УДК:616.34-002-07:612.017:577.115.3

ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК ГУМОРАЛЬНОЇ ЛАНКИ ІМУНІТЕТУ, ЦИТОКІНОВОЇ РЕГУЛЯЦІЇ З КОРОТКОЛАНЦЮГОВИМИ ЖИРНИМИ КИСЛОТАМИ У ХВОРИХ ІЗ ЗАПАЛЬНИМИ ЗАХВОРЮВАННЯМИ КИШЕЧНИКА

Степанов Ю.М., Стойкевич М.В., Кленіна І.А., Татарчук О.М.

ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України», м. Дніпро, Україна

Для кореспонденції: Татарчук О.М., ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України», пр. Слобожанський, 96, м. Дніпро, 49074, Україна; e-mail: gastro@amnu.gov.ua; контактний тел.: +380509363342

RELATIONSHIP BETWEEN THE HUMORAL LINK OF IMMUNITY, CYTOKINE REGULATION WITH SHORT-CHAIN FATTY ACIDS IN PATIENTS WITH INFLAMMATORY BOWEL DISEASES

Stepanov Yu.M., Stoikevych M.V., Klenina I.A., Tatarchuk O. M.

SI "Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Dnipro, Ukraine.

For correspondence: Tatarchuk O.M., SI "Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Slobozhanskii avenue, 96, Dnipro, 49074, Ukraine; e-mail: gastro@amnu.gov.ua; contact phone: +380509363342

ВЗАИМОСВЯЗЬ ГУМОРАЛЬНОГО ЗВЕНА ИММУНИТЕТА, ЦИТОКИНОВОЙ РЕГУЛЯЦИИ С КОРОТКОЦЕПОЧЕЧНЫМИ ЖИРНЫМИ КИСЛОТАМИ У БОЛЬНЫХ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ КИШЕЧНИКА

Степанов Ю.М., Стойкевич М.В., Кленина И.А., Татарчук О.М.

ГУ «Институт гастроэнтерологии НАМН Украины», г. Днипро, Украина.

Для корреспонденции: Татарчук О.М., ГУ «Институт гастроэнтерологии НАМН Украины», пр. Слобожанский, 96, г. Днипро, 49074, Украина; e-mail: gastro@amnu.gov.ua; контактный тел.: +380509363342

ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК ГУМОРАЛЬНОЇ ЛАНКИ ІМУНІТЕТУ, ЦИТОКІНОВОЇ РЕГУЛЯЦІЇ З КОРОТКОЛАНЦЮГОВИМИ ЖИРНИМИ КИСЛОТАМИ У ХВОРИХ ІЗ ЗАПАЛЬНИМИ ЗАХВОРЮВАННЯМИ КИШЕЧНИКА

Степанов Ю.М., Стойкевич М.В., Кленіна І.А., Татарчук О.М.

ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України», м. Дніпро, Україна

Резюме. Актуальність. Патогенез запальних захворювань кишечника (ЗЗК) в наш час залишається до кінця не вивченим. Сучасні дослідження спрямовані на вивчення стану гуморального імунітету, продукції та кишкового всмоктування коротколанцюгових жирнихкислот (КЖК).

Метою дослідження було оцінити стан гуморальної ланки імунітету, цитокінової регуляції та вмісту коротколанцюгових жирних кислот у калі хворих із ЗЗК.

Матеріали та методи. Проведено обстеження 34 хворих на ЗЗК, які знаходилися на лікуванні в відділенні захворювань кишечнику ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України». Усі хворі були розділені на дві групи: I група – 25 хворих на НВК та II група – 9 хворих на ХК. Проведене визначення фекальних КЖК, рівня СД22+ лімфоцитів, імуноглобулінів A, M, G, інтерлейкіну-10 та TNF-α**.**

Результати. Встановлено зниження гуморальної ланки імунітету, підвищення вмісту пропіонової (С3) кислоти, ($p<0,001$) та зниженням оцтової (С2), ($p<0,001$) і масляної (С4), ($p<0,001$) кислот у копрофільтраті хворих на ЗЗК.

Рівень TNF-α був вірогідно вищий у хворих на НВК легкого ступеня (в 13,3 рази, $p<0,05$), у хворих на НВК середнього ступеня (в 17,4 рази, $p<0,05$) та у хворих на НВК тяжкого ступеня (в 19,4 рази, $p<0,05$) порівняно із його рівнем у групі контролю; встановлено, що в групі пацієнтів з НВК важкого ступеня тяжкості відбувалося суттєве зниження вмісту масляної кислоти (С4) в 2,8 рази відносно контрольної групи ($p<0,01$).

Висновки. В нашому досліджені встановлений зв'язок між рівнем показників гуморальної ланки імунітету, цитокінової регуляції та вмістом КЖК у калі, що може вказувати на участь метаболітів кишечнику в активації імунітету людини.

Ключові слова: коротколанцюгові жирні кислоти; гуморальний імунітет; цитокіни; неспецифічний виразковий коліт; хвороба Крона

ВЗАИМОСВЯЗЬ ГУМОРАЛЬНОГО ЗВЕНА ИММУНИТЕТА, ЦИТОКИНОВОЙ РЕГУЛЯЦИИ С КОРОТКОЦЕПОЧЕЧНЫМИ ЖИРНЫМИ КИСЛОТАМИ У БОЛЬНЫХ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ КИШЕЧНИКА

Степанов Ю.М., Стойкевич М.В., Кленина И.А., Татарчук О.М.

ГУ «Институт гастроэнтерологии НАМН Украины», г. Днипро, Украина.

Резюме. Актуальность. Патогенез воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК) в наше время остается до конца не изученным. Современные исследования направлены на изучение состояния гуморального иммунитета, продукции и кишечного всасывания короткоцепочечных жирных кислот (КЖК).

Целью исследования было оценить состояние гуморального звена иммунитета, цитокиновой регуляции и содержания короткоцепочечных жирных кислот в кале больных с ВЗК.

Материалы и методы. Обследовано 34 больных ВЗК, которые находились на лечении в отделении заболеваний кишечника ГУ «Институт гастроэнтерологии НАМН Украины». Все больные были разделены на две группы: I группа - 25 больных НЯК и II группа - 9 больных БК. Проведено определение фекальных КЖК, уровня СД22 + лимфоцитов, иммуноглобулинов А, М, G, интерлейкина-10 и TNF-α.

Результаты. Установлено снижение гуморального звена иммунитета, повышение содержания пропионовой (С3) кислоты ($p < 0,001$) и снижением уксусной (С2) ($p < 0,001$) и масляной (С4) ($p < 0,001$) кислот в копрофильтратах больных ПЗК.

Уровень TNF-α был достоверно выше у больных НЯК легкой степени (в 13,3 раза, $p < 0,05$), у больных НЯК средней степени (в 17,4 раза, $p < 0,05$) и у больных НЯК тяжелой степени (в 19,4 раза, $p < 0,05$) по сравнению с его уровнем в группе контроля; установлено, что в группе пациентов с НЯК тяжелой степени тяжести происходило существенное снижение содержания масляной кислоты (С4) в 2,8 раза относительно контрольной группы ($p < 0,01$).

Выводы. В нашем исследовании установлена связь между уровнем показателей гуморального звена иммунитета, цитокиновой регуляции и содержанием КЖК в кале, что может указывать на участие метаболитов кишечника в активации иммунитета человека.

Ключевые слова: короткоцепочечные жирные кислоты; гуморальный иммунитет; цитокины; неспецифический язвенный колит; болезнь Крона.

RELATIONSHIP BETWEEN THE HUMORAL LINK OF IMMUNITY, CYTOKINE REGULATION WITH SHORT-CHAIN FATTY ACIDS IN PATIENTS WITH INFLAMMATORY BOWEL DISEASES

Stepanov Yu.M., Stoikevych M.V., Klenina I.A., Tatarchuk O. M.

