

STRESZCZENIE

W dostępnym piśmiennictwie naukowym istnieją dowody wskazujące na istotną rolę proteasomów w patomechanizmie nieswoistych zapalnych chorób jelit (NZJ). Wykazano, że aktywność chymotrypsynopodobna (ChT-L) proteasomów jest zwiększona w śluzówce jelit dorosłych pacjentów z aktywną postacią wrzodziejącego zapalenia jelita grubego (WZJG) i choroby Leśniowskiego-Crohn'a (ChLC) w porównaniu do osób z innymi chorobami jelit oraz udowodniono, że uczestniczy ona w procesie aktywacji NF- κ Bp50/p65, jednego z najważniejszych czynników transkrypcyjnych odpowiedzialnych za rozwój i podtrzymywanie zapalenia w jelitach. Za zwiększoną aktywność ChT-L odpowiadały proteasomy zawierające immunopodjednostki. Celem pracy była ocena aktywności ChT-L i stężenia proteasomów w surowicy krwi pediatrycznych pacjentów z WZJG i ChLC w odniesieniu do grupy kontrolnej oraz w zależności od klinicznej aktywności tych chorób. Dodatkowym celem było porównanie poziomu podjednostek katalitycznych odpowiedzialnych za aktywność ChT-L proteasomów (tj. α 1i, α 5i, α 5) w surowicy krwi oraz ekspresji immunopodjednostki α 5i w biopsjach jelita grubego dzieci chorych na NZJ i w grupie kontrolnej. Surowice krwi pochodziły od 69 pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego (26 w zaostrzeniu, 43 w remisji choroby), 18 pacjentów z chorobą Leśniowskiego-Crohn'a (10 w zaostrzeniu, 8 w remisji choroby) i 24 dzieci z zaburzeniami czynnościowymi przewodu pokarmowego. Biopsaty jelita grubego pochodziły od sześciu pacjentów z NZJ i trzech z grupy kontrolnej. Pacjenci byli zdiagnozowani i leczeni w Klinice Pediatrii, Gastroenterologii, Hepatologii, Żywienia i Alergologii Dziecięcej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku w latach 2012-2014. Na wykorzystanie w/w materiału klinicznego oraz danych pacjentów uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej UMB (nr R-I-002/283/2012 i nr R-I-002/368/2014). Aktywność ChT-L proteasomów w surowicy krwi oznaczano przy użyciu fluorogennego peptydu Suc-Leu-Leu-Val-Tyr-AMC w obecności SDS jako selektywnego aktywatora proteasomów, a stężenie proteasomów metodą immunoenzymatyczną przy użyciu komercyjnego zestawu podwójnego wiązania ("sandwich ELISA"). Poziom podjednostek katalitycznych α 1i, α 5i, α 5 proteasomów w surowicy krwi oceniano metodą Western blot, natomiast ekspresję α 5i w biopsjach jelita grubego metodą immunofluorescencji. Analizy statystycznej wyników dokonano w oparciu o nieparametryczny test U Manna Whitney'a lub Kruskala-Wallis'a. Dla każdej z grup zaostały wyliczona wartość mediany. Za poziom istotności przyjęto $P < 0,05$. Współczynniki korelacji wyliczono testem Spearmana. Przeprowadzone badania wykazały znamienne wyższą aktywność ChT-L ($P < 0,001$) i stężenie proteasomów ($P < 0,05$) w surowicy krwi dzieci z NZJ w porównaniu do grupy dzieci z zaburzeniami czynnościowymi przewodu pokarmowego. Aktywność i stężenie proteasomów w surowicy krwi nie korelowały z wiekiem, płcią, wskaźnikiem masy ciała pacjentów ($P > 0,05$), ani z liczbą elementów morfotycznych krwi (tj. leukocytów, erytrocytów, płytek krwi), stężeniem hemoglobiny oraz stężeniem hs-CRP w surowicy ($P > 0,05$). Wzrost aktywności i stężenia proteasomów w surowicy krwi dzieci z NZJ nie zależał od typu jednostki chorobowej (WZJG vs ChLC) ani lokalizacji zmian zapalnych w jelitach ($P > 0,05$). Aktywność i stężenie proteasomów w surowicy krwi dzieci z aktywną postacią WZJG i ChLC były wyższe niż w fazie klinicznej remisji, ale różnice te nie były istotne statystycznie ($P > 0,05$). Zwiększonej aktywności ChT-L proteasomów towarzyszył wzrost poziomu katalitycznych immunopodjednostek α 1i i α 5i w surowicy dzieci z WZJG i ChLC w porównaniu do grupy kontrolnej ($P < 0,05$). Nie było różnic w poziomie badanych podjednostek w zależności od typu jednostki chorobowej i klinicznej aktywności choroby ($P > 0,05$). Barwienie immunofluorescencyjne wykazało silną ekspresję immunopodjednostki α 5i w jednojądrzastych komórkach blaszki właściwej błony śluzowej jelit oraz w komórkach nabłonkowych; liczba tych komórek w jelicie grubym dzieci z WZJG i ChLC była znacznie większa niż u dzieci z grupy kontrolnej. W oparciu o uzyskane wyniki wyciągnięto następujące wnioski: (1) Aktywność i stężenie proteasomów oraz poziom immunopodjednostek proteasomów są znamienne wyższe w surowicy krwi dzieci z nieswoistymi

chorobami zapalnymi jelit aniżeli w grupie kontrolnej dzieci z zaburzeniami czynnościowymi przewodu pokarmowego; (2) Wzrost aktywności i stężenia proteasomów oraz poziomu immunopodjednostek proteasomów w surowicy krwi dzieci z NZJ nie zależy od typu jednostki chorobowej ani klinicznej aktywności choroby; (3) Oznaczanie aktywności i stężenia proteasomów w surowicy krwi dzieci chorych na NZJ nie pozwala na odróżnianie stanu zaostrzenia i remisji choroby i tym samym monitorowanie efektów terapeutycznych; (4) Głównym źródłem proteasomów w surowicy krwi dzieci z nieswoistymi zapaleniami jelit mogą być jednojądrzaste komórki blaszki właściwej błony śluzowej i komórki nabłonkowe jelita grubego.