**Оригінальні дослідження**
Original Researches

ГАСТРОЕНТЕРОЛОГІЯ
GASTROENTEROLOGY

**Патологія печінки і жовчовивідної системи** / Pathology of Liver and Biliary Excretion System

*УДК [612.017+612.33]-616.36-006.327* *DOI: https://doi.org/10.22141/2308-2097.55.1.2021.229433*

*Діденко В.І., Татарчук О.М., Зигало Е.В., Коненко І.С., Ягмур В.Б.*
*ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України», м. Дніпро, Україна*

# Взаємний вплив стану клітинної ланки імунітету, цитокінової регуляції та порушень кишкової мікробіоти на процеси фіброзування при хронічних дифузних захворюваннях печінки

For citation: Gastroenterologìa. 2021;55(1):26-31. doi: 10.22141/2308-2097.55.1.2021.229433

**Резюме.** ***Актуальність.*** *Відомо, що порушення кишкової мікробіоти у хворих на хронічні дифузні захворювання печінки (ХДЗП) пов'язані з дисрегуляцією імунної системи. При цьому виникає питання, що є первинним: або процес починається з порушення кишкової мікробіоти, що веде до імунорегуляторного дисбалансу, з подальшим фіброзуванням печінки, або порушення кишкового біоценозу є наслідком несприятливого впливу на організм існуючого патологічного стану, внаслідок чого знижуються функції імунної системи.* ***Метою*** *роботи стало визначення стану клітинної ланки імунітету та цитокінової регуляції організму у хворих на ХДЗП при формуванні та прогресуванні фіброзу печінки залежно від особливостей мікробіозу кишечника.* ***Матеріали та методи****. Обстежено 76 хворих на ХДЗП. Усім хворим проводили водневий дихальний тест (ВДТ), зсувнохвильову еластографію та виконували дослідження параметрів жорсткості печінки на апараті FibroScan, за показниками яких були сформовані групи залежно від наявності синдрому надлишкового бактеріального росту (СНБР) у тонкому кишечнику при формуванні та прогресуванні фіброзу печінки. Субпопуляційний склад лімфоцитів визначали за допомогою моноклональних антитіл фірми «Сорбент ТМ» до молекул CD4, CD8. Рівень ІЛ-6, ІЛ-10, TNF-α в сироватці крові визначали імуноферментним методом (ELISA) наборами реактивів фірми «Вектор-БЕСТ».* ***Результати.*** *Підвищений рівень прозапальних цитокінів (ІЛ-6 та TNF-α) у крові хворих на ХДЗП із наявністю СНБР не індукує секрецію протизапальних цитокінів (ІЛ-10), що призводить до підтримки запального процесу та прогресування фіброзу печінки залежно від порушень кишкового біоценозу за виявленими кореляціями між показниками жорсткості печінки та рівнем водню за даними ВДТ ($r = 0,79$; $p < 0,001$). У хворих на ХДЗП порушення клітинної ланки імунітету пов'язане з порушенням мікробіоти кишечника, про що свідчать кореляційні зв'язки з рівнем водню (ppm): CD8+ ($r = –0,439$, $p < 0,05$) та CD4/CD8 ($r = +0,492$, $p < 0,05$).* ***Висновки.*** *Таким чином, етіологічний чинник викликає запальний процес через порушені імунорегуляторні механізми, що сприяє процесам фіброзування та порушенню кишкової мікробіоти.*

**Ключові слова:** *імунорегуляція; запальний процес; фіброз печінки; кишкова мікробіота; синдром надмірного бактеріального росту; прозапальні та протизапальні цитокіни; хронічні дифузні захворювання печінки*

## Вступ

Хронічні дифузні захворювання печінки (ХДЗП) набувають все більшого поширення у світі, тому питання гальмування запальних і фібротичних процесів, профілактика розвитку ускладнень не втрачають актуальності та потребують продовження вивчення [1]. До етіологічних факторів ХДЗП відносять хронічний вірусний гепатит, захворювання біліарного тракту, зловживання алкоголем, токсичні фактори, зокрема вживання лікарських засобів. Незважаючи на різну етіологію захворювань печінки, патогенетичні механізми можуть бути однаковими (стеатоз, запалення, фіброз, цироз) [2].

Серед усіх ХДЗП перше місце посідає неалкогольна жирова хвороба печінки (НАЖХП), яку діагностують майже в половини дорослого населення, з них у 25–30 % є небезпека прогресування до неалкогольного

© 2021. The Authors. This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License, CC BY, which allows others to freely distribute the published article, with the obligatory reference to the authors of original works and original publication in this journal.

Для кореспонденції: Татарчук О.М., ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України», пр. Слобожанський, 96, м. Дніпро, 49074, Україна; e-mail: gastro@amnu.gov.ua; тел. +38 (056) 756 44 40
For correspondence: Tatarchuk O.M., SI «Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Slobozhanskii ave., 96, Dnipro, 49074, Ukraine; e-mail: gastro@amnu.gov.ua; contact phone: +38 (056) 756 44 40
**Full list of authors information is available at the end of the article.**

стеатогепатиту (НАСГ). Головну роль у прогресуванні НАЖХП відіграють надмірна маса тіла, резистентність тканин до інсуліну, активація перекисного окиснення ліпідів у печінці, гіперпродукція прозапальних цитокінів, генетична схильність та особливості дієти [1–3].

