

بررسی CD4+ به CD8+ در مخاط کولون بیماران مبتلا به سندرم روده تحریک پذیر و بیماریهای التهابی روده

علی قوی دل: گروه داخلی، بیمارستان امام رضا(ع)، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
محمد حسین صومی: گروه داخلی، بیمارستان امام رضا(ع)، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
زین العابدین ابراهیم زاده: دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران، نویسنده رابط:

Email: dr.z.ebrahimzadeh@gmail.com

منیره حلیمی: بخش پاتولوژی، بیمارستان امام رضا(ع)، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
علی تبریزی: دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

دریافت: ۹۰/۵/۲۲ پذیرش: ۹۰/۶/۲۲

چکیده

زمینه و اهداف: کولیت اولسراتیو و بیماری کرون از بیماری های تحت تاثیر اختلالات ایمنی روده هستند. سندرم روده تحریک پذیر یک بیماری عملکردی چند فاکتوری است. سر نخ بسیاری از شواهد این فرضیه را که فرآیند التهاب مخاطی درجه پایین ممکن است نقش مهمی را در پاتوژنز بیماران سندرم روده تحریک پذیر ایفاء کند حمایت می کند. هدف از این مطالعه بررسی انفیلتراسیون سلول های T و شمارش دو فنوتیپ مهم (CD4+ و CD8+) در نمونه بیوپسی مخاط بیماران IBS (Irritable Bowel Syndrome)، IBD (Inflammatory Bowel Disease) و مقایسه با افراد سالم داوطلب است.

مواد و روش ها: در یک مطالعه توصیفی تحلیلی، ۸۳ بیمار شامل ۳۵ بیمار کولیت اولسراتیو و ۴۸ بیمار سندرم روده تحریک پذیر با ۳۷ فرد سالم داوطلب مورد مقایسه قرار گرفتند. نمونه های بافتی از طریق بیوپسی کولون در طی کولونوسکوپی بدست آمد و به روش های هیستولوژیکی و ایمونوهیستوشیمیایی مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته: ۳۷ داوطلب سالم و ۳۵ بیمار کولیت اولسراتیو با ۴۸ بیمار IBS مورد مطالعه قرار گرفتند. بر اساس سن و جنس تفاوت آماری معنی داری بین سه گروه وجود نداشت و آنها با یکدیگر همسان بودند. شمارش سلول های T شامل CD4+ و CD8+ در بیماران سندرم روده تحریک پذیر مشابه افراد سالم داوطلب بود و نسبت آنها تفاوتی را با یکدیگر نداشت ولی شمارش سلول های CD4+ T و نسبت CD4+/CD8+ به طور معنی داری نسبت به افراد سالم در بیماران کولیت اولسراتیو بیشتر بوده ($P < 0.001$). شمارش CD8+ در مقایسه با سندرم روده تحریک پذیر و افراد سالم پایین تر بود ($P < 0.001$).

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که انفیلتراسیون سلول های CD4+ T و CD8+ نقش مهمی را در اختلال ایمنی مخاطی بیماران سندرم روده تحریک پذیر ندارد و نیاز به ارزیابی سایر فنوتیپ های سلول های T یا مدیاتورهای ایمنی در مطالعات آینده است.

کلید واژه ها: بیماری های التهابی روده، سندرم روده تحریک پذیر، ایمنی مخاطی

مقدمه

پاتوفیزیولوژی سندرم روده تحریک پذیر، ساخت و تولید دارویی در این بیماری کم بوده است. در مکانیسم های این بیماری تغییر حرکات روده و افزایش درک احشایی بیماران ذکر شده است که به نظر نمی رسد این فاکتورهای

سندرم روده تحریک پذیر (IBS) یک بیماری عملکردی چند فاکتوری است که یکی از شایعترین بیماری های دستگاه گوارشی در مراجعه کنندگان به درمانگاه های تخصصی گوارش است (۱). به دلیل پیچیدگی و شناخت کم

