

Особенности реструктуризации нейтрофильных гранулоцитов при язвенном колите

Е.В. Болотова, К.А. Юмукян, А.В. Дудникова, А.А. Евглевский

Features of neutrophil granulocyte restructuring in ulcerative colitis

E.V. Bolotova, K.A. Yumukyan, A.V. Dudnikova, A.A. Evglevsky

ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, ул. Седина, д. 4, г. Краснодар, Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Научно-исследовательский институт – Краевая клиническая больница №1 им. С.В. Очаповского» Минздрава России, ул. 1 Мая, 167, г. Краснодар

Ключевые слова: язвенный колит, нейтрофилы, анизотропия, цитокины

Резюме

Особенности реструктуризации нейтрофильных гранулоцитов при язвенном колите

Е.В. Болотова, К.А. Юмукян, А.В. Дудникова, А.А. Евглевский

Цель исследования: оценка особенностей реструктуризации хроматина нейтрофильных гранулоцитов (НГ) у больных язвенным колитом (ЯК) в зависимости от наличия и тяжести атаки.

Материал и методы. 178 больных ЯК распределены на группы: в 1-ю вошли 39 пациентов в фазе ремиссии, во 2-ю – 48 больных ЯК с атакой лёгкой степени тяжести, в 3-ю – 46 пациентов с атакой средней степени тяжести, в 4-ю – 45 пациентов с тяжелой атакой ЯК. Контрольная группа: 40 пациентов с синдромом раздраженного кишечника (СРК) и 40 здоровых добровольцев. Всем пациентам определяли цитокиновый профиль и оценивали степень реструктуризации ядер НГ.

Результаты. Средний уровень TNF α при тяжелой атаке ЯК составил 31,7 (19,1-58,4) пг/мл, что было достоверно выше, чем в группе пациентов с ремиссией ($p=0,001$), в группе пациентов с легкой атакой ($p=0,001$) и контрольной группе ($p=0,0001$). Выявлена достоверная корреляция баллов по шкале Мейо со степенью оптической анизотропии НГ ($r=-0,876$, $p=0,001$) и уровнем сывороточных интерлейкинов IL-6 ($r=0,598$, $p=0,001$), IL-17 ($r=0,587$, $p=0,005$), ФНО α ($r=0,701$, $p=0,001$). Получены сильные отрицательные корреляции между степенью оптической анизотропии и уровнем TNF α ($r=-0,896$, $p=0,0001$), IL-17 ($r=-0,806$, $p=0,0001$), а также IL-6 ($r=-0,8367$, $p=0,0001$).

Выводы. Выявленная нами высокая диагностическая значимость степени оптической анизотропии НГ, сопоставимая с клинико-лабораторными маркерами, является перспективным направлением и требует дальнейшего изучения.

Болотова Елена Валентиновна – д.м.н. профессор кафедры терапии №1 факультета повышения квалификации и последипломной подготовки специалистов Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 350063, Краснодар, ул. Седина, д.4; e-mail: bolotowa_e@mail.ru

Юмукян Кнра Андраниковна – аспирант кафедры терапии №1 факультета повышения квалификации и последипломной подготовки специалистов Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 350063, Краснодар, ул. Седина, д.4; врач – гастроэнтеролог гастроэнтерологического отделения государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Научно-исследовательский институт – Краевая клиническая больница №1 им. С.В. Очаповского», Краснодар, 1 Мая, 167, 360086; e-mail: yumukyan_ka@mail.ru

Дудникова Анна Валерьевна – к.м.н., врач-терапевт высшей квалификационной категории консультативно-диагностического отделения Клиники Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации 350010, Россия, г. Краснодар, ул. Зиповская 4/3; e-mail: avdudnikova@yandex.ru

Евглевский Андрей Александрович – к.м.н., доцент кафедры гистологии с курсом эмбриологии доцент кафедры гистологии с курсом эмбриологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 350063, Краснодар, ул. Седина, д.4; email: evglandr@mail.ru

Abstract**Features of neutrophil granulocyte restructuring in ulcerative colitis***E.V. Bolotova, K.A. Yumukyan, A.V. Dudnikova, A.A. Evglevsky*

The aim of the study was to evaluate the features of neutrophil granulocyte (NG) chromatin restructuring in ulcerative colitis (UC) patients, depending on the presence and severity of the attack.