У відповідь на вплив алкоголю і його метаболітів вивільняється цілий каскад цитокінів, які запускають процеси запалення, фіброгенезу, що призводить до надмірного накопичення позаклітинного колагену [3]. До основних цитокінів, які беруть участь у ремоделюванні позаклітинного матриксу, відносяться інтерлейкін-6 (ІЛ-6) та фактор некрозу пухлини α (TNF-α). Вони стимулюють утворення гострофазних білків гепатоцитами, збільшують експресію прозапальних цитокінів у макрофагах, викликають інфільтрацію нейтрофілами печінки [4]. Кишкова мікробіота визнана найважливішим мікробним органом, що тісно взаємодіє з різними функціями організму хазяїна, серед яких найважливішими є становлення та підтримання імунітету. Імунна система слизових оболонок є частиною загальної імунної системи організму і водночас відрізняється певною автономністю.

Імунна система кишечника має назву «система GALT» (Gut Associated Lymphoid Tissue). Структурні елементи системи GALT здійснюють адаптивну імунну відповідь, суть якої — взаємодія між антигенпрезентуючими клітинами (АПК) і Т-лімфоцитами, що контролюється клітинами імунологічної пам'яті [5]. Головною функцією системи GALT є розпізнавання і усунення «чужих» антигенів або формування імунологічної толерантності до «своїх». Формування імунологічної толерантності є найважливішою умовою існування шлунково-кишкового тракту як бар'єра на межі зовнішнього та внутрішнього середовищ. Оскільки і їжа, і нормальна кишкова мікробіота є антигенами, вони не повинні сприйматися організмом як щось вороже і відторгатися ним та не повинні викликати розвиток запальної відповіді [6].

Імунітет кишечника забезпечують ті ж механізми, які є і в імунній системі в цілому, — це лімфоїдні органи (пеєрові бляшки і лімфатичні вузли, що спеціалізуються на обслуговуванні кишечника), арсенал клітин вродженого імунітету (частина яких виконує регуляторні функції), лімфоцити, що продукують захисні антитіла [7]. У захисті кишечника і регуляції складу мікробіоти беруть участь антитіла, в основному IgA, що продукуються В-лімфоцитами, які у вихідному стані експресують мембранопов'язані антитіла типу IgM. Ці антитіла, потрапляючи у відділи кишечника, що відповідають за імунну відповідь, під впливом мікробного оточення та розчинних факторів переключаються на вироблення IgA з подальшим перетворенням у плазматичні клітини. У лімфоїдній тканині кишечника здійснюється синтез імуноглобулінів плазматичними клітинами з проявами клітинної цитотоксичності Т-кілерів, продукція цитокінів Т-лімфоцитами, макрофагами і NK-клітинами (природними кілерами) [8]. Toll-подібні рецептори (TLR) відносяться до елементів вродженого імунного захисту кишкового епітелію, що розпізнає та відокремлює «своїх» від «чужих». Трансформація антигенів, що надходять з просвіту кишки, супроводжується виробленням так званих прозапальних цитокінів: ІЛ-1, ІЛ-8, ІЛ-12, TNF-α, IFN-γ, активізацією фагоцитозу, міграцією нейтрофілів, посиленням окиснювальних реакцій, синтезом IgM — всі ці реакції спрямовані на елімінацію антигену. В-лімфоцити в процесі відповіді GALT-системи трансформуються в плазматичні клітини і виходять із кишечника в мезентеріальні лімфовузли, а звідти через грудну лімфатичну протоку — у кров [7–9]. З кров'ю вони розносяться в слизові оболонки різних органів: ротової порожнини, бронхів, сечостатевих шляхів, а також у молочні залози. 80,0 % лімфоцитів повертаються назад у кишечник, цей процес має назву homing. У дорослих в шлунково-кишковому тракті виявляються імуноглобуліни всіх класів. Стінка кишечника здатна синтезувати до 3 г імуноглобулінів щодоби, причому кореляції між вмістом їх у плазмі та кишковому соку не існує [10]. Ефективність роботи системи GALT залежить від заселення кишечника облігатною мікробіотою. Для ініціації мукозальної імунної вдповіді мікроскладчасті клітини слизової оболонки кишечника перманентно транспортують мікробні антигени і презентують їх лімфоцитам, індукуючи їх трансформацію в плазмоцити і homing. За допомогою цього механізму здійснюється контрольоване протистояння сторонньому для організму та власної мікробіоти антигенному матеріалу та співіснування з ним [11–13].

