

5. Duer R.H. Genome-wide association studies herald a new era of rapid discoveries in inflammatory bowel disease research. In: *Gastroenterol.*, 2007, 132, p. 2045-2062.
6. Fiocchi C., Susceptibility Genes and overall pathogenesis of inflammatory bowel disease: where do we stand? In: *Dig. Dis.*, 2009, 27(3), p. 226-235.
7. Lakatos P.L., Fischer S., Lakatos L. et al., Current concept on the pathogenesis of IBD: crosstalk between genetic and microbial factors. Pathogenic bacteria, altered bacterial sensing or changes in mucosal integrity take? In: *World J. Gastroenterol.*, 2006, 12, 1829-1840.
8. Hafner S., Timmer A., Herfart H. et al., The role of domestic hygiene in inflammatory bowel disease: hepatitis A and worm infestation. In: *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.*, 2008, 20, p. 561-566.
9. Buening J., Homann N., von Smolinski D. et al., Helminths as governors of inflammatory bowel disease. In: *Gut*, 2008, 57, p. 1182-1183.
10. Bernstein C.N., Rawsthorne P., Cheang M. et al., A population-based case control study of potential risk factors for IBD. In: *Am. J. Gastroenterol.*, 2006, 101, p. 993-1002.

CONTEXTUL TERAPEUTIC ÎN DEREGLĂRILE IMUNOLOGICE DIN MALADIILE CRONICE INFLAMATORII INTESTINALE

(Revista literaturii)

Olga Tighineanu, Alexandra Guscova

Summary

Therapeutic background of the immunological disorders in chronic inflammatory bowel diseases

The article underlines the contemporary immunopathogenetic assumptions on the triggering mechanisms of inflammatory bowel disease, analyzing the impact of immunological factor, both in the pathology appearance and development of effective regimens by "biological therapy".

Rezumat

Articolul reflectă ipotezele imunopatogenetice contemporane privind mecanismele de declanșare ale bolilor inflamatorii intestinale, analizând impactul factorului imunologic, atât în apariția patologiei, cât și în elaborarea schemelor terapeutice eficiente, prin „terapia biologică”.

Bolile inflamatorii intestinale (colita ulceroasă și boala Crohn) sunt afecțiuni inflamatorii idiopatice ale tractului gastrointestinal, cu o patogenie neelucidată, dar sugerată printr-un răspuns imunologic inadecvat la antigenele intestinale [4, 6, 9].

Turunen *et al.*, pe parcursul a 15 ani, denotă aproape o dublare a ratei incidenței bolilor inflamatorii intestinale (BII), la copii și adolescenți, în Finlanda. Din dosarele medicale a două spitale universitare și o populație de studiu de 619 000 copii (1987-2003), cercetătorii au identificat 604 cazuri noi (boala Crohn 203 cazuri și colita ulceroasă 317 cazuri), cu creșterea incidenței de la 3,9 la 100 000 în 1987 la 7,0 la 100 000 în 2003. În 33% cazuri boala a debutat la copiii cu vârsta de 12-15 ani și doar în 5% din cazuri la copii cu vârsta mai mică de 3 ani.

Heyman *et al.*, 2005 în urma unui studiu prospectiv a 1370 copii cu BII, a remarcat că colita ulceroasă (CU) și boala Crohn (BC) este la fel de răspândită printre copii de vârstă fragedă (0-2 ani), ba mai mult diagnosticul de BII este stabilit definitiv într-un 1% cazuri, la copii cu vârsta de până la 1 an. Ca și în studiile anterioare, CU a fost mai frecventă, în 47% cazuri la copii cu vârstă de 3-5 ani, în timp ce incidența BC a crescut odată cu vârsta, atingând un nivel de 66% la 13-17 ani.

Începând cu cercetările lui Morgagni, 1761; Wilks, 1859; Fenwick, 1889; Dalziel, 1913; de Crohn, Ginzburg, Oppenheimer, 1932 și până în ultimele decenii ipotezele etiopatogenetice conceptuale, cu implicarea statutului imunologic, ale BII au fost revăzute, totodată implementându-se și noi abordări terapeutice prin recomandarea „terapii biologice”, având ca substrat conceptul imunologic în dezvoltarea BII, și anume rolul TNF- α .

