 2, 3, 4 για 34 κύκλους

ΒΗΜΑ 6ο: 72°C για 10 λεπτά

ΒΗΜΑ 7ο: αποθήκευση στους 4°C

Έλεγχος PCR

Ο έλεγχος της PCR γίνεται με ηλεκτροφόρηση του προϊόντος της σε πήκτωμα αγαρόζης 1%. Η ηλεκτροφορητική κινητικότητα του DNA στηρίζεται στο γεγονός ότι σε ουδέτερο pH το DNA είναι αρνητικά φορτισμένο. Επομένως, αν τοποθετηθούν τμήματα DNA στην κάθοδο (-), θα μετακινηθούν προς την άνοδο (+). Η ηλεκτροφορητική ικανότητα του DNA κατά μήκος των πηκτωμάτων εξαρτάται κυρίως από το μοριακό μέγεθος του DNA και την συγκέντρωση της αγαρόζης. Η ταχύτητα μετακίνησης του DNA είναι αντιστρόφως ανάλογη του μεγέθους των κλασμάτων DNA που ηλεκτροφορούνται και αντιστρόφως ανάλογη της συγκέντρωσης του πηκτώματος. Τέλος, πρέπει να σημειωθεί, ότι χρησιμοποιώντας πηκτώματα διαφορετικών συγκεντρώσεων μπορούμε να διαχωρίσουμε ένα μεγάλο εύρος μεγεθών DNA.

➤ Προετοιμασία πηκτώματος αγαρόζης 1%

- ▶ Ζυγίζονται 0,5 γρ αγαρόζης (ή 1 γρ αν πρόκειται να προσθέσω 100 ml)
- ▶ Προσθήκη 50 ml διαλύματος TBE 0.5X (Tris Borate Acid)
- ▶ Ταχεία θέρμανση μερικών λεπτών σε φούρνο μικροκυμάτων μέχρι να διαλυθεί πλήρως η αγαρόζη
- ▶ Αφού κρυώσει το διάλυμα προστίθενται 2 μl διαλύματος βρωμιούχου αιθιδίου 10 mg/ml (EtBr) και αναδεύεται το διάλυμα.
- ▶ Το βρωμιούχο αιθίδιο είναι μια φθορίζουσα χρωστική. Το μόριο του περιλαμβάνει έναν οριζόντιο δακτύλιο που έχει την ιδιότητα να παρεμβάλλεται μεταξύ των βάσεων του DNA, με αποτέλεσμα το DNA να φθορίζει όταν εκτεθεί σε υπεριώδη ακτινοβολία μήκους κύματος 302-366 nm. Το αντιδραστήριο αυτό είναι **καρκινογόνο**.
- ▶ Το διάλυμα χύνεται στο εκμαγείο της ηλεκτροφορητικής συσκευής, αφού πρώτα έχουν τοποθετηθεί σε αυτό «χτένες», ώστε να δημιουργηθούν «πηγάδια» καθώς πήζει το πήκτωμα της αγαρόζης.
- ▶ Το διάλυμα αφήνεται να πήξει (~20-30' σε θερμοκρασία δωματίου), και τότε εμφανίζεται πιο θαμπό.
- ▶ Στη συνέχεια, αφαιρούνται οι χτένες και προσθέτουμε πάνω από το πήκτωμα TBE 0,5X μέχρι την ένδειξη της ηλεκτροφορητικής συσκευής (fill line), ώστε να καλύπτεται πλήρως το πήκτωμα.

► Προετοιμασία δειγμάτων για ηλεκτροφόρηση

► Σε μη αποστειρωμένα erpendorf των 0,5 μl μεταφέρονται 5 μl του προϊόντος PCR από κάθε δείγμα και σε ένα erpendorf τοποθετούνται 2 μl μάρτυρα (DNA ladder 100bp). Το υπόλοιπο προϊόν της PCR διατηρείται στους 4°C, ενώ ο μάρτυρας στους -20°C.

► Σε όλα τα erpendorf προστίθενται 2 μl χρωστικής κυανούν της ξυλόζης και φυγοκεντρούνται για να αναμιχθεί η χρωστική με το προϊόν της PCR και το μάρτυρα.

► Στη συνέχεια, μεταφέρεται κάθε δείγμα με τη χρωστική, ενώ σε ένα από τα πηγάδια μεταφέρεται και ο μάρτυρας.

► Ηλεκτροφόρηση πηκτώματος

► Η ηλεκτροφόρηση γίνεται στα 160 V για περίπου 20 λεπτά.

► Μετά το τέλος της ηλεκτροφόρησης, το πήκτωμα παρατηρείται στο υπεριώδες. Σε κάθε δείγμα φαίνεται μια ζώνη DNA, η οποία αντιπροσωπεύει το κομμάτι του DNA που πολλαπλασιάστηκε από την PCR. Το μήκος του κομματιού ελέγχεται σε σύγκριση με τον «μάρτυρα», οπότε και ελέγχεται η επιτυχία της PCR¹².

