

LUCYNA MÜLLER¹, ANNA SZAFLARSKA-POPLAWSKA¹, GRAŻYNA ODROWĄŻ-SYPNIEWSKA²

Porównanie stężeń wybranych cytokin (IL-2, IL-6 i IFN- γ) w surowicy krwi pacjentów z aktywną i nieaktywną postacią choroby trzewnej*

Comparison of Chosen Cytokines (IL-2, IL-6 and IFN- γ) Serum Concentrations in Patients with Active and Non-Active Celiac Disease

¹ Katedra i Klinika Pediatrii, Alergologii i Gastroenterologii CM Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Bydgoszczy

² Katedra i Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej CM Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Bydgoszczy

Streszczenie

Wprowadzenie. Celiakia jest chorobą wywołaną przez uwarunkowaną genetycznie nieprawidłową odpowiedź immunologiczną na spożywany gluten, w wyniku której dochodzi do miejscowej aktywacji układu immunologicznego w błonie śluzowej jelita cienkiego. W odpowiedzi na nią dochodzi do pobudzenia komórek T zarówno w jelicie, jak i we krwi obwodowej i wytwarzania cytokin, które podtrzymują reakcję zapalną. Komórki błony śluzowej jelita cienkiego w chorobie trzewnej produkują profil Th1/Th0 cytokin z przewagą IFN- γ . Profil cytokin, wytwarzanych przez komórki krwi obwodowej, najczęściej wskazuje na typ Th1 odpowiedzi, co potwierdza dominującą rolę cytokin prozapalnych w patogenezie celiakii.

Cel pracy. Określenie stężenia wybranych cytokin w surowicy krwi u dzieci i młodzieży z aktywną i nieaktywną postacią choroby trzewnej.

Materiał i metody. Stężenie interleukiny 2 (IL-2) i 6 (IL-6) oraz rozpuszczalnego receptora dla IL-2 (sIL-2R) w surowicy krwi oznaczano u 56 pacjentów z aktywną i u 54 pacjentów nieaktywną postacią choroby trzewnej. U 80 pacjentów oznaczono stężenie interferonu γ (IFN- γ) w surowicy krwi. Do oznaczania użyto fabrycznych zestawów testów ELISA. Uzyskane wyniki badań poddano analizie statystycznej.

Wyniki. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono istotnie statystycznie wyższe średnie wartości stężeń sIL-2R ($p < 0,05$) i IL-6 ($p < 0,001$) w surowicy pacjentów nieprzestrzegających diety bezglutenowej. Nie stwierdzono różnic w średnich wartościach stężeń IFN- γ w porównywanych grupach. Stężenia IL-2 u wszystkich pacjentów były niewykrywalne.

Wnioski. Istotnie statystycznie większe stężenia sIL-2R i IL-6 w grupie pacjentów z aktywną postacią choroby trzewnej mogą potwierdzać rolę tych cytokin w immunopatogenezie choroby trzewnej (*Adv Clin Exp Med* 2005, 14, 5, 953–958).

Słowa kluczowe: choroba trzewna, interleukina 2, rozpuszczalny receptor dla interleukiny 2, interleukina 6, interferon γ .

Abstract

Background. Celiac disease is caused by genetically determined abnormal immunological response to ingested gluten resulting in local activation of immune system of small intestine mucosa. In response to the latter, comes to activation of the T cells both in intestine and peripheral blood as well as production of cytokines, which sustain the inflammatory reaction. In celiac disease the cells of small intestine mucosa produce cytokines of the Th1/Th0 profile with predominance of IFN- γ . The most frequent profile of cytokines produced by peripheral blood presents the Th1 type of response, which supports the predominant role of pro-inflammatory cytokines in celiac disease.

Objectives. Determination of concentrations of chosen cytokines in serum of patients with active and non-active celiac disease.

* Badania finansowane przez Komitet Badań Naukowych (nr projektu 3P05E 09622).