Material and methods. 178 patients with UC were divided into groups: in the 1st – 39 patients in remission, in the 2nd – 48 patients with mild attack, in the 3rd – 46 patients with moderate attack, in the 4th – 45 patients with severe attack of UC. Control group: 40 patients with irritable bowel syndrome (IBS) and 40 healthy volunteers. Cytokine profile was determined in all patients and the degree of restructuring of NG nuclei was assessed.

Results. The average TNF α level in severe UC attack was 31.7 (19.1-58.4) pg/ml, which was significantly higher than in the group of patients with remission ($p=0.001$), in the group of patients with mild attack ($p=0.001$) and the control group ($p=0.0001$). There was a significant correlation between the scores on the Mayo scale with the degree of optical anisotropy of NG ($r=-0.876$, $p=0.001$) and the level of serum interleukins IL-6 ($r=0.598$, $p=0.001$), IL-17 ($r=0.587$, $p=0.005$), TNF α ($r=0.701$, $p=0.001$). Strong negative correlations were obtained between the degree of optical anisotropy and the level of TNF α ($r=-0.896$, $p=0.0001$), IL 17 ($r=-0.806$, $p=0.0001$), and IL 6 ($r=-0.8367$, $p=0.0001$).

Conclusions. The revealed high diagnostic significance of the degree of optical anisotropy of NG, comparable with clinical and laboratory markers, is a promising direction and requires further study.

Keywords: ulcerative colitis, neutrophils, anisotropy, cytokines

Введение

Распространенность воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК) растет во всем мире [1]. ВЗК включает в себя две основные формы: болезнь Крона (БК) и язвенный колит (ЯК), представляющие собой хронические заболевания, характеризующиеся неконтролируемой воспалительной реакцией в желудочно-кишечном тракте с рецидивирующим течением [1, 2]. ЯК вызывает хроническое воспаление слизистой оболочки с вовлечением прямой кишки, которое может распространяться проксимально на всю толстую кишку [2]. Степень вовлечения толстой кишки оказывает большое влияние на лечение и долгосрочный прогноз заболевания. Больные ЯК с высокой степенью активности и большей протяженностью поражения толстой кишки нуждаются в более агрессивной терапии, имеют повышенную потребность в стероидах и риск колэктомии [2, 3]. Хорошо известно, что системная воспалительная реакция связана с относительным увеличением нейтрофилов и относительным уменьшением лимфоцитов [4]. В слизистой кишечника больных ЯК трансэпителиальная миграция нейтрофилов является отличительной чертой заболевания, тесно коррелирующей с активностью заболевания и способствующая образованию крипт и абсцессов [2-4].

Нейтрофильная инфильтрация является отличительной чертой гистопатологии ЯК и важнейшим компонентом оценки тяжести ЯК, отражающей центральную роль нейтрофилов как эффекторных клеток в повреждении слизистой оболочки [4]. В настоящее время широко обсуждается диагностическая значимость соотношения нейтрофилов и лимфо-

цитов периферической крови, биомаркеров нейтрофильного происхождения (лактоферрина, кальпротектина и др.) при ЯК [5]. Отдельного внимания заслуживает методика оценки реструктуризации хроматина ядер НГ по степени их анизотропии И.В. Нестеровой и соавт. [6]. На основе данной методики были изучены особенности реструктуризации хроматина у пациентов с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки, больных колоректальным раком [6]. Вместе с тем, недостаточно исследованной остается оценка реструктуризации хроматина ядер НГ у больных ЯК. Поэтому целью нашего исследования стала оценка особенностей реструктуризации хроматина НГ у больных ЯК в зависимости от наличия и тяжести атаки.

Материал и методы

В исследование включено 178 больных ЯК (139 в стадии обострения и 39 в стадии ремиссии), проходивших стационарное и амбулаторное лечение обследование и лечение в ГБУЗ-НИИ ККБ №1 им. С.В. Очаповского в 2018-2020 г. В зависимости от наличия или отсутствия обострения ЯК и тяжести атаки пациенты были распределены на группы: в 1-ю группу вошли 39 пациентов в фазе ремиссии, во 2-ю группу 48 больных ЯК с атакой лёгкой степени тяжести, в 3-ю – 46 пациентов с атакой средней степени тяжести, в 4-ю группу – 45 пациентов с тяжелой атакой ЯК. В контрольную группу были включены 40 пациентов с СРК с преобладанием диареи и 40 здоровых добровольцев. Все группы были сопоставимы по возрасту и полу.