Різного виду порушення кишкової мікробіоти (дисбактеріоз товстого кишечника, синдром надлишкового бактеріального росту у тонкому кишечнику), що виникають при ХДЗП, пов'язані з дисрегуляцією імунної системи. При цьому виникає питання, що є первинним: або процес починається з порушення кишкової мікробіоти, що веде до розвитку імунодефіцитів, впливаючи на перебіг основної хвороби, або порушення кишкового біоценозу є наслідком несприятливого впливу на організм і його мікрофлору існуючого патологічного стану, внаслідок чого знижуються функції імунної системи.

За даними L. Niederreiter (2018), порушення мікрофлори, стан імунного статусу і вплив патологічного процесу основної хвороби слід розглядати в єдності, причому роль пускового механізму може належати будь-якому з компонентів тріади «дисбіоз — імунний статус — патологічний процес». Таким чином, вивчення наукових аспектів імунобіологічних взаємодій кишкової мікрофлори з імунною системою у хворих на ХДЗП є актуальним [14].

**Мета дослідження:** оцінити стан клітинної ланки імунітету та цитокінової регуляції організму у хворих на ХДЗП при формуванні та прогресуванні фіброзу печінки залежно від особливостей мікробіоценозу кишечника.

## Матеріали та методи

Під спостереженням знаходились 76 хворих на ХДЗП, які лікувались у відділенні захворювань печінки та підшлункової залози ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України». Обстежені хворі були поділені на 3 групи: I група — 32 пацієнти з неалкогольною жировою хворобою печінки; II група — 23 хворі на алкогольну жирову хворобу печінки (АХП) та III група — 21 хворий на токсичний гепатит (ТГ), індукований ліками. Контрольну групу становили 30 практично здорових осіб.

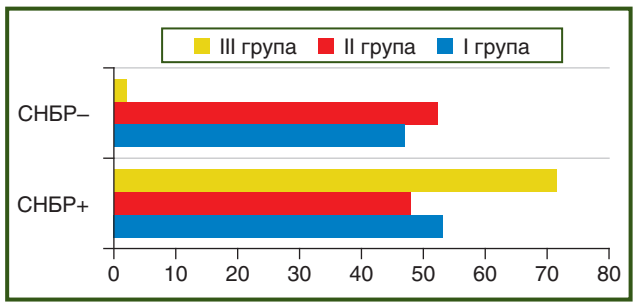


***Рисунок 1 — Частота виявлення СНБР у досліджуваних групах залежно від етіологічного чинника***

Для діагностики синдрому надлишкового бактеріального росту (СНБР) виконувався водневий дихальний тест (ВДТ) з використанням глюкози на газоаналізаторі «Gastro Gastrolyzer» компанії «Bedfont Scientific Ltd» (Великобританія) [15]. Пороговий рівень виділення водню становить 10 ppm. При наявності збільшеної кількості анаеробної мікрофлори відбувається підвищення концентрації водню в повітрі, яке видихували, що свідчило про наявність СНБР.

Стадії фіброзу визначали шляхом дослідження параметрів жорсткості печінки на апараті «FibroScan 502 Touch F 60156» фірми «Echosens» (Франція). Отримані параметри жорсткості печінки оцінювались залежно від чинника ураження.

На апараті «Soneus P7» (Україна — Швейцарія) проводили зсувнохвильову еластографію печінки, за результатами якої хворі були розподілені за стадіями фіброзу на підгрупи з помірним фіброзом (FI + FII) — медіанне значення від 6,63 до 8,81 кПа та вираженим фіброзом (FIII + FIV) — понад 8,81 кПа [16, 17]. Обстежені за результатами без фіброзу (F0) у зв'язку з малою кількістю обстежених для статистичного аналізу були включені до групи з помірним фіброзом.

Мононуклеарні клітини виділяли з периферичної венозної крові пацієнтів у градієнті щільності 1,077 г/см. Субпопуляційний склад лімфоцитів визначали за допомогою моноклональних антитіл фірми «Сорбент ТМ» до молекул CD4, CD8.

Рівень ІЛ-6, ІЛ-10, TNF-α у сироватці крові визначали імуноферментним методом (ELISA) наборами реактивів фірми «Вектор-БЕСТ» (Росія). Дослідження проводили згідно з інструкціями для кожного тест-набору.

Усі вихідні дані, отримані при виконанні роботи, з метою оптимізації математичної обробки вводилися в базу даних, побудовану за допомогою електронних таблиць Microsoft Excel. Статистичний аналіз отриманих даних виконували за допомогою пакета програмного забезпечення MedCalc Statistical Software 11.5.0. Для опису даних застосовували медіану (Me), нижній та верхній квартилі (Q25; Q75). Порівняння показників здійснювали за допомогою непараметричних критеріїв. Статистичну значущість оцінювали на рівні не нижче ніж 95,0 % ($p < 0,05$). Кореляційний аналіз виконували з розрахунком коефіцієнта рангової кореляції Спірмена.

Подані для публікації матеріали не суперечать положенням біоетики.

## Результати та обговорення

Аналіз частоти виявлення СНБР показав, що зміни у стані мікрофлори тонкої кишки спостерігались у 56,6 % хворих на ХДЗП і вірогідно майже у 1,5 раза переважали при ТГ (71,4 %) порівняно з хворими на НАЖХП та АХП (53,1 та 47,8 % відповідно) (рис. 1).