فیزیولوژیکی مشارکت چندانی در پاتوژنز این بیماری داشته باشد، به همین دلیل بر اساس نظریه های جدید عفونت، عوامل ایمنی مخاطی و ژنتیک در پاتوژنز این بیماری مطرح شده است (۲۳). سندرم روده تحریک پذیر IBS با درد و ناراحتی شکم و تغییر اجابت مزاج تظاهر پیدا می کند و ۹ تا ۱۳٪ افراد نرمال جامعه در دوره ای از زمان زندگی آنرا تجربه می کنند و ۲۰ تا ۳۰٪ از بیماران مبتلا به IBS شروع حاد و ناراحتی روده ای را به دنبال عفونت های روده ای حاد ذکر می کنند (۴۵). بر اساس نظریه های جدید، متابولیسم سروتونین و مشارکت عوامل ژنتیکی در پاتوفیزیولوژی این بیماری که تغییرات عملکردی روده ای را در بر دارد مطرح می کنند و برخی از محققین از علل دیگر موثر در پاتوفیزیولوژی این بیماری عفونت و عوامل ایمنی را نیز مطرح می دانند (۳).

بیماری های التهابی روده (IBD)، جزء بیماری های مزمن و پیچیده ای است که شامل دو بیماری کولیت اولسراتیو و بیماری کرون می باشد و از بیماری های متأثر از سیستم ایمنی تلقی می شوند. با این حال اتیولوژی دقیق آن شناخته شده نیست و مطالعات اولیه نشان دهنده افزایش اینفیلتراسیون عوامل التهابی در مخاط روده این بیماران است (۴۵). در مورد نقش احتمالی سیستم ایمنی هومورال و آنتی بادیها، در این بیماریها مطالعات زیادی انجام شده است (۶) اما در مورد نقش وضعیت ایمنی سلولی در بیماریهای عملکردی گوارش مطالعات زیادی منتشر نشده است در مورد نقش وضعیت لنفوسیت های T نوع CD4⁺ و CD8⁺ در مخاط کولون بنظر می رسد که پاسخهای مربوط به CD4⁺ T cell و CD8⁺ در این بیماران دو اثر متضاد داشته باشند: از یک طرف ممکن است این پاسخ عمدتاً از طریق کمک به لنفوسیت های B سل برای تولید آنتی بادیهای خنثی کننده جهت حفاظت بافت در برابر اورگانیزم ها ضروری باشند و از طریق دیگر ممکن است از طریق ایجاد واکنش های التهابی جهت محدود کردن عفونت باعث ایجاد صدمه بافتی شوند (۷) جای مطالعه در مورد وضعیت سلولهای لنفوسیت T نوع CD4⁺ و CD8⁺ بعنوان نماینده عمده ای از ایمنی سلولی در بافت کولون مبتلایان به IBS و IBD خالی بنظر می رسد. لذا هدف از این مطالعه بررسی وضعیت کمی سلولهای لنفوسیتی T نوع CD4⁺ و CD8⁺ و نیز نسبت آنها را به عنوان مارکری از سیستم ایمنی بخصوص نوع سلولی در مخاط کولون بیماران مبتلا به IBS و IBD است و آن را با همین یافته ها در مخاط کولون دواطلبین سالم بدون شکایت مقایسه کردیم.

مواد و روش ها

در یک مطالعه توصیفی- تحلیلی در مرکز آموزشی و درمانی امام رضا (ع) دانشگاه علوم پزشکی تبریز و در گروه