SI "Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Dnipro.

Abstract. Background. The pathogenesis of chronic inflammatory bowel disease (IBD) is still not fully clarified. Modern research is aimed at studying the state of humoral immunity, production and intestinal absorption of short-chain fatty acids (SCFA).

The purpose was to assess the state of the humoral part of immunity, cytokine regulation and the content of short-chain fatty acids in the feces of patients with IBD.

Materials and methods. The study, which was carried out at the Department of Intestinal Diseases of the Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, involved 34 patients with IBD: group I — those with ulcerative colitis (UC) (n = 25), group II — individuals with Crohn's disease (CD) (n = 9). Determination of fecal SCFA, level of CD22 + lymphocytes, immunoglobulins A, M, G, interleukin-10 and TNF-α was determined.

Results. There was a decrease in the humoral level of immunity, increase in the content of propionic (C3) acid ($p < 0.001$) and a decrease in acetic (C2), ($p < 0.001$) and butyric (C4), ($p < 0.001$) acids in the coprofiltrate of patients with IBD.

The level of TNF-α was significantly higher in patients with mild UC (13.3 times, $p < 0.05$), in patients with moderate UC (17.4 times, $p < 0.05$) and in patients with Severe UC (19.4 times, $p < 0.05$) compared with its level in the control group; it was found that in the group of patients with severe UC there was a significant decrease in the content of butyric acid (C4) in 2.8 times relative to the control group ($p < 0,01$).

Conclusion. In our study, a relationship was established between the level of humoral immunity, cytokine regulation and the content of FFA in feces, which may indicate the participation of intestinal metabolites in the activation of human immunity.

Keywords: shortchain fatty acids; humoral immunity; cytokines; ulcerative colitis; Crohn's disease.

Вступ

Запальні захворювання кишечнику (ЗЗК) представляють значну медико-соціальну проблему, що обумовлює суттєвий інтерес до вивчення етіології, патогенезу, клінічних проявів патології, розробки діагностичних та лікувальних комплексів у всьому світі. ЗЗК, до яких відносяться неспецифічний виразковий коліт (НВК) та хворобу Крона (ХК), представляють собою хронічні рецидивуючі запальні захворювання шлунково-кишкового тракту, які призводять до незворотних порушень його структури та функцій [1, 2]. Реєструється збільшення кількості хворих на ЗЗК, що характеризується як системними проявами, так і поліморбідним перебігом. Проблема діагностики та

лікування НВК та ХК в наш час залишається однією із найбільш серйозних і невирішених самих важких в гастроентерологічній практиці [3, 4].

Відомо, що в основі патогенезу ЗЗК є порушення імунної відповіді, яке призводить до розвитку неспецифічного запалення в стінках та слизової оболонки кишки. Дія імунних комплексів та медіаторів запалення (цитокінів, гістаміна, активних форм кисню, NO) на клітини стінки кишечнику сприяють її пошкодженню та деструкції тканини [4, 5, 6].

Особливу увагу приділяють вивченню кишкового мікробіома у пацієнтів з ЗЗК. До факторів, що сприяють нормальному функціонуванню мікробіома кишечника, відноситься система Toll-подібних рецепторів (TLRs 1-13), що відповідають за розпізнавання компонентів клітинної стінки бактерій, активацію каскаду прозапальних цитокінів та інтерлейкінів, формування колонізаційної резистентності і бактеріальну транслокацію. Підвищена експресія TLRs сприяє активації цитокінів та інтерлейкінів, надлишкової продукції TNF-α, ІЛ-1β, ІЛ-6, ІЛ-8 [7]. Зміни мікробіоценозу кишечника можуть індукувати порушення ключових ланок патогенезу ЗЗК: місцевої та системної імунної відповіді, стану слизового бар'єру кишечника, особливостей його проникності, зміни морфологічної структури [1, 2, 8]. Так, у нормі шар слизу на поверхні епітелію утворює бар’єр, в якому гомеостатичні імунні реакції підтримують цілісність слизової оболонки як кишечника, так і життєдіяльність коменсальних мікроорганізмів, які колонізують кишечник і виконують симбіотичні функції. Однак при ушкодженні слизового бар’єра під впливом медіаторів запалення, патогенних мікроорганізмів або будь-яких агентів, котрі провокують інтенсивні імунні реакції, відбувається активація запального процесу, який змінює кишкове середовище та створює умови для розвитку патогенних штамів кишкової мікрофлори [9, 10, 11]. Бактерії, які ферментують волокна і продукують коротколанцюгові жирні кислоти (КЖК), зазвичай менше в слизовій оболонці і калі пацієнтів з ЗЗК в порівнянні зі здоровими людьми. КЖК, такі як ацетат, пропіонат і бутират, є важливими метаболітами для підтримки гомеостазу кишечника. Недавні відкриття показують, що КЖК, зокрема бутират, також мають важливі імуномодулюючі функції [9].

КЖК є найяскравішим прикладом участі мікробіоти в метаболічних процесах хазяїна та впливу на імунітет. КЖК не перетравлюються в кишечнику, за допомогою глікозидази разом з глікозилтрансферазами, які залучені в процесах синтезу та руйнування глікозидних зв’язків. Безумовно рівень КЖК впливає на вміст показники імунного статусу, масляна кислота (бутират) посилює регенерацію і знижує

проліферацію кишкового епітелію та модифікує продукцію цитокінів Th-клітинами і зміцнює щільність міжклітинних з'єднань, що, у свою чергу, перешкоджає проникненню мікрофлори і запобігає аберантним запальним відповідям. Продукція уксусної кислоти (ацетат) справляє протизапальний ефект завдяки впливу на рецептор GPR43 [4]. Встановлено роль ацетату в посиленні бар'єрних функцій епітелію. КЖК можуть регулювати ацетилювання лізинових залишків — ковалентну модифікацію білків, залучених у різні сигнальні та метаболічні процеси. Було доведено, що гіпоксичне пошкодження слизової ШКТ призводить до переміщення ендотоксинів і бактерій у мезентеріальні лімфатичні вузли, а потім у кровоносні судини. Транслокація ендотоксину може грубо пошкоджувати фізіологічні процеси. На додаток до бактерій та ендотоксинів пошкодження кишківника може призвести до активації нейтрофілів і викиду медіаторів системного запалення — цитокінів, ейкозаноїдів тощо, що призводить до розладів органної перфузії та дисфункцію кишечника [12].

В наш час, у хворих на НВК та ХК відмічають виражені зміни цитокінової регуляції із підвищенням запальних цитокінів, перш за все TNF-α, а також інтерлейкінів -1, -6, -8, 12 при зниженні протизапальних інтерлейкінів -4, -10, -11. Як відомо, в нормальних фізіологічних умовах TNF-α є імунорегуляторним медіатором та забезпечує ріст, проліферацію, диференціацію різних типів клітин, активує нейтрофіли, Т- і В-лімфоцити, лізує пухлинні та інфіковані бактеріями та вірусами клітини, приймає участь в апаптозі. В патологічних умовах TNF-α є активним прозапальним агентом. При запалені він стимулює Th1-хелпери та макрофаги, індукує системні реакції гострої фази з підвищеним синтезом прозапальних цитокінів. TNF-α є одним з найбільш активних прозапальних цитокінів та вважається ключовим в патогенезі ЗЗК [13, 14]. Було встановлено, що рівнем TNF-α в сироватці крові корелює із тяжкість перебігу ЗЗК [13] та активністю НВК [15].

IL-10 - протизапальний цитокін, який секретується різними клітинами, включаючи дендритні клітини, еозинофіли, тучні клітини, макрофаги, В-клітини, CD4 + Т-клітини (включаючи клітини Th2, клітини Th1, клітини Th17 і Treg). IL-10 підтримує гомеостаз за рахунок зниження надмірного прозапальної відповіді і проявляє свій ефект через зв'язування з рецептором IL-10, IL-10R, який представляє собою тетрамерний комплекс. Дефекти IL-10 пов'язані із запаленням кишечника [16].