2.6 ΠΕΨΗ ΜΕ ΠΕΡΙΟΡΙΣΤΙΚΗ ΕΝΔΟΝΟΥΚΛΕΑΣΗ

Οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες είναι ένζυμα που παράγονται από βακτήρια. Λέγονται ενδονουκλεάσες γιατί κόβουν το DNA στο εσωτερικό του μορίου και όχι στα άκρα, ενώ λέγονται περιοριστικές επειδή η δραστηρότητά τους περιορίζεται σε «ξένο» DNA. Οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες αναγνωρίζουν ειδικές δίκλωνες αλληλουχίες DNA και κόβουν το μόριο μέσα ή κοντά στην αλληλουχία αναγνώρισης. Οι αλληλουχίες αναγνώρισης έχουν συνήθως μήκος 4-8 νουκλεοτίδια και συχνά είναι παλίνδρομες (δηλ. διαβάζονται και από τις 2 κατευθύνσεις του DNA). Τα τμήματα DNA που παράγονται από την πέψη με μια περιοριστική ενδονουκλεάση έχουν πάντα τα ίδια άκρα, είτε αυτά είναι προεξέχοντα είτε όχι. Η συχνότητα και η θέση ανεύρεσης των αλληλουχιών αναγνώρισης οποιασδήποτε περιοριστικής ενδονουκλεάσης μέσα σε ένα μόριο DNA, εξαρτάται από την ακριβή αλληλουχία του δείγματος που εξετάζεται. Οι ιδιότητες των περιοριστικών ενδονουκλεασών μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη χαρτογράφηση ενός συγκεκριμένου μορίου DNA με βάση τον εντοπισμό θέσεων αναγνώρισης, αλλά και στην διαδικασία σύνδεσης τμημάτων DNA που περιέχουν τα ίδια προεξέχοντα άκρα ακόμη και αν αυτά προέρχονται από διαφορετικά δείγματα.

Τα περιοριστικά ένζυμα ποικίλουν ως προς τις συνθήκες άριστης δράσης τους. Οι παραλλαγές αυτές αναφέρονται στη θερμοκρασία επώασης και στη σύσταση του διαλύματος επώασης. Η επιλογή κατάλληλης θερμοκρασίας είναι αυστηρή, ενώ οι διαφορές στη σύσταση των διαλυμάτων επώασης είναι μικρές. Τα ρυθμιστικά διαλύματα μέσα στα οποία γίνεται η αντίδραση της επώασης περιέχουν συνήθως Mg^{+2} που λειτουργεί ως συμπαραγόντας του ενζύμου, καθώς και Na^{+} . Τα συστατικά των διαλυμάτων επώασης πρέπει να είναι καθαρά και απαλλαγμένα από νουκλεάσες. Οι σουλφιδριλικοί παράγοντες που προστίθενται αποσκοπούν στην αναστολή των

νουκλεασών που ενδεχομένως συνυπάρχουν.

Η προσθήκη BSA (αλβουμίνη ορού βοός) στην αντίδραση επώασης προφυλάσσει το ένζυμο από πρωτεάσες και άλλους παράγοντες, ωστόσο η προσθήκη ή όχι BSA καθορίζεται από το ένζυμο. Το DNA που χρησιμοποιείται πρέπει να είναι απαλλαγμένο από προσμίξεις (όπως EDTA, φαινόλη, βρωμιούχο αιθίδιο) που μπορεί να παρεμποδίζουν τη δραστικότητα του ενζύμου. Τα ένζυμα διατηρούνται στους -20°C μέσα σε διάλυμα που περιέχει 50% v/v γλυκερόλη.

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε το ένζυμο της Fermentas Lwel (SfaNI).

Αντιδραστήρια πέψης

- Ένζυμο LweI (SfaNI) 10u/μl, 200u
- Buffer Y⁺/ TANGO™ with BSA
- Απεσταγμένο και απίονισμένο νερό

ΜΙΓΜΑ ΠΕΨΗΣ	
ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟ	ΟΓΚΟΣ
DNA (PCR PRODUCT)	4 μl
Buffer Y ⁺ Tango (10x)	1 μl
Lwe I (10 u/μl)	0,3 μl
H ₂ O	4,7 μl
TOTAL	10 μl
ΤΟ ΜΙΓΜΑ ΜΕ ΤΟ ΚΑΘΕ ΔΕΙΓΜΑ ΘΑ ΠΑΡΑΜΕΙΝΕΙ ΣΤΟΥΣ 37° C Overnight	