Material and Methods. Concentrations of sIL-2R and IL-6 in serum were determined in 56 patients with active and 54 patients with non-active celiac disease. In 80 patients serum concentrations of IFN- γ was determined. Manufactured sets of ELISA test were used in study. The results were subjected to statistical analysis.

Results. On the basis of the results statistically important higher mean values of sIL-2R ($p < 0.05$) and IL-6 ($p < 0.001$) concentrations were determined in serum of patients. No differences in average values of concentrations of IFN- γ were found. In all patients concentrations of IL-2 were undetectable.

Conclusions. Significantly higher concentrations of sIL-2R and IL-6 in group of patients who did not comply to gluten-free diet may support the role of those cytokines in immunopathogenesis of celiac disease (*Adv Clin Exp Med* 2005, 14, 5, (953–958).

Key words: celiac disease, interleukin-2, soluble receptor for interleukin-2, interleukin-6, interferon- γ .

Mimo długoletnich badań, podłoże patogenezy choroby trzewnej nie zostało do końca wyjaśnione. Obecnie mówi się o prawdopodobnym współdziałaniu kilku czynników w rozwoju tego schorzenia. Odzwierciedleniem tego jest obowiązująca obecnie definicja choroby trzewnej, która opisuje celiakię jako trwałą enteropatię wywołaną przez uwarunkowaną genetycznie nieprawidłową odpowiedź immunologiczną na spożywany gluten, w wyniku której dochodzi do miejscowej aktywacji układu immunologicznego w błonie śluzowej jelita cienkiego oraz sekrecji cytokin zarówno w jelicie, jak i we krwi obwodowej [1, 2].

Większość naukowców jest zgodna, że podstawowym mechanizmem patofizjologicznym leżącym u podłoża choroby trzewnej są procesy immunologiczne zachodzące w błonie śluzowej jelita cienkiego [3, 4]. Taki kierunek badań wyznaczyła w latach siedemdziesiątych ubiegłego wieku Ferguson, która stwierdziła w wycinkach z jelita cienkiego pobranych od pacjentów z chorobą trzewną podwyższone stężenia cytokin i ustaliła ich związek z działaniem gliadyny [5]. W tym samym czasie udowodniono, że również limfocyty krwi obwodowej odpowiadają na stymulację glutenem zwiększoną sekrecją cytokin, ale odpowiedź ta różniła się od stwierdzanej w obrębie jelita. Lahat et al. wykazali, że komórki błony śluzowej jelita cienkiego w chorobie trzewnej wytwarzają profil Th1/Th0 cytokin z przewagą IFN- γ [2]. Oprócz interferonu w biopsjach stwierdzano również sekrecję TNF- α , IL-6, rzadziej IL-4, IL-5 i IL-10 [6, 7]. Profil cytokin wytwarzanych przez komórki jednojądrzaste krwi obwodowej najczęściej wskazywał na typ Th1 odpowiedzi z dominującą sekrecją IFN- γ . Istnieją również doniesienia o typie Th1/Th0 [1, 8, 9].

Celem pracy było określenie stężenia IL-2 i jej rozpuszczalnego receptora (sIL-2R) oraz IL-6 i IFN- γ w surowicy krwi u dzieci i młodzieży z aktywną i nieaktywną postacią choroby trzewnej.

Material i metody

Na przeprowadzenie badań każdorazowo uzyskiwano zgodę opiekuna prawnego pacjenta,

a w przypadku osób, które ukończyły 12. rok życia również zgodę tej osoby. Protokół badawczy jest zgodny z Konwencją Helsińską i uzyskał akceptację Komisji Bioetycznej przy Akademii Medycznej im. L. Rydygiera w Bydgoszczy.

Stężenia IL-2, sIL-2R i IL-6 oznaczano jednocześnie w 110 próbkach krwi pobranych od pacjentów z chorobą trzewną. Dodatkowo u części pacjentów ($n = 80$) oznaczono również stężenia IFN- γ .