Аналіз показників ВДТ з навантаженням глюкозою обстежених хворих показав, що найбільш виражені зміни концентрації водню в повітрі, яке видихували, спостерігались у хворих із ТГ та АХП на відміну від хворих на НАЖХП (табл. 1).

У хворих II та III груп спостерігалось вірогідне підвищення концентрації водню на 30 хв до (28,6 ± 3,9) й (57,5 ± 2,9) ppm відповідно та на 45 хв до (33,5 ± 5,7) й (49,7 ± 3,3) ppm відповідно на відміну від хворих I групи, в яких не відзначалось значущого підвищення водню від базального рівня, і залишалось на рівні (19,8 ± 1,5) та (11,8 ± 2,3) ppm відповідно ($p < 0,05$; $p < 0,01$).

Переважно в усіх групах досліджених домінував помірний фіброз (67,1 %). Виражений фіброз мала значно менша кількість пацієнтів (32,9 %).

За результатами статистичного аналізу встановлений кореляційний взаємозв'язок між жорсткістю печінки за даними фіброскану та рівнем водню на 30 хв за даними ВДТ ($r = 0,79$; $p < 0,001$), що свідчить про збільшення частоти випадків СНБР у хворих на ХДЗП по мірі прогресування фіброзних змін у печінці.

Результати вивчення стану прозапальних цитокінів при патології гепатобіліарної системи подані у таблиці 2. Так, медіана рівня ІЛ-6 у сироватці крові I та III груп хворих вірогідно не відрізнялась від контрольних значень, але при цьому він був підвищений у 21,9 %

***Таблиця 1 — Показники ВДТ (ppm) у хворих на ХДЗП залежно від етіологічного чинника, M ± m***

| Час виміру | I група НАЖХП (n = 32), ppm | II група АХП (n = 23), ppm | III група ТГ (n = 21), ppm | Контрольна група (n = 30), ppm |
|---|---|---|---|---|
| 0 хв | 5,2 ± 0,8 | 6,3 ± 0,9 | 4,6 ± 0,6 | 5,5 ± 1,8 |
| 15 хв | 8,1 ± 0,9 | 8,5 ± 1,3 | 17,43 ± 3,10 | 7,8 ± 2,4 |
| 30 хв | 19,8 ± 1,5 | 28,6 ± 3,9** | 57,5 ± 2,9* | 10,8 ± 2,5 |
| 45 хв | 11,8 ± 2,3 | 33,5 ± 5,7* | 49,7 ± 3,3** | 9,9 ± 1,9 |
| 60 хв | 8,4 ± 2,7 | 21,3 ± 6,7* | 33,3 ± 4,1* | 4,7 ± 1,6 |
| Середній | 10,7 ± 1,6 | 19,6 ± 3,7 | 81,3±4,8* | 7,7 ± 2,0 |

***Примітки: * — вірогідність розходжень між групами, p < 0,05, ** — p < 0,01.***

хворих I групи та у 28,6 % хворих III групи. Концентрація ІЛ-6 у хворих II групи була вірогідно вищою — в 2,2 ($p < 0,05$), 3,1 ($p < 0,05$) та в 2,6 раза ($p < 0,05$) порівняно з контрольною групою, I та III групою хворих відповідно.

Встановлене підвищення рівня ІЛ-6 у сироватці крові вказує на прогресування запальних процесів і сприяє розвитку стеатогепатиту та фіброзу у хворих на ХДЗП.

Концентрація TNF-α у I та II групах була вірогідно вищою порівняно з контрольною групою — в 3,0 ($p < 0,05$) та 4,4 раза ($p < 0,05$) відповідно. Рівень TNF-α був вірогідно вищий у хворих I групи (в 3,3 раза, $p < 0,05$) та у хворих II групи (в 4,9 раза, $p < 0,05$) порівняно з його рівнем у III групі хворих.

Тоді як медіана рівня ІЛ-10 вірогідно знижена у хворих I групи (в 3,0 раза, $p < 0,05$), II та III групи (в 2,8 раза, $p < 0,05$) порівняно з групою контролю. У обстежених хворих встановлений кореляційний зв'язок між рівнем ІЛ-6 та TNF-α ($r = +0,551$, $p < 0,01$), ІЛ-10 ($r = +0,416$, $p < 0,01$).

В результаті визначення співвідношення рівня прозапальних і протизапальних цитокінів (TNF-α/ІЛ-10) був встановлений дисбаланс за рахунок прозапальних цитокінів у хворих на ХДЗП порівняно з групою контролю (табл. 2). Ці зміни найбільш виражені у хворих I та II групи, а саме збільшення їх в 8,7 ($p < 0,05$) та 10,9 раза ($p < 0,05$) відповідно. Крім того, у хворих I та II групи TNF-α/ІЛ-10 був вірогідно вищим — в 3,1 та в 3,8 раза ($p < 0,05$) — порівняно зі значеннями цих показників у хворих III групи.