1. Αρχικά παρασκευάζεται το μίγμα αντιδραστηρίων της πέψης σύμφωνα με τα παραπάνω. Τα αντιδραστήρια διατηρούνται σε πάγο σε όλη τη διάρκεια της διαδικασίας. Η ποσότητα από το κάθε αντιδραστήριο πολλαπλασιάζεται με τον αριθμό των δειγμάτων στα οποία θα γίνει η πέψη, συν 2 δείγματα για τυχόν απώλειες. Αφού παρασκευαστεί το μίγμα αναδεύεται σε vortex και διατηρείται σε πάγο.
2. Το μίγμα χωρίζεται σε μη αποστειρωμένα erpendorf του 1,5 ml όσα και τα δείγματα. Σε κάθε erpendorf μεταφέρονται 10 μl από το προϊόν της PCR κάθε δείγματος. Ο συνολικός όγκος μίγματος για την πέψη είναι 15 μl.
3. Τα erpendorf τοποθετούνται στη φυγόκεντρο (έως 8000rpm για λίγα δευτερόλεπτα-short spin), ώστε να αναμιχθεί το διάλυμα επώασης του ενζύμου με το προϊόν της PCR.
4. Τα erpendorf τοποθετούνται σε εκκολαπτικό θάλαμο στους 37°C για όλη τη νύχτα (overnight).

ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΕΨΗΣ

- ▶ 2,5% agarose gel
- ▶ 10 µl πέψης + 3 µl χρωστική
- ▶ 100 bp ladder

Ακολουθείται ακριβώς η ίδια διαδικασία με την προετοιμασία πηκτώματος αγαρόζης 1% για τον έλεγχο επιτυχίας στην PCR. Μόνη διαφορά είναι ότι η ηλεκτροφόρηση γίνεται στα 190 V, λόγω του ότι το πήκτωμα αυτό είναι πιο πυκνό από αυτό της PCR.

Μετά το τέλος της ηλεκτροφόρησης, το πήκτωμα παρατηρείται στο υπεριώδες. Σε κάθε δείγμα φαίνονται ζώνες ανάλογα με την ύπαρξη ή όχι του πολυμορφισμού στο ένα ή και στα δύο αλληλόμορφα. Τα κομμάτια DNA που αντιστοιχούν στις ζώνες συγκρίνονται με τον «μάρτυρα» και γίνεται διάγνωση του γονότυπου για τον συγκεκριμένο πολυμορφισμό σε κάθε δείγμα.

2.7 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΙΝΤΕΡΛΕΥΚΙΝΗΣ ΜΕ ΜΕΘΟΔΟ ELISA

Περιλαμβάνει τα εξής βήματα:

1. Βγάζουμε τα δείγματα από την κατάψυξη και τα βάζουμε στο ψυγείο 1 ημέρα πριν, ώστε να επιτύχουμε την ομαλή απόψυξή τους.
2. Τα ταξινομούμε είτε αλφαβητικά είτε αριθμητικά ώστε να μη γίνει λάθος.
3. Κατασκευάζουμε πίνακα 8x12 και γράφουμε τους κωδικούς στα αντίστοιχα κελιά.
4. Φτιάχνω τις αραιώσεις των standards (5ml στο μπουκάλι IL-6 STANDARD απ' το Calibrator diluent RD6F και αφήνω το μίγμα σε ηρεμία για 15'τουλάχιστον). Στο 1^ο erpendorf βάζω 667 μl και στα υπόλοιπα 500 μl απ' το Calibrator diluent RD6F.
5. Με το ίδιο tip παίρνω 333 μl απ' το πυκνό και τα βάζω στο 1^ο erpendorf (τελικός όγκος 1 ml) και το αναμειγνύω με την πιπέτα.
6. Με το ίδιο tip παίρνω 500 μl και τα μεταφέρω στο 2^ο erpendorf. Αναμειγνύω ομοίως και παίρνω 500μl και τα πάω στο 3^ο erpendorf κ.ο.κ.
7. Ανοίγω το plate. Οι 2 πρώτες σειρές αντιστοιχούν στα standards. Τοποθετώ A->Η αραιό->πυκνό.
 - Βάζω από 100μl Assay diluent RD1A σε κάθε πηγάδι.
 - Ξεκινάω βάζοντας 100μl από το κάθε standard 2 φορές, από το αραιό προς το πυκνό χρησιμοποιώντας τι ίδιο tip.
 - Βάζω 100μl απ'το κάθε πλάσμα στα υπόλοιπα πηγάδια αλλάζοντας tip.
8. Σκεπάζω με το αυτοκόλλητο.

9. Αφήνω την πλάκα σε θερμοκρασία δωματίου για 2 ώρες.
10. Πετάω το πλάσμα.
11. Ξεπλένω 4 φορές με Wash Buffer.
12. Προσθέτω 200μl σε όλα τα πηγάδια απ' το anti-human αντίσωμα.
13. Σκεπάζω με το αυτοκόλλητο και το αφήνω για 2 ώρες.
14. Αδειάζω την πλάκα και ξεπλένω με Wash Buffer.
15. Αναμειγνύω τα COLOR REAGENT A + B και βάζω 200μl απ 'το μίγμα σε κάθε πηγάδι πριν περάσουν 15'.(φωτοευαίσθητο)
16. Αφήνω την πλάκα στο σκοτάδι για 20'.
17. Βάζω σε κάθε πηγάδι από 50 μl stop solution, για να σταματήσει η αντίδραση.
18. Φωτομετρώ.