Średni wiek badanych wynosił 13,1 lat. U pacjentów nie stwierdzono niedoboru masy ciała i/lub wzrostu (na podstawie siatek centylowych opracowanych przez Instytut Matki i Dziecka w 1999 r.). Średni czas trwania choroby od chwili rozpoznania wynosił 10,6 lat (1–20 lat). U wszystkich pacjentów jako metodę leczenia stosowano dietę bezglutenową. Na podstawie danych z wywiadu oraz wyników miana przeciwciał antyendomizjalnych (EmA) badanych podzielono na dwie grupy: grupa I – EmA(+) pacjenci nieprzestrzegający diety bezglutenowej, z aktywną postacią choroby ($n = 56$) i grupa II – EmA(–) pacjenci przestrzegający diety, z nieaktywną postacią celiakii ($n = 54$). W grupie II średni okres przestrzegania diety wynosił 10,2 lat (4–16 lat). Materiał do badań stanowiła krew pobierana z żyły łokciowej w ilości 3 ml, którą wirowano przez 5–7 minut przy 4000 obr./min. Do oznaczania stężenia wybranych cytokin w surowicy krwi użyto fabrycznych zestawów mikropłytek ELISA firmy Bender MedSystems opłaszczonych mysimi przeciwciałami monoklonalnymi, skierowanymi przeciwko danej cytokinie. Uzyskane wyniki badań poddano analizie statystycznej z użyciem testu sumy rang Kruskala-Wallisa i testu t -Studenta.

Wyniki

Na podstawie analizy statystycznej wieku, centyla masy ciała i wzrostu ustalono, że badane grupy były jednorodnie pod względem badanych wskaźników (tab. 1). We wszystkich badanych grupach stężenia IL-2 w surowicy były niewykrywalne (podobnie jak u osób zdrowych). Średnie stężenie rozpuszczalnego receptora dla IL-2 (sIL-2R) w surowicy krwi w badanych grupach mieściło się

Tabela 1. Charakterystyka pacjentów w grupie I i II**Table 1.** Characteristics of patients in group I and II

		Wiek (Age)		Centyl masy (Weight centile)		Centyl wzrostu (Height centile)	
	n	średnia (mean)	SD	średnia (mean)	SD	średnia (mean)	SD
Grupa I (Group I)	56	13,4	5,1	4,1	1,6	3,8	1,7
Grupa II (Group II)	54	12,9	3,5	4,1	1,7	3,7	1,8
t-Statystyka (t-Statistics)		0,59		0,0		0,59	
p		ns.		ns.		ns.	

Kanałom centylowym przypisano wartości liczbowe, np. kanał < 3 centyla – 1, kanał 3–10 centyla – 2 itd.

For centile channels a number values were attributed, e.g. channel < 3 centile – 1, channel 3–10 centile – 2 etc.

w granicy normy (1,0–4,2 ng/ml) i wynosiło odpowiednio: dla grupy I – 1,76 ng/ml i dla grupy II – 1,35 ng/ml.

Wykrywalne poziomy IL-6 stwierdzono w surowicy 57 pacjentów (odpowiednio u 29 w grupie I i 28 w grupie II). Średnie stężenie IL-6 u tych pacjentów mieściło się w granicy normy (norma 1,4–14,1 pg/ml) i wynosiło odpowiednio: dla grupy I – 9,062 pg/ml i dla grupy II – 4,595 pg/ml. Analizy stężenia IFN- γ dokonano jedynie u 80 pacjentów (odpowiednio u 26 z grupy I i 54 z grupy II). Średnie stężenie IFN- γ u wszystkich badanych pacjentów mieściło się w granicach szerokiej normy (1,5–168 pg/ml) i wynosiło odpowiednio: dla grupy I – 3,760 pg/ml i dla grupy II – 4,159 pg/ml.

Za pomocą testu *t*-Studenta porównywano wartości średnie stężeń badanych cytokin w poszczególnych grupach (tab. 2). W wyniku testowania ustalono, że średnie wartości sIL-2R i IL-6 są istotnie większe w I grupie niż w II. Nie wykryto różnic wartości średnich IFN- γ w porównywanych grupach.