Для оценки воспаления слизистой оболочки при колоноскопии использовалась шкала Мейо [2]. Клиническую активность оценивали с помощью индекса клинической активности (CAI) [2].

Критерии включения в основную группу: большие ЯК в активной стадии заболевания, возраст > 18 лет, наличие письменного информированного согласия пациента. Критерии включения в группу контроля: наличие диагноза СРК, возраст > 18 лет, наличие письменного информированного согласия пациента. Критерии исключения: отказ от участия в исследовании; положительный тест на антитела к вирусам гепатита В, С; первичный и вторичный иммунодефицит; аутоиммунные заболевания; хронические заболевания в стадии декомпенсации; злокачественные новообразования; колэктомия; острые инфекционные заболевания; психические заболевания.

Сывороточную концентрацию TNF- α , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17 в венозной крови определяли методом иммуноферментного анализа с применением одноименных наборов реагентов ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск) и планшетного фотометра Star-Fax-2100 (Awareness Technology Inc., США). Исследование особенностей реструктуризации хроматина ядер нейтрофильных гранулоцитов (НГ) проводилось по уровню оптической анизотропии хроматина с использованием модифицированного метода И.В. Нестеровой и соавт. [6]. Для этого мазки капиллярной крови подсушивали на воздухе, фиксировали и окрашивали согласно методике и исследовали под поляризационным микроскопом «МП-8» при скрещенном анализаторе и поляризаторе. Для учета интенсивности анизотропного эффекта в ядрах НГ использовали модификацию полуколичественного метода G.Astaldi и L.Verga (1957), модифицированную для исследования ядра [7]. Все ядра были разделены по уровню оптической анизотропии (ОА) на 5 групп, каждой из которых была присвоена величина ОА: от 0 – полное отсутствие анизотропии (наибольшая степень активации хроматина ядра) до 4 – анизотропно все ядро (отсутствие активности хроматина); степень анизотропии от 1 до 3 включительно соответствовали промежуточным значениям анизотропии ядра [3].

$$\text{СЦИ} = \frac{0xa+1xb+2xc+3xd+4xe}{a+b+c+d+e}$$

где СЦИ – средний цитохимический индекс или величина оптической анизотропии, a, b, c, d, e – количество клеток с разной величиной оптической анизотропии; 0, 1, 2, 3, 4 – степень оптической анизотропии [6,7]. Учитывая наличие обратной связи между степенью анизотропии хроматина и его биологической активностью, нами был использован показатель активности нейтрофильных гранулоцитов (ПАН), который равен максимальному уровню оптической анизотропии, выраженному как

средний цитохимический индекс (СЦИ) за вычетом уровня оптической анизотропии, полученного при полуколичественном исследовании: ПАН = 4 – X, где 4 – максимально возможный СЦИ, а X – СЦИ, подсчитанный в мазке крови [6]. Таким образом, чем выше анизотропия хроматина (СЦИ=X), тем ниже активность клеточного ядра [6].

Исследование выполнено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинской декларации. До включения в исследование у всех пациентов получено письменное информированное согласие. Протокол исследования № 67 от 05.10.2018 одобрен на заседании Независимого этического комитета ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России.

Статистическая обработка проведена с использованием пакета статистической программы MedCalc. Показатели представлены в виде M (SD), где M – среднее значение, SD – стандартное отклонение при параметрическом распределении и в виде медианы (Me) и 25 и 75 перцентиля при непараметрическом. Корреляционные связи и различия сравниваемых показателей считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Гендерный и возрастной состав групп был сопоставим. Достоверно более высокие средние значения индекса CAI, баллов по шкале Мейо и длительности заболевания, как и ожидалось, выявлены в группе с тяжелой атакой ЯК ($p > 0,05$). Наиболее молодой средний возраст дебюта ЯК выявлен в группе больных с тяжелой атакой, наиболее старший возраст – в группе пациентов с ремиссией ЯК ($p = 0,001$) (Табл. 1).