آموزشی بیماری های داخلی و بخش گوارش این مرکز در سال ۱۳۸۹، نمونه مورد مطالعه شامل بیوپسی آندوسکوپیک مخاط کولون بود که در گروه مورد (case) از افراد مبتلا به IBS و IBD در طی آندوسکوپی ضروری جهت کنار گذاشتن علل قابل تشخیص، بدست می آمد. نمونه بیوپسی در گروه شاهد از افراد سالم بدون شکایات گوارشی که جهت بررسی علل غیرگوارشی مورد کولونوسکوپی قرار می گرفتند (مثل اسکرین از نظر بدخیمی ها، بررسی منشاء آنمی) اخذ می شد که در نهایت ۳۷ فرد سالم در گروه کنترل وارد شدند و مورد بررسی و مقایسه با افراد بیمار در دو گروه دیگر قرار گرفتند. افراد گروه شاهد و مورد از نظر سن، جنس و عدم مصرف داروهای تغییر دهنده سیستم ایمنی با یکدیگر همسان سازی می شوند. معیارهای خروج از این مطالعه عبارت بودند از: بیمارانی که سابقه بیماری عفونی در ۲ ماه اخیر را داشته اند؛ بیمارانی که رضایت جهت شرکت در مطالعه را نداشتند.

در بیماران مبتلا به IBS و IBD که سونوگرافی کامل شکم و لگن طبیعی و آندوسکوپی طبیعی دارند و در نمونه بیوپسی آنان میکروارگانیزم خاص یافت نمی شود، نمونه بیوپسی جهت شمارش سلولهای CD4⁺ T cell، CD8⁺ به عمل آمد و در نهایت توسط یکی از اساتید محترم پاتولوژی مورد بررسی پاتولوژیک قرار گرفت. لامهای مورد نیاز جهت بررسی پاتولوژیکی و ایمونوهیستوشیمیایی (IHC) به ترتیب با روش تهیه برش های ۴ میکرونی، دهیدراتاسیون از طریق قرار دادن در فور C ۳۷' به مدت یک شب، قراردادن در بافرسیترات در دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس، افزودن محلول پراکسید هیدروژن ۳ درصد، افزودن آنتی بادی اولیه CD4⁺، CD8⁺ محلول Envision، استفاده از کرومورژن، همتوکسیلین و دهیدراتاسیون (لامها) تهیه شدند. حدود ۳۰ نفر از افراد سالم بدون شکایت گوارشی که بدلیل بررسی مختلف تحت کولونوسکوپی قرار می گرفتند نیز دقیقاً همین بررسی توسط همان پاتولوژیست مورد بررسی بافت شناسی قرار گرفت. افراد گروه شاهد با افراد گروه مورد از نظر سن، جنس و عدم مصرف داروهای تحریک کننده یا سرکوب کننده ایمنی همسان انتخاب می شدند. پس از تعیین وضعیت کمی سلولهای مذکور در دو گروه اطلاعات حاصله پس از پردازش های آماری با یکدیگر مقایسه گردیده و نتیجه نهایی اخذ گردید.

بررسی آماری:

داده های بدست آمده از مطالعه بوسیله روش های آماری توصیفی (فراوانی-درصد و میانگین±انحراف معیار) برای بررسی توصیفی داده ها و برای مقایسه شمارش لنفوسیتی بین سه گروه مورد مطالعه از آزمون آماری تحلیل واریانس ها استفاده شد و بعد از آن از آزمون آماری تعقیبی مناسب برای مقایسه دو به دو گروه ها کمک گرفته شد. برای تجزیه و

شناخته شده نیست ولی بر اساس شواهد بالینی و آزمایشات تجربی در بروز این التهابات عوامل مختلفی همچون ژنتیک، سیستم ایمنی مخاطی و فاکتورهای محیطی دخیل هستند (۸) در مطالعات انجام شده در بیماران IBD نشان داده شده که با بیان بیشتر عوامل عرضه کننده آنتی ژنی کلاس II در سلول های اپی تلیالی و انتروسیست ها منجر به تجمع لنفوسیتی T در این بیماران می شود (۹، ۱۰). به طوری که در مطالعه Mayer تجمع بالایی از لنفوسیت های T با فنوتیپ CD4+ در ۱۰۰٪ بیماران کرونی و ۳۵ مورد از ۳۸ بیماران کولیت اولسراتیو وجود داشته است ولی تجمع فنوتیپ CD8+ در افراد بیمار تفاوتی را با افراد سالم نداشته است (۱۱). در مطالعه Caballero و همکاران همانند بسیاری از مطالعات انجام شده در مورد بیماران IBD نشان داده شده که فنوتیپ CD4+ در لامینا پروپریا و موکوس روده ای دارای تجمع معنی داری نسبت به افراد سالم در گروه کنترل بوده است ولی در این مطالعه تجمع CD8+ بین افراد سالم و بیماران تفاوتی نداشته و حتی در مواردی کمتر بوده است (۱۲).