Omówienie

Choroba trzewna jest wywoływana przez uwarunkowaną genetycznie nieprawidłową odpowiedź immunologiczną na spożywany gluten. W immunopatogenezie celiakii dominującą rolę odgrywają limfocyty T. Dochodzi do rozwoju reakcji immunologicznej w błonie śluzowej jelita, której skutkiem są zaburzenia różnicowania enterocytów z tworzeniem typowych zmian histopatologicznych [10].

Wielu badaczy podkreśla, że w patogenezie choroby trzewnej decydującą rolę pełnią cytokiny prozapalne, których obecność stwierdzono w na-

ciekach w błonie śluzowej jelita cienkiego pacjentów z aktywną postacią choroby [11, 12]. Badania immunohistochemiczne udowodniły obecność zwiększonej liczby komórek blaszki właściwej produkujących IFN- γ u nieleczonych pacjentów z celiakią. U tych samych pacjentów w biopsatach z jelita cienkiego stwierdzono wyraźnie podwyższone stężenia mRNA dla IFN- γ . Poziomy transkrypcji były 10–100 razy wyższe u pacjentów nieleczonych w porównaniu z chorymi przestrzegającymi diety bezglutenowej i około 1000 razy wyższe w porównaniu z grupą kontrolną o histologicznie prawidłowej śluzówce. Stymulacja gliadyną biopsatów błony śluzowej jelita pacjentów z remisją histologiczną spowodowała wzrost ekspresji mRNA dla IFN- γ do poziomu zbliżonego do stwierdzanego w aktywnej postaci choroby. Wprowadzenie diety bezglutenowej dawało znaczące zmniejszenie ekspresji mRNA dla tej cytokiny [13]. W odpowiedzi na miejscową aktywację układu immunologicznego, również we krwi obwodowej zwiększa się liczba krążących komórek wytwarzających cytokiny [1, 2, 8].

Liczne badania wykazały nieznaczące różnice w profilu cytokin we krwi osób chorych na celiakię w porównaniu z grupą kontrolną. Stymulacja gliadyną u pacjentów z chorobą trzewną powodowała wydzielanie przez komórki krwi IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-6 i IL-10. W grupie kontrolnej po stymulacji nie obserwowano sekrecji IFN- γ i IL-4, a jedynie IL-2, IL-6 i IL-10 [1, 8].

Liczne doświadczenia *in vitro* i *in vivo* wykazały, że po aktywacji komórek T blaszki właściwej dochodzi do ekspresji receptora dla IL-2 i wytwarzania cytokin [14]. Stymulacja *in vitro* komórek jednojądrzastych krwi obwodowej powodowała wzrost stężenia IL-2 u 40% z nieleczoną postacią choroby oraz u 42% przestrzegających diety [15]. Jedynie u chorych z aktywną postacią choroby

Tabela 2. Analiza statystyczna wyników badań wybranych cytokin w grupie pacjentów z aktywną i nieaktywną chorobą trzewną**Table 2.** Statistical analysis of chosen cytokine concentrations in patients with active and non-active celiac disease

	sIL-2R (ng/ml)		IL-6 (pg/ml)		IFN- α (pg/ml)	
	grupa I (group I)	grupa II (group II)	grupa I (group I)	grupa II (group II)	grupa I (group I)	grupa II (group II)
n	56	54	29	28	26	54
Min	0,64	0,25	1,494	1,422	3,206	3,044
Max	5,00	3,81	28,070	37,118	5,972	12,500
Średnia (Mean)	1,76	1,35	9,062	4,595	3,760	4,159
SD	0,88	0,83	8,115	6,677	0,610	1,950
Mediana (Median)	1,56	1,09	7,010	2,880	3,610	3,542
t-Mtatystyka (t-Mtatistics)	2,49		2,22		-1,01	
p	< 0,015		0,03		ns.	