2.7 ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ

🍷 Tris Borate Acid 5x (TBE 5x)

- 54 gr Tris Base
- 27.5 gr Boric Acid
- 20 ml EDTA 0.5 M
- Προσθήκη ~800ml απεσταγμένου νερού
- Ανάδευση
- Έλεγχος και ρύθμιση pH στο 8,3.
- Προσθήκη απεσταγμένου νερού μέχρι Vτελ=1lt

🍷 EDTA 0.5M

- 186.1 gr EDTA $2H_2O$.
- Προσθήκη ~700 ml απεσταγμένου νερού.
- Ρύθμιση pH με προσθήκη NaOH (pellets) υπό ανάδευση στο 8.
- Προσθήκη απεσταγμένου νερού μέχρι Vτελ=1lt.

🍷 Βρωμιούχο αιθίδιο

- 10 mg EtBr.
- 1 ml αποστειρωμένο νερό.
- Ανάδευση σε Vortex.
- Φύλαξη στους 4°C.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

EIKONA PCR

EIKONA

ΠΕΨΗΣ

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΜΕΘΟΔΟΥ ELISA

CELL	CODE	c	A	A standards
A7	A5	0	0,094	0,094
A8	A6	182	0,146	0,137
A12	Δ1	14305	0,879	0,181
B3	Δ2	1184	0,21	0,223
B4	Δ3	375	0,165	0,337
B9	Γ5	1114	0,202	0,501
B11	Γ7	129	0,158	0,782
C3	Γ9	219	0,172	1,686
C8	Θ1	1366	0,206	
C9	Θ2	0	0,123	
C10	Ι1	0	0,121	
C11	Ι2	0	0,146	
C12	Ι3	0	0,136	
D5	K3	0	0,146	
D6	K4	53	0,141	
D7	K6	1329	0,219	
D8	K7	246	0,161	
D10	K9	0	0,124	
D12	K12	0	0,139	
E3	K13	21098	1,268	
E4	K14	0	0,139	
E5	K15	1483	0,216	
E6	K16	0	0,137	
E8	K18	1022	0,181	
E12	K22	0	0,129	
F4	Λ2	223	0,16	
F7	M2	33	0,142	
F8	M3	0	0,105	

F11	M6	1125	0,22	
F12	M7	897	0,19	
G3	M8	0	0,136	
G7	N3	1278	0,217	
G9	N5	0	0,114	
G10	N6	0	0,097	
H8	Π11	0	0,111	
H10	Π13	0	0,117	
H12	Ξ1	3348	0,308	
B12´	O1	4719	0,619	
C12´	T2	0	0,207	A standards´
D12´	T4	391	0,252	0,062
E12´	T5	0	0,151	0,094
F12´	Σ1	410	0,246	0,163
G12´	Σ2N	0	0,177	0,288
H12´	Φ3	1961	0,379	0,516
				0,942
				2,155

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΦΩΤΟΜΕΤΡΗΣΗΣ STOCK DNA ΑΠΟ ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ

Κωδικός	Απορρόφηση	Καθαρότητα (260/280)
A1	0,9738	1,53
A2	0,075	/
A3	0,1	/
A4	0,7661	1,51
A5	0,7204	1,42
A6	1,2278	1,59
A7	1,0402	1,3
B2	0,6286	3,32
B3	0,956	1,34

Γ1	0,9113	1,56
Γ2	0,6818	1,91
Γ3	0,8012	1,41
Κωδικός	Απορρόφηση	Καθαρότητα (260/280)
Γ4	0,5261	1,98
Γ5	0,5299	1,79
Γ6	0,5486	1,53
Γ7	0,4376	1,67
Γ8	0,6481	2,45
Δ1	0,8112	1,67
Δ2	0,2639	1,52
Δ3	0,8758	1,68
Ε1	0,9366	1,64
Ε2	0,6086	0,138
Ζ1	0,225	1,51
Ζ1	0,5225	1,78
Ζ2	1,1436	1,46
Θ1	0,025	/
Θ1N	0,6123	1,5
Θ2	0,6212	1,57
Ι1	0,4351	1,6
Ι2	0,2	2,01
Κ1	0,299	1,51
Κ11	0,4352	1,68
Κ12	0,5745	1,59
Κ13	0,476	1,61
Κ14	0,9671	1,42
Κ15	0,4458	1,57
Κ16	0,691	1,95
Κ17	0,3291	3,33
Κ18	0,6703	1,57