Deși, unele progrese importante au fost făcute în ultimii ani, patogeniza bolii rămâne încă obscură, fiind abordată în prezent ca o asocieră de modificări genetice și dereglări imunologice determinate de interacțiunea microflorei enterice cu mucoasa, invocând lezarea barierei mucosale intestinale, iar datorită identificării citokinelor pro- și anti-inflamatorii a determinat administrarea „terapii biologice”.

Maladiile inflamatorii intestinale se pot asocia cu alte boli autoimune (astm bronșic, artropatii periferice, hipo/hipertiroidism, colangită sclerozantă primară, psoriazis) [4, 9]. Însă, în pofida acestor argumente, studii privind asocierea patologiilor autoimune la populația pediatrică lipsesc [Kappelman, 2011]. Iar, Ridder, 2007, consideră că corelația cu una și mai multe patologii autoimune se datorează predipoziției genetice comune, dar tot el afirmă că dezvoltarea maladiilor imune la populațiile adulte, sugerează implicarea factorilor de mediu sau interacțiunile genă-mediu. Pentru confirmarea prezenței bolilor autoimune asociate cu BII la copii, Kappelman, 2010 a inițiat un studiu ce-a avut ca obiectiv: determinarea prevalenței bolilor mediate imun: astm, eczeme, rinită alergică, diabet zaharat, hipotiroidism, lupus și psoriazis la copiii cu CU și BC, în comparație cu lotul de control, constituit din copii aparent sănătoși. Concluzia acestui studiu este că copiii cu BII, în special BC, au un risc crescut pentru afecțiunile mediate imun, confirmând repetat rolul sistemului imun în patogenia BII [Kappelman, 2011]. Asociațiile frecvente au fost cu maladiile reumatice, inclusiv artropatii periferice, asociate cu osteoporoză și fracturi patologice [5], lupus eritematos, și o asocieră minimă cu maladiile autoimune non-reumatice, cum ar fi hipotiroidismul și diabetul zaharat. O corelație nesemnificativă a fost observată pentru asocierea BII și condițiile atopice, ca: astm bronșic, eczeme și rinită alergică, dar s-a evidențiat și lipsa asocierii aparente cu psoriazisul, sugerată de mai multe studii precedente.

Feeney *et al.*, 2002 a demonstrat un risc crescut de circa trei ori pentru eczemă la copii cu BC cu vârstă de până la 10 ani. Mai recent, Van Limbergen *et al.*, 2009 au raportat o prevalență ridicată de fenomene atopice la copii și adolescenți cu BII (25% pentru astm, 29% pentru rinita alergică, 12% pentru alergiile alimentare și 52% pentru orice altă condiție atopică).

Studiul autoanticorpilor anticolon, a imunoglobulinelor s-a efectuat atât seric cât și la sediul procesului inflamator local [8]. Anticorpii anti-citoplasmatici neutrofilici (ANCA) și anticorpii anti-Saccharomyces cerevisiae (ASCA) reprezintă cei mai studiați markeri imunologici în BC și CU. Prevalența ANCA, determinați prin IFI sau imunoenzimatic (ELISA), este de 45-82% în CU și de 2-28% în BC. Prevalența ASCA, determinați prin ELISA, este de 48-69% în BC și 5-15% în RCUH [Reumaux D, Paulain D et al 2003]. Amre et. al, 2004 au examinat anticorpii *anti-Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) și Anticorpii anti-citoplasmatici neutrofilici (ANCA) la momentul stabilirii diagnosticului de BII, într-o cohortă de 139 de pacienți, copii și adolescenți cu BC, pentru a discerne dacă profilurile serologice au fost predictive complicațiilor ulterioare (abces sau fistulă) sau necesitatea ulterioară de intervenție chirurgicală. Valori crescute de ASCA IgA, IgG au fost observate la 48,2 și 53,9%, respectiv. Anticorpii anti-citoplasmatici neutrofilici au fost evidențiați la 21% dintre copii și adolescenții cu BC. Titru semnificativ a anticorpilor anti-Saccharomyces cerevisiae ($P < 0,05$) a crescut riscul de a dezvolta o complicație, dar a fost mai puțin asociat cu intervenția chirurgicală. În mod similar, subiecți cu titruri crescute de ASCA au avut un risc crescut pentru complicații repetate. Un studiu similar prospectiv de Dubinsky *et al.*, 2005 a demonstrat că pacienții cu niveluri crescute de ASCA au avut un risc semnificativ mai mare de complicații (stricturi, perforație). Aceste date similare sugerează că pozitivitatea anticorpilor ASCA conferă un risc crescut pentru dezvoltarea mai frecventă și mai anticipată a complicațiilor, la copii și adolescenții cu BC, iar profilul serologic de acest tip ar putea sprijini medicii în managementul de conduită dietetică, terapeutică

și chirurgicală, precum și în monitorizarea rațională a acestor pacienți, pentru a reduce progresia bolii la pacienții cu risc crescut [Rufo P., 2007], dar totodată ar facilita stratificarea eficientă a pacienților cu BC în studiile farmacologice.