Дослідження останніх років спрямовані на вивчення ролі гуморального імунітету у патогенезі ЗЗК [16, 17]. Дефекти в розвитку В-клітин призводять до відсутності циркулюючих зрілих В-клітин і продукції антитіл, що пов'язано з ЗЗК. Навіть при

легкому імунодефіцит, такому як дефіцит імуноглобуліну А (IgA), частота ЗЗК значно вище, ніж у населення в цілому [16].

Підвищена інфільтрація плазматичних клітин слизової оболонки і підвищені рівні імуноглобуліну G (IgG) в слизовій оболонці кишечника спостерігаються як у пацієнтів з ХК, так і у пацієнтів з НВК. Крім того, високі рівні IgG слизової оболонки, спрямовані проти коменсальних бактеріальних антигенів з просвіту кишечника [18], є переконливим доказом микробно-слизового взаємодії в патогенезі ЗЗК [19].

Мета роботи: оцінити стан гуморальної ланки імунітету, цитокінової регуляції та вмісту коротколанцюгових жирних кислот у калі хворих із запальними захворюваннями кишечника.

Матеріали та методи. Проведено обстеження 34 хворих на ЗЗК, які знаходилися на лікуванні в відділенні захворювань кишечнику ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України». Усі хворі були розділені на дві групи: I група – 25 хворих на НВК та II група – 9 хворих на ХК. Крім того, хворі на НВК були поділені на групи в залежності від тяжкості перебігу: легкий ступінь НВК – 3 пацієнта, НВК середнього ступеня – 18 пацієнтів, 4 пацієнта - НВК важкого ступеня. Контрольну групу склали 15 практично здорових людей (донорів).

Діагнози ХК та НВК були встановлені згідно із загальноприйнятими стандартами діагностики в гастроентерології. Ступінь тяжкості захворювання визначали з огляду на клінічні дані, результати лабораторного, рентгенологічного, ендоскопічного досліджень та морфологічного обстеження біоптатів слизової оболонки кишечника.

Подані для публікації матеріали не заперечують положенням біоетики.

Матеріалом для дослідження імунологічних показників служила венозна кров, яку забирали з ліктьової вени у об’ємі 10 мл вранці надшесердця. Мононуклєарні клітини виділяли із периферичної венозної крові пацієнтів в градієнті щільності 1,077 г/см. Рівень В-лімфоцитів визначали за допомогою моноклональних антитіл фірми “Сорбент ТМ” до молекул СД22. Циркулюючи імунні комплекси (ЦІК) визначали за методом V. Haskova.

Визначення кількісного вмісту імуноглобулінів (Ig) класів А, М, G в сироватці крові проводили методом кількісного імуноферментного аналізу (ІФА) за допомогою тест-систем ТОВ НВЛ “Гранум” (м. Харків) за рекомендаціями виробника. Рівень ІЛ-10, TNF-α в сироватці крові визначали ІФА набори реактивів фірми «Вектор-БЕСТ», Росія.

ІФА виконували за допомогою імуноферментного аналізатору “Stat Fax 303 Plus” (США), на якому проводили вимірювання оптичної щільності при довжині хвилі 450 нм та 630 нм.

Визначення КЖК у калі проводили за допомогою апаратно-програмного комплексу для медичних досліджень, з використанням газового хроматографу «Хроматек-Кристал 5000» згідно методу, який детально описаний раніше [20].

Для оптимізації математичної обробки результати вводили в базу даних, що побудована за допомогою електронних таблиць Microsoft Excel. Статистичне опрацювання результатів виконали за допомогою пакета прикладних програм Statistica 6.1 (серійний номер AGAR909 E415822FA). Для статистичного аналізу даних використовували дескриптивну статистику: M - середнє значення показника, m - помилка визначення середнього, порівняння середніх значень змінних здійснювали за допомогою параметричного методу (t-критерію Стьюдента) за нормального розподілу даних ознак, що виражені в інтервальній шкалі. Відповідність виду розподілу ознак закону нормального розподілення перевіряли за допомогою методу Шапіто-Уїлка. В інших випадках використовували непараметричний метод (U-критерій Мана-Уїтні). Різниця середніх значень показників вважалася достовірною при $p<0,05$. Вираженість взаємозв’язків між змінними оцінювали за допомогою значущих коефіцієнтів кореляції Спірмена (r).

Результати досліджень та їх обговорення. У хворих на ХК встановлено вірогідне підвищення вмісту лейкоцитів, тоді як у хворих на НВК це підвищення було не вірогідне (табл.1). При оцінки стану показників гуморального імунітету у хворих на ЗЗК у 20,0 % хворих на НВК та у 33,3 % хворих на ХК встановлено зниження відносної кількість В – лімфоцитів, у решти хворих їх кількість була у межах норми.

У хворих на НВК на фоні збереження нормальної кількості В-лімфоцитів встановлюється вірогідне зниження кількості IgM (в 2,0 рази, $p<0,05$) та IgG (в 1,5 рази, $p<0,05$). У групи хворих на ХК вірогідно знижено рівень IgA (в 1,4 рази, $p<0,05$), IgM (в 2,1 рази, $p<0,05$) та IgG (в 1,4 рази, $p<0,05$) порівняно із контрольною групою, що вказує на зниження гуморальної ланки імунітету. Не встановлено статистично значимої різниці між рівнем IgA, IgM та IgG у хворих на НВК та ХК. Тоді як, концентрація IgG4 у групи хворих на НВК була вірогідно вище в 2,8 рази ($p<0,05$) та в 2,7 рази ($p<0,05$) порівняно із його рівнем у групі контролю та хворих на ХК, відповідно.

Таблиця 1 – Показники імунного статусу у хворих на ЗЗК, (M±m)

Показник, од. виміру	ЗЗК (n=34)	НВК (n=25)	ХК (n=9)	Контрольна група (n=15)
Лейкоцити, 10^9/л	7,23±0,36*	6,78±0,53	8,57±1,1* #	5,35±0,21
Лімфоцити, %	28,9±1,37	32,24±1,92	24,78±3,89	28,71±0,81
Лімфоцити, 10^9/л	2,0±0,11	2,12±0,19*	1,88±0,3	1,61±0,07
СД22+, %	16,45±0,65	16,88±0,96	18,0±2,13	14,78±0,48
СД22+, 10^9/л	0,34±0,03*	0,37±0,05*	0,31±0,06	0,25±0,01
ЦІК, од.опт.щ.	3,42±0,27	4,11±0,66	3,2±0,89	3,42±0,23
IgA, г/л	1,77±0,07	1,89±0,11	1,64±0,13*	2,25±0,26
IgM, г/л	0,72±0,03*	0,75±0,04*	0,72±0,05*	1,53±0,10
IgG, г/л	8,41±0,22*	8,48±0,31*	9,12±0,61*	12,72±0,42
IgG4, г/л	1,59±0,15*	1,68±0,16*	0,63±0,26#	0,6±0,15

Примітки: 1. * – $p<0,05$ достовірність відмін у порівнянні з контрольною групою;
2. # – $p<0,05$ достовірність відмін у порівнянні з групою хворих на НВК.

Вміст ЦІК у досліджених хворих на ЗЗК коливався від 0,8 до 10,2 од.опт.щ. Середні показники становили (4,11±0,66) од.опт.щ. у хворих на НВК і (3,2±0,89) од.опт.щ. у хворих на ХК (табл. 1). Статистично значимої різниці між рівнем ЦІК у хворих на НВК та ХК не встановлено.

