

Національна академія медичних наук України
Державна установа «Інститут гастроентерології НАМН України»

**ДІАГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ IgG4 ПРИ ЗАПАЛЬНИХ
ЗАХВОРЮВАННЯХ КИШЕЧНИКА
(методичні рекомендації)**

Дніпро-2024

Установа-розробник:

Державна установа «Інститут гастроентерології Національної академії медичних наук України»

Автори:

чл.-кор. НАМН України, д.мед.н., професор Степанов Ю.М.;

к.мед.н. Стойкевич М.В.;

доктор філософії Тарасова Т.С.

д.мед.н. Гайдар Ю.А.

к.біол.н., с.н.с. Татарчук О.М.

Рецензент: О.Є. Абатуров, завідувач кафедри педіатрії 1 та медичної генетики Дніпровського державного медичного університету, доктор медичних наук, професор

Затверджено Вченою радою ДУ «Інститут гастроентерології Національної академії медичних наук України», протокол № 7 від 01.10.2024 р.

Затверджено Проблемною комісією «Гастроентерологія», протокол № 2 від 04.10.2024 р.

ЗМІСТ

Перелік скорочень	4
Вступ	5
Патогенетичні аспекти розвитку запальних захворювань кишечника.	6
Діагностика і прогноз запальних захворювань кишечника.	7
Роль IgG4 в діагностиці та прогнозуванні перебігу запальних захворювань кишечника	12
Власні дослідження	20
Можливість використання IgG4, як маркера прогнозування пе запальних захворювань кишечника і розробки алгоритму прогнозування тяжкості перебігу захворювання	40
Практичні рекомендації	46
Список використаних літературних джерел	47

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АП	аутоімунний панкреатит
ГКС	глюкокортикостероїди
ІЛ-10	інтерлейкін-10
ІФА	імуноферментний аналіз
ВК	виразковий коліт
ПК	плазматичні клітини
СО	слизова оболонка
ТК	товста кишка
ЗЗК	запальні захворювання кишечника
ХК	хвороба Крона
ШКТ	шлунково-кишковий тракт
Ig	імуноглобуліни
IgG	імуноглобулін класу G
IgG4-ПХ	IgG4-пов'язані хвороби

ВСТУП

Актуальність теми. Поширеність та медико-соціальне значення запальних захворювань кишечника

Хронічні запальні захворювання кишечника (ЗЗК), до яких відносяться бвиразковий коліт (ВК) і хвороба Крона (ХК) лишаються однією з найбільш вагомих проблем сучасної гастроентерології. За оцінками, більше 1 мільйона жителів в США і 2,5 мільйона в Європі хворіють на ЗЗК і захворюваність продовжує зростати, що в значній мірі збільшує фінансове навантаження на систему охорони здоров'я. У більшості пацієнтів дана патологія діагностується у ранньому віці.

Захворюваність ЗЗК має 2 вікові піки – в 15-25 років і в 55-65 років, однак може розвиватися в будь-якому віці. Серед білого населення ЗЗК зустрічається в 3-5 разів частіше, ніж у афроамериканців, у євреїв – в 3,5 рази частіше, ніж у осіб неєврейської національності.

Перебіг ЗЗК відрізняється рецидивуючим характером, що впливає на якість життя пацієнтів. За світовими даними кумулятивний ризик рецидиву становить 70-80% через 10 років. Майже 50% пацієнтів потребують госпіталізації, пов'язаної з виразковим колітом, а 5-річний ризик повторної госпіталізації становить також 50%. До того ж 5-річний і 10-річний сукупний ризик колектомії при ЗЗК становить 10-15%.

Рівень смертності від ЗЗК становить приблизно 5 випадків на 1 мільйон населення в США, країнах Північної Європи та Великобританії, причому більш високий ризик відзначається у осіб, що перенесли колектомію, і у літніх. Багатоцентрові дослідження та метааналізи демонструють зростаючу поширеність ЗЗК в країнах, що розвиваються.

Таким чином, ЗЗК має велике медико-соціальне значення, а оптимізація надання медичної допомоги хворим з цією патологією залишається актуальним питанням гастроентерології, вирішення якого дозволить зменшити кількість рецидивів захворювання, знизить частоту ускладнень та

оперативних втручань, і як наслідок поліпшить прогноз та якість життя цих хворих.

Патогенетичні аспекти розвитку запальних захворювань кишечника

ЗЗК являють собою неспецифічні запальні стани, що вражають шлунково-кишковий тракт. Виділяють два основних типи ЗЗК - ХК і ВК, які підрозділяються на категорії за ступенем тяжкості захворювання, локалізації ураження і активністю хвороби. За стандартами верифікація діагнозу ЗЗК спирається на дані клінічних, ендоскопічних і гістологічних досліджень. Незважаючи на нове розуміння імунологічної та генетичної складової ЗЗК, стандартний діагностичний пошук не змінюється. Але складність захворювання часто затримує постановку діагнозу і початок відповідної терапії.

Патогенез ЗЗК ще повністю не вивчений, але вважається, що він є багатофакторним, тобто зумовлений комбінацією декількох етіопатогенетичних компонентів, наприклад: генетична схильність, робота кишкового бар'єра та надмірна вроджена/адаптивна імунна відповідь. Також мають значення екзогенні фактори, а нормальна мікрофлора просвіту кишечника є важливими базовими асоціаціями, які, ймовірно, індукують і закріплюють патогенез ЗЗК.

Детальне знання шляхів, що ведуть до хронічного запалення, дозволяє ефективно лікувати ці захворювання. Вивчення вродженого та адаптивного імунітету, порушеного при ЗЗК, дає вичерпну картину багатофакторної етіології захворювання. Найбільш вивченими патогенетичними процесами є порушення захисного бар'єру кишкового епітелію (первинний захист) та активація прозапальних елементів імунної відповіді, в основному цитокінів 12/23, з одночасним пригніченням антигену.

Травний тракт, завдяки своїй будові та функціям, є місцем постійної взаємодії між зовнішніми компонентами та імунною системою, тому цілісність кишкового бар'єру залишається вирішальною в гомеостазі між

ними. Основними елементами бар'єру є клітини епітелію, з'єднані щільними клітинними контактами, шар слизової оболонки, що покриває їх, та індивідуальний склад мікробіома. Різноманіття мікробіома впливає на імунну відповідь, але зв'язок двосторонній, імунні клітини також здатні модифікувати склад бактеріальної флори травного тракту. Від стабільності епітелію залежить проникнення антигенів зовнішнього середовища через кишкову стінку та подальшу взаємодію їх з клітинами імунної системи.

Дослідження, проведені в цьому напрямку підкреслюють роль генетичних факторів та факторів навколишнього середовища. Хеймен та ін. запропонував два підходи до основних причин ЗЗК: перший - це порушення слизової оболонки збільшує швидкість імунологічної відповіді в мікробіоті людини. І другий - будь-яка зміна складу кишкової флори або порушення функції епітелію стимулює патологічну реакцію у нормальній слизовій оболонці. З іншого боку, Подільський вказував, що патогенність при ЗЗК залежить від таких факторів, як сприйнятливність пацієнта, імунітет слизової оболонки та мікрофлора кишечника.

Дійсно, склад кишкової флори, вочевидь, грає ключову роль в розвитку ЗЗК. Також відомо, що порушення мікробіоти є причиною загострення захворювання та визначає тяжкість запалення.

Діагностика і прогноз запальних захворювань кишечника

Діагностика ЗЗК є складною проблемою сучасної гастроентерології. Середній час між появою перших симптомів і постановкою діагнозу у світі становить близько 19 місяці. Так наприклад діагноз ВК протягом першого року хвороби встановлюють тільки в 20-25 % випадків, в інших випадках хворобу діагностують протягом 3-12 років від початку клінічних симптомів.

Курація таких хворих передбачає комплексний підхід, який включає діагностику, визначення прогнозу, оцінку активності й тяжкості, а також передбачення результату терапії. Кожний з цих аспектів на сьогоднішній день є унікальним, оскільки відсутній єдиний діагностичний тест (як наприклад артеріальний тиск або глікований гемоглобін). Доводиться використовувати

комбінацію симптомів, лабораторних показників, дані ендоскопічного обстеження, гістологічного дослідження. Для ВК характерні зміни слизової оболонки кишечника які локалізуються в прямій кишці і розповсюджуються проксимально на інші відділи товстої кишки (ТК). Найбільш розповсюдженими клінічними симптомами при ВК є болі, діарея з домішками слизу й крові, нудота, блювота, зниження ваги, анемія, також можуть бути присутні позакишкові прояви, такі як артрит, увеїт, дерматит. При ХК ураження може локалізуватися в будь-якій частині шлунково-кишкового тракту (ШКТ) від ротової порожнини до ануса. Для ХК основними клінічними симптомами є біль, діарея, лихоманка. Хронічне запалення при ХК веде до порушення травлення й всмоктування поживних речовин (мальабсорбції), в результаті чого в крові знижується рівень мікроелементів, глюкози, білка, вітамінів, що може викликати виснаження організму. Більше 50 % пацієнтів з ХК протягом перших 10 років після встановлення діагнозу мають стриктурні або перфоративні ускладнення.

Позакишкові прояви виникають приблизно у третини пацієнтів із ЗЗК, а чверть пацієнтів можуть мати позакишкові прояви до діагностики основного захворювання. Периферійний артрит є найбільш поширеним позакишковим проявом захворювання; первинний склерозуючий холангіт та гангренозна піодермія частіше зустрічаються при ВК, ніж при ХК.

Стандартними сучасними етапами діагностики ЗЗК є оцінка захворювання відповідно до Монреальської класифікації, щоб забезпечити чітку комунікацію з фахівцями. Ознаки та симптоми при першому зверненні здебільшого пов'язані з анатомічною локалізацією та тяжкістю захворювання. Всесвітня гастроентерологічна організація розробила рекомендації щодо клінічної діагностики та лікування. Але не зважаючи на розроблені стандарти дослідження 30 % пацієнтів з ЗЗК мають неоднозначний діагноз. Також у 3 Європейському консенсусі з діагностики та лікування ЗЗК, який прийнятий Європейським товариством з вивчення ХК й ВК (ЕССО), вказано, що у

випадках гострого важкого стану, слід уникати проведення колоноскопії (як і ірігографії) через високий ризик ускладнень.

Стандартний сучасний діагноз ЗЗК оснований на накопиченні, іноді тривалому, клінічних, рентгенологічних, ендоскопічних та гістопатологічних даних, потребує великої кількості медичних діагностичних процедур, в деяких випадках повторних. Але ця методика компіляції не завжди точна, і близько 15 % пацієнтів із ЗЗК товстої кишки мають діагноз «невизначений коліт». Це пов'язано з тим, що критерії уточнення ВК й ХК мають багато неохоплених аспектів.

Хоча ХК й ВК мають деякі загальні патологічні та клінічні характеристики, вони мають різні гістологічні ознаки, які підтверджують, що це є два різних підтипи захворювання. При ХК поряд з гранулематозним запаленням можуть спостерігатися тріщини, виразки та підслизовий фіброз, трансмуральне запалення, що розвивається у фіброз, стеноз і мікроперфорації або нориці. При ВК запальний процес завжди зачіпає пряму кишку, а загальні гістологічні дані включають деформацію крипт, інфільтрацію лімфоцитами та гранулоцитами та хронічне запалення, зазвичай обмежене власною пластинкою.

Об'єктивна й чітка відмінність між діагнозами ХК й ВК у пацієнтів із ЗЗК в даний час важлива для індивідуального плану лікування, оскільки кожне захворювання включає різні терапевтичні підходи. Наприклад, рекомендується використання аміносаліцилатів як підхід першої лінії для лікування та підтримки ремісії при ВК, але вони відіграють набагато меншу роль у лікуванні ХК. Навпаки, імуносупресори показали вищу швидкість відповіді у пацієнтів із ХК, ніж у пацієнтів із ВК. Тим не менш, залишається велика кількість пацієнтів із ЗЗК, яких важко ідентифікувати у клінічній практиці, що вказує на важливість покращення розрізнення двох різних підтипів, особливо з урахуванням того, що результати диференціальної діагностики впливають на клінічне ведення пацієнтів. Однак диференціальна діагностика цих нозологій залишається серйозною клінічною проблемою.

Розрізнення ХК та ВК може бути особливо складним у пацієнтів, у яких запальні ураження обмежені товстою кишкою.

Для покращення діагностики та оцінки активності ЗЗК запропоновані індекси, які передбачають оцінку клінічних симптомів та/або даних ендоскопії, але й вони не задовольняють лікарів та науковців через суб'єктивний характер отриманих даних та неможливість уникнути поганого сприйняття пацієнтами процедури ендоскопії.

Відповідно до фундаментальних рекомендацій та відповідних спеціалізованих оглядів ступінь тяжкості ВК визначається на підставі критеріїв оцінки клініки Мейо - це комбінований індекс для оцінки активності ВК, які оцінюють одночасно дані як інструментальних досліджень, так і клінічні симптоми. За шкалою Mayo Clinic від 6 до 12 балів (ремісія ≤ 2 балів; легкий ступінь - 3–5 балів, середній ступінь - 6–10 балів, важкий ступінь - 11–12 балів). Однією зі складових індексу Мейо є ендоскопічна активність: 0 балів - нормальна картина або неактивна стадія, 1 бал - легкий ступінь тяжкості (еритема, підвищення судинного малюнка), 2 - середній ступінь тяжкості (виражена еритема, відсутність судинного малюнка, ерозії), 3 - важкий ступінь (спонтанні кровотечі, виразки).

Для визначення ступеня активності ХК використовують індекс Беста (CDAI).

Абдомінальна комп'ютерна томографія є найбільш широко рекомендованим та кращим рентгенологічним дослідженням першої лінії, що використовується для оцінки ЗЗК. Діагностична точність магнітно-резонансної колонографії еквівалентна комп'ютерній томографії і запобігає впливу іонізуючого випромінювання. Слід зауважити, що все ж таки ендоскопічні показники є «золотим стандартом», що використовується для оцінки активності ЗЗК, і вони частіше використовуються в клінічних випробуваннях для підтвердження ефективності та безпеки різних препаратів, що викликають та підтримують ремісію та загоєння слизової оболонки.