Ca și element de bază în BII, în cadrul imunității umorale, au fost propuse, mai ales în CU un răspuns inflamator cu caracter distructiv îndreptat direct asupra unor antigene proprii, ca de exemplu: mucina, celulele caliciforme, colonocite.

Dermott et al., 1996 susține că sistemul imunitar intestinal normal activează printr-un echilibru dintre moleculele proinflamatorii și antiinflamatorii, astfel reglementând și promovând o capacitate normală de apărare a mucoasei, iar perturbarea acestui echilibru stimulează și activează molecule proinflamatorii, cu distrugerea tisulară. Moleculele stimulative prezente în lumenul intestinal, care activează și induc imunologic evenimentele inflamatorii includ produsele peretelui celular bacterian, cum ar fi peptidoglicanii și lipopolizaharidele, precum și alte substanțe chemotactice și produse toxice bacteriene ce sunt produse de mai multe tipuri de bacterii din tractul gastrointestinal. Aceste produse extrem de stimulative sunt capabile de activarea macrofagelor și a limfocitelor T, pentru a elibera citokine puternic proinflamatorii, inclusiv interleukina-1 (IL-1), interleukina-6 (IL-6) și factorul de necroza tumorală alfa (TNF-alfa). IL-1, IL-6, TNF-alfa și prezența antigenului leucocitar uman (HLA), clasa II prezentatoare de antigen pe suprafețele celulelor epiteliale, celulelor endoteliale, macrofage, sporesc capacitatea acestora de a prezenta antigene intralumenale și produse bacteriene. Citokinele proinflamatorii IL-1 și TNF-alfa de asemenea, cresc capacitatea celulelor epiteliale, celulelor endoteliale, macrofage, fibroblaste de a secreta citokine chemotactice potente, cum ar fi interleukina-8 (IL-8), care determină creșterea migrației macrofagelor și granulocitelor în mucoasa inflamată.

În mod normal, stagnarea cascadei imunologice active și distructive a proceselor inflamatorii ar trebui controlată de către sistemul imunitar al mucoasei intestinale [7]. În BII, reglarea imunologică pare a fi deficitară sau doar parțial eficace. Sub acest aspect, Drosman, 2011, consideră că subînțelegerea immunopatologiei în cadrul BII va permite explorarea noilor abordări genetice și imunologice, cum ar fi terapia de substituție a genelor afectate, administrarea de citokine supresoare, administrarea de anticorpi monoclonali umanizați împotriva citokinelor proinflamatorii.

Dacă, în 1999, Mizouchi A, Mizouchi E, Bham A. sugerau incriminarea limfocitelor tip Th2 ca având un rol proinflamator în CU, păi deja Baumgart D., 2007 afirmă că limfocite Th2, ce produc IL-4, IL-5 și IL-13 sunt implicate în imonopatogenia CU, iar Boden, 2008 raportează despre noul concept descoperit a celulelor TH17, ce produc IL-17. Declanșarea BII este fundamentată pe activitatea mai multor citokine pro- și antiinflamatorii [7].

IL-1 este citokina-semnal care activează un subset specific de limfocite T și este în cantitate excesivă deoarece, este produsă și de macrofage, și de celulele epiteliale, care etalează antigenele HLA clasa a II-a, eliberând semnale accesorii alături de macrofage. Celulele epiteliale mai eliberează IL-6, IL-8 și peptida 1 chemotactică pentru macrofage.

IL-2 are un rol important în patogenia BII, fiind mult crescută în BC și este secretată împreună cu IFN de către limfocitele Th1. IL-2 activează creșterea limfocitelor Tc (citotoxice), B și a celulelor NK (Natural Killer) favorizând astfel liza celulară.