Метод газової хроматографії з визначення абсолютного та відносного вмісту КЖК у копрофільтраті дозволяє досить швидко та неінвазивно оцінити структурні зміни та метаболічну активність мікрофлори кишечника.

Для більш детального вивчення порушень в мікробіоценозі кишечнику у пацієнтів з ЗЗК ми досліджували вміст КЖК C_2-C_4 у калі. Як в групі з ЗЗК, так і в групах з НВК та ХК, спостерігались різнонаправлені зміни метаболічної активності мікрофлори, що проявлялось змінами як сумарного загального вмісту, так і показників окремих КЖК відносно здорових осіб (табл. 2). Виявлено, що рівень оцтової кислоти (С2) вірогідно знижувався в групі хворих ЗЗК в 15,4 разів, в групі НВК в 14,3 рази та в групі ХК в 11,0 разів, ($p<0,001$) відносно контролю (табл. 2).

Аналіз вмісту КЖК у копрофільтраті у пацієнтів з ЗЗК вказував на вірогідне підвищення пропіонової кислоти, що спостерігалося як у пацієнтів на НВК так і ХК в 1,7 рази до (0,008±0,0001) мкг/мкл та в 2,8 рази до (0,013±0,001) мкг/мкл, ($p<0,001$) відповідно, що може вказувати на порушення мікроциркуляції в слизовій кишечника та

уповільнення метаболічних процесів, так як пропіонова жирна кислота є регулятором метаболічних процесів ліпідного обміну.

Таблиця 2. - Вміст КЖК у копрофільтраті пацієнтів з ЗЗК, (M±m)

Показник/ Кислоти, мкг/мкл	ЗЗК (n=34)	НВК (n=25)	ХК (n=9)	Контроль (n=7)
Оцтова	0,015±0,002***	0,014±0,003***	0,018±0,006***	0,20±0,003
Пропіонова	0,009±0,0001***	0,008±0,0001***	0,013±0,001***	0,0045±0,0002
Масляна	0,041±0,007***	0,039±0,008***	0,046±0,001***	0,08±0,001
Σ (С2-С4)	0,021±0,003***	0,02±0,003***	0,025±0,002***	0,008±0,001
AI	4,81±0,99***	5,23±0,98**	3,61±0,70**	0,735±0,018

Примітки: 1. ** – $p<0,01$ – вірогідність змін, у порівнянні з групою контролю;

2. *** – $p<0,001$ – вірогідність змін, у порівнянні з групою контролю.

Виявлено зниження масляної кислоти у пацієнтів на НВК в 2 рази до (0,039±0,008) мкг/мкл та у пацієнтів на ХК в 1,7 рази до (0,046±0,001) мкг/мкл, ($p<0,001$) у порівнянні з контролем (0,08±0,001) мкг/мкл (табл. 2).

При визначенні показників анаеробного індексу (AI) було встановлено, що у контролі він дорівнював 0,735±0,018 мг/мл, його підвищення спостерігалось в 6,5 разів в групі хворих з ЗЗК до (4,81±0,99) $p<0,001$, в 7 разів в групі пацієнтів з НВК до (5,23±0,98), в 4,9 рази групі хворих на ХК – до (3,61±0,70), $p<0,01$ (табл. 2).

Проведено аналіз показників в залежності від тяжкості перебігу НВК (табл. 3). У хворих на НВК легкого ступеня нами встановлено підвищення рівня В-клітин в 1,2 рази ($p>0,05$). Тоді як рівень IgA та IgG вірогідно не відрізнявся від норми. Рівень IgM знижувався в 1,9 рази ($p<0,05$)у хворих на НВК легкого ступеня, в 2,0 рази ($p<0,05$) у хворих на НВК середнього ступеня та в 2,2 рази ($p<0,05$) у хворих на НВК важкого ступеня. Вміст IgG у сироватці крові у хворих на НВК середнього ступеня та у хворих на НВК важкого ступеня був достовірно знижений в 1,6 рази ($p<0,05$) відносно контрольної групи.

Підвищення рівня ЦІК у сироватці крові ми спостерігали у 66,7% хворих з легким ступенем та у всіх хворих з важким ступенем перебігу НВК.

Таблиця 3 – Показники імунного статусу в залежності від тяжкості перебігу НВК, (M±m)

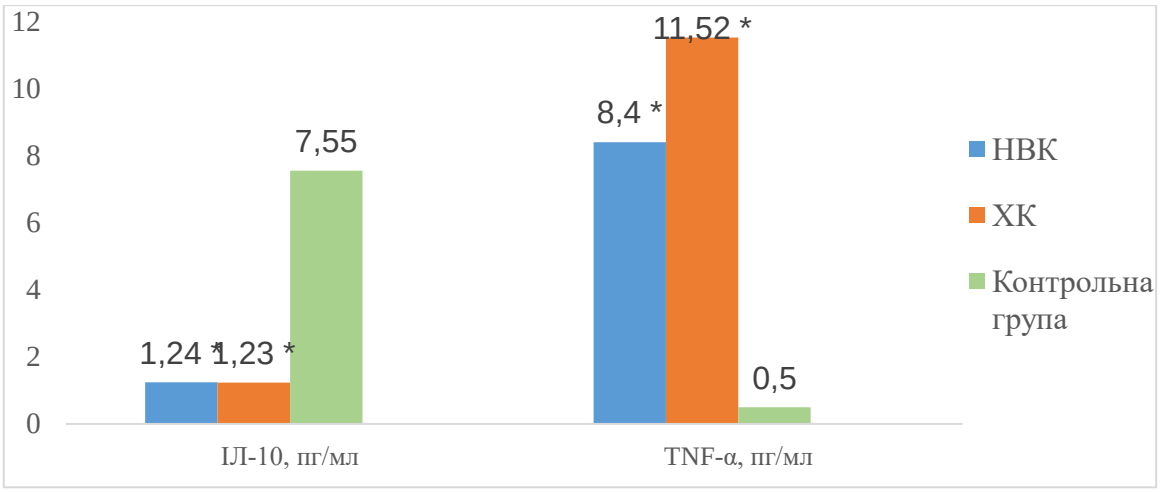
Показник, од. виміру	НВК легкого ступеня (n=3)	НВК середнього ступеня (n=18)	НВК важкого ступеня (n=4)	Контрольна група (n=15)
Лейкоцити, 10^9/л	3,77±0,37*#	7,44±0,57	6,0±1,6	5,35±0,21
Лімфоцити, %	37,67±5,04	31,69±2,29	28,5±3,5	28,71±0,81
Лімфоцити, 10^9/л	1,4±0,06	2,3±0,22*	1,75±0,65	1,61±0,07
СД22+, %	17,33±3,71	16,83±1,23	16,75±0,636	14,78±0,48
СД22+, 10^9/л	0,24±0,05	0,41±0,06*	0,31±0,12	0,25±0,01
ЦІК, од.опт.щ.	6,1±4,1	3,22±0,59	4,55±0,05	3,42±0,23
IgA, г/л	1,79±0,26	1,9±0,14	1,91±0,21	2,25±0,26
IgM, г/л	0,81±0,06*	0,75±0,06*	0,69±0,08*	1,53±0,10
IgG, г/л	10,56±1,26	8,18±0,28*	8,18±0,86*	12,72±0,42
IgG4, г/л	1,73±0,43*	1,89±0,16*	0,73±0,34#	0,6±0,15

Примітки: 1. * – $p<0,05$ достовірність змін у порівнянні з контрольною групою;

2. # – $p<0,05$ достовірність змін у порівнянні з групою НВК середнього ступеня.

У ході роботи було вивчено рівень прозапальних та протизапальних цитокінів у хворих на ЗЗК (рис. 1). Концентрація TNF-α у хворих на НВК та ХК була вірогідно вищою в 16,8 рази ($p<0,05$) та в 23,0 рази ($p<0,05$) відповідно, у порівнянні з контрольною групою.