Незважаючи на те, що «золотим стандартом» є проведення ендоскопічного дослідження з отриманням біоптатів, все більшої популярності і поширення набуває використання неінвазивних (фекальних і/або серологічних) маркерів оцінки запального процесу в кишечнику, візуалізаційних методів. Отже, намагаючись вирішити завдання розробки діагностичних методик для оцінки активності ЗЗК та визначення ремісії, які б характеризувалися простотою виконання, мінімальною інвазивністю чи її відсутністю, в останній час проводяться багаточисельні наукові дослідження ряду лабораторних біомаркерів.

Біомаркери визначаються як вимірювані речовини, одержані із зразків тканини або біорідини. Цей широкий опис може включати загальні лабораторні показники, такі як концентрація гемоглобіну, С-реактивний білок або навіть біологічні методи. Вони стають особливо важливими як менш інвазивні, ресурсозберігаючі та рентабельні методи діагностики ЗЗК. Вивчення взаємодій з різними компонентами та елементами, такими як біомаркери та цитокіни, в імунорегуляторних шляхах, пов'язаних з ЗЗК, безперечно сприятиме створенню нових методів діагностики, прогнозування та лікування пацієнтів із ЗЗК. В даний час багато біомаркерів широко використовуються в клініці, але жоден з них не може використовуватися окремо для точної діагностики ЗЗК, диференційної діагностики ХК й ВК. Загалом їх можна використовувати лише як доповнення до оцінки стану або моніторингу захворювання.

Таким чином, не виникає сумнівів щодо доцільності та перспективності використання неінвазивних біомаркерів для оцінки та динамічного контролю ступеня запалення слизової оболонки товстої кишки при ЗЗК. Недоліки неінвазивних біомаркерів, які вже використовуються в практичній медицині слід враховувати при дослідженні нових перспективних біомаркерів і розробці нових діагностичних і прогностичних стратегій. Потенціал застосування біомаркерів не вичерпано, що потребує подальшого їх вивчення з метою

ранньої діагностики, прогнозування перебігу та розробки персоналізованої тактики ведення хворих на ЗЗК.

Роль IgG4 в діагностиці та прогнозуванні перебігу запальних захворювань кишечника

Концепція IgG4-пов'язаної хвороби (IgG4-ПХ) була вперше запропонована Хамано й співавторами в 2001 році, коли вони виявили збільшення рівня сироваткового IgG4 у пацієнтів з аутоімунним панкреатитом (АІП). Саме вивчення АІП і виявлення подібних морфологічних змін в інших органах стало фундаментом для виділення IgG4 пов'язаної хвороби в гастроентерології.

Захворювання мало різні назви, включаючи IgG4-пов'язане аутоімунне захворювання, IgG4-асоційований мультифокальний системний фіброз, IgG4-пов'язане системне захворювання, IgG4-пов'язане склерозуюче захворювання або IgG4-плазмоцитарний синдром. У 2011 році міжнародна група дослідників погодила єдину номенклатуру та діагностичні критерії для цієї патології, яка узгоджено IgG4-пов'язана хвороба (IgG4-ПХ). Цей термін підкреслює системну інфільтрацію плазматичних клітин IgG4+ в уражені органи та частоту високих рівнів IgG4 у сироватці крові, не вказуючи на будь-яку патогенну роль IgG4. Ця нова нозологічна одиниця включала багато синдромів, які раніше вважалися незалежними та ідіопатичними (запальні псевдопухлини, синдром Мікуліча, пухлина Кюттнера, тиреоїдит Ріделя, медіастинальний та ретроперитонеальний фіброз).

За останній час IgG4-ПХ трансформувалась у самостійну нозологічну форму, яка характеризується специфічним запальним процесом з інфільтрацією IgG4-позитивними клітинами, підвищенням рівня сироваткового IgG4 і прогресуючим фіброзом. У 2012 году в Японії були встановлені клінічні діагностичні критерії IgG4-ПХ:

1. Клінічна картина локального або множинного ураження, яке характеризується пухлиноподібною запальною інфільтрацією вогнищового або дифузного характеру;

2. Підвищення IgG4 в сироватці крові;

3. Гістологічна картина з наступними ознаками:

- наявність лимфоплазмочитарної інфільтрації тканини з переважанням IgG4-позитивних плазматичних клітин та CD4+ Т-лимфоцитів;

- фіброз, який має сториморфну структуру;

- облітируючий флебіт.

Діагноз IgG4-ПХ є переконливо доведеним при наявності усіх трьох критеріїв.

В останнє десятиліття встановлені і інші захворювання, що супроводжуються підвищенням рівня IgG4, а також збільшенням кількості IgG4 позитивних плазматичних клітин, серед яких велика кількість злоякісних пухлин. До числа локалізацій, які рідко описуються, відносяться ураження судин, гіпофізу, стінки шлунка та кишечника, молочної залози, уретри, мозкових оболонок та інших органів. Ці дані, по-перше, свідчать про те, що IgG4-ПХ може проявлятися в будь-яких органах, що мають сполучну тканину. По-друге, «рідкі» локалізації мають загальні риси, які зводяться не тільки до спільності морфологічних проявів і мімікрії пухлинних процесів. Слід зазначити, що будь-яка з локалізацій, що оцінюється в даний час як рідкісна, у міру накопичення досвіду і знань в області цієї патології може перейти в категорію типових. Передбачається, що в патогенезі IgG4-ПХ головну роль грає IgG4, однак пусковий механізм підвищення концентрації цього імуноглобуліну не встановлено, а ефektorні клітини остаточно не ідентифіковані. Велика поширеність IgG4 пояснює виражене фонове забарвлення при імуногістохімічному виявленні різних його підкласів. При цьому концентрація IgG4 в сироватці вельми варіабельна: його значення коливаються в межах від 10 до 1400 мікрограмів на мл, іноді досягаючи рівня понад 2000 мкг/мл.

Таким чином, дослідження IgG4 асоційованих захворювань, з одного боку дозволили виділити самостійну нозологічну форму - IgG4-ПХ, а з другого боку визначили великий спектр патологій в патогенезі яких певну роль грає IgG4, при цьому ці нозології не відносяться до IgG4-ПХ, і це потребує подальшого вивчення. Однією з таких патологій є – ЗЗК.

Клас антитіл IgG є найпоширенішим в циркулюючій крові і становить до 75 % всіх циркулюючих антитіл. З чотирьох підкласів IgG4 є самим рідким і складає 4 % від усього пулу. У своїй структурі IgG мають Fc-регіон, який здатний зв'язуватись із Fc-рецепторами на різних лімфоїдних, мієлоїдних клітинах, включаючи В-клітини. В залежності від своєї структури 4 підкласи IgG можуть ініціювати різні ефекторні функції, такі як активація комплементу, рекрутування різних клітин рецепторами до Fc і агоністичної передачі сигналів.

IgG4 - це різнорідне антитіло, яке може бути безпосередньо патогенним, виконувати захисну роль або може бути просто випадковим маркером аберантної запальної відповіді. IgG4 відіграє захисну роль при алергії, діючи як блокуюче антитіло та пригнічуючи дегрануляцію тучних клітин, але відіграє шкідливу роль при злоякісній меланомі, перешкоджаючи IgG1-опосередкованому протипухлинному імунітету.

До основних особливостей IgG4-антитіл, в порівнянні з іншими підкласами IgG, відноситься відсутність ефекту активації комплементу. Інші дослідження регуляції IgG4 показують, що IgG4-ПХ може бути результатом надмірної продукції протизапальних цитокінів, таких як IL-10, які запускають надмірну відповідь IgG4-продукуючих плазматичних клітин. При цьому збільшення індукцибельних Т-регуляторних клітин пам'яті в периферичній крові позитивно корелює з рівнем IgG4 в сироватці крові.

Незважаючи на те, що IgG4 є визнаним маркером для діагностики IgG4-ПХ, останні дослідження припускають можливість певної ролі IgG4 в патогенезі ЗЗК.

Інтерес до вивчення значення тканинних IgG4-позитивних плазматичних клітин у хворих на ЗЗК, виник з поширеною в даний час асоціації ЗЗК – переважно виразкового коліта, з АПП. Хоча інфільтрація IgG4 слизової ободової кишки описана у пацієнтів з АПП, залишається неясним, чи є IgG4-позитивний коліт самостійною нозологічною формою. Деякі автори запропонували гіпотезу збільшення рівня IgG4, як розвиток надмірної імунної відповіді на власну мікрофлору шлунково-кишкового тракту.

Попри той факт, що ВК пов'язаний з підвищеним рівнем IgG4-позитивних плазматичних клітин, це захворювання жодним чином не є IgG4-пов'язаним захворюванням. ВК позбавлений як сторіформного фіброзу, так і флебіту і, отже, не відповідає профілю захворювання пов'язаного з IgG4.

За останні 10 років були проведені дослідження, в яких вивчалися стан IgG4-позитивних плазматичних клітин та рівень IgG4 у пацієнтів з ВК й ХК Renu Virk, Shweta Shinagare, 2014; Raina A., Yadav D. 2013; Go Kuwata, Terumi Kamisawa, 2014; Topal F., 2014, Faria R.J., Clemente C.M., 2015; Şimşek H.D., Basyigit S. 2016; Chen X., Sun W. 2018; Wang Z., Zhu M. 2018; Koutroumpakis F. 2020. Цікаво, що практично у всіх дослідженнях не було зроблено спроб провести відмінність між пацієнтами, які отримували і пацієнтами, що не отримували імуносупресивну терапію. Це може частково пояснити суперечливі результати цих досліджень.

Так Faria R. J., Clemente C. M. і співавт. в своїй роботі показали, що підвищений рівень IgG4 в сироватці був виявлений у 10 із 56 пацієнтів з ЗЗК, що частіше зустрічається при ВК, причому коефіцієнт поширеності становив 16,42. Десяти пацієнтам діагностували екзокринну панкреатичну недостатність, яка не корелювала з активністю захворювання й рівнями IgG4 у сироватці.

У дослідженні Topal F. зі співавторами, проведеному на 119 пацієнтах з ЗЗК, виявили IgG4-позитивне фарбування плазматичних клітин у товстій кишці у 21 (17,6 %). У 5 з них рівень IgG4 у сироватці крові був підвищений (140 мг/дл). Із загальної кількості 4,2 % (5/119) мали як IgG4-позитивне

фарбування плазматичних клітин у товстій кишці, так і підвищений рівень IgG4 у сироватці крові. Демографічні особливості, тип та активність захворювання та відповідь на лікування (особливо на лікування стероїдами) були подібними між IgG4-негативними та IgG4-позитивними групами.

Renu Virk, Shweta Shinagare у своєму дослідженні продемонстрували, що при ВК визначається значно більша кількість IgG4-позитивних плазматичних клітин, ніж при ХК. Хворі на ВК з високою ендоскопічною активністю показали більш високі показники IgG4, ніж ті, у кого активність захворювання була низькою. Рівень IgG4-позитивних плазматичних клітин у пацієнтів також залежав від розповсюдженості патологічного процесу, так при панколіті було виявлено вищу кількість IgG4-позитивних плазматичних клітин, але ця різниця не досягла статистичної значущості ($P=0,09$). У цього дослідження є декілька недоліків. Першим з них його ретроспективний характер. Крім того, у дослідників не було доступу до визначення рівня сироваткового IgG4. Також не порівнювалась тяжкість захворювання з рівнем IgG4. Проте, попередня робота показала кореляцію між тяжкістю ЗЗК, викликаного захворюванням кишечника, і підвищеною кількістю IgG4-позитивних плазматичних клітин. Цілком очевидно, що необхідно провести проспективне дослідження, яке оцінило б діагностичну та прогностичну цінність тканинного барвника IgG4.

Raina A. зі співавторами, у 2013 р. провели ретроспективне дослідження, в якому на архівних біоптатах прямої кишки оцінювали розподіл тканинного IgG4 в слизовій оболонці товстої кишки пацієнтів з ЗЗК і порівнювали гістологічні данні з клінічною картиною захворювання. Присутність >10 клітин IgG4 в полі зору вважалась значущою. Значна інфільтрація спостерігалась у 24 % пацієнтів в порівнянні з контрольною групою ($P=0,05$). В групі ЗЗК значна інфільтрація була частіше у пацієнтів з ВК, пацієнти з ХК мали малу кількість плазматичних клітин IgG4. Кореляція між кількістю клітин IgG4 і активністю запалення, в цьому дослідженні не була доведена.

В аналогічному дослідженні, проведеному Go Kuwata, Terumi Kamisawa, була доведена відсутність зв'язку між позитивною інфільтрацією IgG4 при ВК

і супутнім АПІ, що свідчить про безпосередню участь IgG4 в патогенезі ЗЗК. Також в цьому дослідженні був визначено зв'язок між активністю захворювання і рівнем тканинного IgG4, але не виявлено кореляції з ендоскопічною тяжкістю.

В 2016р. Şimşek HD, Basyigit S провели порівняння типу і тяжкості ЗЗК у зв'язку з імуногістохімічною окраскою IgG4. Була морфологічна оцінка біоптатів товстої кишки 55 пацієнтів з виразковим колітом і 17 пацієнтів з ХК. Кількість IgG4-позитивних плазматичних клітин, забарвлених імуногістохімічно, підраховували як мінімум в 5 потужних полях для кожного зразка. Наявність >10 IgG4-позитивних плазматичних клітин (ПК) в полях зору вважалось позитивним.

В результаті дослідження було з'ясовано, що поширеність IgG4-позитивних плазматичних клітин у власній пластинці слизової оболонки товстої кишки була значно вище у пацієнтів із ВК, ніж у пацієнтів із ХК ($p=0,01$). Крім того, поширеність IgG4-позитивних плазматичних клітин збільшилася відповідно до ендоскопічної та гістологічної активності у пацієнтів з ВК. Навпаки, не було виявлено значної кореляції між позитивним IgG4 і патологічною активністю в групі ХК. Встановлено, що IgG4-позитивні пацієнти з ВК також виявляли ознаки більш тяжкого захворювання, в порівнянні з IgG4-негативними пацієнтами з ВК.