K19	0,2829	1,42
K2	0,437	1,5
K3	0,225	1
K4	0,7214	1,71
K5	0,5303	1,47
K6	1,716	1,42
Κωδικός	Απορρόφηση	Καθαρότητα (260/280)
K7	0,5557	1,61
K8	1,025	1,43
K9	0,4209	1,63
Λ1	1,1523	1,28
Λ2	0,4482	2
Λ3	0,8001	1,28
M1	1,1564	1,21
M2	1,6289	1,54
M3	0,6734	1,7
M5	0,5041	1,74
M6	0,5413	1,57
M7	0,8175	1,52
M8	1,0213	1,35
N1	0,175	1,76
N2	0,6571	1,8
N3	1,0312	1,75
N4	0,8821	2,03
N4	0,6971	1,73
N5	0,9184	1,37
Ξ1	0,225	1,51
Ξ2	0,5239	1,95
O1	1,7841	1,17
Π1	0,329	1,65
Π10	0,8567	1,47

Π11	0,6812	1,26
Π12	1,3731	1,54
Π2	0,8547	1,32
Π3	0,55	1,71
Π4	0,4947	1,58
Π5	0,7218	1,33
Π6	0,025	/
Κωδικός	Απορρόφηση	Καθαρότητα (260/280)
Π7	0,3928	1,45
Π8	0,635	1,54
Π9	0,3045	2,04
Σ1	0,3746	1,39
Σ2NA	0,555	1,58
Σ2NB	0,7147	1,73
Σ3	0,4572	2,04
Σ4	0,4851	1,6
Σ5	0,4016	1,79
Σ6	1,208	1,77
Τ1	1,5399	2,02
Τ1Β	1,0216	1,4
Τ2	0,5213	1,4
Τ3	0,5523	1,46
Τ4	0,9431	1,67
Τ5	1,3887	1,26
Τ6	0,5258	1,62
Φ2	1,0145	1,22
Φ3	0,4266	1,63
Χ1	0,8893	1,53
Ψ1	0,8268	1,26

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ

α/α	Code	PLT	WBC	Hct	CRP	ESR
1	A6	484	11	43,2	19,7	20
2	A3	372	9,99	42,8	4,5	47
3	Γ7	406	7,61	40,1	22,6	
4	Γ5	319	10,7	42,3	32,1	27
5	Δ3	243	10,2	46,5	6,2	
6	Δ2	375	7,13	36,4	0,5	31
7	Θ1N	343	8,56	32,9	5,6	
8	Θ2	330	5,24	33,5	<2	28
9	I1	331	5,52	41,4	<2	34
10	I2					
11	K18	343	5,75	37,9		94
12	K15	228	6,32	37,7	50,9	96
13	K12	139	8,33	50,5		
14	K9	288	5,37	43,5		
15	K7		6,7	34,5		4
16	K13	280	8,15	40,3		61
17	K14	398	8,76	32,1	16	65
18	K3	144	6,3	41,4		
19	K6	370	7,1	36,9	328	60
20	K4	230	10,36	42,9	8,4	
21	K16	242	11,7	40,4	0,7	12
22	Λ2	279	8,42	46,7	3,8	
23	M7	248	8,75	42,2	26,1	
24	M3					
25	M6	221	8,54	46	7,7	
26	M8	267	7,03	38,4	8,4	
27	M2	212	4,81	33,8	<34	
28	N4	319	13,37	34	33,3	
29	N5	329	6,6	38,4	21,9	49

30	N3	311	8,79	31,8		
31	Ξ1	292	6,26	35,9	38,8	46
32	O1	446	10,78	27,3	43,5	57
33	Π11	309	5,38	40,9		
34	Π3	213	6,75	45	37	8
35	Π2	201	7,14	45,3	23	
36	Π11	266	6,35	37,6		
37	Π6	330	8,85	42,7		
38	Σ2N	271	9,2	30,4	4,3	
39	Σ1	286	8,98	37,8	<2	
40	T5	331	5,43	32,8		
41	T2	230	6,12	38,4		25
42	Φ3	285	8,4	41,4	92,5	
43	Π4					

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ II

α/α	Code	Albumin	B12	FA	a1AG	Ca+	HpAb
1	A6	3,2				9,6	
2	A3	3,7	398	6		9,1	(-)
3	Γ7	3,1		-0,5		8,7	(+)
4	Γ5	3,3	240	2,2			(-)
5	Δ3	4	327	1,4			(-)
6	Δ2	3,3	685	5,8		8,8	
7	Θ1N	3	252	7,92		9,3	(+)
8	Θ2	3,8	752	>25			(-)
9	I1	4,2	169	8,2			(+)
10	I2						
11	K18						(-)
12	K15	3,4	275	3,1		9,2	(+)
13	K12	3,7				8,5	
14	K9	3,9				9,1	
15	K7						
16	K13	3,8				9,4	
17	K14	4	379	7,09	1,8	9,5	
18	K3						
19	K6	3,3	493	2,1		8,8	(-)
20	K4	3,5	279	2,4	0,2	8,6	
21	K16	4,3	529	3,6		9,1	(-)
22	Λ2	3,19				9,4	
23	M7	3,5				8,8	
24	M3						
25	M6	3,6				9,1	
26	M8	3,6	590	6,3		9,4	(-)
27	M2	3,5	168	6,9		9,3	(-)
28	N4	2,6	602	4,6		8,2	(-)
29	N5	3,7				9,9	