Отже, підвищений рівень прозапальних цитокінів (ІЛ-6 та TNF-α) у крові хворих на ХДЗП не індукує секрецію протизапальних цитокінів (ІЛ-10), що призводить до надмірної активації макрофагів, підтримки запального процесу та прогресування фіброзу при ХДЗП.

Важливе прогностичне значення в перебігу патологічного процесу має імунорегуляторний індекс (співвідношення лімфоцитів CD4/CD8) (рис. 3). Порушення (зниження) індексу імунорегуляції встановлене у 59,4 % хворих I групи, 52,26 % хворих II групи, 47,6 % хворих III групи. Треба відзначити вірогідне зниження медіани відносних показників CD4+-лімфоцитів у хворих I, II та III групи — в 1,4 раза ($p < 0,05$) порівняно з контрольною групою.

У хворих на ХДЗП виявлене порушення рівня CD8+-лімфоцитів (підвищення) та співвідношення CD4/CD8 (зниження) призводить до порушення мікробіоти кишечника, про що свідчать кореляційні зв'язки з показником ppm: CD8+ ($r = –0,439$, $p < 0,05$) та CD4/CD8 ($r = +0,492$, $p < 0,05$).

Тому за результатами проведених досліджень для вивчення імунологічних показників хворі на ХДЗП були розподілені на групи залежно від наявності СНБР у тонкому кишечнику при формуванні та прогресуванні фіброзу печінки: групу А становили 43 хворі з наявністю СНБР (СНБР+) на фоні помірного фіброзу (F помірн.) (28 хворих) та вираженого фіброзу (F виражен.) (15 хворих); 33 хворі групи В, серед яких у 23 осіб був помірний фіброз, а у 10 — виражений, не мали порушень кишкової мікробіоти (СНБР–) (табл. 3).

Підвищення рівня ІЛ-6 в сироватці крові (в 2,0 раза) у 73,3 % хворих із вираженим фіброзом та СНБР+ вказує на несприятливий перебіг захворювання з прогресуванням фіброзу на фоні порушення кишкової мікробіоти в тонкому кишечнику порівняно з групою хворих із помірним фіброзом, серед яких тільки у 51,4 % випадків виявлено вірогідне збільшення даного

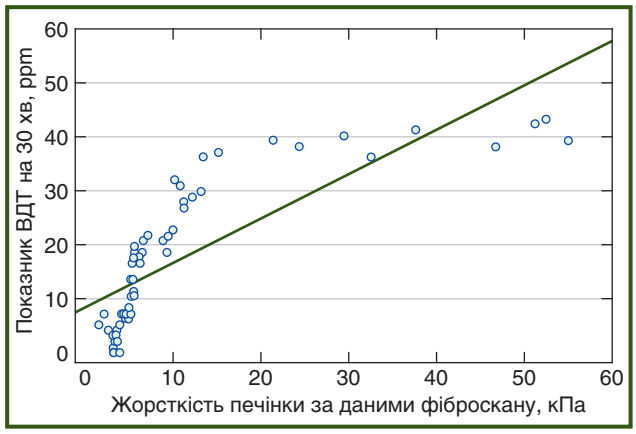


***Рисунок 2 — Кореляційна взаємозалежність між жорсткістю печінки за даними фіброскану та рівнем водню на 30 хв за даними ВДТ***

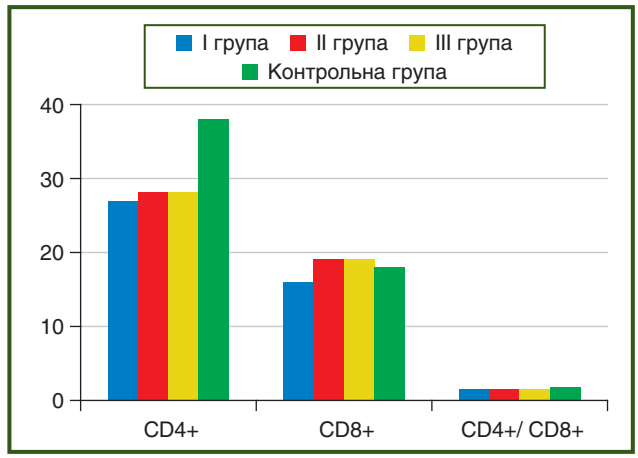


***Рисунок 3 — Показники клітинного імунітету у хворих на ХДЗП***

***Таблиця 2 — Показники цитокінового статусу у хворих на ХДЗП, Me (Q1; Q2)***

| Показник | I група (n = 32) | II група (n = 23) | III група (n = 21) | Контрольна група (n = 30) |
|---|---|---|---|---|
| ІЛ-6, пг/мл | 1,7 (0,95–3,75) | 5,3 (2,5–13,2)*, ** | 2,05 (0,9–4,0)# | 2,4 (0,2–5,2) |
| ІЛ-10, пг/мл | 2,5 (1,2–3,3)* | 2,7 (1,7–4,3)* | 2,7 (1,59–3,7)* | 7,55 (4,3–13,9) |
| TNF-α, пг/мл | 1,5 (0,2–6,6)* | 2,2 (0,9–6,6)* | 0,45 (0,1–2,5)#, ° | 0,5 (0,1–3,8) |
| TNF-α/ІЛ-10 | 0,61 (0,14–2,0)* | 0,76 (0,24–1,8)* | 0,2 (0,06–1,69)*, #, ° | 0,07 (0,06–0,09) |