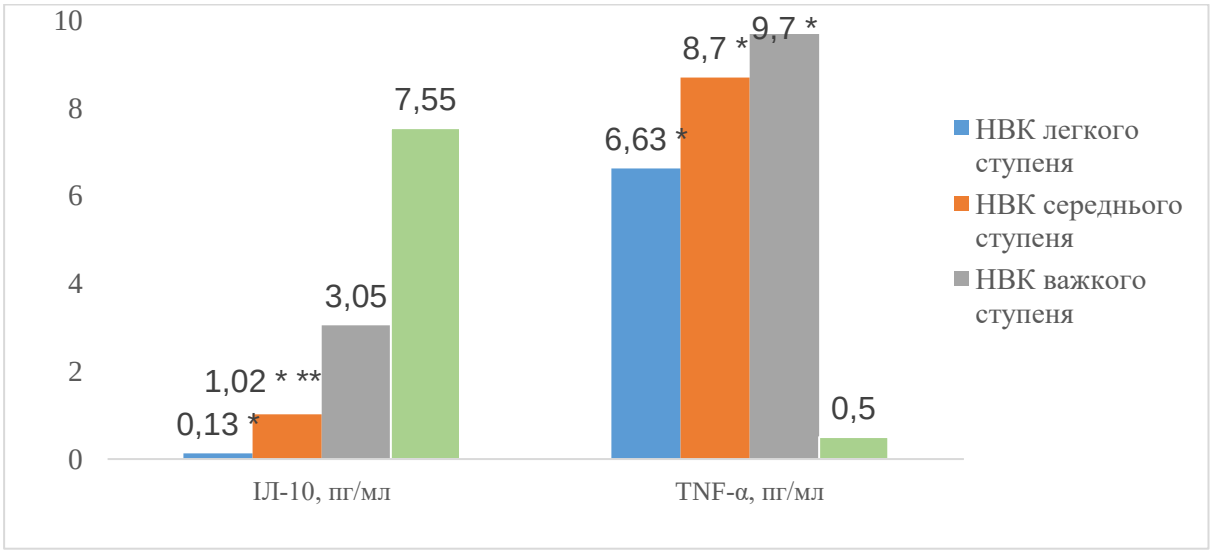
Тоді як, медіана рівня ІЛ-10 у хворих на НВК та ХК (в 6,1 рази, $p<0,05$) вірогідно знижена порівняно із групою контролю. В результаті визначення співвідношення рівня прозапальних та протизапальних цитокінів (TNF-α/ІЛ-10) було встановлені зміни їх балансу в бік прозапальних цитокінів у хворих на ЗЗК в порівнянні із групою контролю (рис. 1). Ці зміни найбільш виражені у хворих на НВК. У хворих на ЗЗК порушення співвідношення TNF-α/ІЛ-10 в бік прозапального цитокіну пов’язане із зростанням запалення.



*Примітка: * – p<0,05 достовірність змін у порівнянні з контрольною групою.*

Рисунок 1. Показники цитокінового статусу у хворих на ЗЗК

Крім того, встановлена тенденція до збільшення рівня із збільшення ступеня тяжкості перебігу НВК (рис. 2). Рівень TNF-α був вірогідно вищий у хворих на НВК легкого ступеня (в 13,3 рази, p<0,05), у хворих на НВК середнього ступеня (в 17,4 рази, p<0,05) та у хворих на НВК тяжкого ступеня (в 19,4 рази, p<0,05) порівняно із його рівнем у групі контролю.



*Примітки: 1. * – p<0,05 достовірність змін у порівнянні з контрольною групою;*

*2. ** – p<0,05 достовірність змін у порівнянні з групою НВК легкого ступеня.*

Рисунок 2. Показники цитокінового статусу в залежності від тяжкості перебігу НВК

Аналіз отриманих даних пацієнтів з НВК в залежності від ступеня тяжкості захворювання показав, що рівень оцтової кислоти (С2) вірогідно знижувався в групі НВК легкого ступеня тяжкості в 15,4 разів, в групі НВК середнього ступеня тяжкості в 14,3 рази та в групі НВК важкого ступеня тяжкості в 16,6 разів, ($p<0,001$) відносно контрольної групи (табл. 4). Це, вказувало на виражене пригнічення продуцентів цього метаболіту (більшість анаеробних популяцій *E. coli*) можливо за рахунок дисбіозу кишечнику у даних хворих. Вміст пропіонової кислоті (C_3) в усіх групах мав тенденцію до підвищення відносно норми ($p>0,05$). Також були вірогідно знижені показники масляної кислоти (C_4), яка є енергосубстратом для епітеліоцитів товстої кишки в 2 рази в групах пацієнтів з НВК легкого ступеня тяжкості та з НВК середнього ступеня тяжкості. При цьому її концентрація (C_4) в групі пацієнтів з НВК важкого ступеня тяжкості мало суттєве вірогідне зниження в 2,8 рази відносно здорових осіб, ($p<0,01$). Виявлено підвищення вмісту загального вмісту КЖК у копрофільтраті за рахунок підвищення вмісту пропіонової кислоти.

В залежності від ступеня тяжкості НВК у пацієнтів реєструвалися також підвищені значення АІ: у пацієнтів легкого ступеня тяжкості в 6 разів, середнього ступеня тяжкості – в 5,3 рази, важкого ступеня тяжкості в 3,7 рази в порівнянні з контролем (табл. 4).

Таблиця 4. Вміст КЖК у копрофільтраті пацієнтів з НВК в залежності від тяжкості перебігу хвороби, (M±m)

Показник/ Кислоти, мкг/мкл	НВК легкого ступеня (n=3)	НВК ереднього ступеня (n=18)	НВК важкого ступеня (n=4)	Контрольна група (n=7)
Оцтова	0,013±0,001***	0,014±0,004***	0,012±0,003***	0,20±0,003
Пропіонова	0,009±0,0001	0,008±0,002	0,008±0,002	0,0045±0,0002
Масляна	0,040±0,001***	0,041±0,001***	0,029±0,002**	0,08±0,001
Σ (С2-С4)	0,02±0,0007**	0,021±0,002***	0,016±0,005	0,008±0,001
АІ	4,51±0,92**	3,86±0,89**	2,70±0,67*	0,735±0,018

Примітки:

1. *– $p<0,05$ – вірогідність змін, у порівнянні з групою контролю;

2. **– p<0,01 – вірогідність змін, у порівнянні з групою контролю;

2. *** – p<0,001 – вірогідність змін, у порівнянні з групою контролю.

Було визначено, що у хворих з ЗЗК, а також при в залежності від нозоології та ступеня тяжкості захворювання процес утворення, всмоктування і утилізації КЖК порушувався, тому вміст і особливо співвідношення окремих КЖК у копрофільтраті змінювались. Отже, різноспрямовані відхилення від фізіологічної норми рівнів цих метаболітів можуть служити біохімічними маркерами структурних і функціональних порушень кишкового мікробіоценозу.

КЖК можуть мати протизапальний вплив на слизову кишечнику, проте, слід зазначити, що в деяких ситуаціях був показаний прозапальний ефект КЖК, поясненням цього факту є здатність КЖК посилювати міграцію лейкоцитів. В умовах анаеробної бактеріальної інфекції та порушення цілісності кишкового епітелію підвищена концентрація КЖК може призводити до надмірної акумуляції нейтрофілів та посилення запального процесу, в різних умовах КЖК можуть мати різноспрямовану дію на кишковій епітелій: прозапальну або протизапальну [2, 19].

Враховуючи вищенаведене, визначення показників вмісту КЖК у копрофільтраті пацієнтів з ЗЗК мають важливе діагностичне і прогностичне значення.