در مطالعات تجمع لنفوسیتی در نمونه های بافتی کولون سیگموئید و رکتوم بدست می آید. در مطالعه Caballero اشاره شده که تجمع لنفوسیتی در این محل نیز با یکدیگر تفاوت دارد و احتمالاً به دلیل نزدیک بودن رکتوم به محیط خارج و تحریک آنتی ژنی بیشتر در این منطقه رخ می دهد (۱۲).

بسیاری از سلول های لنفوسیتی همانند فنوتیپ CD8+ می توانند به عنوان لنفوسیت های سرکوبگر عمل کنند و بالا بودن شمارش فنوتیپ های CD8+ در نمونه های بافتی رکتوم بیماران کرونی دلیلی بر این امر است چرا که شیوع ضایعات مخاطی این بیماران در این محل بسیار کم است و این در حالی است که در کولیت اولسراتیو به مقدار فراوانی درگیری در این منطقه وجود دارد و تجمع لنفوسیتی زیر گروه CD8+ نیز در این افراد کمتر از افراد سالم در گروه کنترل است. شمارش CD8+ در رکتوم بیماران کرونی در این مطالعه $23/9 \pm 7/4$ سلول در mm^2 بوده ولی در کولون $12/5 \pm 2/5$ سلول در هر میلی متر مربع وجود داشته است و غالب بودن با فنوتیپ CD4+ بوده است (۱۲).

در مطالعه ما نیز همانند سایر مطالعات قبلی تجمع لنفوسیتی بخصوص زیر گروه CD4+ در بیماران IBD بیشتر بوده است و تفاوت آماری معنی داری داشته است و نشان دهنده نقش اساسی اختلال سیستم ایمنی مخاطی در بروز بیماری بوده است و همانند مطالعه Carballero (۱۲)، تجمع فنوتیپی CD8+ در بیماران کولیت اولسراتیو نسبت به افراد سالم در گروه کنترل سالم کمتر بوده و این کاهش تفاوت معنی داری داشته است که می تواند نقش متضاد این دو فنوتیپ را برساند. نسبت تجمع لنفوسیتی در مطالعه ما تفاوت آماری بین

تحلیل متغیر کیفی جنس از آزمون آماری بررسی فراوانی ها آزمون Tukey با استفاده از نرم افزار SPSS.17 استفاده شده است. در این مطالعه مقدار P کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شده است.

یافته ها

در این مطالعه ۱۲۰ نمونه با میانگین سنی $40/6 \pm 17/5$ سال (حداقل ۱۵ و حداکثر ۸۹ سال) مورد بررسی قرار گرفته است. از کل افراد مورد مطالعه ۵۳ مورد (۴۴/۲٪) مرد و ۶۷ مورد (۵۵/۷٪) زن بوده است. در این مطالعه ۳۷ فرد سالم در گروه کنترل با ۴۸ بیمار مبتلا به IBS و ۳۵ بیمار مبتلا به IBD مورد مقایسه قرار گرفته است.