stwierdzano duże stężenie zarówno IL-2, jak i jej rozpuszczalnego receptora (sIL-2R) w surowicy krwi, choć nie zawsze stwierdzano między nimi korelację. Tłumaczono to asynchronicznym uwalnianiem obu tych białek [16]. W badaniach własnych nie stwierdzono wykrywalnych stężeń IL-2 w surowicy krwi, wykazano natomiast podwyższone poziomy sIL-2R w grupie pacjentów z aktywną postacią choroby trzewnej w porównaniu z osobami przestrzegającymi diety bezglutenowej. Jest to zgodne z wynikami, jakie uzyskali Romaldini et al. [11]. W swojej pracy oceniali oni surowicze stężenia sIL-2R, IL-6 i TNF- α u leczonych i nieleczonych pacjentów z chorobą trzewną. Stwierdzili podwyższone stężenia sIL-2R i IL-6 w surowicy pacjentów nieleczonych w porównaniu z leczonymi i z grupą kontrolną. Nie obserwowali różnic w stężeniu TNF- α . Po 12-miesięcznym okresie ścisłego przestrzegania diety obserwowali wyraźne obniżenie jedynie stężenia sIL-2R, chociaż zarówno stężenie sIL-2R i IL-6 było nadal większe niż w grupie kontrolnej. Podobne spostrzeżenia poczyniono w badaniach własnych, w których stwierdzono istotnie wyższe stężenia IL-6 u pacjentów z aktywną postacią choroby trzewnej w porównaniu z grupą leczoną. Kontakou et al. opisywali podwyższone stężenia IL-6 we krwi obwodowej, które dodatkowo wzrastały po prowokacji glutenem, zarówno u pacjentów z aktywną celiakią jak i remisją histologiczną [17]. W warunkach *in vitro* stymulacja gliadyną również indukowała wzrost stężenia IL-6 w komórkach jednojądrzastych krwi obwodowej u 100% pacjentów z chorobą trzewną przestrzegających lub nieprzestrzegających diety bezglutenowej. Stężenie IL-6 po wprowadzeniu diety bezglutenowej obniżało się równolegle ze spadkiem stężenia IL-1 β .

Niektórzy autorzy proponują nowy schemat monitorowania przebiegu choroby polegający na oznaczaniu stężenia IL-2 w połączeniu z IL-6 w surowicy krwi [8]. Uzyskane w badaniach własnych wyniki potwierdzają wartość oznaczania sIL-2R i IL-6 w surowicy jako markerów aktywności choroby. Na podstawie uzyskanych wyników nie stwierdzono różnicy w poziomach IFN- γ między pacjentami z chorobą trzewną przestrzegającymi i nieprzestrzegającymi diety bezglutenowej. Podobne wyniki uzyskali Mizrachi et al., którzy również nie stwierdzili wzrostu stężenia IFN- γ we krwi u chorych z celiakią. Badanie swoje poszerzyli jednak o ocenę stosunku odpowiedzi typu Th1 i Th2 i stwierdzili, że u pacjentów tych dochodzi do zwiększenia wskaźnika IFN- γ /IL-10 i IL-2/IL-10 [9]. Do odmiennych wniosków doszli badacze, którzy oceniali stężenie cytokin w komórkach T krwi obwodowej po stymulacji gliadyną. U osób z chorobą trzewną wykryli podwyższone stężenia IFN- γ – odpowiednio u 33% z aktywną postacią choroby i u 25% przestrzegających diety. Nie wykazali natomiast jego obecności u osób zdrowych [18].

W piśmiennictwie można również znaleźć nie-liczne doniesienia dotyczące zwiększonego stężenia innych cytokin prozapalnych w celiakii. Opisywano m.in. podwyższone stężenie mRNA TNF- α i β w błonie śluzowej i TNF- α w limfocytach T krwi obwodowej u pacjentów z aktywną postacią choroby [11]. U chorych przestrzegających diety bezglutenowej stwierdzano jedynie podwyższone stężenia mRNA dla TNF- β . Zauważono jednak, że ta zaburzona ekspresja TNF może być uwarunkowana genetycznie, bowiem *locus* alleli kodujących TNF sąsiaduje z genami układu HLA, których rola w patogenezie choroby trzewnej jest niepodważalna [19].