Отже, нами встановлено, що у хворих на НВК збільшення ступеня тяжкості перебігу хвороби супроводжується зниження гуморальної ланки імунітету та зростанням рівня TNF-α. Підвищений рівень прозапальних цитокінів (TNF-α) в крові хворих на ЗЗК не індукував секрецію протизапальних цитокінів (ІЛ-10), що приводить до надмірної активації макрофагів, підтримки запального процесу та прогресуванню хвороби. Найвищі показники TNF-α свідчать про значні зміни системи імунної відповіді при ЗЗК, так як відомо, що ступінь підвищення вмісту даного цитокіну в сироватці крові корелює з тяжкістю перебігу захворювання [13, 15].

В нашому досліджені встановлений зв'язок між рівнем показників гуморальної ланки імунітету, цитокінової регуляції та вмістом КЖК у калі, що може вказувати на участь метаболітів кишечнику в активації імунітету людини. Так, проведений кореляційний аналіз дозволив встановити у хворих на ЗЗК зв'язок рівня ЦІК із вмістом: TNF-α (r=0,405; p=0,024), оцтовою кислотою (С2) (r= - 0,437; p=0,014), масляною кислотою (С4) (r= - 0,357; p=0,048) та ∑С2-С4 (r= 0,381; p=0,034), виявлена асоціація підвищеного рівня СД22+ лімфоцитів із АІ (r=0,358; p=0,038).

Висновки

1. Встановлено зниження гуморальної ланки імунітету, про що свідчило вірогідно знижений рівень IgA (в 1,4 рази, $p<0,05$), IgM (в 2,1 рази, $p<0,05$) та IgG (в 1,4 рази, $p<0,05$) та кількості IgM (в 2,0 рази, $p<0,05$) та IgG (в 1,5 рази, $p<0,05$) у хворих на ХК порівняно із контрольною групою. Виявлені зміни супроводжувалися підвищенням вмісту пропіонової (С3) кислоти, ($p<0,001$) та зниженням оцтової (С2), ($p<0,001$) і масляної (С4), ($p<0,001$) кислот у копрофільтраті хворих на ЗЗК.

2. Виявлено активацію імунної системи у хворих при ЗЗК на що вказував вірогідно підвищений вміст TNF-α у хворих на НВК (в 16,8 рази, $p<0,05$) та ХК (в 23,0 рази, $p<0,05$) у порівнянні з контрольною групою. Рівень TNF-α був вірогідно вищий у хворих на НВК легкого ступеня (в 13,3 рази, $p<0,05$), у хворих на НВК середнього ступеня (в 17,4 рази, $p<0,05$) та у хворих на НВК тяжкого ступеня (в 19,4 рази, $p<0,05$) порівняно із його рівнем у групі контролю; встановлено, що в групі пацієнтів з НВК важкого ступеня тяжкості відбувалося суттєве зниження вмісту масляної кислоти (С4) в 2,8 рази відносно контрольної групи ($p<0,01$).

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів при підготовці даної статті.

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

Внесок авторів: Степанов Ю.М. — концепція та дизайн дослідження, редагування тексту; Стойкевич М.В. — відбір пацієнтів, обробка клінічних даних. Кленіна І.А. — збір та обробка матеріалу, виконання біохімічних досліджень, статистична обробка, написання статті; Татарчук О.М— збір та проведення імуноголічних досліджень, статистична обробка та аналіз отриманих результатів;

Conflict of interest. The authors declare that there is no conflict of interest.

Financial Support. The work is carried in accordance with the scientific research plan of the Department of Intestinal Diseases 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: Stepanov Yu.M. — concept and design of research; Stoikevych M.V. — selection of patients, processing of clinical data. Klenina I.A. — collection and

processing of material, performing of biochemical research on the content of SCFA, statistical processing of material, editing of the article; Tatarchuk O.M. — conducting immunological tests and their analysis, writing an article;

Information about authors:

Yu.M. Stepanov, MD, PhD, DSc, Professor, Director of the State Institution "Institute Gastroenterology of National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Dnipro, Ukraine; Chief Specialist of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine in Gastroenterology and Dietetics, Honored Doctor of Ukraine; e-mail: gastro@amnu.gov.ua; https://orcid.org/0000-0002-6721-2468.

M.V. Stoikevych, PhD, Head of the Department of intestinal diseases, SI "Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Dnipro, Ukraine; e-mail: stoykevich.marina@gmail.com; https://orcid.org/0000-0002-6111-7267.N.S.

I.A. Klenina, PhD, Heads of the research sector, SI "Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Dnipro, Ukraine; e-mail: inklenina@gmail.com; https://orcid.org/0000-0002-5878-179X.

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; https://orcid.org/0000-0002-0672-972X.

Література

1. Дорофеев АЭ, Ткач СМ, Дорофеева АА и др. Влияние базисной терапии на состав кишечной микробиоты у пациентов с неспецифическим язвенным колитом. Гастроентерологія, 2020;54(2):10-14.

2. Carstens A. The Gut Microbiota in Collagenous Colitis Shares Characteristics With Inflammatory Bowel Disease-Associated Dysbiosis. Clin. Transl. Gastroenterol. 2019 Jul.;10 (7):e00065. doi:10.14309/ctg.0000000000000065.

3. Степанов ЮМ, Скирда ІЮ, Петішко ОП. Хронічні запальні захворювання кишечника: особливосиі епідеміології в Україні. Гастроентерологія, 2017;51(2):11-19. doi: 10.22141/2308-2097.51.2.2017.101703.

4. Степанов ЮМ, Псарьова ІВ. Роль біомаркерів у діагностиці хронічних запальних захворювань кишечника. Гастроентерологія. 2017;51(1):56-63. doi: 10.22141/2308-2097.51.1.2017.97872.

5. Псарьова ІВ. Зв'язок біомаркерів запалення в товстій кишці з індексами активності неспецифічного виразкового коліту. Гастроентерологія, 2020;54(1):38-43. doi: 10.22141/2308-2097.54.1.2020.199140

6. Tsai Y-W , Fu S-H, Dong J-L, Chien M-W, Liu Y-W, Hsu C-Y, Sytwu H-K. Adipokine-Modulated immunological homeostasis shapes the pathophysiology of inflammatory bowel disease. Int J Mol Sci. 2020 Dec 15;21(24):9564. doi: 10.3390/ijms21249564.

7. Дорофеев АЭ, Рассохина ОА. Генетическая детерминированность изменений кишечного микробиома и его роль в патогенезе воспалительных заболеваний кишечника. Сучасна гастроентерологія. 2013;6:61-69.

8. Khan I., Ullah N., Zha L., Bai Y. et al. Alteration of Gut Microbiota in Inflammatory Bowel Disease (IBD): Cause or Consequence? IBD Treatment Targeting the Gut Microbiome. Pathogens. 2019 Sep.;8(3):126. doi: 10.3390/pathogens8030126.

9. Venegas DP, Marjorie K. De la Fuente, Landskron G, González MJ, Quera R, Dijkstra G., et al. Short Chain Fatty Acids (SCFAs)-Mediated Gut Epithelial and Immune Regulation and Its Relevance for Inflammatory Bowel Diseases Front Immunol. 2019;10:277. doi: 10.3389/fimmu.2019.00277

10. Scott NA, Andrusaite A, Andersen P, Lawson M, Alcon-Giner C, Leclaire C, et al. Antibiotics induce sustained dysregulation of intestinal T cell immunity by perturbing macrophage homeostasis. Sci Transl Med. 2018; 10(464):eaao4755. doi: 10.1126 / scitranslmed.aao4755.

11. Скрипник І. М., Криворучко І. Г., Гопко О. Ф., Приходько Н. П. Вплив Bifidobacterium infantis 35624 на клінічний перебіг синдрому подразненого кишечника залежно від фенотипу: результати локального неінтервенційного проспективного епідеміологічного дослідження «СПК-Контроль». Сучасна гастроентерологія. 2020;4(114):13–21. doi: https://doi.org/10.30978/MG-2020-4-13.