تعداد لنفوسیت های شمارش شده از نوع CD4+ با مقدار $P < 0/001$ بین سه گروه بر اساس جدول شماره ۱ تفاوت آماری معنی داری داشته است. در بررسی بین گروهی بر اساس آزمون تعقیبی مورد استفاده، تفاوت آماری بین دو گروه بیماران مبتلا به کولیت اولسراتیو با بیماران مبتلا به IBS و افراد سالم بوده است ($P = 0/001$) و بین افراد سالم و بیماران مبتلا به IBS تفاوتی از نظر شمارش لنفوسیت های زیرگروه CD4+ وجود نداشته است ($P = 0/1$). همچنین در شمارش لنفوسیت های CD8+ با $P < 0/001$ تفاوت آماری معنی داری بین درصد شمارش بین این سه گروه مشاهده شد. در بررسی بین گروهی، تفاوت آماری معنی داری بین بیماران مبتلا به کولیت اولسراتیو با افراد سالم و بیماران مبتلا به IBS وجود داشته است ($P = 0/001$). ولی بین افراد سالم و افراد مبتلا به IBS تفاوت چندانی در شمارش لنفوسیتی زیر گروه CD8+ وجود نداشته است. در نسبت شمارش لنفوسیتی CD4+ به CD8+ تفاوت معنی داری بین افراد سالم و بیماران مبتلا به IBS با بیماران مبتلا به کولیت اولسراتیو مشاهده شد ($P < 0/001$) ولی بین افراد سالم و بیماران مبتلا به IBS تفاوتی از نظر این نسبت وجود نداشته است.

جدول شماره ۱: مقایسه شمارش لنفوسیت ها بین گروه ها

گروه	CD4	CD8	CD4/CD8	P
افراد سالم	$3/37 \pm 2/3$	$3/22 \pm 2/2$	$1/4 \pm 1/3$	$< 0/001$
سندرم روده تحریک پذیر	$3/33 \pm 2/2$	$3/11 \pm 2/2$	$1/3 \pm 0/6$	$< 0/001$
کولیت اولسراتیو	$6/52 \pm 2/8$	$2/31 \pm 1/6$	$6/2 \pm 2/3$	$< 0/001$

بحث

بیماری های التهابی روده (IBD) که شامل دو زیرمجموعه بیماری کرون و کولیت اولسراتیو می باشد از بیماری های مزمن التهابی ایدیوپاتیک روده ای بوده که بیماران اغلب از خونریزی رکتال، اسهال شدید، درد شکم، تب و کاهش وزن رنج می برند (۸). اگر چه اتیولوژی IBD به طور کامل

با بیماران IBS مشاهده نشده است. ولی در CD3+ و در ماست سل ها تفاوت وجود داشته است (۲۳). مشابه چند مطالعه قبلی با توجه به کم بودن مطالعات انجام شده در بیماران IBS از نظر ارتباط بیماری با ایمنی مخاطی، از این مطالعات برای مقایسه استفاده شده است. در مطالعه ما نیز شمارش لنفوسیتی فنوتیپ های CD4+ و CD8+ و نسبت آنها در بیماران مبتلا به IBS و افراد سالم در گروه کنترل تفاوتی را نداشته است. به نظر می رسد که سایر فنوتیپ های لنفوسیتی T در بیماران IBS بر خلاف بیماران IBD دخیل باشد و نقش ایمنی همورال نیز پر رنگ تر است چرا که مدیاتورهای محلول التهابی بر خلاف بیماری های التهابی روده بیشتر تولید می شود. با این حال نیاز به مطالعات هیستوپوشیمیایی بیشتری در این بیماران برای روشن شدن نقش دقیق عملکردی سیستم ایمنی در آینده است.

نتیجه گیری

بر اساس نتایج این مطالعه، شمارش فنوتیپ های CD4+ و CD8+ در بیماران مبتلا به سندرم روده تحریک پذیر تفاوتی با افراد سالم ندارد و به نظر می رسد سایر لنفوسیت های T در این بیماران نقش داشته باشند. در بیماران مبتلا به بیماری های التهابی روده همانند سایر گزارشات پزشکی تجمع لنفوسیتی CD4+ در این بیماران غالب بوده و تعداد لنفوسیت های CD8+ در این بیماران نسبت به افراد سالم کمتر است.

تقدیر و تشکر

این مطالعه با حمایت های مرکز تحقیقات دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی انجام شده است. ضمناً مقاله حاضر استنتاج شده از پایان نامه دوره دستیاری ارتوپدی، مصوب دانشگاه علوم پزشکی تبریز می باشد.