***Примітки: * — $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою; ** — $p < 0,05$ у порівнянні I та II групи; # — $p < 0,05$ у порівнянні II та III групи; ° — $p < 0,05$ у порівнянні I та III групи.***

***Таблиця 3 — Показники цитокінового статусу у хворих на ХДЗП залежно від наявності СНБР і вираженості фіброзної трансформації печінки, Me (Q1; Q4)***

| Показники | Хворі на ХДЗП СНБР+ (n = 43) | | Хворі на ХДЗП СНБР– (n = 33) | | Контрольна група (n = 30) |
|---|---|---|---|---|---|
| | F помірн. (n = 28) | F виражен. (n = 15) | F помірн. (n = 23) | F виражен. (n = 10) | |
| ІЛ-6, пг/мл | 3,61 (1,0–6,7)* | 7,4 (0,6–9,4)*, # | 2,9 (0,5–3,6) | 5,5 (0,4–9,8)*, # | 2,4 (0,2–5,2) |
| ІЛ-10, пг/мл | 4,1 (1,5–7,9) | 3,5 (0,4–11,9) | 5,2 (2,5–8,1) | 3,9 (0,5–10,4) | 7,55 (4,3–13,9) |
| TNF-α, пг/мл | 3,4 (0,9–8,0)* | 11,2(0,6–11,5)*, # | 2,1 (0,5–5,2) | 9,8 (0,7–10,3)*, # | 0,5 (0,1–3,8) |
| TNF-α/ІЛ-10 | 0,7 (0,4–2,5)* | 1,3 (0,8–4,9)*, # | 0,4 (0,2–1,5) | 1,2 (0,9–4,5)*, # | 0,07 (0,05–0,08) |

***Примітки: * — p < 0,05 порівняно з контрольною групою; # — p < 0,05 порівняно з групами хворих.***

показника — у 1,5 раза (p < 0,05) (табл. 3). Концентрація TNF-α у хворих на ХДЗП із вираженим фіброзом з СНБР– була вірогідно вищою (у 19,6 раза) порівняно з групою контролю та хворими з помірним фіброзом СНБР–, в яких концентрація TNF-α було підвищеною всього у 4,7 раза (p < 0,05). У хворих із наявністю СНБР з вираженим фіброзом визначено вірогідне збільшення медіани рівня TNF-α порівняно з його рівнем у хворих з помірним фіброзом на тлі СНБР та контрольною групою(в 3,3 та в 22,4 раза відповідно, p < 0,05).

Підвищення TNF-α/ІЛ-10 в 1,4 раза (p < 0,05) та в 1,5 раза (p < 0,05) встановлено у випадках СНБР+ та СНБР– у хворих із вираженим фіброзом порівняно зі значеннями групи контролю та у хворих із помірним фіброзом незалежно від наявності або відсутності СНБР.

Таким чином, етіологічний чинник викликає запальний процес через порушені імунорегуляторні механізми з подальшим порушенням кишкової мікробіоти, що сприяє процесам фіброзування.

## Висновки

1. Аналіз частоти виявлення СНБР у тонкому кишечнику показав, що зміни у стані мікрофлори тонкої кишки спостерігались загалом у 56,6 % хворих на ХДЗП, переважно за рахунок хворих на ТГ (71,4 %) та АХП (52,2 %) з вірогідним підвищенням концентрації водню на 30 та на 45 хв (p < 0,05; p < 0,01).

2. Виявлено, що співвідношення про- та протизапальних цитокінів коеф. TNF-α/ІЛ-10 зростає в 8,7 раза (p < 0,05) у хворих на НАЖХП та в 10,9 раза (p < 0,05) у хворих на АХП порівняно з групою контролю. Підвищений рівень TNF-α (при НАЖХП — в 3,0 раза, p < 0,05; при АХП — в 4,4 раза, p < 0,05) та ІЛ-6 (у хворих на АХП — в 2,2 раза (p < 0,05) не індукує секрецію протизапальних цитокінів (ІЛ-10), що призводить до підтримки запального процесу та прогресування фіброзу.

3. У хворих на ХДЗП із наявністю СНБР на тлі вираженого фіброзування встановлений підвищений рівень прозапальних цитокінів ІЛ-6 в 2,0 раза (p < 0,05) та TNF-α в 3,3 раза (p < 0,05) порівняно з хворими з помірним фіброзом.

4. У хворих на ХДЗП фіброзування печінки корелює зі ступенем порушення кишкового біоценозу, між показниками жорсткості печінки та рівнем водню за даними ВДТ (r = 0,79; p < 0,001).