12. Sun M, Wu W, Liu Z, Cong Y. Microbiota metabolite short chain fatty acids, GPCR, and inflammatory bowel diseases. Journal of Gastroenterology. 2016; 52(1): 1–8. doi:10.1007/s00535-016-1242-9.

13. Lee SH, Kwon JE, Cho ML. Immunological pathogenesis of inflammatory bowel disease. Intestinal Research. 2018;16(1):26-42. doi: 10.5217/ir.2018.16.1.26.

14. Jae Hee Cheon. Understanding the complications of anti-tumor necrosis factor therapy in East Asian patients with inflammatory bowel disease. J Gastroenterol Hepatol. 2017;32(4):769-777. doi: 10.1111/jgh.13612.

15. Nakase H. Treatment of inflammatory bowel disease from the immunological perspective. Immunological Medicine. 2020;43(2):79-86. doi: 10.1080/25785826.2020.1751934

16. Conrad MA, Kelsen JR. Genomic and Immunologic Drivers of Very Early-Onset Inflammatory Bowel Disease. Pediatr Dev Pathol. 2019 May-Jun;22(3):183–193. doi: 10.1177/1093526619834807.

17. Armstrong H, Alipour M, Valcheva R, et al. Host immunoglobulin G selectively identifies pathobionts in pediatric inflammatory bowel diseases. Microbiome. 2019 Jan3;7(1):1. doi: 10.1186/s40168-018-0604-3.

18. de Souza HS, Fiocchi C. Immunopathogenesis of IBD: current state of the art. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2016;13:13-27.

19. Ahluwalia B, Moraes L, Magnusson MK, Öhman L. Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease and mechanisms of biological therapies. Scandinavian Journal of Gastroenterology. 2018;53:4. doi: 10.1080/00365521.2018.1447597

20. Yu.M. Stepanov, M.V. Titova, I.A. Klenina, O.M. Tatarchuk. Age peculiarities of intestinal microbiocenosis disorders in the patients with ulcerative colitis and Crohn's disease. Гастроентерологія. 2020;54(4):14-20. doi: https://doi.org/10.22141/2308-2097.54.4.2020.216710.

Reference

1. Dorofeyev, AE, Tkach SM, Dorofeyeva AA, Moseiko VV, Derkach IA, Kiryan EA. Influence of basic therapy on the intestinal microbiota composition in patients with ulcerative colitis. Gastroenterology. 2020;54(2):10-14. (in Ukrainian).

2. Carstens A. The Gut Microbiota in Collagenous Colitis Shares Characteristics With Inflammatory Bowel Disease-Associated Dysbiosis. Clin. Transl. Gastroenterol. 2019 Jul.;10 (7):e00065. doi:10.14309/ctg.0000000000000065.

3. Stepanov YuM, Skyrda IYu, Petishko OP. Chronic inflammatory bowel diseases: epidemiological features in Ukraine. Gastroenterology, 2017;51(2):11-19. doi: 10.22141/2308-2097.51.2.2017.101703. (in Ukrainian).

4. Stepanov YuM, Psareva IV. The role of biomarkers in the diagnostics of chronic inflammatory bowel diseases Gastroenterology, 2017;51(1):56-63. doi: 10.22141/2308-2097.51.1.2017.97872. (in Ukrainian).

5. Psareva IV. Association of biomarkers of intestinal inflammation with indexes of ulcerative colitis activity. Gastroenterology, 2020;54(1):38-43. doi: 10.22141/2308-2097.54.1.2020.199140 (in Ukrainian).

6. Tsai Y-W , Fu S-H, Dong J-L, Chien M-W, Liu Y-W, Hsu C-Y, Sytwu H-K. Adipokine-Modulated immunological homeostasis shapes the pathophysiology of inflammatory bowel disease. Int J Mol Sci. 2020 Dec15;21(24):9564. doi: 10.3390/ijms21249564.

7. Dorofeyev AE, Rassokhina OO. Genetic determinism of the intestinal microbiome changes and its role in pathogenesis of inflammatory bowel diseases. Modern gastroenterology. 2013;6:61-69. (in Russian).

8. Khan I, Ullah N, Zha L, Bai Y. et al. Alteration of Gut Microbiota in Inflammatory Bowel Disease (IBD): Cause or Consequence? IBD Treatment Targeting the Gut Microbiome. Pathogens. 2019 Sep.;8(3):126. doi: 10.3390/pathogens8030126

9. Venegas DP, Marjorie K. De la Fuente, Landskron G, González MJ, Quera R, Dijkstra G., et al. Short Chain Fatty Acids (SCFAs)-Mediated Gut Epithelial and Immune Regulation and Its Relevance for Inflammatory Bowel Diseases Front Immunol. 2019;10:277. doi: 10.3389/fimmu.2019.00277

10. Scott NA, Andrusaite A, Andersen P, Lawson M, Alcon-Giner C, Leclaire C, et al. Antibiotics induce sustained dysregulation of intestinal T cell immunity by perturbing macrophage homeostasis. Sci Transl Med. 2018; 10(464):eaao4755. doi: 10.1126 / scitranslmed.aao4755.

11. Skrypnyk IM., Kryvoruchko IH, Gopko OF, Prykhodko NP. Influence of Bifidobacterium infantis 35624 on the clinical course of irritable bowel syndrome depending on the phenotype: results of a local non-interventional prospective epidemiological study IBS-Control. Modern gastroenterology. 2020;4(114):13–21. doi: https://doi.org/10.30978/MG-2020-4-13. (in Ukrainian).

12. Sun M, Wu W, Liu Z, Cong Y. Microbiota metabolite short chain fatty acids, GPCR, and inflammatory bowel diseases. Journal of Gastroenterology. 2016; 52(1): 1–8. doi:10.1007/s00535-016-1242-9.

13. Lee SH, Kwon JE, Cho ML. Immunological pathogenesis of inflammatory bowel disease. Intestinal Research. 2018;16(1):26-42. doi: 10.5217/ir.2018.16.1.26.

14. Jae Hee Cheon. Understanding the complications of anti-tumor necrosis factor therapy in East Asian patients with inflammatory bowel disease. J Gastroenterol Hepatol. 2017;32(4):769-777. doi: 10.1111/jgh.13612.

15. Nakase H. Treatment of inflammatory bowel disease from the immunological perspective. Immunological Medicine. 2020;43(2):79-86. doi: 10.1080/25785826.2020.1751934

16. Conrad M.A., Kelsen J.R. Genomic and Immunologic Drivers of Very Early-Onset Inflammatory Bowel Disease. Pediatr Dev Pathol. 2019 May-Jun;22(3):183–193. doi: 10.1177/1093526619834807

17. Armstrong H, Alipour M, Valcheva R, et al. Host immunoglobulin G selectively identifies pathobionts in pediatric inflammatory bowel diseases. Microbiome. 2019 Jan3;7(1):1. doi: 10.1186/s40168-018-0604-3.

18. de Souza HS, Fiocchi C. Immunopathogenesis of IBD: current state of the art. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2016;13:13-27.

19. Ahluwalia B, Moraes L, Magnusson MK, Öhman L. Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease and mechanisms of biological therapies. Scandinavian Journal of Gastroenterology. 2018;53:4. doi: 10.1080/00365521.2018.1447597

20. Stepanov YuM., Titova MV., Klenina IA, Tatarchuk OM. Age peculiarities of intestinal microbiocenosis disorders in the patients with ulcerative colitis and Crohn's disease. Gastroenterology. 2020;54(4):14-20. doi: https://doi.org/10.22141/2308-2097.54.4.2020.216710.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів при підготовці даної статті.