Inne doniesienia podkreślają znaczenie zaburzonej ekspresji TGF- β w patogenezie celiakii [20]. Podwyższone stężenia tego czynnika wykazano w blaszce właściwej błony śluzowej jelita pacjentów z aktywną postacią choroby tuż pod nabłonkiem. Być może zatem wzrost stężenia wynika z miejscowej reakcji zapalnej [21].

Ponieważ u podłoża zmian obserwowanych w chorobie trzewnej leży nieprawidłowa reakcja immunologiczna, ingerencja w tę odpowiedź mogłaby pozwolić na stworzenie nowych metod leczenia choroby trzewnej. Pod koniec XX wieku, kiedy udowodniono udział cytokin w patogenezie choroby trzewnej, uwagę skupiono na poszukiwaniu metod

modulowania ich sekrecji. Stwierdzono, że zmiany histologiczne w błonie śluzowej (zanik kosmków, hiperplazja krypt) mogą być blokowane przez dodanie przeciwciał anti-IFN- γ lub anti-TNF- α [22]. W warunkach *in vitro* badano również efekt działania przeciwciał anti-IFN- γ , anti-IL-2 i anti-TNF- α na zaktywowane klony komórek T. Chociaż przeciwciała anti-IFN- γ i anti-TNF- α działały synergistycznie, to jednak hamujący wpływ na indukcję reakcji zapalnej przez aktywne komórki T wykazywały jedynie przeciwciała anti-IFN- γ . Mimo zatem rozwoju wiedzy na temat mechanizmów patogenetycznych w celiakii, nadal jedyną w pełni skuteczną metodą leczenia pozostaje dieta bezglutenowa.

Piśmiennictwo

- [1] **Hansson T, Dannæus A, Klareskog L:** Cytokine-producing cells in peripheral blood of children with coeliac disease secrete cytokines with a type 1 profile. *Clin Exp Immunol* 1999, 116, 246–250.
- [2] **Lahat N, Shapiro S, Karban A, Gerstein R, Kinarty A, Lerner A:** Cytokine profile in coeliac disease. *Scand J Immunol* 1999, 49, 441–446.
- [3] **Biagi F, Parnell NDJ, Thomas PD, Ellis HJ, Ciclitira PJ:** A new model for the pathogenesis of celiac disease. *Gastroenterology* 1999, 116, 1277–1278.
- [4] **Sollid LM:** Molecular basis of celiac disease. *Annu Rev Immunol* 2000, 18, 53–81.
- [5] **Ferguson A, MacDonald TT, McClure JP, Holden RI:** Cell-mediated immunity to gliadin within the small-intestinal mucosa in coeliac disease. *Lancet* 1975, 1, 895–897.
- [6] **Beckett CG, Dell'Olio D, Kontakou M, Przemioslo RT, Rosen-Bronson S, Ciclitira PJ:** Analysis of interleukin-4 and interleukin-10 and their association with the lymphocytic infiltrate in the small intestine of patients with celiac disease. *Gut* 1996, 39, 818–823.
- [7] **Troncone R, Gianfrani C, Mazzarella G, Greco L, Guardiola J, Auricchio S, de Berardinis P:** Majority of gliadin-specific T-cell clones from celiac small intestinal mucosa produce interferon- α and interleukin-4. *Dig Dis Sci* 1998, 43, 156–161.
- [8] **Kerttula TO, Collin P, Hurme M:** Normal T-helper 1/T-helper 2 balance in peripheral blood of coeliac disease patients. *Scand J Immunol* 1999, 49, 197–202.
- [9] **Mizrahi A, Broide E, Buchs A, Kornberg A, Aharoni D, Bistrizter T, Rapoport MJ:** Lack of correlation between disease activity and decreased stimulated secretion of IL-10 in lymphocytes from patients with celiac disease. *Scand J Gastroenterol* 2002, 37, 924–930.
- [10] **Barshack I, Goldberg I, Chowers Y, Weiss B, Horowitz A, Kopolovic J:** Immunohistochemical analysis of candidate gene product expression in the duodenal epithelium of children with coeliac sprue. *J Clin Pathol* 2001, 54, 684–688.
- [11] **Romaldini CC, Barbieri D, Okay TS, Raiz R, Cançado ELR:** Serum soluble interleukin-2 receptor, interleukin-6 and tumour necrosis factor- α levels in children with celiac disease: response to treatment. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002, 35, 513–517.
- [12] **Westerholm-Ormio M, Garioch J, Ketola I, Savilahti E:** Inflammatory cytokines in small intestinal mucosa of patients with potential coeliac disease. *Clin Exp Immunol* 2002, 128, 94–101.
- [13] **Nilsen EM, Jahnsen FL, Lundin KEA, Johansen FE, Fausa O, Sollid LM, Jahnsen J, Scott H, Brandtzaeg P:** Gluten induces an intestinal cytokine response strongly dominated by interferon gamma in patients with celiac disease. *Gastroenterology* 1998, 115, 551–563.
- [14] **Signore A, Chianelli M, Annovazzi A, Rossi M, Maiuri L, Greco M, Ronga G, Britton KE, Picarelli A:** Imaging active lymphocytic infiltration in celiac disease with iodine-123-interleukin-2 and the response to diet. *Eur J Nucl Med* 2000, 27, 18–24.
- [15] **O'Keefe J, Mills K, Jackson J, Feighery C:** T cell proliferation, MHC class II restriction and cytokine products of gliadin-stimulated peripheral blood mononuclear cells (PBMC). *Clin Exp Immunol* 1999, 117, 269–276.
- [16] **Jelínková L, Tučková L, Sánchez D, Krupičková S, Pozler O, Nevoral J, Kotalová R, Tlaskalová-Hogenová H:** Increased levels of circulating ICAM-1, E-selectin and IL-2 receptors in celiac disease. *Dig Dis Sci* 2000, 45, 398–402.
- [17] **Kontakou M, Przemioslo RT, Sturges RP, Limb GA, Ciclitira PJ:** Expression of tumor necrosis factor- α , interleukin-6 and interleukin-2 mRNA in the jejunum of patients with coeliac disease. *Scand J Gastroenterol* 1995, 30, 456–463.
- [18] **Cornell HJ, Skerritt JH, Puy R, Javadvpour M:** Studies of *in vitro* γ -interferon production in celiac disease as a response to gliadin peptides. *Biochim Biophys Acta* 1994, 1226, 126–130.