IL-6 este secretată de macrofagele care vizează limfocitele T și B. Este implicată în procesele de fibrogenză și există tot mai multe dovezi că interleukina 6 proinflamatorie joacă un rol crucial în procesul inflamator intestinal necontrolat, care este caracteristic, în special, pentru BII. Studiile recente, efectuate la Laboratorul de Imunologie și Clinica Medicală, de la Universitatea din Mainz, Germania, 2011 au sugerat, de asemenea, un rol potențial al IL-6-sIL-6R în patogenia cancerului de colon și, prin urmare, necesitatea elaborării unei noi strategii terapeutice direcționată spre sIL-6R.

IL-8 este sintetizată și eliberată tot de macrofagele activate și de celulele epiteliale, stimulând mecanismele nonimune care inițiază leziunile inflamatorii. IL-8 este cel mai puternic chemoattractant al neutrofilelor.

IL-10 deține un rol important în imunopatogenia BII, bazat pe multiple cercetări. Un studiu al genomului, efectuat în Europa a identificat mai multe gene de susceptibilitate pentru CU, însă modificări genetice semnificative au fost stabilite în genele responsabile de sistemul imunitar, iar una dintre cele mai importante asociații a fost determinată în regiunea genei interleukinei-10 (IL-10). Într-un studiu publicat, cercetătorii din Canada au raportat rezultatele unui studiu caz-control cu implicarea a 270 copii cu BC și un lot de control de 336 persoane, sugerând că această genă ar putea fi implicată în debutul BII la copii și adolescenți [Melmed, 2009].

Această ipoteză recentă, reafirmă că sistemul imunitar normal este strict reglementat de citokinele pro-inflamatorii și anti-inflamatorii și că copii cu BII, posedă un sistem imunitar intestinal anormal reglementat, manifestându-se prin declanșarea unui răspuns anormal la diverși factori. IL-10 anti-inflamatorie a fost demonstrată în limitarea inflamației intestinale, și că deficitul IL-10 la șoareci dezvoltă spontan colita. Aceste observații au condus în cele din urmă la studiile clinice la om care implică administrarea subcutanată a IL-10. Studiile efectuate sugerează că IL-10 ar putea servi ca țintă terapeutică pentru CU și garantează, de asemenea, reevaluarea atentă cu privire la motivele eșecului terapeutic la adulți cu BC.

IL-12 este podusă în cantitate mare de macrofagele mucoasei lezate în BC și este normală sau scăzută în CU.

IL-15 este o citokină cu un număr mare de activități biologice incluzând stimularea proliferării celulelor T și migrarea la sediul inflamației. Este produsă în cantități crescute în BC, de către limfocitele T din lamina propria.

Date recente demonstrează importanța IL-17 producătoare de celule T (TH17), în inflamația intestinală [Charlie W Lees; Jack Satsangi, 2009].

IFN- γ stimulează sinteza antigenului HLA clasa a II-a, și etalarea sa pe membrana macrofagelor și a celulelor epiteliale împreună cu antigenele luminale. În acest fel se produce o avansare a acțiunii limfocitelor Tc (citotoxice) asupra celulelor epiteliale.

TNF (tumor necrosis factor) are efecte proinflamatorii cu importanță deosebită pentru inflamația intestinală, determinând activarea macrofagelor prin mecanism autocrin. Legarea TNF de suprafața celulară reprezintă semnalul co-stimulator care crește răspunsul imun medial de limfocitele T. TNF împreună cu IL-1 induce expresia moleculelor de adeziune celulară la nivelul endoteliului vascular și de adeziune intercelulară. TNF stimulează producția de metaloproteine care participă direct la injuria tisulară locală. Cele mai multe studii arată că BC este o boală Th1-mediată și activitatea excesivă a celulelor Th1 este crucială (MacDonald T, 2000). Boala Crohn este caracterizată prin creșterea numărului de limfocite T activate din mucoasa intestinală, care secretă IFN- γ . În plus TNF este în mod clar un mediator important în inflamația din BC, lucru dovedit prin utilitatea pe care o poate avea un anticorp anti-TNF în tratamentul afecțiunii.