30	N3		622	6,1			(-)
31	Ξ1	3,1				8,4	
32	Ο1	2,7	382	7,1	1,66	8,2	(-)
33	Π11						
34	Π3	3,8	319	6,1		8,7	(-)
35	Π2	4,1	190	5,9		9,2	
36	Π11						
37	Π6	3,8				9,2	
38	Σ2N	3,8				8,3	
39	Σ1	3,1				7,9	
40	T5	3,4				8,7	(+)
41	T2	3,3				8,9	
42	Φ3	3,4	159	3,5		8,9	(+)
43	Π4						

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΜΕ MINITAB

ΜΕΤΑΒΛΗΤΕΣ	ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ Pearson	P-Value
A.Συγκέντρωση IL-6/ φύλο	-0,233	0,184
B.Συγκέντρωση IL-6/ κάπνισμα	0,024	0,894
Γ.Συγκέντρωση IL-6/ τύπος	-0,014	0,937
Δ.Συγκέντρωση IL-6/ προσβ. τμήμα	-0,083	0,650
Ε.Συγκέντρωση IL-6/ έφεση-έξαρση	-0,203	0,242

Ερμηνεία αποτελεσμάτων

Με τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων και συγκεκριμένα με τη χρήση της εντολής Correlation, διαπιστώνουμε το βαθμό συσχέτισης 2 μεταβλητών, δηλαδή το βαθμό εξάρτησης τους (αν είναι ανεξάρτητες ή εξαρτημένες).

Συσχετίζουμε λοιπόν την τιμή της συγκέντρωσης της ιντερλευκίνης με τις ποιοτικές παραμέτρους που καταγράφονται στον παραπάνω πίνακα.

Οι αρνητικές τιμές του συντελεστή συσχέτισης υποδηλώνουν ότι τα σημεία ακολουθούν μια ευθεία με καθοδική κλίση, ενώ θετικές τιμές ότι τα σημεία ακολουθούν μια ευθεία με ανοδική κλίση.

Όσο πιο κοντά βρίσκεται η τιμή στην τιμή 1 τόσο πιο κοντά στην ευθεία είναι. Ενώ όσο πιο μακριά βρίσκεται απ' την τιμή της μονάδας (1), τόσο πιο απομακρυσμένα βρίσκονται τα σημεία αυτά απ' την γραμμή στο διάγραμμα σημείων που τους αντιστοιχεί.

Οι περιπτώσεις Γ και Δ παρουσιάζουν μη ισχυρή γραμμική συσχέτιση.

Η περίπτωση Β παρουσιάζει μη ισχυρή θετική συσχέτιση.

Οι περιπτώσεις Α και Ε παρουσιάζουν ισχυρή αρνητική συσχέτιση.

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Εξετάζοντας παράλληλα τις άγνωστης αιτιολογίας χρόνιες νόσους του εντέρου, που είναι η ελκώδης κολίτιδα και η νόσος Crohn, επιτυγχάνουμε την καλύτερη κατανόηση τόσο των χαρακτηριστικών τους όσο και των μηχανισμών τους, που συχνά συγχέονται από πολλούς.

Παρατηρούμε κατά την καταγραφή των δεδομένων διαφόρων επιστημονικών μελετών ότι και η αιτιοπαθογένεια τους αλλά και η εκδήλωση των συμπτωμάτων τους καθώς επίσης και η αντιμετώπισή τους είναι πολυπαραγοντική.

Η κατανόηση της γενετικής τους βάσης, που φαίνεται ότι είναι εφικτή με την υπάρχουσα σήμερα τεχνολογική ανάπτυξη, πιστεύεται ότι θα οδηγήσει στην επιπλέον εξακρίβωση των υπεύθυνων περιβαλλοντολογικών παραγόντων με συνέπεια την πρόωρη, εξατομικευμένη και κατάλληλη αντιμετώπιση ή ακόμη περισσότερο την πρόληψη της νόσου.

Έχουν διαπιστωθεί αυξημένα επίπεδα ιντερλευκίνης στον ορό ασθενών με νόσο Crohn. Επομένως περαιτέρω διερεύνηση και αναζήτηση πιθανών πολυμορφισμών στο αντίστοιχο γονίδιο αποτελεί ένα αρκετά ενδιαφέρον πεδίο έρευνας.

Τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης αναμένονται, λόγω καθυστέρησης της διεξαγωγής του τελικού σταδίου της πέψης, η οποία οφείλεται σε καθυστέρηση της παραλαβής του αντίστοιχου ενζύμου Lwel.