5. У хворих на ХДЗП порушення імунорегуляції пов'язане з порушенням мікробіоти кишечника, про що свідчать кореляційні зв'язки з рівнем водню (ppm): CD8+ (r = –0,439, p < 0,05) та CD4/CD8 (r = +0,492, p < 0,05).

**Конфлікт інтересів.** Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів і власної фінансової зацікавленості при підготовці даної статті.

**Інформація про фінансування.** Робота виконується відповідно до плану наукових досліджень відділу захворювань печінки та підшлункової залози Державної установи «Інститут гастроентерології НАМН України». Усі пацієнти підписали інформовану згоду на участь у цьому дослідженні.

**Внесок авторів:** *Діденко В.І.* — концепція та дизайн дослідження, редагування тексту; *Ягмур В.Б.* — відбір пацієнтів, обробка клінічних і статистичних даних, виконання інструментальних досліджень; *Коненко І.С.* — збір та обробка матеріалу, статистична обробка, виконання інструментальних досліджень; *Татарчук О.М.* — збір та проведення імунологічних досліджень, статистична обробка та аналіз отриманих результатів, написання статті; *Зигало Е.В.* — обробка клінічних і статистичних даних, виконання досліджень ВДТ, написання статті.

## References

*1. Tkach SM, Cheverda TL, Kaznodiy AV. The role of enterohepatic association and intestinal microbiota in the development of non-alcoholic fatty liver disease. Modern Gastroenterology. 2015;(85):96-109. (in Russian).*

*2. Parkash O, Saeed S. Molecular basis for pathogenesis of steatohepatitis: contemporary understanding and new insights. In: Valenzuela Baez, editor. Non-alcoholic fatty liver disease: molecular bases, prevention and treatment. London, UK: Intech Open; 2018. doi:10.5772/intechopen.71405. 54 p.*

*3. Sanyal AJ. Past, present and future perspectives in nonalcoholic fatty liver disease. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2019 Jun;16(6):377-386. doi:10.1038/s41575-019-0144-8.*

*4. Mauss S, Berg T, Rockstroh J. Hepatology: a clinical textbook. 6th ed. Sydney: Flying Publisher; 2015. 655 p.*

*5. Caballería L, Pera G, Arteaga I, et al. High Prevalence of Liver Fibrosis Among European Adults With Unknown Liver Disease: A Population-Based Study. Clin Gastroenterol Hepatol. 2018 Jul;16(7):1138-1145.e5. doi:10.1016/j.cgh.2017.12.048.*

*6. Bedossa P. Pathology of non-alcoholic fatty liver disease. Liver Int. 2017 Jan;37(Suppl 1):85-89. doi:10.1111/liv.13301.*

*7. Ivanov AS, Garmasch IV, Arisheva OS, et al. Immune-inflammatory and genetic factors in the development of alcoholic liver*

*fibrosis. Klinicheskaia farmakologiia i terapiia. 2018;27(5):30-35. doi:10.32756/0869- 5490-2018-5-30-35. (in Russian).*

*8. Kruglov AA, Nedospasov SA. Microbiota, intestinal immunity, and mouse bustle. Acta Naturae.2014;6(20):6-8. doi:10.32607/20758251-2014-6-1-6-8.*

*9. Goretskaya MV. Synthetic functions of the liver and humoral factors of the immune system. Journal of the Grodno State Medical University. 2008;(2):7-11. (in Russain).*

*10. Kornienko EA. Intestinal microbiota as a key factor in the formation of immunity and tolerance. Probiotics capabiliti. Meditsinskiy sovet. 2020;(10):92-100. doi:10.21518/2079-701x-2020-10-92-100. (in Russian).*

*11. Shi N, Li N, Duan X, Niu H. Interaction between the gut microbiome and mucosal immune system. Mil Med Res. 2017 Apr 27;4:14. doi:10.1186/s40779-017-0122-9.*

*12. Clavel T, Gomes-Neto JC, Lagkouvardos I, Ramer-Tait AE. Deciphering interactions between the gut microbiota and the immune system via microbial cultivation and minimal microbiomes. Immunol Rev. 2017 Sep;279(1):8-22. doi:10.1111/imr.12578.*

*13. Mannaa FA, Abdel-Wahhab KG. Physiological potential of cytokines and liver damages. Hepatoma Res 2016;2:131-143. doi:10.20517/2394-5079.2015.58.*

*14. Niederreiter L, Tigl H. Cytokines and fatty liver diseases. Liver Research.2018;2(1):14-20. doi:10.1016/j.livres.2018.03.003.*

*15. Ledochowski M. Hydrogen Breath tests. Innsbruck, Austria: Akademie Publishing House; 2008. 20 p.*

*16. Stepanov JuM, Didenko VI, Konenko IS, Jagmur VB, Petishko OP, Orlovskyj DV. Sposib diagnostyky fibrozu pechinky u hvoryh na hronichnyj gepatyt C [Method for diagnosing liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C]. Patent UA № 140554, 2020. (in Ukrainian).*