- [19] **Garrote JA, Arranz E, Telleria JJ, Castro J, Calvo C, Blanco-Quiros A:** TNF alpha and LT alpha gene polymorphisms as additional markers of celiac disease susceptibility in a DQ2-positive population. *Immunogenetics* 2002, 54, 551–555.
- [20] **Hansson T, Ulfgren AK, Lindroos E, Dannæus A, Dahlbom I, Klareskog L:** Transforming growth factor-beta (TGF-beta) and tissue transglutaminase expression in the small intestine in children with coeliac disease. *Scand J Immunol* 2002, 56, 530–537.
- [21] **Lionetti P, Pazzaglia A, Moriondo M, Azzari C, Resti M, Amorosi A, Vierucci A:** Differing patterns of transforming growth factor-beta expression in normal intestinal mucosa and in active celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999, 29, 308–313.
- [22] **Przemiosło RT, Lundin KEA, Sollid LM, Ciclitira PJ:** Histological changes in duodenal mucosa produced by soluble mediators from gliadin sensitive T-cells. *Gut* 1994, 35, Suppl. 2, T 114.

Adres do korespondencji:

Lucyna Müller
Katedra i Klinika Pediatrii, Alergologii i Gastroenterologii Collegium Medicum im. K. Rydygiera
Uniwersytet Mikołaja Kopernika
ul. M. Skłodowskiej-Curie 9
85-094 Bydgoszcz

Praca wpłynęła do Redakcji: 6.10.2004 r.
Po recenzji: 24.05.2005 r.
Zaakceptowano do druku: 24.05.2005 r.

Received: 6.10.2004.
Revised: 24.05.2005
Accepted: 24.05.2005