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. CECIL ΒΑΣΙΚΗ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑ, 1997, 4^Η Έκδοση, Ιατρικές Εκδόσεις Λίτσας
2. Ι.Κ. Τριανταφυλλίδης, Κ.Α. Μανουσάκης, «Σύγχρονες απόψεις για τη συντηρητική αντιμετώπιση της ΙΦΝΕ», ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΑΚΑ ΧΡΟΝΙΚΑ, 52(2), 147-160, 1990
3. Ι.Κ. Τριανταφυλλίδης, «Νέες θεραπείες της ΙΦΝΕ», ΙΑΤΡΙΚΗ, 77(1), 26-29, 2000
4. Ι.Κ. Τριανταφυλλίδης, «Δίαιτα και παθήσεις του Πεπτικού. Μύθοι και πραγματικότητα.», ΙΑΤΡΙΚΗ, 73(2), 124-132, 1998
5. Ι.Κ. Τριανταφυλλίδης, «Πρόοδοι στη Γαστρεντερολογία», ΙΑΤΡΙΚΗ, 77(4), 341-344, 2000
6. Harries A. Bared A., Rhodes J., "Non smoking. A feature of ulcerative colitis", Br Med J 1982, 284:706
7. Παπαδημητρίου Χ., Εμμανουηλίδης Α, Τριανταφυλλίδης Ι, Μανούσος Ο, «Ελκώδης Κολίτις-Νόσος των μη καπνιστών», ΙΑΤΡΙΚΗ 1984, 46:153-156
8. Manousos O, Papadimitriou Ch, Emmanouilidis A, Triantafyllidis J. «Ulcerative colitis and smoking. XII and V Int Gastroenterology and Endoscopy Congr., Lisbon 1984
9. Somerville KW, Logan RF, Edmond M, Langman MJS. "Smoking and Crohn's Disease", Br Med J 1984:954-956
10. Thordon JR, Emmment PM, HeatonWK, "Smoking, sugar and inflammatory bowel disease", Br Med J 1985, 190:1786-1787
11. Ι.Κ. Τριανταφυλλίδης, Ο. Μανούσος, Χ. Παπαδημητρίου, Α. Εμμανουηλίδης, Ε. Κογεβίνας, «Κάπνισμα και νόσος του Crohn», ΙΑΤΡΙΚΗ, 56(1), 68-71, 1989
12. Λεκανίδου Ρ, Τσιπήλου Σ, Ροδάκης Γ. «Εισαγωγή στη μοριακή Βιολογία», Πανεπιστήμιο Αθηνών – Τμήμα Βιολογίας
13. Κωνσταντίνος Α. Δημόπουλος, Σμαραγδή Αντωνοπούλου, «Βασική Βιοχημεία», Αθήνα 2000
14. L.Kathleen Mahan, Sylvia Escott-Stump, "Krause's FOOD, NUTRITION & DIET THERAPY", 10TH Edition, Saunders, 2000
15. Briony Thomas, "MANUAL of Dietetic Practice", Blackwell Publishing, 2001
16. Anne Grant, susan DeHOOG, "Nutrition assessment support and Management", 1999
17. Σ. Κωνσταντοπούλου, Μ. Σαββάλα, Μ. Παπαχριστοδούλου-Πάντου, Χ. Μπαρμπατζας, Κ.Ι. Τριανταφυλλίδης, Α. Στυλιανέα, «Διερεύνηση της σχέσης κυτταρομεγαλοϊού (CMV) και ΙΦΕΝ», ΙΑΤΡΙΚΗ
18. . Olivieri FM, Piodi LP, "Bone mineral density and body composition in ulcerative colitis: a six year follow-up", Osteoporos Int 2001;12(5):343-8
19. Inflamm Bowel Dis 2001 May;7(2):158-63; discussion 168-9
20. Schoon EJ, Muller MC, " Low serum and bone vitamin K status in patients with longstanding Crohn's Disease", Gut 2001 Apr; 48(4): 473-7