Bolile inflamatorii intestinale sunt cauzate de un răspuns inflamator persistent în peretele intestinal și prin recidivarea postoperatorie [Bouma G., 2003; Gionchetti P., 2006 ; Baumgart D., 2007; Mizoguchi A., 2008; Cho J., 2008]. Mai mulți cercetători afirmă că rezecția localizată a porțiunii de intestin afectat, în BC recidivează pe un alt segment al tractului digestiv, cu particularități imunopatologice similare celor rezecate, cum ar fi aspect de drum „pavat”. Manifestările extraintestinale, ca colangita primar sclerozantă și piodermita gangrenoasă, se pot dezvolta, în unele cazuri, după rezecția chirurgicală [Metwali A., 2006; Mizoguchi A., 2006]. Aceste două ipoteze-constatări sugerează că celulele T CD4⁺ sunt capabile de reproducerea inflamației intestinale (CD4⁺ de memorie colitogenic celulele T), ele persistă în organism, circulă în mod activ în sângele periferic și sunt implicate în reparația și rezistența la tratament în BII [Boden, 2008]. Celule T CD4⁺ colitogenice de memorie produc o varietate de citokine, și, împreună cu celulele naturale activate de sistemul imunitar, macrofagele și celulele dendritice, produc recăderile frecvente.

Alți autori, sugerează că mucoasa intestinală este expusă la un număr mare de antigeni nepatogeni, de diversă etiologie, iar limfocitele T reglementare (Tregs) posedă un rol major în limitarea inflamației, iar defectele acestora sunt implicate direct în patogeneza BII [Boden, 2008]. Pentru întreținerea auto-toleranței au fost sugerate de multiple date, dar cu toate acestea,

doar recent au fost identificați markerii acestor celule. Ipoteza imunogenezei BII este argumentată și de tratamentul cu imunosupresoare, de „terapia biologică” recomandată și la vârstă fragedă. Hyams et. al, 2006 au examinat datele unui studiu multicentric pediatric cu scopul de-a identifica eficacitatea terapiei cu steroizi într-o cohortă de copii și adolescenți, primar diagnosticați cu CU, dintre care 77 pacienți au primit glucocorticosteroizi, la prima etapă, pe o durată de 1an și 62 copii, au inițiat terapia cu glucocorticosteroizi după 1 lună postdiagnostic, cu evaluarea acestor 2 grupe după 1 an de supraveghere. Din cei 77 pacienți, tratamentul cu glucocorticosteroizi a fost eficient în majoritatea cazurilor, 60% erau în faza de remisie, 33% prezentau forma ușoară până la moderată și doar 1,6% aveau formă severă, necesitând colectomie la 3 luni postdiagnostic. Treizeci și unu din 62 pacienți (50%) au avut răspuns favorabil la tratamentul cu glucocorticosteroizi, fiind anulat la o durată de 6 luni. 28 din 62 (45%) au fost, totuși, dependenți de glucocorticosteroizi pe o durată de 1 an, iar 3 din 62 (5%) a avut necesitate de intervenție chirurgicală (colonectomie). 48% pacienți care au primit steroizi în termen de 3 luni de la diagnostic au primit concomitent imunomodulatoare (6-mercaptopurină sau azatioprină) terapie, iar 10% au primit medicamente imunosupresoare și 13% terapie cu Infliximab [1, 2, 3]. Deși, terapia cu glucocorticosteroizi induce remisiunea cu succes în CU și BC [2], întreținerea remisiunii este mai provocatoare, și necesită suplimentarea unui imunomodulator [3]. Uhlen et. al, 2005 într-un studiu multicentric, a descris experiența clinică cu metotrexat la 61 copii cu BC care nu tolerează sau nu au răspuns la azatioprină. Doza de metotrexat utilizată în acest studiu a fost de 17 mg/m² pe săptămâna. Metotrexatul a indus cu succes remisiunea în 80% cazuri, dintre care 45% dintre pacienți au rămas în remisie după 12 luni de supraveghere, dar 105 pacienți au prezentat reacții adverse necesitând întreruperea tratamentului: creșterea transaminazelor (ASAT, ALAT), greață și imunosupresie, în concluzie autorii expun că metotrexatul poate fi un tratament ineficient la copii cu BII [1].

Agenții imunomodulatori blochează proliferarea, activarea și mecanismele efectorii ale limfocitelor, cei mai comuni fiind tiopurinele, 6-mercaptopurina și prodrogul ei, azatioprina.

Primul agent biologic (1998) introdus în tratamentul BII a fost Infliximabul, care este un anticorp monoclonal himeric, împotriva TNF-solubil și transmembranar. Infliximabul este aprobat pentru terapia de inducție a BC forma: intraluminală, fistulizantă, la pacienții corticodependenți sau neresponsivi la tratamentul standard. Este folosit în doze de 5 mg/kgc/iv, iar inducția cu 3 doze (0, 2, 6 săptămâni) este superioară administrării unei singure doze, iar menținerea remisiunii clinice poate fi obținută prin administrarea la fiecare 8 săptămâni. Trialurile ACCENT1 și ACCENT2 au demonstrat eficacitatea medicamentului, profilul de siguranță și dozajul optim, precum și schema de administrare [3].