Дослідження Chen X., Sun W. 2018 р. було спрямоване на оцінку експресії IgG4 і TLR4 у пацієнтів з ЗЗК та на з'ясування ролі IgG4 і TLR4 в патогенезі ЗЗК [22]. У дослідження було включена когорта з 68 пацієнтів з ЗЗК, а 20 здорових були контрольною групою. Кишкова IgG4-позитивна (IgG4+) інфільтрація плазматичних клітин вимірювалася за допомогою імуногістохімічного забарвлення. Рівні сироваткового IgG4 і TLR4 вимірювали методом ІФА. Результати показали, що інфільтрація плазматичних клітин IgG4+ була вище у пацієнтів із ЗЗК (14 пацієнтів з ЗЗК із 68 проти жодного з 20 контрольної групи, $p < 0,05$). Частота визначення плазматичних клітин IgG4 + в групі ЗЗК (48,5 %) була вищою, ніж у

контрольній групі (33 пацієнта з ЗЗК із 68 проти жодного з 20 контрольної групи, $p < 0,05$). Рівні сироваткового IgG4 і TLR4 в групі ЗЗК були значно вищі в порівнянні з контрольною групою ($p < 0,05$).

Wang Z., Zhu M. в 2018 р. провели проспективне когортне дослідження «випадок-контроль», в якому вивчались рівні сироваткового IgG4, співвідношення IgG4/IgG і інфільтрацію IgG4 позитивними плазматичними клітинами слизової оболонки товстої кишки у китайських пацієнтів із ЗЗК, і досліджували їх зв'язок з клінічними характеристиками. Дослідження включало 232 пацієнта з ЗЗК з них 104 ВК і 128 ХК. Рівні сироваткового IgG4 і співвідношення IgG4/IgG у пацієнтів з ЗЗК порівнювалися з такими у 45 здорових контрольних осіб. Серед 232 пацієнтів з ЗЗК, у яких були виміряні рівні сироваткового IgG4, у 117 пацієнтів з них 58 ВК і 59 ХК, була взята біопсія під час колоноскопії для оцінки інфільтрації слизових IgG4 + плазматичними клітинами. Інфільтрація плазматичних клітин IgG4 + у пацієнтів з ЗЗК порівнювалася з такою у 64 здорових контрольних осіб. Проспективне дослідження продемонструвало, що група пацієнтів з ЗЗК може характеризуватися високим рівнем сироваткового і тканинного IgG4. Ці пацієнти, як правило, схильні до більш важких і обширних уражень. Рівні сироваткового і слизового IgG4 знижувалися після лікування глюкокортикостероїдами або іншими імунодепресантами. Всі дані свідчать про те, що високий рівень IgG4 може бути біомаркером для нового підтипу ЗЗК.

Koutroumpakis F. у 2020 проводив множинний регресивний аналіз низького рівня IgG4, який показав, що зниження рівня IgG4 пов'язано з тривалим прийомом біологічної терапії ($p = 0,002$), стероїдів ($p = 0,049$), великою кількістю госпіталізацій ($p < 0,001$), призначенням антибактеріальної терапії амбулаторно ($p < 0,001$) та хірургічними втручанням у хворих на ХК ($p = 0,011$). На підставі своїх досліджень зробили висновки, що дефіцит підкласу IgG4, відмінний від інших дефіцитів антитіл, часто зустрічався в популяції хворих на ЗЗК, які були спрямовані на лікування, і був пов'язаний з

кількома маркерами тяжкості захворювання. Це перша асоціація дефіциту підкласу IgG4 і з запальним процесом. Потрібна подальша робота, щоб визначити роль дефіциту IgG4 у цій важкій підгрупі ЗЗК.

Вищевказані дослідження показали, що підвищення рівня сироваткового IgG4 та наявність тканинного IgG4 притаманне пацієнтам з ЗЗК, позитивний тканинний IgG4 може передбачати тяжкість захворювання при ВК, а значення сироваткового IgG4 може бути корисним маркером для диференційної діагностики між ВК та ХК, але в цих дослідженнях ще багато невизначених аспектів, не вистачає проспективних досліджень, досліджень, які виявляють вплив імуносупресивної терапії на рівень IgG4 у хворих на ЗЗК.

Таким чином, аналіз публікацій за останні роки дав змогу встановити, що ЗЗК лишаються одним з пріоритетних напрямків досліджень в гастроентерології, важливу роль у вивченні становлять патогенетичні аспекти, особливо значення гуморального імунітету у розвитку ЗЗК. Залишаються актуальними проблеми, як діагностики ЗЗК, так і диференційної діагностики між ВК й ХК. Доведена необхідність вивчення як діагностичних так і прогностичних неінвазивних маркерів. Що дасть змогу зменшити травматизацію і знизити ризик ускладнень при інвазивних дослідженнях, знизити економічне навантаження на систему охорони здоров'я. Вивчення і поглиблення знань щодо ролі IgG4 у розвитку та перебігу запальних захворювань кишечника, буде сприяти покращенню діагностики, розробці методів прогнозування тяжкості ЗЗК, що дозволить оптимізувати терапію, підвищити якість життя пацієнтів.

Вище наведені особливості й слугували основою для проведення даного наукового дослідження.

Мета даних методичних рекомендацій полягає в тому, щоб донести до спеціалістів інформацію про доцільність використання сироваткового IgG4 як додаткового малоінвазивного маркера для диференційної діагностики між ВК і ХК, прогнозування перебігу та оптимізації тактики лікування в пацієнтів із ВК.

Методичні рекомендації є результатом НДР «Вивчити значення факторів гуморального імунітету та розробити комплекс критеріїв прогнозування перебігу хронічних запальних захворювань кишечника» (номер державної реєстрації 0119U102695), що виконувалась у відділі захворювань кишечника ДУ «Інститут гастроентерології НАМНУ» за 2019-2022 рр.

В результаті виконання НДР доведена інформативність визначення сироваткового IgG4 в крові й визначення наявності тканинного IgG4 в слизовій оболонці товстої кишки в діагностиці і прогнозуванні перебігу ВК і ХК. Встановлена доцільність використання сироваткового IgG4 як додаткового малоінвазивного маркера для диференційної діагностики між двома формами запальних захворювань кишечника – виразковим колітом і хворобою Крона. Обґрунтовано ефективність використання алгоритму прогнозування перебігу ВК, що ґрунтується на застосуванні комбінації рівня IgG4 та співвідношення IgG4/IgG, який доцільно використовувати для прогнозу ймовірності рецидиву ВК на протязі року. Аргументована інформативність використання сироваткового IgG4 як маркера оптимізації тактики лікування в пацієнтів із ВК.

ВЛАСНІ ДОСЛІДЖЕННЯ.

Матеріали та методи. Нами обстежено 100 пацієнтів з морфологічно підтвердженим діагнозом ВК та ХК, які зверталися за спеціалізованою медичною допомогою до ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України» у період з 2019 по 2022 рр.

У пацієнтів досліджували рівень сироваткового IgG4 в крові й тканинного IgG4 в слизовій оболонці товстого кишечника (СО ТК). Для досягнення поставленої мети всіх пацієнтів поділено залежно від нозології й тяжкості перебігу захворювання – легкий ступінь виразкового коліта (ВК) – 7 пацієнтів, ВК середнього ступеня – 54 пацієнтів, 14 пацієнтів з важким

ступенем тяжкості перебігу ВК, хворі на хворобу Крона (ХК) середнього ступеня тяжкості – 17 пацієнтів та 8 пацієнтів на ХК важкого ступеня.

Тривалість захворювання у обстежених пацієнтів коливалась від 2 місяців до 26 років. Середня тривалість захворювання становила $(5,4 \pm 0,5)$ років без достовірної різниці між групами. Короткий анамнез захворювання (до 1 року) спостерігався у 22 (22,0 %) хворих: 17 (22,7 %) при ВК та 5 (25,0 %) – при ХК.

У зв'язку з тим, що мета та завдання нашої роботи були спрямовані на вивчення факторів гуморального імунітету та розробку комплексу прогностичних критеріїв перебігу ВК і ХК, в дослідженні були використані як методи загальноприйнятого клінічного обстеження, так і спеціальні методи, які дозволяють верифікувати діагноз (ендоскопічне дослідження товстої кишки, гістологічне та імуногістохімічне дослідження біоптатів).

Усім хворим проведено загальноклінічні обстеження. Вивчалися та деталізувалися скарги обстежених, проводився фізикальний огляд, антропометричні дослідження, лабораторні та інструментальні методи обстеження та їх аналіз. Усім пацієнтам виконувалось ендоскопічне обстеження кишечника, яке проводилося за загальноприйнятими методиками з використанням відеоколоноскопу Olympus EVIS EXERA III («Olympus» Japan 2016), з метою встановлення діагнозу, проведення детальної оцінки стану слизової оболонки (СО) товстої кишки (ТК), отримання біопсійного матеріалу для гістологічного досліджень. Визначення кількісного вмісту Ig класу G в сироватці крові проводили методом кількісного імуноферментного аналізу (ІФА) за допомогою тест-систем ТОВ НВЛ «Гранум» (м. Харків) за рекомендаціями виробника. Рівень IgG4 в сироватці крові також визначали методом ІФА. Дослідження проводили відповідно інструкцій для кожного тест – набору. В роботі використовували набори реактивів фірми «Хема» Україна - для визначення концентрації IgG4. На підставі інструкції до набору реагентів визначення IgG4 в сироватці крові ґрунтується на використанні «сендвіч»-

варіанта твердофазного імуноферментного аналізу. Межі норми сироваткового IgG4 становлять 0,1 – 1,2 г/л.

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.

Імуногістохімічні дослідження виконані на депарафіних зрізах кишечника товщиною за допомогою кролячої сироватки в розбавленні 1:200 («Abscam», США). Кількість позитивних IgG4 плазматичних клітин рахували в 5 послідовних полях зору. Позитивним випадком рахували коли в зрізах виявляли >10 IgG4 позитивних клітин в одному полі зору.

Для визначення впливу системних глюкокортикостероїдів (ГКС) на рівень сироваткового IgG4, і визначення можливості використання IgG4 як прогностичного маркера і показника ефективності терапії, хворих було розділено на дві групи: 22 хворих на ЗЗК, які впродовж останнього року приймали системні ГКС в стандартній дозі 30-40 мг на добу, та 78 хворих на ЗЗК, які не приймали ГКС. Для оцінки впливу лікування хворі були розділені на дві групи: 30 хворих на ЗЗК (24 хворих з ВК та 6 хворих із ХК), яким призначали системні ГКС, згідно стандартам лікування на момент дослідження, та 14 хворих на ЗЗК (13 із ВК та 1 із ХК), які не потребували прийому ГКС на момент дослідження. Для порівняння отриманих результатів з нормою створена контрольна група практично здорових осіб, репрезентативна із групою порівняння за віком та статтю (n=15).

Результати. Результати клінічного дослідження вказують на більш характерне ураження прямої кишки (57,1 %) при легкому перебігу ВК та достовірно більшу кількість пацієнтів з тотальним ураженням товстої кишки (57,2 % проти 11,1 % ($p<0,05$)) у хворих з важким ступенем тяжкості ВК ніж при середньому ступені (табл. 1). Виявлено переважання в клінічній симптоматиці послаблення стільця, що достовірно частіше спостерігалось у хворих на ВК середнього ступеня тяжкості ніж в групі ХК з відповідною тяжкістю патології. Наявність патологічних домішок вірогідно більш

притаманна пацієнтам з ВК ніж з ХК. Найчастіше у хворих з ВК відмічався біль за ходом товстого кишечника (71,4 % - група ВК легкого ступеня тяжкості; 74,6 % - ВК середнього ступеня тяжкості та 95,5 % - ВК важкого ступеня тяжкості), що більш притаманно хворим з тяжким перебігом ніж при середній важкості захворювання. Визначено достовірно більшу частоту анемії у хворих на ВК з тяжким перебігом захворювання ніж у пацієнтів з легким та середнім ступенем тяжкості. (у 2,5 та 3,5 рази відповідно ($p < 0,05$)) та у пацієнтів з ХК при важкому перебігу ніж при середньому ступені тяжкості (44,4 % проти 10,5 %).

Таблиця 1 – Характеристика протяжності ураження кишечника у хворих на ВК і ХК, (кількість, %)

Локалізація ураження	ВК легкого ступеня тяжкості (n=7)	ВК середнього ступеня тяжкості (n=54)	ВК важкого ступеня тяжкості (n=14)	ХК легкого ступеня тяжкості (n=17)	ХК важкого ступеня тяжкості (n=8)
пряма кишка	57,1*	11,1	0	-	-
лівобічне ураження	42,9	77,8	42,8	-	-
тотальне ураження	0	11,1	57,2#	5,9	12,5
товста кишка	-	-	-	41,2	62,5
термінальний відділ здухвинної кишки	-	-	-	52,9	25,0

Примітка 1. *- $p < 0,05$ – достовірність розходжень показників в порівнянні з ВК середнього ст. тяжкості та ВК важкого ст. тяжкості.

Примітка 2. # - $p < 0,05$ – достовірність розходжень показників в порівнянні з ВК легкого та ВК середнього ст. тяжкості.

Результати ендоскопічних досліджень підтверджують, що при ендоскопічному обстеженні ТК пацієнтів з ВК і ХК в усіх випадках виявлено типову картину захворювань у фазі загострення й різного ступеня тяжкості. Збільшення тяжкості хвороби супроводжувалося посиленням частоти основних ендоскопічних ознак ВК і ХК. Аналіз особливостей ендоскопічної

картини слизової оболонки товстої кишки при ВК і ХК свідчить про зростання ступеня ендоскопічної активності (частоти виразок, кровоточивості, фібринозного нальоту, стриктур, уражень перианальної ділянки) разом із тяжкістю перебігу захворювання.

Дані морфологічних і морфометричних досліджень свідчили про типову гістологічну й морфометричну картину у всіх випадках ЗЗК. Пацієнти з легкою формою ВК характеризувалися найнижчою клітинною щільністю інфільтрату, низькою чисельністю нейтрофілів у складі запального інфільтрату. У пацієнтів з ВК легкої форми важкості найменше всього відмічалася наявність ерозій і виразок, атрофічних та диспластичних змін СО. У пацієнтів із середньою формою важкості ВК частіше зустрічались ерозії СО та крипт-абсцеси. Інфільтрація СО при середній формі важкості ВК в основному середнього ступеня, частіше зустрічались крипти з порушеною архітектонікою. Показник клітинної інфільтрації був найвищим при ВК важкого ступеня тяжкості. У хворих з важкою формою перебігу ВК мікроскопічно виявлялись атрофічні зміни (71,4 %) та порушення цілісності епітелію (57,1 %), щільна інфільтрація нейтрофілами, фібробластами, базофілами та макрофагами. Середня форма важкості ХК характеризувалася значними порушеннями цілісності епітелію (64,7 %), виразками (23,5 %), збереженою архітектонікою крипт. Порівняно з середнім ступенем тяжкості ХК, при важкій формі ХК у запальному інфільтраті частіше зустрічались лімфоцити, фібробласти, базофіли, нейтрофільні й еозинофільні лейкоцити та макрофаги, клітинна щільність інфільтрату відповідно також була найвищою.