21. Schoon EJ, Russel MG, "Osteopenia and Osteoporosis in Crohn's Disease: prevalence in a Dutch population based cohort", *Scand J Gastroenterol Suppl* 2000;(232):43-7
22. Martin JP, Tonge KA, Bhonsle U, Jacyna MR, Levi J. "Bone mineral density in patients with inflammatory bowel disease", *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 1999 May;11(5):537-41
23. Ling Sc, Griffiths AM, "Nutrition in inflammatory bowel disease", *Curr Opin Nutr Metab Care*, 2000 Sep;3(5):339-44
24. Schulte CM, "Genetic Factors determine extent bone loss in IBD", *Gastroenterology* 2000 Oct;119(4):909-20
25. Lopez I, Buchman AL, "metabolic Bone Disease in IBD", *Curr Gastroenterol Rep* 2000 Aug;2(4):317-322
26. Ulivieri FM, "Bone Mineral density and body composition in patients with ulcerative colitis", *Am J Gastroenterol* 2000 Jun;95(6):1491-4
27. Ι. Ε Κουτρομπάκης, «Γενετική και ιδιοπαθείς φλεγμονώδεις νόσοι. Νεότερα δεδομένα», *ΙΑΤΡΙΚΗ* 2002, 82(5):311-312
28. Watts DA, Satsangi J. "The genetic jigsaw if IBD", *Gut* 2002, 50(Suppl 3):31-36
29. Elson CO. "Genes, microbes and T-cells new therapeutic targets in Crohn's Disease", *N Engl J Med* 2002, 346:614-616
30. Ferrari N, "Genotypic analysis of thiopurine S-methyltransferase in patients with CD and severe myelosuppression during azathioprine therapy", *Gastroenterology* 2000, 118:1025-1030
31. Jose Manuel Fernandez-Real, Montserrat Broch, Joan Vendrell, "IL-6 Polymorphism and Lipid abnormalities in Healthy subjects". *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 85(3):1334-5
32. McGovern DP. van Heel DA. Ahmad T. Jewell DP. NOD2 (CARD15), the first susceptibility gene for Crohn's disease. [Journal Article] *Gut*. 49(6):752-4, 2001 Dec.
33. Zouali H. Lesage S. Merlin F. Cezard JP. Colombel JF. Belaiche J. Almer S. Tysk C. O'Morain C. Gassull M. Christensen S. Finkel Y. Modigliani R. Gower-Rousseau C. Macry J. Chamaillard M. Thomas G. Hugot JP. EPWG group. EPIMAD group. CARD4/NOD1 is not involved in inflammatory bowel disease. [Journal Article] *Gut*. 52(1):71-4, 2003 Jan
34. Yamazaki K. Takazoe M. Tanaka T. Kazumori T. Nakamura Y. Absence of mutation in the NOD2/CARD15 gene among 483 Japanese patients with Crohn's disease. [Journal Article] *Journal of Human Genetics*. 47(9):469-72, 2002.
35. Vermeire S. Louis E. Rutgeerts P. De Vos M. Van Gossum A. Belaiche J. Pescatore P. Fiasse R. Pelckmans P. Vlietinck R. Merlin F. Zouali H. Thomas G. Colombel JF. Hugot JP. Belgian Group of Infliximab Expanded Access Program and Fondation Jean Dausset CEPH, Paris, France. NOD2/CARD15 does not influence response to infliximab in Crohn's disease. [Journal Article] *Gastroenterology*. 123(1):106-11, 2002 Jul.
36. Karban A, Eliakim R, Brant SR, «Genetics of inflammatory bowel disease», *Isr Med Assoc J*. 2002 Oct;4(10):815-7.
37. Ito H, "Anti-interleukin-6 therapy for Crohn's disease", *Curr Pharm Des*. 2003;9(4):295-305

38. Sylvester FA, Wyzga N, Hyams JS, Gronowicz GA
39. Effect of Crohn's disease on bone metabolism in vitro: a role for interleukin-6. *J Bone Miner Res.* 2002 Apr;17(4):695-702
40. Reinisch W, Gasche C, Tillinger W, Wyatt J, Lichtenberger C, Willheim M, Dejaco C, Waldhor T, Bakos S, Vogelsang H, Gangl A, Lochs H., « Clinical relevance of serum interleukin-6 in Crohn's disease: single point measurements, therapy monitoring, and prediction of clinical relapse.», *Am J Gastroenterol.* 1999 Aug;94(8):2156-64
41. Seymour Mishkin, "Dairy Sensitivity, lactose malabsorption and elimination diets in IBD", *Am J Clin Nutr* 1997;65:564-7
42. Rhodes JM, "Current Theories of the mechanisms of Crohn's disease", Manchester United Football Club, England
43. Griffiths AM, Ohlsson A, Sherman PM, Sutherland LR "Meta analysis of enteral nutrition as a primary treatment of active Crohn's disease", *gastroenterology* 1995;108:1056-1067
44. Leonard-Jones JE, "Practical management of the short bowel", *Aliment Pharmacol Therap* 1994;8:563-79
45. Forbes A., "Crohn's disease-the role of nutritional therapy", *Aliment Pharmacol Therap* 2002;16(suppl 4): 48-52
46. Subrata Gosh, Alan Shand, Anne Ferguson, "Ulcerative Colitis", *BMJ Volume 320*, 22 APRIL 2000
47. EM Scott, I Gaywood, "Guidelines for osteoporosis in celiac disease and IBD", *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1998;10:689-98
48. Ι.Παναρέτος, Ε. Ξεκαλάκη, «Εισαγωγή στη στατιστική σκέψη», Αθήνα 2000
49. Κ. Δημάκη, «Στατιστικό Πακέτο MINITAB», Εκδόσεις οικονομικού Πανεπιστημίου Αθηνών, Αθήνα 1999
50. Ι.Κ. Τριανταφυλλίδης, «Η προφορική επιστημονική παρουσίαση, σχεδιασμός, συγγραφή, προετοιμασία διαφανειών και παρουσίαση δεδομένων», *ΙΑΤΡΙΚΗ*, 74(2), 120-126, 1998

6. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