افراد سالم با بیماران کولیت اولسراتیو داشته که این نسبت بالا به دلیل بیشتر بودن شمارش لنفوسیتی CD4+ در این بیماران نسبت به فنوتیپ CD8+ قابل انتظار بوده است. چنین یافته هایی در مطالعات قبلی نیز بدست آمده است و از این نظر هم خوانی کامل بین یافته های ما با سایر مطالعات قبلی وجود دارد (۱۲ و ۱۱).

بسیاری از شواهد حمایت کننده فرضیه وجود فرآیند التهابی مخاطی با درجه پایین در بیماران مبتلا به سندرم روده تحریک پذیر می باشد که شیوع بالای عوارض شبیه IBS بعد از دوره بهبودی بیماران IBD (۱۳ و ۱۴)، پیشرفت و بروز علائم IBS بعد از یک دوره عفونت حاد دستگاه گوارشی (۱۵ و ۱۶) و افزایش شمار سلول های التهابی همانند ماست سل ها، لنفوسیت های T و ماکروفاژها در کولون و مخاط ایلئوم بیماران IBS یافت شده است (۲۰-۱۷). سلول های التهابی در مخاط روده ای بیماران IBS فعال شده و باعث ترشح شمار زیادی از مدیاتورها شامل اینترلوکین ها، نیتریک اکسید، هیستامین و پروتازها می شوند (۲۱).

این مدیاتورها بر روی عملکرد عصبی اینتریک روده ای اثر کرده و باعث فعال شدن غیر نرمال secretor-motor در روده می شوند که منجر به تغییر عملکرد روده ای می گردد (۲۱). همچنین استفاده از داروی Mezalazin در مطالعه Cornialdesi در سال ۲۰۰۹ با کاهش دادن ایمنی مخاطی باعث بهبودی بیماران IBS شده است ولی این دارو بر روی شمارش لنفوسیتی فنوتیپ های CD8+ و CD4+ اثر معنی داری نداشته است؛ با وجود این، در شمارش کل لنفوسیتی اثر معنی داری را کرده بود که احتمالاً بر روی سایر فنوتیپ های لنفوسیتی اثر می کند همچنین در این مطالعه ماست سل ها در هنگام مصرف این دارو کاهش معنی داری را نسبت به افراد گروه کنترل تحت درمان با دارونما را داشته اند (۲۲). در مطالعه Sun Kim و همکاران در سال ۲۰۱۰ بر روی بیماران مبتلا به IBS در مقایسه با افراد گروه کنترل تفاوتی از نظر شمارش لنفوسیتی فنوتیپ CD8+ بین افراد گروه کنترل سالم

References

1. Thompson WG, Longstreth GF, Drossman DA, Heaton KW, Irvine EJ, Muller-Lissner SA. Functional bowel disorders and functional abdominal pain. *Gut* 1999; 45(4): 43-47.
2. Camilleri M, Ford MJ. Colonic sensorimotor physiology in health, and its alteration in constipation and diarrhoeal disorders [Review article]. *Aliment Pharmacol Ther* 1998; 12(3): 287-302.
3. Barbra G, De Giorgio R, Stanghellini V. New pathophysiological mechanisms in irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20(2): 1-9.
4. Heaton KW, O'Donnell LD, Braddon FM. Symptoms of irritable bowel syndrome in a British urban community: Consultants and no consultants. *Gastroenterology* 1992; 102(6): 1962-1967.
5. Harvey RF, Maudad EC, Brown AM. Prognosis in the irritable bowel syndrome: a 5 year prospective study. *Lancet* 1987; 1: 963-965.