Iar din 23 septembrie 2011 - *US Food and Drug Administration* (FDA) a aprobat Infliximabul (*Remicade*, Janssen Biotech) pentru a trata forma moderată și severă a CU, la copii mai mari de 6 ani care nu răspund inadecvat la terapia convențională.

Introducerea terapiilor biologice, în mod particular folosirea agenților anti-TNF- (influximab, analimumab, certolizumab pegol) a ameliorat tratamentul BII, demonstrându-și eficacitatea în inducerea și menținerea remisiunii. Totuși, agenții biologici sunt încă utilizați cu rezerve, dat fiind costul ridicat și incertitudinea în ceea ce privește siguranța pe termen lung a acestora. O întrebare importantă pentru medici este cea referitoare la alegerea momentului oportun în evoluția bolii pentru administrarea terapiilor biologice [Richart E., 2008].

Analizând cercetările efectuate putem presupune că odată cu introducerea agenților biologici în tratamentul BII, istoria naturală a acestor afecțiuni s-a schimbat radical. Agentul biologic ideal trebuie să intervină precoce în cascada inflamatorie din BII, să fie selectiv, fără să crească morbiditatea și mortalitatea, să nu fie imunogenic și să asigure răspuns susținut în timp. Concret, agenții biologici în BII induc și mențin remisiunea, administrarea lor oferind posibilitatea diminuării dozelor de steroizi, ameliorând până la vindecare fistulele perianale, și nu în ultimul rând, prin toate aceste efecte benefice, avansează calitatea vieții pacientului.

Concluzie

Rezumând asupra celor relatate de literatura de domeniu asupra BII se poate consemna, că pe lângă progresele care s-au realizat la acest capitol bolile inflamatorii intestinale, în special pentru pediatri, rămân încă o provocare nu doar terapeutică, dar în mare măsură și de imunopatogenie, pentru a putea optimiza schemele terapeutice. Studiul acestora ca și descifrarea mecanismelor producerii dezechilibrului imun pot constitui cheile descifrării particularităților clinico-evolutive și aprecierea pronosticului acestor pacienți.

Bibliografie

1. Alfadhli AA, McDonald JW, Feagan BG. Methotrexate for induction of remission in refractory Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev.* 2005;CD003459.
2. Borrelli O, Cordischi L, Cirulli M, et al. Polymeric diet alone versus corticosteroids in the treatment of active pediatric Crohn's disease: a randomized controlled open-label trial. *Clin Gastroenterol Hepatol.* Jun 2006;4(6):744-53.
3. Hyams J, Crandall W, Kugathasan S, et al. Induction and maintenance infliximab therapy for the treatment of moderate-to-severe Crohn's disease in children. *Gastroenterology.* Mar 2007;132(3):863-73; quiz 1165-6.
4. Kappelman MD, Galanko JA, Porter CQ, Sandler RS. Association of paediatric inflammatory bowel disease with other immune-mediated diseases. *Arch Dis Child.* 2011 Nov;96(11):1042-6. Epub 2011 Sep 7.
5. Kappelman MD, Galanko JA, Porter CQ, Sandler RS. Risk of diagnosed fractures in children with inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis.* 2011 May;17(5):1125-30. doi: 10.1002/ibd.21472. Epub 2010 Sep 24.
6. Kugathasan S, Judd RH, Hoffmann RG, et al. Epidemiologic and clinical characteristics of children with newly diagnosed inflammatory bowel disease in Wisconsin: a statewide population-based study. *J Pediatr.* Oct 2003;143(4):525-31.
7. Sartor RB – Cytokines in intestinal inflammation. Pathophysiological and clinical considerations. *Gastroenterology*, 1994, 106, 533.
8. Zholudev A, Zurakowski D, Young W, Leichtner A, Bousvaros A. Serologic testing with ANCA, ASCA, and anti-OmpC in children and young adults with Crohn's disease and ulcerative colitis: diagnostic value and correlation with disease phenotype. *Am J Gastroenterol.* Nov 2004;99(11):2235-41.
9. Zhonghui Wen. Inflammatory Bowel Disease: Autoimmune or Immune-mediated Pathogenesis? *Clinical and Developmental Immunology.* Volume 11 (2004), Issue 3-4, Pages 195-204.