З метою дослідження ролі гуморального імунітету у патогенезі ВК і ХК, та дослідження можливості використання імуноглобулінів у якості біомаркерів запалення при ВК і ХК, в ході роботи у обстежених хворих були вивчені деякі показники імунного статусу у пацієнтів з ВК і ХК (табл. 2).

Таблиця 2 – Вміст IgG та IgG4 у хворих на ВК і ХК, Ме (Q1; Q3)

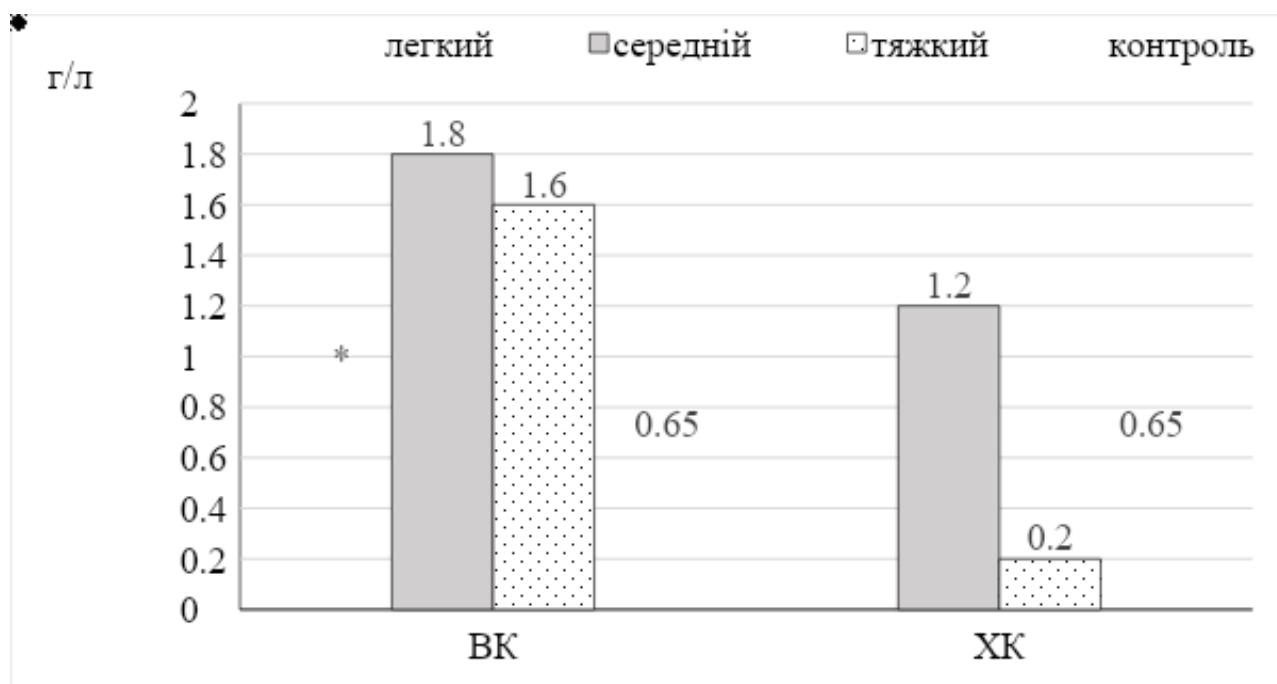
Показники, од. виміру	ВК (n=75)	ХК (n=25)	Контрольна група (n=15)
IgG, г/л	8,9 * (7,7; 9,9)	9,18 * (7,96; 9,99)	12,75 (11,75; 14,24)
IgG4, г/л	1,50 * (0,55; 2,25)	0,60 (0,2; 2,0)	0,65 (0,45; 0,8)
IgG4/ IgG	0,15 (0,06; 0,25)	0,06 (0,02; 2,0)	0,05 (0,03; 0,06)
Примітка. * – $p < 0,05$ достовірність відмін у порівнянні з контрольною групою.			

У хворих на ВК встановлено вірогідне зниження кількості IgG (у 1,4 рази, $p < 0,05$). У групи хворих на ХК також вірогідно знижено рівень IgG (у 1,4 рази, $p < 0,05$) порівняно із контрольною групою. Не встановлено статистично значимої різниці між рівнем IgG у хворих на ВК та ХК. Тоді як, концентрація IgG4 у групи хворих на ВК була вище у 2 рази ($p < 0,05$) та у 2,5 рази ($p < 0,05$) порівняно із його рівнем у групі контролю та хворих на ХК, відповідно.

Вміст IgG у сироватці крові у хворих на ВК легкого та середнього ступеня був достовірно знижений в 1,4 рази ($p < 0,05$) відносно контрольної групи.

Рівень IgG4 у сироватці крові перевищував значення контрольної групи у 42,8 % хворих на ВК легкого ступеня, у 62,9 % хворих на ВК середнього ступеня та у 57,1 % хворих на ВК важкого ступеня (табл. 4.3). Це може свідчити про те, що IgG4 має захисні властивості, і може бути використаний як прогностичний маркер.

Рівні IgG були знижені як у групі середнього ступеня так і у хворих важкого ступеня тяжкості перебігу ХК. Крім того, у хворих ХК середнього ступеня тяжкості визначено підвищення вмісту IgG4 у 1,9 рази ($p < 0,05$) та IgG4 1,6 рази ($p < 0,05$) порівняно із контролем та хворими важкого ступеня, відповідно (рис. 1).



Примітка. * – $p < 0,05$ – достовірність відмін у порівнянні з контрольною групою.

Рисунок 1 – Рівень IgG4 в залежності від ступеня тяжкості.

Для визначення можливості використання сироваткового IgG4 як неінвазивного маркера ендоскопічної активності вивчався рівень сироваткового IgG4 в залежності від ендоскопічної картини, нозології і тяжкості перебігу.

При проведенні кореляційного аналізу ендоскопічних ознак у хворих на ЗЗК з іншими параметрами що вивчались, виявлено наступні взаємозв'язки (рис. 2, рис. 3).

При ВК визначено кореляційний зв'язок співвідношення IgG4/IgG з ендоскопічними ознаками – наявністю зернистості, вираженістю кровоточивості, з ендоскопічним індексом активності, з частотою рецидивів, протяжністю запального процесу й тканинним IgG4.



Рисунок 2 – Кореляційні зв'язки при ВК

При аналізі показників хворих на ХК виявлявся кореляційний зв'язок рівня IgG4 з Індексом Беста, наявністю тканинного IgG4, з тривалістю захворювання, з ендоскопічними ознаками - нальотом на СО, з наявністю зернистості, судинного рисунка.



Рисунок 3 – Кореляційні зв'язки при ХК

Аналізуючи дані отримані під час ендоскопічних досліджень й зіставляючи їх з підвищеним рівнем IgG4 в сироватці крові було встановлено, що підвищений IgG4 у сироватці крові зустрічається у 60,0 % випадків ВК. Порівнюючи групи хворих на ВК з підвищеним сироватковим IgG4 і з нормальним рівнем IgG4 в сироватці крові, встановлено наступні закономірності - основні ендоскопічні ознаки, такі як гіперемія СО, набряк СО, геморагії, наліт, наявність ерозій зустрічались у 1,2 рази ($p>0,05$) частіше в групі з підвищеним рівнем IgG4, наявність виразок зустрічалась у 2,0 ($p=0,033$) рази частіше при ВК з підвищеним IgG4 (табл. 3).

Таблиця. 3 – Характеристика ендоскопічних показників у хворих на ВК залежно від рівня сироваткового IgG4

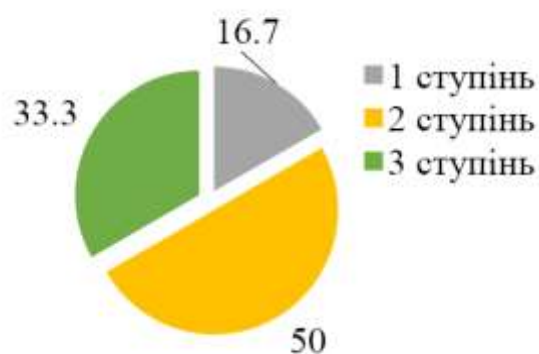
Показник	рівень IgG4 в межах норми (n=30)		Рівень IgG4 вище норми (n=45)		Вірогідність різниці
	n	%	n	%	
гіперемія СО	27	90,0	44	97,8	$>0,05$
набряк СО	25	83,3	42	93,3	$>0,05$
стертість судинного рисунка	23	76,7	43	95,6	$\chi^2=4,42$; $p=0,035$
геморагії	19	63,3	34	75,6	$>0,05$
Фібринозний наліт	21	70,0	35	77,8	$>0,05$
ерозії	22	73,3	38	84,4	$>0,05$
виразки	9	30,0	26	57,8	$\chi^2=4,52$; $p=0,033$
псевдополіпи	7	23,3	12	26,7	$>0,05$
кровоточивість СО:	23	76,7	38	84,4	$>0,05$
1 ступінь	14	46,7	10	22,2	$\chi^2=3,88$;
2 ступінь	8	26,7	20	44,4	$>0,05$
3 ступінь	1	3,3	8	17,8	$>0,05$

Встановлено, що кровоточивість 2 і 3 ступеня зустрічалася частіше в групі з підвищеним IgG4 у 1,6 та у 5 разів ($p > 0,05$) відповідно, а кровоточивість 1 ступеня частіше в групі з нормальним рівнем IgG4 у 2,1 рази ($p < 0,05$)

Таким чином, пацієнтам з підвищеним рівнем IgG4 в сироватці крові притаманна вища ендоскопічна активність.

Ендоскопічну активність 3 ступеня встановлено в 2 рази частіше ($\chi^2=4,11$; $p=0,043$) при підвищеному рівні IgG4, ніж при нормальній кількості IgG4 в сироватці крові пацієнтів з ВК (рис. 4). Це свідчить, що отримані результати обґрунтовують доцільність оцінки рівня IgG4 в крові як неінвазивного маркера прогнозування перебігу ВК і додаткової оцінки тяжкості захворювання.

Нормальний рівень IgG4



Підвищений рівень IgG4

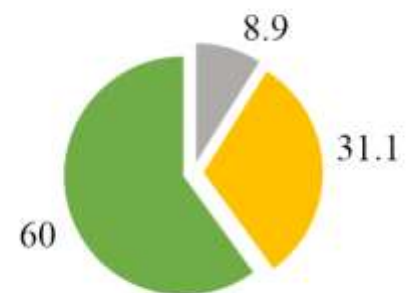


Рисунок 4 – Розподіл хворих на ВК за ендоскопічною активністю СО ТК залежно від рівня IgG4 в сироватці крові, %

Отже в випадках ВК значно частіше зустрічається підвищене значення сироваткового IgG4, що свідчить про можливість використання цього показника як маркера диференційної діагностики між ВК і ХК. В дослідженні ми з'ясували, що у хворих на ВК з підвищеним сироватковим збільшується частота ендоскопічних ознак, характерних для вираженої ендоскопічної активності, ніж у хворих з нормальним вмістом IgG4. Виявлено кореляційні зв'язки між рівнями сироваткового IgG4 та вираженістю макроскопічних

ознак СО товстої кишки, що дає підстави для використання IgG4 як неінвазивного критерія оцінки вираженості ендоскопічної активності при ВК.

При імуногістохімічному дослідженні позитивний результат на наявність тканинного IgG4 (≥ 10 клітин в полі зору) виявлено у 29 пацієнтів, що складає 29,0 %, у 23 пацієнтів кількість IgG4 складала 3-7 клітин в полі зору (23,0 %), у 48 пацієнтів IgG4-позитивних клітин не виявлено, що складає 48,0 % (рис. 5)

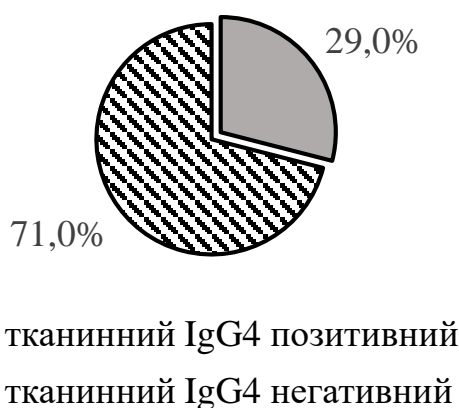


Рисунок 5 – Розподіл хворих за наявністю IgG4-позитивних клітин

Серед пацієнтів із ВК 34,6 % (26 хворих) позитивний результат імуногістохімічного дослідження на тканинний IgG4, серед хворих на ХК цей показник складає 12 % (3 хворих). Враховуючи це, ми можемо зробити висновок, що при ВК підвищений тканинний IgG4 зустрічається у 2,7 рази ($p < 0,05$) частіше ніж при ХК, що може дати можливість використання цього показника для диференційної діагностики між ВК і ХК.

Серед пацієнтів з ВК середнього ступеню тяжкості захворювання позитивний тканинний IgG4 визначається у 42,6 %, а при тяжкому ступені – 21,4 %. Серед хворих з легким ступенем тяжкості позитивний тканинний IgG4 не виявлявся. Таким чином, при середньому ступені тяжкості ВК позитивний тканинний IgG4 зустрічається у 1,9 рази частіше, ніж при тяжкому (рис. 6).