6. Iris Dotan, Matthieu Allez, Atsushi Nakazawa. Intestinal epithelial cells from inflammatory bowel disease patients preferentially stimulate CD4⁺ T Cells to proliferate and secrete interferon- γ . *AM J physiology gastrointest* 2007; **292**(4): 630-640.
7. Holmen N, Isaksson M. CD4⁺ CD25⁺ regulatory T Cell in irritable bowel syndrome patients. *Neurogastroenterol Motil* 2007; **19**(5): 119-125.
8. Iurii Kobozev, Fridrik Karlsson, Matthew B. Grisham. Gut-associated lymphoid tissue, T cell trafficking, and chronic intestinal inflammation. *Ann N Y Acad Sci* 2010; **120**(7): 86-93.
9. Damle NK, Engleman EG. Immunoregulatory T cell circuits in man. Alloantigen-primed inducer T cells activate alloantigen-specific suppressor T cells in the absence of the initial antigenic signal. *J Exp Med* 1983; **158**(6): 159-173.
10. Scott MG, Nahm MH, Macke K, Nash GS, Bertovich M. Spontaneous secretion of Ig subclasses by intestinal mononuclear cells: differences between ulcerative colitis, Crohn's disease, and controls. *Clin Exp Immunol* 1986; **66**(4): 209-215.
11. Mayer L, Eisenhardt D, Salom Pon, Bauer W, Plous R, Piccininni L. Expression of class II molecules on intestinal epithelial cells in man: differences between normal and inflammatory bowel disease. *J Clin Invest* 1990; **86**(7): 1255-1260.
12. Caballero T, Nogueras F, Medina MT. Intraepithelial and lamina propria leucocyte subsets in inflammatory bowel disease: an immunohistochemical study of colon and rectal biopsy specimens. *J Clin Pathol* 1995; **48**(2): 743-748.
13. Isgar B, Harman M, Kaye MD, Whorwell PJ. Symptoms of irritable bowel syndrome in ulcerative colitis in remission. *Gut* 1983; **24**(3): 190-192.
14. Simren M, Axelsson J, Gillberg R, Abrahamsson H, Svedlund J, Bjornsson ES. Quality of life in inflammatory bowel disease in transmission: the impact of IBS-like symptoms and associated psychological factors. *Am J Gastroenterol* 2002; **97**(8): 389-396.
15. Gwee KA, Graham JC, McKendrick MW. Psychometric scores and persistence of irritable bowel after infectious diarrhoea. *Lancet* 1996; **347**: 150-153.
16. Spiller RC. Post infectious irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2003; **124**: 1662-1671.
17. Spiller RC, Jenkins D, Thornley JP. Increased rectal mucosal enteroendocrine cells, T lymphocytes, and increased gut permeability following acute Campylobacter enteritis and in post-dysenteric irritable bowel syndrome. *Gut* 2000; **47**: 804-811.
18. Dunlop SP, Jenkins D, Neal KR, Spiller RC. Relative importance of enterochromaffin cell hyperplasia, anxiety, and depression in postinfectious IBS. *Gastroenterology* 2003; **125**: 1651-1659.
19. Chadwick VS, Chen W, Shu D. Activation of the mucosal immune system in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2002; **122**: 1778-1783.
20. Dunlop SP, Jenkins D, Spiller RC. Distinctive clinical, psychological, and histological features of post infective irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 2003; **98**: 1578-1583.
21. Barbara G, Stanghellini V, De Giorgio R. Activated mast cells in proximity to colonic nerves correlate with abdominal pain in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2004; **126**: 693-702.
22. Corinaldesi R, Stanghellini V, Cremon C, Gargano L. Effect of mesalazine on mucosal immune biomarkers in irritable bowel syndrome: a randomized controlled proof-of-concept study. *Aliment Pharmacol Ther* 2009; **30**: 245-252.
23. Hee Sun Kim, Jung Hyun Lim, Hyojin Park, Sang In Lee. Increased Immunoendocrine Cells in Intestinal Mucosa of Postinfectious Irritable Bowel Syndrome Patients 3 Years after Acute Shigella Infection An Observation in a Small Case Control Study. *Yonsei Med J* 2010; **51**(1): 45-51.