*17. Stepanov JuM, Didenko VI, Konenko IS, Jagmur VB, Petishko OP. Sposib diagnostyky steatozu pechinky u hvoryh na nealkogol'nu zhyrovu hvorobu pechinky [Method for diagnosing liver steatosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease]. Patent UA № 136479, 2019. (in Ukrainian).*

*Отримано/Received 19.02.2021*
*Рецензовано/Revised 04.03.2021*
*Прийнято до друку/Accepted 11.03.2021*

**Information about authors**

V.I. Didenko, PhD, Director for Research of the State Institution "Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Dnipro, Ukraine; e-mail: vladdidenko23@gmail.com; http://orcid.org/0000-0001-8953-396x

O.M. Tatarchuk, PhD, Senior Researcher of the Research Sector, State Institution "Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Dnipro, Ukraine; e-mail: om_tat@ukr.net; http://orcid.org/0000-0002-0672-972x

E.V. Zyhalo, PhD, Senior Researcher the of miniinvasive endoscopic interventions and instrumental diagnostics, State Institution "Institute of Gastroenterology of the National Academy of Sciences Ukraine", Dnipro, Ukraine; e-mail:el_zygalo@ukr.net; http://orcid.org/0000-0001-5026-0992

I.S. Konenko, PhD, Senior Researcher the of miniinvasive endoscopic interventions and instrumental diagnostics, State Institution "Institute of Gastroenterology of the National Academy of Sciences Ukraine", Dnipro, Ukraine; e-mail:irynakonenko@ukr.net; http://orcid.org/0000-0002-7619-699x

V.B. Yagmur, senior researcher, gastroenterologist, PhD, State Institution "Institute of Gastroenterology of the National Academy of Sciences Ukraine", Dnipro, Ukraine; http://orcid.org/0000-0002-1738-4624

**Conflicts of interests.** Authors declare the absence of any conflicts of interests and their own financial interest that might be construed to influence the results or interpretation of their manuscript.

**Information about funding**. The work is performed in accordance with the research plan of the State Institution "Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine". All patients signed an informed consent to participate in this study.

**Contribution of authors:** *Didenko V.I.* — concept and design of research, text editing; *Yagmur V.B.* — selection of patients, processing of clinical and statistical data, performance of instrumental researches; *Konenko I.S.* — collection and processing of material, statistical processing, performance of instrumental research; *Tatarchuk O.M.* — collection and conduct of immunological tests, statistical processing and analysis of the results, writing an article; *Zygalo E.V.* — processing of clinical and statistical data, performing hydrogen breath test research, writing an article.

*V.I. Didenko, O.M. Tatarchuk, E.V. Zygalo, I.S. Konenko, V.B. Yagmur*
*SI "Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Dnipro, Ukraine*

## Impact of immune cell, state of cytokine regulation and intestinal biocenosis on the fibrotic processes in chronic diffuse liver disease

**Abstract.** ***Background.*** It is known that disorders of the intestinal microbiota in patients with chronical liver disease (CLD) are associated with immune dysregulation. The process begins with a violation of the intestinal microbiota, leading to the development of immunodeficiency, affecting the course of the underlying disease (with progression of liver fibrosis). Besides, violation of intestinal biocenosis is a consequence of adverse effects on the body and its microflora state resulting in reduced immune function. The purpose of the study was to determine the mechanisms of cytokine regulation in the body of patients with CLD in the formation and progression of liver fibrosis depending on the damage of the intestinal microbiota. ***Materials and methods.*** Seventy-six patients with CLD were examined. All patients underwent a hydrogen breath test (HBT), shear wave elastography; the liver stiffness parameters were studied on a FibroScan. Depending on the indices obtained and the presence of small intestinal bacterial overgrowth (SIBO) in the small intestine in the formation and progression of liver fibrosis, the patients were divided into groups. The subpopulation of lymphocytes — CD4 and CD8 was determined using monoclonal antibodies from the company "Sorbent TM". The serum level of IL-6, IL-10, TNF-α was determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using the reagent kits from the company "Vector-BEST". ***Results.*** The elevated levels of inflammatory cytokines (IL-6 and TNF-α) do not induce the secretion of anti-inflammatory cytokines (IL-10) with the presence of SIBO, which leads to the maintenance of inflammation and progression of liver fibrosis depending on intestinal biocenosis (a correlation was found between liver stiffness and hydrogen levels $r = 0.79$; $p < 0.001$). In patients with CLD, the violation of the cellular component of immunity is associated with an impairment of the intestinal microbiota, as evidenced by correlations with the hydrogen level (ppm): CD8+ ($r = -0.439$; $p < 0.05$) and CD4/CD8 ($r = +0.492$; $p < 0.05$). ***Conclusions.*** Impaired immunoregulatory mechanisms contribute to the fibrotic processes with subsequent violation of the gut microbiota.

**Keywords:** immunoregulation; inflammatory process; liver fibrosis; intestinal microbiota; syndrome of intestinal bacterial overgrowth; inflammatory and anti-inflammatory cytokines; chronic diffuse liver disease