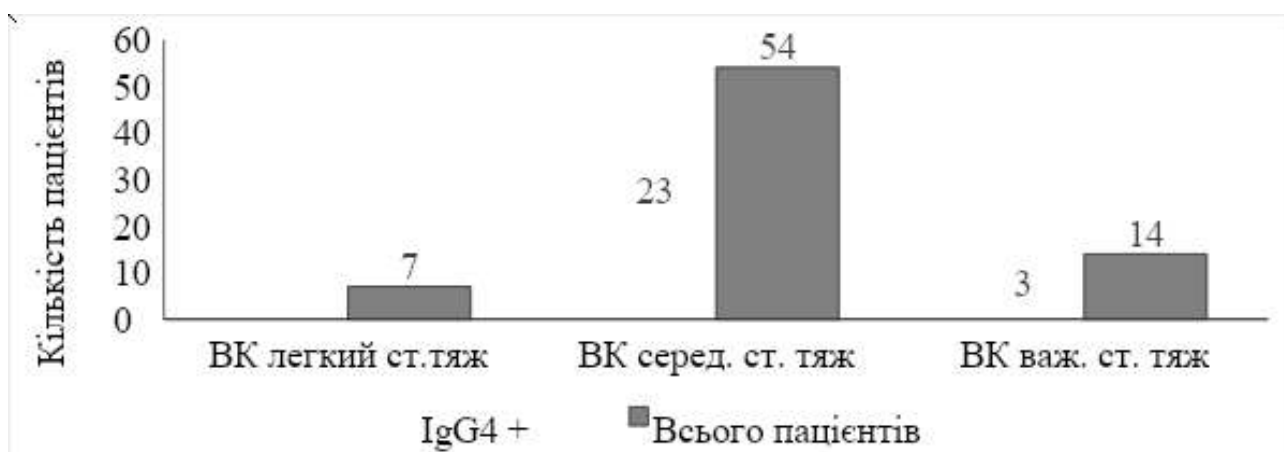


Рисунок 6 – Розподіл пацієнтів ВК з позитивним IgG4 за ступенем тяжкості

Серед хворих із ХК середнього ступеня тяжкості позитивний тканинний IgG4 визначався у 17,6 %. У пацієнтів з ХК важкого ступеня тяжкості тканинний IgG4 не виявлено. Таким чином, на відміну від ВК, позитивний тканинний IgG4 зустрічався тільки при середньому ступені тяжкості ХК, що є ще однією відмінною ознакою між ВК і ХК (рис. 7).

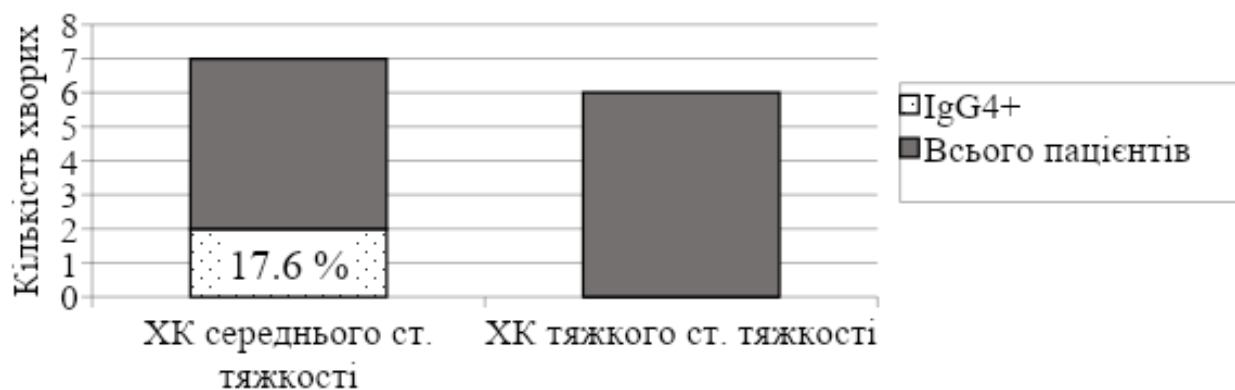


Рисунок 7 – Розподіл пацієнтів із ХК з позитивним IgG4 за ступенем тяжкості

При проведенні кореляційного аналізу встановлені зв'язки між тканинним IgG4 у хворих на ВК та наявністю таких морфологічних ознак як глибина крипт, товщина СО, щільність інфільтрації на 1мм стромі, нейтрофільна інфільтрація, інфільтрація макрофагами, фібробластами, що

вказує на можливу роль IgG4 в розвитку та прогресуванні патологічного процесу (табл. 4).

Таблиця 4 – Кореляційні зв'язки між тканинним IgG4 і морфометричними показниками при ВК (n=75)

Морфометричні показники	Тканинний IgG4	
	<i>r</i>	P
Глибина крипт	0,421	0,0001
Товщиною СО	0,468	0,0001
Щільність інфільтрації на 1 мм строми	0,552	0,0001
Нейтрофільна інфільтрація	0,404	0,0001
Інфільтрація макрофагами	0,350	0,0001
Фібробласти	0,438	0,0001

У хворих із ХК вміст тканинного IgG4 був пов'язаний з ерозуванням, зернистістю, товщиною СО, висотою поверхневого епітелію, фібробластів, наявністю лімфоцитів в біоптатах, наявністю виразок та дисплазії (табл. 5).

Таблиця 5 – Кореляційні зв'язки між тканинним IgG4 і морфометричними показниками при ХК (n=25)

Морфометричні показники	Тканинний IgG4	
	<i>r</i>	P
Ерозування	0,605	0,001
Зернистість СО	0,376	0,034
Товщина СО	0,447	0,025
Висота поверхневого епітелію	0,343	0,033
Наявність лимфоцитів	0,371	0,028
Наявність виразок	0,396	0,005
Наявність дисплазії	0,396	0,005
Фібробласти	0,420	0,037

Зв'язок між морфометричними даними і наявністю позитивних плазматичних IgG4 клітин, дає можливість використовувати цей маркер, як додатковий при визначенні гістологічної активності при ВК і ХК.

Серед всіх обстежених пацієнтів із ЗЗК, одночасне виявлення підвищеного сироваткового IgG4 і позитивного тканинного IgG4 зустрічається у 18 %, підвищений рівень сироваткового IgG4 без позитивного тканинного IgG4 складає 36 %, виявлення позитивного тканинного IgG4 без підвищення рівня IgG4 в крові складає 11 % (Рис.8).

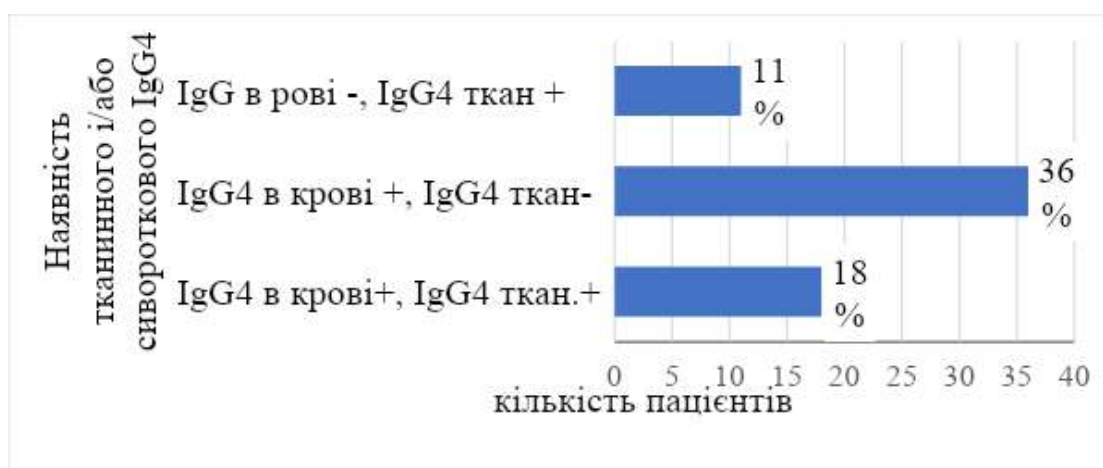


Рисунок 8– Розподіл наявності сироваткового IgG4 і тканинного IgG4 в загальній когорті пацієнтів

Важливим моментом є той факт, що в ході дослідження нами встановлений чіткий зв'язок між рівнем сироваткового та тканинного IgG4 ($r=0,594$; $p=0,0001$), що дає можливість використовувати сироватковий IgG4 як малоінвазивний, додатковий маркер гістологічної активності ВК і ХК (рис. 9)

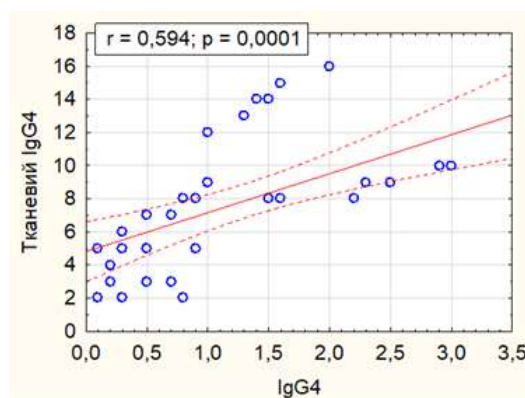


Рисунок 9 – Кореляційний зв'язок між сироватковим і тканинним IgG4 у загальній когорті

Згідно завданням дослідження - вивчити можливість використання сироваткового IgG4 в якості неінвазивного маркера ендоскопічної активності, встановлений чіткий зв'язок між рівнем сироваткового та тканинного IgG4 ($r=0,594$; $p=0,0001$). Позитивний тканинний IgG4 встановлено у 33,3 % випадках ВК. Особливості ендоскопічної картини в залежності від наявності тканинного IgG4 представлені в таблиці 6.

Таблиця 6 – Ендоскопічні показники у хворих на ВК залежно від наявності тканинного IgG4

Показник	Негативний тканинний IgG4 (n=50)		Позитивний тканинний IgG4 (n=25)		Вірогідність різниці
	n	%	n	%	
гіперемія СО:	46	92,0	25	100,0	>0,05
набряк СО:	44	88,0	23	92,0	>0,05
стертість судинного рисунка	44	88,0	22	88,0	>0,05
геморагії:	32	64,0	21	84,0	>0,05
дефекти	32	64,0	24	96,0	$\chi^2=7,41$; $p=0,006$
ерозії	37	74,0	23	92,0	>0,05
виразки	13	26,0	22	88,0	$\chi^2=23,31$; $p<0,001$
псевдополіпи	11	22,0	8	32,0	>0,05
кровоточивість СО:	39	78,0	22	88,0	>0,05
1 ступінь	22	44,0	2	8,0	$p=0,001$ (F-критерій)
2 ступінь	14	28,0	14	56,0	$\chi^2=4,45$; $p=0,035$
3 ступінь	3	6,0	6	24,0	$p=0,028$ (F-критерій)

В групі пацієнтів з позитивним тканинним IgG4 частіше, ніж в групі з негативним тканинним IgG4 зустрічались основні ендоскопічні ознаки ВК. Так геморагії зустрічались у 1,3 рази частіше ($p > 0,05$) у групи пацієнтів із позитивним IgG4, наявність ерозій у 1,2 рази частіше ($p > 0,05$), а виразки у 3,4 рази частіше ($\chi^2=23,31$; $p < 0,001$) в цій же групі. Аналізуючи наявність кровоточивості встановлено, що 2 і 3 ступінь кровоточивості в групі з позитивним тканинним IgG4 в 2,0 рази ($p=0,035$) і 4,0 рази ($p=0,028$) зустрічалась частіше, ніж в групі з негативним тканинним IgG4, відповідно.

Встановлено, що пацієнтам з позитивним тканинним IgG4 в СО ТК притаманна вища ендоскопічна активність. Ендоскопічна активність 3 ступеня встановлена у 2,9 рази частіше ($\chi^2=20,17$; $p < 0,001$) в групі пацієнтів із ВК при наявності позитивного тканинного IgG4 (таб. 7), що може свідчити про можливість використання наявності тканинного IgG4 як додаткового маркера для визначення ендоскопічної активності і визначення ступені тяжкості захворювання.

Таблиця 7 – Ендоскопічна активність у хворих на ВК залежно від наявності тканинного IgG4

Показник	Негативний тканинний IgG4 (n=50)		Позитивний тканинний IgG4 (n=25)		Вірогідність різниці
	n	%	n	%	
ендоскопічна активність					
1 ступінь	9	18,0	0	0	$p=0,020$ (F-критерій)
2 ступінь	26	52,0	3	12,0	$p=0,006$ (F-критерій)
3 ступінь	15	30,0	22	88,0	$\chi^2=20,17$; $p < 0,001$

За результатами кореляційного аналізу були визначені кореляційні зв'язки між рівнем сироваткового IgG4 і тканинним IgG4, а також з ендоскопічними ознаками СО ТК (рис. 10).

Таким чином, виявлені дані свідчать, що при ВК позитивний тканинний IgG4 зустрічається у 2 рази частіше, ніж при ХК ($p < 0,05$). При розподілі хворих на ВК за ступенем тяжкості, позитивний тканинний IgG4 зустрічається у 1,9 рази ($p < 0,05$) частіше при середньому ступені тяжкості, ніж при важкому.

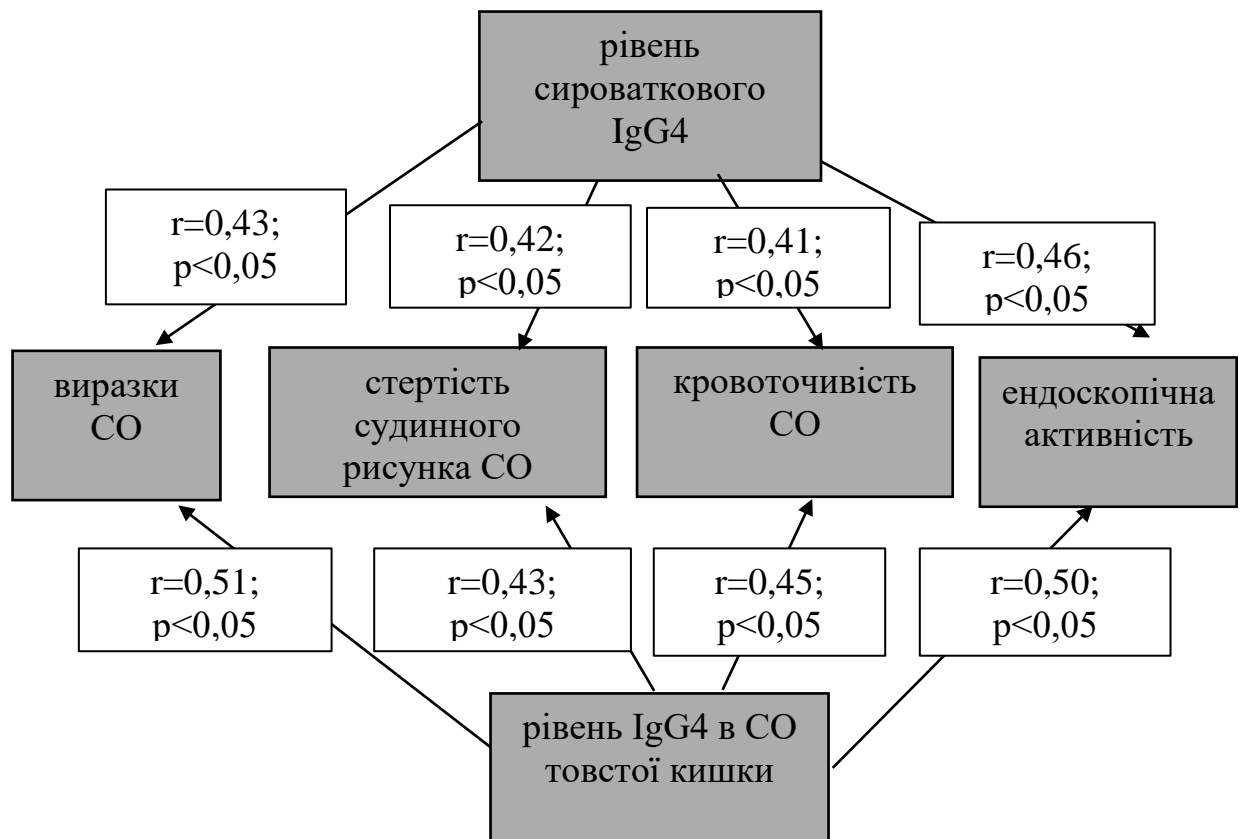


Рисунок 10 – Кореляційні зв'язки рівня IgG4 з ендоскопічними ознаками СО товстої кишки

Встановлена залежність рівня IgG4 від тяжкості й тривалості захворювання та зв'язок наявності тканинного IgG4 з гістологічною активністю при ЗЗК, що може використовуватись, як прогностичний маркер.