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

Внесок авторів: Степанов Ю.М. — концепція та дизайн дослідження, редагування тексту; Татарчук О.М. — збір та проведення імуноголічних досліджень, статистична обробка й аналіз отриманих результатів; Кленіна І.А. — збір та обробка матеріалу, виконання досліджень вмісту КЖК, статистична обробка, написання статті; Стойкевич М.В. — відбір пацієнтів, обробка клінічних даних.

ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК ГУМОРАЛЬНОЇ ЛАНКИ ІМУНІТЕТУ, ЦИТОКІНОВОЇ РЕГУЛЯЦІЇ З КОРОТКОЛАНЦЮГОВИМИ ЖИРНИМИ КИСЛОТАМИ У ХВОРИХ ІЗ ЗАПАЛЬНИМИ ЗАХВОРЮВАННЯМИ КИШЕЧНИКА

Степанов Ю.М., Татарчук О.М., Кленіна І.А., Стойкевич М.В.

ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України», м. Дніпро, Україна

Резюме. Актуальність. Патогенез запальних захворювань кишечника (ЗЗК) в наш час залишається до кінця не вивченим. Сучасні дослідження спрямовані на вивчення стану гуморального імунітету, продукції та кишкового всмоктування коротколанцюгових жирнихкислот (КЖК), співвідношення яких є важливим показником цілісності мікробної спільноти кишечника.

Метою дослідження було оцінити стан гуморальної ланки імунітету, цитокінової регуляції та вмісту коротколанцюгових жирних кислот у калі хворих із запальними захворюваннями кишечника.

Матеріали та методи. Проведено обстеження 34 хворих на ЗЗК, які знаходилися на лікуванні в відділенні захворювань кишечнику ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України». Усі хворі були розділені на дві групи: I група – 25 хворих на НВК та II група – 9 хворих на ХК. Діагнози ХК та НВК були встановлені згідно із загальноприйнятими стандартами діагностики в гастроентерології. Проведене визначення фекальних КЖК за допомогою апаратно-програмного комплексу для медичних досліджень, з використанням газового хроматографу «Хроматек-Кристал 5000». Визначали рівень СД22+ лімфоцитів, імуноглобулінів А, М, G, інтерлейкіну-10 та TNF-α**.**

Результати. Встановлено зниження гуморальної ланки імунітету, про що свідчило вірогідно знижений рівень IgA (в 1,4 рази, $p<0,05$), IgM (в 2,1 рази, $p<0,05$) та IgG (в 1,4 рази, $p<0,05$) та кількості IgM (в 2,0 рази, $p<0,05$) та IgG (в 1,5 рази, $p<0,05$) у хворих на ХК порівняно із контрольною групою. Виявлені зміни супроводжувалися підвищенням вмісту пропіонової (С3) кислоти, ($p<0,001$) та зниженням оцтової (С2), ($p<0,001$) і масляної (С4), ($p<0,001$) кислот у копрофільтраті хворих на ЗЗК.

Виявлено активацію імунної системи у хворих при ЗЗК на що вказував вірогідно підвищений вміст TNF-α у хворих на НВК (в 16,8 рази, $p<0,05$) та ХК (в 23,0 рази, $p<0,05$) у порівнянні з контрольною групою. Рівень TNF-α був вірогідно вищий у хворих на НВК

легкого ступеня (в 13,3 рази, p<0,05), у хворих на НВК середнього ступеня (в 17,4 рази, p<0,05) та у хворих на НВК тяжкого ступеня (в 19,4 рази, p<0,05) порівняно із його рівнем у групі контролю; встановлено, що в групі пацієнтів з НВК важкого ступеня тяжкості відбувалося суттєве зниження вмісту масляної кислоти (С4) в 2,8 рази відносно контрольної групи (p<0,01).

Висновки. В нашому досліджені встановлений зв'язок між рівнем показників гуморальної ланки імунітету, цитокінової регуляції та вмістом КЖК у калі, що може вказувати на участь метаболітів кишечнику в активації імунітету людини.

Ключові слова: коротколанцюгові жирні кислоти; гуморальний імунітет; цитокіни; неспецифічний виразковий коліт; хвороба Крона

RELATIONSHIP BETWEEN THE HUMORAL LINK OF IMMUNITY, CYTOKINE REGULATION WITH SHORT-CHAIN FATTY ACIDS IN PATIENTS WITH INFLAMMATORY BOWEL DISEASES

Tatarchuk O. M., Klenina I.A., Stoikevych M.V.

SI "Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Dnipro.

Abstract. Background. The pathogenesis of chronic inflammatory bowel disease (IBD) is still not fully clarified. Modern research is aimed at studying the state of humoral immunity, production and intestinal absorption of short-chain fatty acids (SCFA), the ratio of which is an important indicator of the integrity of the intestinal microbial community.

The purpose was to assess the state of the humoral part of immunity, cytokine regulation and the content of short-chain fatty acids in the feces of patients with inflammatory bowel disease.

Materials and methods. The study, which was carried out at the Department of Intestinal Diseases of the Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, involved 34 patients with IBD, who according to nosology were divided into 2 groups: group I — those with ulcerative colitis (UC) (n = 25), group II — individuals with Crohn's disease (CD) (n = 9). The diagnoses of CD and UC were established according to generally accepted diagnostic standards in gastroenterology. Determination of fecal SCFA was carried out by chromatographic method with the use

of hardware-software complex for medical researches on the basis of the gas chromatographer Chromatec Crystal 5000. The level of CD22 + lymphocytes, immunoglobulins A, M, G, interleukin-10 and TNF-α was determined.

Results. There was a decrease in the humoral level of immunity, as evidenced by the probably reduced level of IgA (1.4 times, $p < 0.05$), IgM (2.1 times, $p < 0.05$) and IgG (1.4 times, $p < 0.05$) and the amount of IgM (2.0 times, $p < 0.05$) and IgG (1.5 times, $p < 0.05$) in patients with CD compared with the control group. The detected changes were accompanied by an increase in the content of propionic (C3) acid ($p < 0.001$) and a decrease in acetic (C2), ($p < 0.001$) and butyric (C4), ($p < 0.001$) acids in the coprofiltrate of patients with IBD.

The activation of the immune system in patients with IBD was detected, which was indicated by a probably increased content of TNF-α in patients with UC (16.8 times, $p < 0.05$) and CD (23.0 times, $p < 0.05$) compared with the control group. The level of TNF-α was significantly higher in patients with mild UC (13.3 times, $p < 0.05$), in patients with moderate UC (17.4 times, $p < 0.05$) and in patients with Severe UC (19.4 times, $p < 0.05$) compared with its level in the control group; it was found that in the group of patients with severe UC there was a significant decrease in the content of butyric acid (C4) in 2.8 times relative to the control group ($p < 0,01$).

Conclusion. In our study, a relationship was established between the level of humoral immunity, cytokine regulation and the content of FFA in feces, which may indicate the participation of intestinal metabolites in the activation of human immunity.

Keywords: shortchain fatty acids; humoral immunity; cytokines; ulcerative colitis; Crohn's disease.

Information about authors:

Yu.M. Stepanov, MD, PhD, DSc, Professor, Director of the State Institution "Institute Gastroenterology of National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Dnipro, Ukraine; Chief Specialist of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine in Gastroenterology and Dietetics, Honored Doctor of Ukraine; e-mail: gastro@amnu.gov.ua; https://orcid.org/0000-0002-6721-2468.

M.V. Stoikevych, PhD, Head of the Department of intestinal diseases, SI "Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Dnipro, Ukraine; e-mail: stoykevich.marina@gmail.com; https://orcid.org/0000-0002-6111-7267.N.S.

I.A. Klenina, PhD, Heads of the research sector, SI “Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine”, Dnipro, Ukraine; e-mail: inklenina@gmail.com; https://orcid.org/0000-0002-5878-179X.

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; https://orcid.org/0000-0002-0672-972X.