У ході виконання роботи, з метою визначення впливу терапії на рівень IgG4 у сироватці крові хворих на ВК і ХК, було проведено аналіз рівня сироваткового IgG4 до та після терапії. Терапію пацієнти отримували за стандартами надання медичної допомоги при ВК і ХК (табл. 8).

Таблиця 8 – Вплив лікування на рівень IgG4 у сироватці крові хворих на ЗЗК, Ме (Q1; Q3), г/л

Група	До лікування	Після лікування	Контрольна група (n=15)
ЗЗК, (n=100)	2,0 (1,6; 2,43)*	1,2 (0,58; 1,73)* #	0,65 (0,45; 0,8)
ВК, (n=75)	1,95 (1,6; 2,43)*	1,05 (0,58; 1,5)#	0,65 (0,45; 0,8)
ХК, (n=25)	2,1 (1,58; 2,35)*	1,8 (1,18; 2,13)*	0,65 (0,45; 0,8)
Примітка 1. * – $p < 0,05$ – достовірність відмін порівняно з контролем. Примітка 2. # – $p < 0,05$ – достовірність відмін у порівнянні до та після лікування.			

У всіх обстежених хворих після лікування встановлено зниження вмісту IgG4 у сироватці крові: у загальній когорті у 1,7 рази ($p < 0,05$), у хворих на ВК у 1,9 рази ($p < 0,05$) та у хворих ХК в 1,2 рази ($p > 0,05$).

З метою визначення впливу системних ГКС на рівень IgG4, в ході виконання роботи було проведено аналіз анамнестичних даних і даних обстежень хворих. Для чого хворі були розділені на дві групи: 22 хворих на ЗЗК, які впродовж останнього року приймали системні ГКС у дозі 30-40мг/д та 78 хворих на ЗЗК, які не приймали системні ГКС (табл. 9).

Таблиця 9 – Рівень IgG4 в сироватці крові хворих на ЗЗК в залежності від прийому системних ГКС в анамнезі лікування, Ме (Q1; Q3), г/л

Показник, од. виміру	ЗЗК, із ГКС (n=22)	ЗЗК, без ГКС (n=78)	Контрольна група (n=15)
IgG, г/л	8,62 (7,85; 9,62)*	8,93 (7,76; 10,0)*	12,75 (11,75; 14,24)
IgG4, г/л	0,9 (0,2; 2,25)*	1,25 (0,5; 2,2)*	0,65 (0,45; 0,8)
IgG4/IgG	0,09 (0,02; 0,27)	0,14 (0,05; 0,22)* #	0,05 (0,03; 0,06)
Примітка 1. * – $p < 0,05$ достовірність відмін у порівнянні з контролем. Примітка 2. # – $p < 0,05$ достовірність відмін у порівнянні із та без ГКС.			

Аналіз отриманих даних показав, що для хворих, які не приймали системні ГКС було характерне збільшення рівня IgG4 в сироватці крові хворих у 1,9 рази ($p < 0,05$) та у 1,4 рази ($p < 0,05$) порівняно із групою контролю та хворими, які приймали системні ГКС, відповідно.

Медіана співвідношення IgG4/IgG була вірогідно вище ніж в групі контролю (у 2,8 рази, $p < 0,05$) та у хворих із ГКС (1,6 рази, $p < 0,05$).

Для оцінки впливу системних ГКС на рівень сироваткового IgG4 в динаміці лікування, під час поточної госпіталізації, хворі були розділені на дві групи: 30 хворих на ЗЗК (24 хворих з ВК та 6 хворих із ХК) які приймали системні ГКС за показами, згідно протоколів лікування ЗЗК, у дозі 30-40 мг/добу та 14 хворих на ЗЗК (13 із ВК та 1 із ХК), які не потребували призначення системних ГКС. (табл. 10).

Так, найбільший рівень зниження вмісту IgG4 у сироватці крові встановлено у 87,5 % хворих на ВК із ГКС і після лікування медіана рівня IgG4 була вірогідно знижена у 2,3 рази ($p < 0,05$) порівняно із рівнем до лікування. Тоді як, у 66,7 % хворих на ХК із ГКС встановлено тенденцію до зниження рівня IgG4. У хворих на ХК без ГКС встановлено підвищення рівня IgG4 у сироватці крові.

Таблиця 10 – Вплив системних ГКС на рівень IgG4 в сироватці крові хворих на ЗЗК в динаміці лікування, Me (Q1; Q3), г/л

Група	До лікування	Після лікування	Контрольна група (n=15)
ЗЗК, із ГКС (n=30)	2,0 (1,6; 2,5)*	0,90 (0,60; 1,40)#	0,65 (0,45; 0,8)
ЗЗК без ГКС (n=14)	1,95 (1,73; 2,38)*	1,35 (0,83; 2,1)*	0,65 (0,45; 0,8)
ВК із ГКС (n=24)	2,05 (1,60; 2,50)*	0,90 (0,58; 1,40)#	0,65 (0,45; 0,8)
ВК без ГКС (n=13)	2,00 (1,80; 2,40)*	1,50 (1,20; 2,20)*	0,65 (0,45; 0,8)
ХК із ГКС (n=6)	1,80 (1,53; 2,38)*	1,50 (0,73; 1,90)	0,65 (0,45; 0,8)
ХК без ГКС (n=1)	2,20 (0)	2,40 (0)	0,65 (0,45; 0,8)

Примітка 1. * – $p < 0,05$ достовірність відмін у порівнянні з контрольною групою.

Примітка 2.# – $p < 0,05$ достовірність відмін у порівнянні до та після лікування.

Рівень IgG4 у сироватці крові знижувався на 61,6 (45,03; 69,72) % у хворих на ВК із ГКС та на 18,86 % (8,75; 33,39) у хворих на ВК без ГКС (рис. 11).

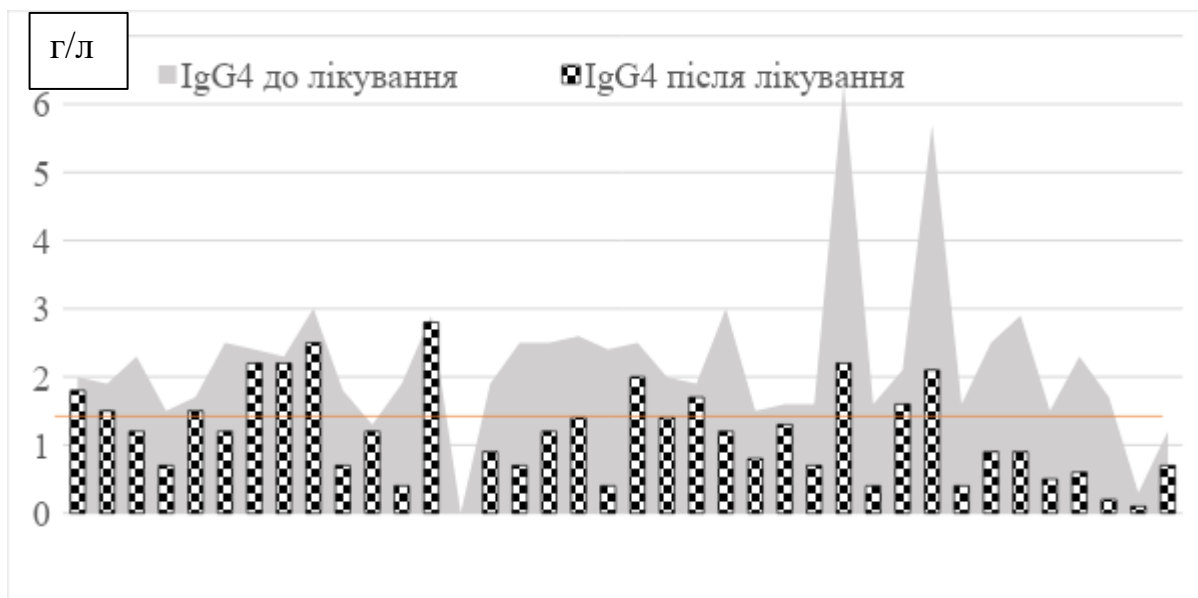


Рисунок 11 – Вміст IgG4 в сироватці крові хворих на ВК залежно від прийому системних ГКС в динаміці лікування.

У хворих на ХК із ГКС це зниження було на 56,4 (39,62; 69,75) % (рис. 12).

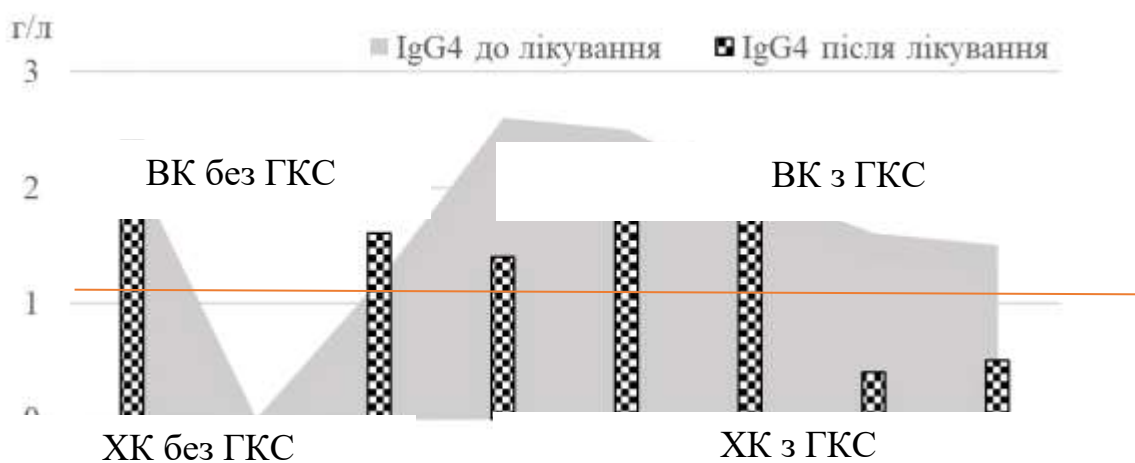
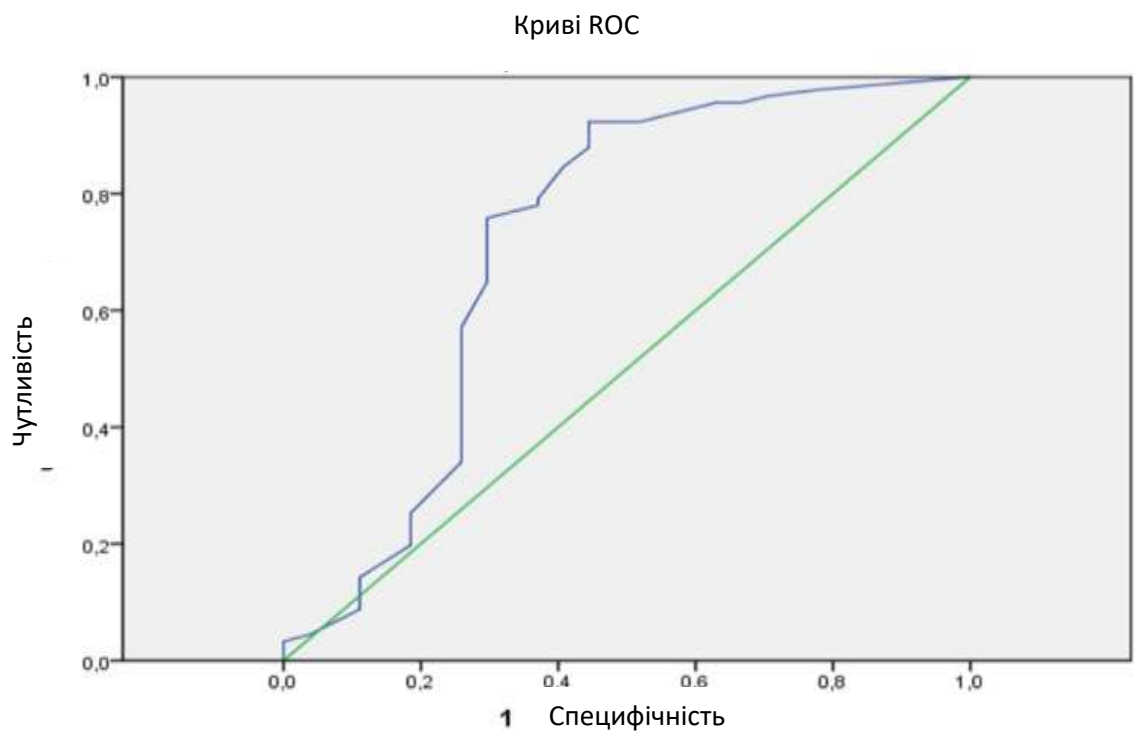


Рисунок 12 – Вміст IgG4 у сироватці крові хворих на ХК залежно від прийому системних ГКС в динаміці лікування.

Можливість використання IgG4, як маркера прогнозування перебігу запальних захворювань кишечника і розробки алгоритму прогнозування тяжкості перебігу захворювання

Для удосконалення діагностичного алгоритму з метою оцінки діагностичної ефективності IgG4 та коефіцієнту IgG4/IgG проводився ROC-аналіз з визначенням порогових значень показників. Це дозволило встановити високу якість рівня сироваткового IgG4, як маркера диференційної діагностики між ВК і ХК (рис. 13). Так AUC дорівнює 0,718 (95 % ДІ 0,583-0,854; $p < 0,001$). Порогове значення рівень IgG4 в сироватці крові, вище якого діагностують ВК у хворих на ЗЗК, склало 1,35 г/л, чутливість дорівнює 73,6 % та специфічність – 70,4 %.



Діагональні сегменти формують співпадіння

Рисунок 13 – ROC-крива концентрації IgG4 в сироватці крові в диференційній діагностиці ВК.

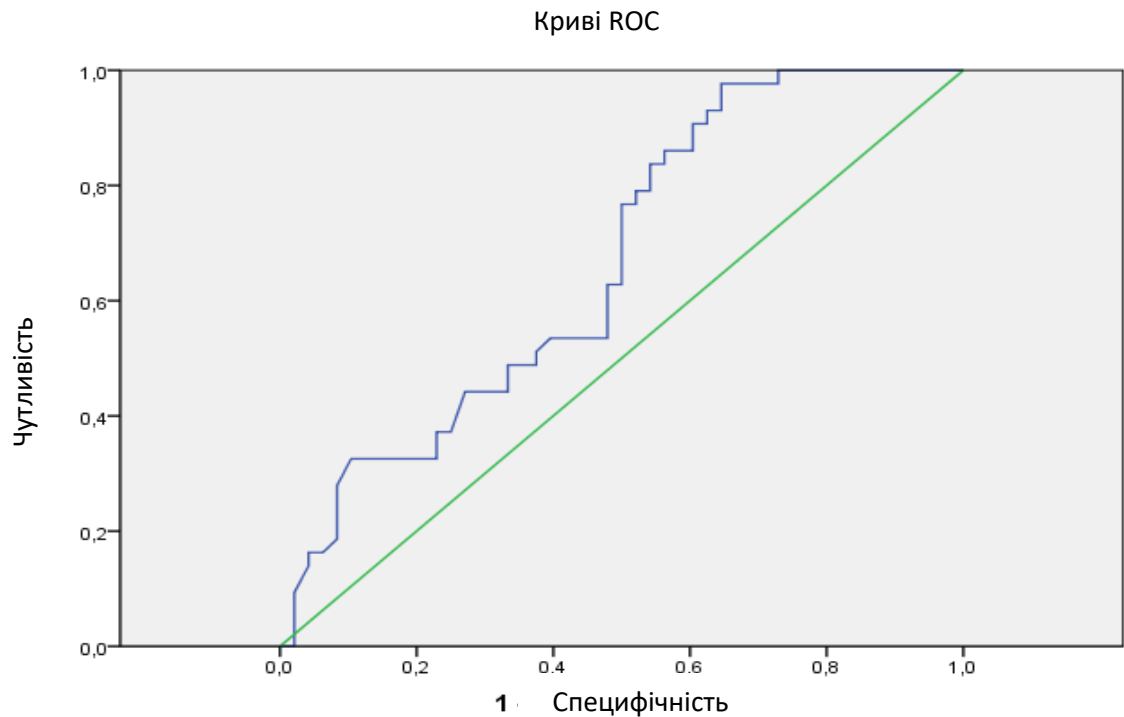
Для визначення групи ризику виникнення рецидивів більше одного разу на рік було вивчено залежність рівня IgG4 та IgG4/IgG від кількості рецидивів ВК на рік (табл. 11).

Таблиця 11 – Рівень IgG залежно від кількості рецидивів ВК, Me (Q1; Q3)

Показник, од. виміру	Рецидив ВК 1 раз на рік (n=48)	Рецидив ВК >1 раз на рік (n=44)	Контрольна група (n=15)
IgG, г/л	9,04 (7, 87; 10,5)	8,79 (7,0; 9,62)*	12,75 (11,75; 14,24)
IgG4, г/л	1,8 (1,55; 2,05)*	1,6 (1,0; 2,059) *	0,65 (0,45; 0,8)
IgG4/IgG	0,15 (0,07; 0,20)*	0,2 (0,15; 0,27)*#	0,05 (0,03; 0,06)
Примітка 1. * – $p < 0,05$ достовірність відмін у порівнянні з контрольною групою; Примітка 2. # – $p < 0,05$ достовірність відмін у порівнянні з групою із рецидивами ВК 1 раз на рік.			

Проведений аналіз показав відсутність вірогідної різниці рівня IgG4 у сироватці крові залежно від рецидивів ВК. Тоді як, коефіцієнт IgG4/IgG був вірогідно вище у 1,3 рази ($p < 0,05$) у хворих із рецидивами ВК більше одного разу порівняно із групою хворих із рецидивами один раз на рік.

Діагностичну цінність алгоритму визначення ризику рецидиву визначали за значенням площі під ROC-кривою AUC (Area Under Curve), Для коефіцієнту IgG4/IgG AUC дорівнює 0,665 (95 % ДІ 0,555-0,776; $p < 0,007$) (рис. 14). Також розраховували чутливість, специфічність, точність, цінність діагностичних маркерів з подальшим визначенням їх оптимальних порогових значень для максимальної суми чутливості і специфічності.



Діагональні сегменти формують співпадіння

Рисунок 14 – ROC-крива значення коефіцієнту IgG4/IgG для визначення групи ризику рецидивів ВК частіше одного разу на рік.

Порогове значення рівень IgG4/ IgG в сироватці крові, вище якого є ризик рецидиву ВК частіше одного разу на рік, склало 0,15 ум.од, чутливість дорівнює 76,7 % та специфічність – 50,0 %.

На основі ROC-аналізу нами розроблений алгоритм диференційної діагностики ВК й ХК, в основі якого лежить рівень сироваткового IgG4 (чутливість - 73,6 % та специфічність – 70,4 %). Представлені в роботі дані свідчать про можливість використання IgG4 як додаткового маркера диференційної діагностики у випадках, коли після проведення стандартного діагностичного пошуку, неможливо визначитись із остаточним діагнозом ЗЗК, і додаткове визначення сироваткового IgG4 зі значенням $\geq 1,35$ г/л з чутливістю 73,6% буде свідчити на користь ВК. Для прогнозування перебігу ЗЗК придатним слід вважати розрахунковий коефіцієнт співвідношення IgG4/IgG $\geq 0,15$, який показав свою ефективність для ВК. Так ймовірність рецидиву на протязі року для хворих на ВК слід вважати високою при значенні коефіцієнту IgG4/IgG $\geq 0,15$, з чутливістю 76,7 % (рис. 15).

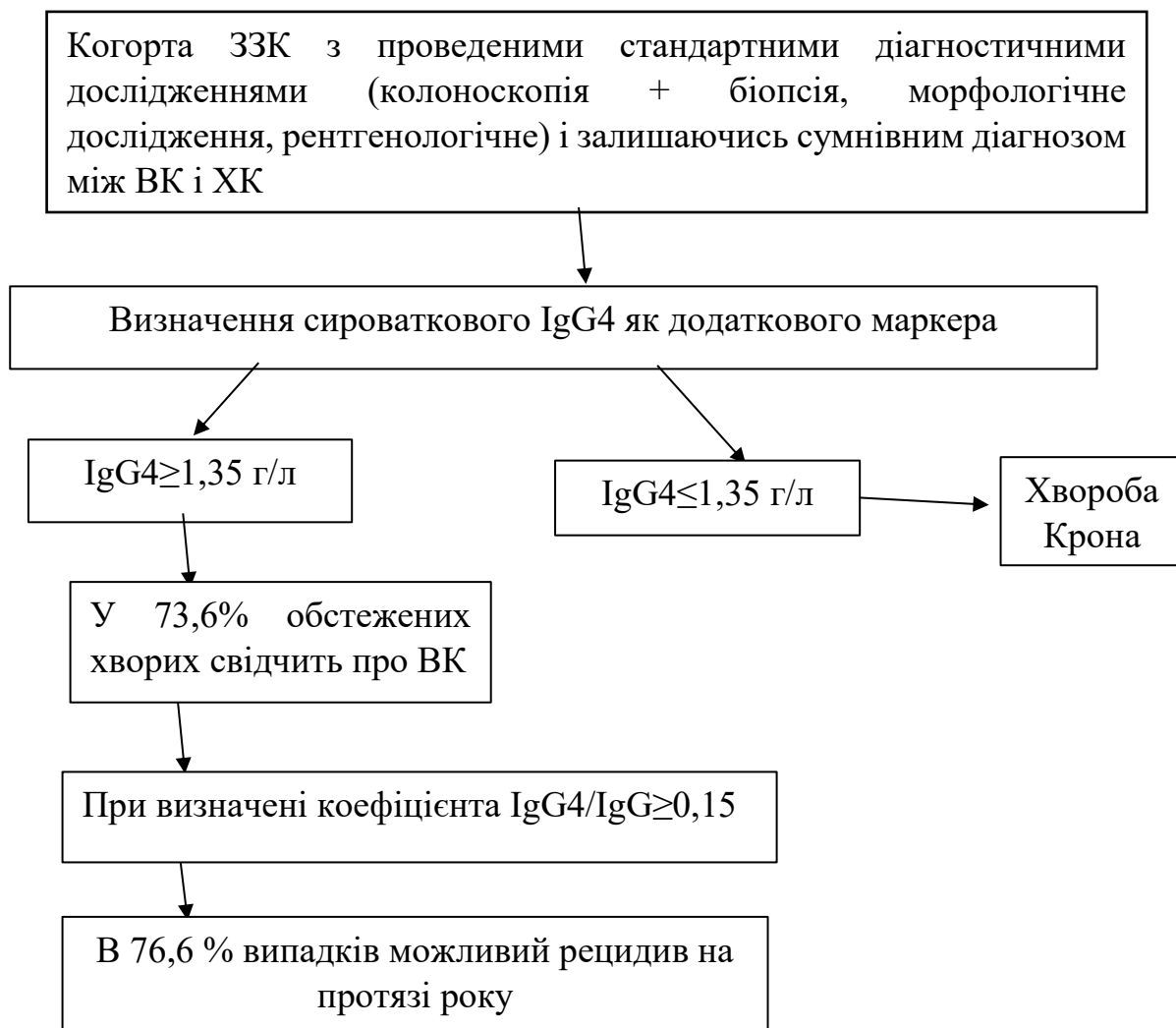


Рисунок 15 – Алгоритм диференційної діагностики ВК і ХК та прогнозування перебігу ВК

З метою визначення впливу системних ГКС на рівень сироваткового IgG4 у ході виконання роботи було проведено аналіз анамнестичних даних. Аналіз отриманих даних показав, що для хворих які не приймали системні ГКС впродовж останнього року було характерне збільшення рівня IgG4 в сироватці крові хворих у 1,9 рази ($p < 0,05$) та у 1,4 рази ($p > 0,05$) порівняно із групою контролю та хворими, які приймали системні ГКС впродовж останнього року в стандартній дозі, відповідно. Медіана співвідношення IgG4/IgG була вірогідно вище, ніж у групі контролю (в 2,8 рази, $p < 0,05$) та у хворих на ВК, яким було призначено системні ГКС в базову терапію на момент дослідження (1,6 рази, $p < 0,05$).

Проведений ROC-аналіз дозволив нам розробити алгоритм прогнозування ефективності терапії системними ГКС у хворих на ВК. Отже, у пацієнтів яким встановлено діагноз ВК, на підставі набору стандартних досліджень і, які в анамнезі впродовж останнього року не приймали системних ГКС, при рівні сироваткового $IgG4 \geq 1,4$ г/л з чутливістю 72,6 % та специфічністю 60 % ми можемо прогнозувати ефективність системних ГКС доданих до стандартної терапії (рис. 16). Це допоможе оптимізувати і полегшити вибір тактики лікування пацієнтів з ВК.

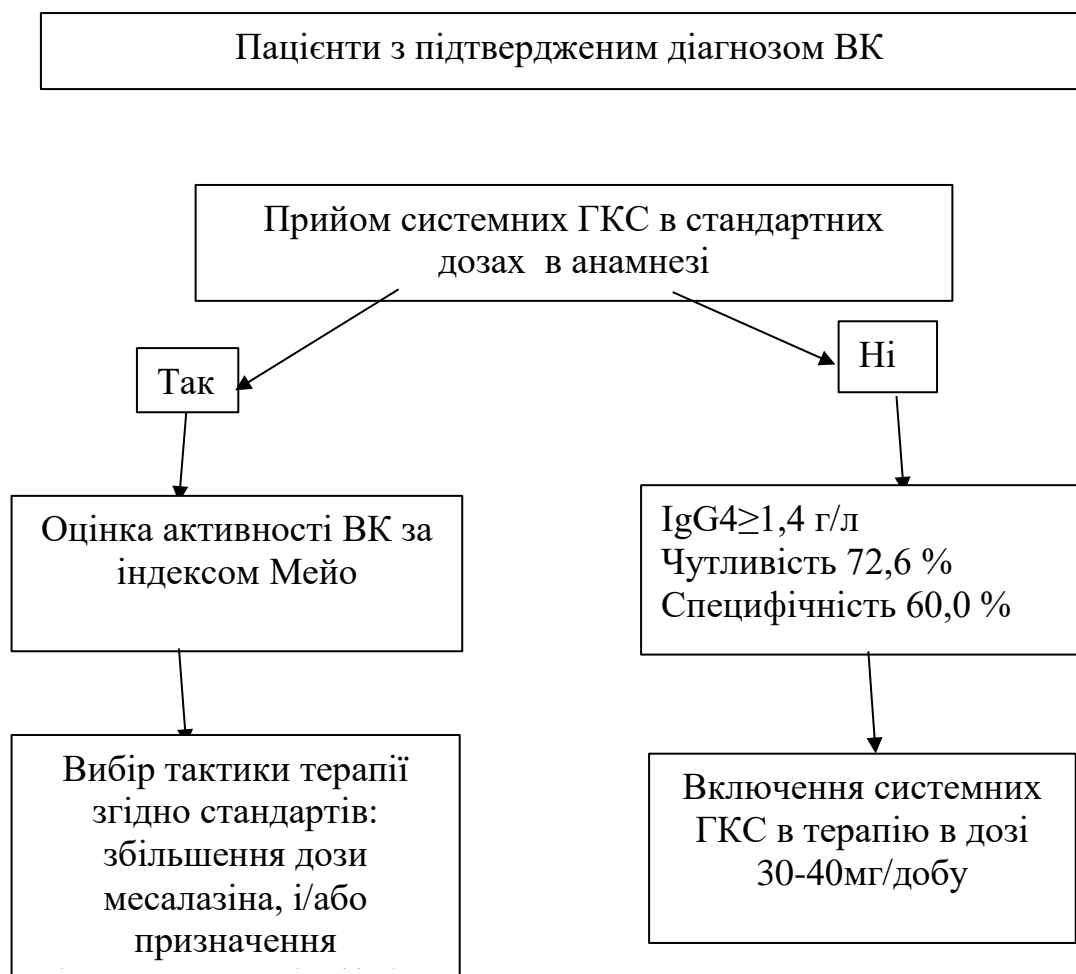


Рисунок 16 – Алгоритм прогнозування ефективності терапії

Таким чином, результати проведених досліджень дали змогу встановити наступне:

– За результатами ROC – аналізу рівень сироваткового $IgG4 > 1,35$ г/л може бути використаний для диференційної діагностики між ВК і ХК та з

високою ймовірністю встановити діагноз ВК (чутливість 73,6 % та специфічність 70,4 % $p < 0,001$)

– При значенні співвідношення IgG4/IgG більше 0,15 ум.од у хворого на ВК визначають ризик рецидиву хвороби частіше одного разу на рік. За даними ROC – аналізу в оцінці ризику рецидиву ВК встановлена висока чутливість та специфічність методу (76,7 % та 50,0 %).

– Алгоритм прогнозування ризику рецидиву ВК частіше одного разу на рік завдяки високій діагностичній точності (чутливість 76,7 %, специфічність 50,0 %, $p < 0,05$) доцільно визнати придатною для визначення ймовірності рецидиву ВК на протязі року

– Проведений ROC-аналіз дозволив нам розробити алгоритм прогнозування ефективності терапії ГКС у хворих з ВК, який з чутливістю 72,6 % та специфічністю 60 % прогнозує ефективність системних ГКС при рівні $\text{IgG4} \geq 1,4$ г/л у хворих з ВК, які не приймали системні ГКС в анамнезі

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

- 1. В комплекс діагностичних заходів при диференційній діагностиці між ВК і ХК доцільно включати додаткове дослідження на визначення IgG4 в сироватці крові з метою диференційної діагностики ВК та ХК і прогнозування перебігу та ефективності терапії. Так, якщо після проведення стандартної діагностичної програми діагноз залишається сумнівним, слід додатково визначати рівень сироваткового IgG4, при рівні $\text{IgG4} \geq 1,35$ г/л (чутливість 73,6 % та специфічність 70,4 %) більше даних за ВК
- 2. Для прогнозування перебігу ВК слід застосовувати розрахунковий коефіцієнт IgG4/IgG , при його значенні $\geq 0,15$ (чутливість 76,7% та специфічність 50,0 %) визначається ймовірність рецидиву ВК на протязі року
- 3. Хворим з ВК, які не приймали системні ГКС в анамнезі, при рівні $\text{IgG4} \geq 1,4$ г/л (чутливість 72,6 % та специфічність 60 %) доцільно буде оптимізувати терапію, призначивши системні ГКС в дозі 30-40 мг/добу до основної терапії.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ.

1. Rodríguez-Lago, I., Hoyo, J. D., Pérez-Girbés, A., Garrido-Marín, A., Casanova, M. J., Chaparro, M., Fernández-Clotet, A., Castro-Poceiro, J., García, M. J., Sánchez, S., Ferreiro-Iglesias, R., Bastón, I., Piqueras, M., Careda, L. E. I. B., Mena, R., Suárez, C., Cordon, J. P., López-García, A., Márquez, L., Arroyo, M., ... Young GETECCU Group (2020). Early treatment with anti-tumor necrosis factor agents improves long-term effectiveness in symptomatic stricturing Crohn's disease. *United European gastroenterology journal*, 8(9), 1056–1066. <https://doi.org/10.1177/2050640620947579>
2. Kotani, H., Ohtsuka, T., Okada, S., Kusama, M., & Taniguchi, T. (2020). A case of IgG4-related disease presented with Kimura disease-like skin eruption, rheumatoid arthritis-like abnormality and interstitial pneumonia. *Clinical and experimental dermatology*, 45(6), 733–734. <https://doi.org/10.1111/ced.14222>
3. James, J. P., Riis, L. B., Malham, M., Høgdall, E., Langholz, E., & Nielsen, B. S. (2020). MicroRNA Biomarkers in IBD-Differential Diagnosis and Prediction of Colitis-Associated Cancer. *International journal of molecular sciences*, 21(21), 7893. <https://doi.org/10.3390/ijms21217893>
4. Kostrzewska, P., Całkosiński, A., Majewski, M., & Malinowski, K. (2022). Kalprotektyna w kale jako marker diagnostyczny w nieswoistych zapaleniach jelit [Fecal calprotectin as a diagnostic marker of inflammatory bowel disease]. *Polski merkurusz lekarski : organ Polskiego Towarzystwa Lekarskiego*, 50(295), 58–61.
5. Wallace, Z. S., Naden, R. P., Chari, S., Choi, H., Della-Torre, E., Dicaire, J. F., Hart, P. A., Inoue, D., Kawano, M., Khosroshahi, A., Kubota, K., Lanzillotta, M., Okazaki, K., Perugino, C. A., Sharma, A., Saeki, T., Sekiguchi, H., Schleinitz, N., Stone, J. R., Takahashi, N., ... American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism IgG4-Related Disease Classification Criteria Working Group (2020). The 2019 American College of Rheumatology/European League

Against Rheumatism Classification Criteria for IgG4-Related Disease. *Arthritis & rheumatology (Hoboken, N.J.)*, 72(1), 7–19. <https://doi.org/10.1002/art.41120>

6. Dassanayaka, W., Liyanaarachchi, K. S., Ala, A., & Bagwan, I. N. (2023). IgG4-related disease: an analysis of the clinicopathological spectrum: UK center experience. *Journal of clinical pathology*, 76(1), 53–58. <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2021-207748>

7. Ishikawa, H., Uruga, H., Fujii, T., Kurosaki, A., Morokawa, N., & Takaya, H. (2020). IgG4-related disease in the differential diagnosis of lung nodules. *Respirology case reports*, 8(4), e00550. <https://doi.org/10.1002/rcr2.550>

8. Orozco-Gálvez, O., Fernández-Codina, A., Lanzillotta, M., Ebbo, M., Schleinitz, N., Culver, E. L., Rebours, V., D'Cruz, D. P., Torre, E. D., & Martínez-Valle, F. (2023). Development of an algorithm for IgG4-related disease management. *Autoimmunity reviews*, 22(3), 103273. Advance online publication. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2023.103273>

9. Satou, A., Notohara, K., Zen, Y., Nakamura, S., Yoshino, T., Okazaki, K., & Sato, Y. (2020). Clinicopathological differential diagnosis of IgG4-related disease: A historical overview and a proposal of the criteria for excluding mimickers of IgG4-related disease. *Pathology international*, 70(7), 391–402. <https://doi.org/10.1111/pin.12932>

10. Tanaka, A., Tazuma, S., Okazaki, K., Tsubouchi, H., Inui, K., & Takikawa, H. (2014). Nationwide survey for primary sclerosing cholangitis and IgG4-related sclerosing cholangitis in Japan. *Journal of hepato-biliary-pancreatic sciences*, 21(1), 43–50. <https://doi.org/10.1002/jhbp.50>

11. Tang, J., Cai, S., Ye, C., & Dong, L. (2020). Biomarkers in IgG4-related disease: A systematic review. *Seminars in arthritis and rheumatism*, 50(2), 354–359. <https://doi.org/10.1016/j.semarthrit.2019.06.018>

12. Maehara, T., Moriyama, M., & Nakamura, S. (2020). Review of a novel disease entity, immunoglobulin G4-related disease. *Journal of the Korean Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*, 46(1), 3–11. <https://doi.org/10.5125/jkaoms.2020.46.1.3>

13. Topal, F., Sarıtaş Yüksel, E., Ekinci, N., Pekdiker, M., Cakalağaoğlu, F., Alper, E., & Unsal, B. (2014). The prevalence of IgG4-positive plasma cell infiltrates in inflammatory bowel disease patients without autoimmune pancreatitis. *The Turkish journal of gastroenterology: the official journal of Turkish Society of Gastroenterology*, 25(5), 558–562. <https://doi.org/10.5152/tjg.2014.5714>
14. Wang, Z., Zhu, M., Luo, C., Zhen, Y., Mu, J., Zhang, W., Ouyang, Q., & Zhang, H. (2018). High level of IgG4 as a biomarker for a new subset of inflammatory bowel disease. *Scientific reports*, 8(1), 10018. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-28397-8>
15. Navaneethan, U., Liu, X., Bennett, A. E., Walsh, R. M., Venkatesh, P. G., & Shen, B. (2011). IgG4-associated ampullitis and cholangiopathy in Crohn's disease. *Journal of Crohn's & colitis*, 5(5), 451–456. <https://doi.org/10.1016/j.crohns.2011.03.007>
16. Iida, T., Wagatsuma, K., Hirayama, D., Yokoyama, Y., & Nakase, H. (2019). The Etiology of Pancreatic Manifestations in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Journal of clinical medicine*, 8(7), 916. <https://doi.org/10.3390/jcm8070916>
17. Harkness, T., Fu, X., Zhang, Y., Choi, H. K., Stone, J. H., Blumenthal, K. G., & Wallace, Z. S. (2020). Immunoglobulin G and immunoglobulin G subclass concentrations differ according to sex and race. *Annals of allergy, asthma & immunology: official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*, 125(2), 190–195.e2. <https://doi.org/10.1016/j.anai.2020.03.018>
18. Virk, R., Shinagare, S., Lauwers, G. Y., Yajnik, V., Stone, J. H., & Deshpande, V. (2014). Tissue IgG4-positive plasma cells in inflammatory bowel disease: a study of 88 treatment-naive biopsies of inflammatory bowel disease. *Modern pathology: an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*, 27(3), 454–459. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2013.121>
19. Kuwata, G., Kamisawa, T., Koizumi, K., Tabata, T., Hara, S., Kuruma, S., Fujiwara, T., Chiba, K., Egashira, H., Fujiwara, J., Arakawa, T., Momma, K., &

Horiguchi, S. (2014). Ulcerative colitis and immunoglobulin G4. *Gut and liver*, 8(1), 29–34. <https://doi.org/10.5009/gnl.2014.8.1.29>

20. Raina, A., Yadav, D., Regueiro, M., Krasinskas, A. M., Saul, M. I., Sapienza, D. A., Binion, D. G., & Hartman, D. J. (2013). Mucosal IgG4 cell infiltration in ulcerative colitis is linked to disease activity and primary sclerosing cholangitis. *Inflammatory bowel diseases*, 19(6), 1232–1237. <https://doi.org/10.1097/MIB.0b013e318281344d>

21. Norouzinia, M., Chaleshi, V., Alizadeh, A. H. M., & Zali, M. R. (2017). Biomarkers in inflammatory bowel diseases: insight into diagnosis, prognosis and treatment. *Gastroenterology and hepatology from bed to bench*, 10(3), 155–167.

22. Chen, X., Sun, W., Lin, R., Huang, Z., & Chen, W. (2018). IgG4+ plasma cell infiltration is correlated with the development of inflammatory bowel disease and can be regulated by TLR-4. *International journal of clinical and experimental pathology*, 11(9), 4537–4544.

23. Koutroumpakis, F., Phillips, A. E., Yadav, D., Machicado, J. D., Ahsan, M., Ramos Rivers, C., Tan, X., Schwartz, M., Proksell, S., Johnston, E., Dueker, J., Hashash, J. G., Barrie, A., Harrison, J., Dunn, M. A., Konnikova, L., Hartman, D. J., Din, H., Babichenko, D., Tang, G., ... Binion, D. G. (2021). Serum IgG4 Subclass Deficiency Defines a Distinct, Commonly Encountered, Severe Inflammatory Bowel Disease Subtype. *Inflammatory bowel diseases*, 27(6), 855–863. <https://doi.org/10.1093/ibd/izaa230>

24. Şimşek, H. D., Basyigit, S., Aktas, B., Vargol, E., Şimşek, G. G., Küçükazman, M., & Nazlıgül, Y. (2016). Comparing the type and severity of inflammatory bowel disease in relation to IgG4 immunohistochemical staining. *Acta gastro-enterologica Belgica*, 79(2), 216–221.

25. Raina, A., Yadav, D., Regueiro, M., Krasinskas, A. M., Saul, M. I., Sapienza, D. A., Binion, D. G., & Hartman, D. J. (2013). Mucosal IgG4 cell infiltration in ulcerative colitis is linked to disease activity and primary sclerosing cholangitis. *Inflammatory bowel diseases*, 19(6), 1232–1237. <https://doi.org/10.1097/MIB.0b013e318281344d>

26. Norouzinia, M., Chaleshi, V., Alizadeh, A. H. M., & Zali, M. R. (2017). Biomarkers in inflammatory bowel diseases: insight into diagnosis, prognosis and treatment. *Gastroenterology and hepatology from bed to bench*, 10(3), 155–167.

27. Faria, R. J., Clemente, C. M., Carneiro, F. P., & Santos-Neto, L. (2015). Can IgG4 Levels Identify the Ulcerative Colitis Subtype of Inflammatory Bowel Disease?. *Gastroenterology research*, 8(2), 178–185. <https://doi.org/10.14740/gr648w>

28. Virk, R., Shinagare, S., Lauwers, G. Y., Yajnik, V., Stone, J. H., & Deshpande, V. (2014). Tissue IgG4-positive plasma cells in inflammatory bowel disease: a study of 88 treatment-naive biopsies of inflammatory bowel disease. *Modern pathology: an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*, 27(3), 454–459. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2013.121>