Семейный анамнез ВЗК составил 16,5% (36 человек) из исследуемой когорты. Пациенты с семейным анамнезом ВЗК достоверно чаще встречались в группах с атакой средней и тяжелой степени ($p < 0,05$). Доля активных курильщиков в изучаемой когорте составила 18,3% (40 человек), что статистически значимо ниже, чем доля бывших курильщиков, составившая 44,0% (96 человек) ($\chi^2 = 5,67$, $p = 0,001$) и доля некурящих – 37,6% (82 человека), ($\chi^2 = 4,59$, $p = 0,001$). Наиболее низкая частота курения выявлена в контрольной группе, где составила 2,0% (8), что сопоставимо с группой пациентов с тяжелым течением ЯК ($p = 0,08$), в остальных группах преобладали активные курильщики. Частота пациентов с анамнезом курения (бывших курильщиков) в группах с ЯК оказалась сопоставима, наиболее низкий процент бывших курильщиков зарегистрирован в группе контроля ($p < 0,05$).

Наиболее частой локализацией поражения толстой кишки в когорте пациентов с ЯК был проктит – 42,1% (75), достоверно чаще он встречался в группе пациентов с легким течением и ремиссией, выявлены достоверные различия между 1-й группой и 4-й (56,4% vs 28,8%, $\chi^2 = 4,59$, $p = 0,04$). На втором месте

стоял левосторонний колит, который встречался у 33,7% (60) пациентов с ЯК. Частота его в основных группах была сопоставима ($p > 0,05$). Частота тотального поражения кишечника (панколит) оказалась наименьшей и составила 23,6% (42) пациентов с ЯК, наиболее часто панколит встречался в группе пациентов с тяжелым течением ЯК. Получены достоверные различия между группами с легкой атакой и ремиссией ЯК и группами с тяжелой атакой и средней тяжестью ($p < 0,05$).

Анализ лабораторных показателей продемонстрировал достоверно более высокие средние уровни острофазовых маркеров – СРБ и СОЭ в группах больных ЯК с тяжелой и среднетяжелой атакой. Выявлены достоверные различия между группами пациентов с легкой атакой и ремиссией и группами с тяжелой и среднетяжелой атакой ЯК ($p < 0,5$).

Нами изучена степень оптической анизотропии ядер НГ в зависимости от тяжести атаки ЯК (таблица 2). Коэффициент вариации в исследовании особенностей реструктуризации хроматина НГ находился в пределах от 10 до 30%, что свидетельствует об однородности совокупности.

Анализ оптической анизотропии хроматина НГ показал, что среднее значение данного показателя в контрольных группах ($2,21 \pm 0,08$) было на 38,9% выше, чем у пациентов с ЯК ($1,59 \pm 0,05$), но эти различия не были статистически значимы ($p = 0,06$). Достоверных различий между средними значениями оптической анизотропии НГ пациентов с СРК и здоровыми добровольцами в группах контроля выявлено не было ($p = 0,07$). Статистически значимых различий между пациентами групп контроля и пациентами с атакой средней и легкой тяжести (группы 2 и 3) и пациентами в ремиссии (группа 1) также не обнаружено ($p = 0,07$). Вместе с тем, получены достоверные различия между группой больных ЯК в ремиссии и пациентов с тяжелым течением ЯК, а также между группами с атакой средней степени тяжести и тяжелой ($p = 0,02$).

Показатель активации нейтрофилов (ПАН) в контрольной группе составил $1,35 \pm 0,11$ при общей реструктуризации хроматина $0,38 \pm 0,02$. У больных ЯК средняя величина анизотропии ядер сегментоядерных нейтрофильных гранулоцитов равнялась $1,6 \pm 0,007$, что на 52,9% ниже, чем в ядрах аналогичных клеток лиц контрольной группы, различия статистически значимы ($p = 0,001$). Средняя величина ПАН в основных группах составила $2,6 \pm 0,007$, что достоверно выше чем в группе контроля ($p = 0,001$).

Выявлено статистически значимое уменьшение степени анизотропии с увеличением тяжести атаки ЯК и протяженности поражения, что подтверждается полученными сильными отрицательными корреляциями ($r = -0,877$, $p = 0,001$ и $r = -0,918$, $p = -0,001$). Примечательно, что значение ПАН повышалось соответственно усилению тяжести атаки ЯК – с $1,87 \pm 0,006$ при легкой атаке до $1,65 \pm 0,006$ при тяжелой.

Сравнительный анализ концентрации интер-

лейкинов в зависимости от тяжести атаки ЯК продемонстрировал их достоверно более высокие значения в группах пациентов с тяжелой и среднетяжелой атакой ЯК по сравнению с пациентами в ремиссии ЯК, с легкой атакой ЯК и пациентами контрольной группы (табл.2). Статистически значимые различия между концентрациями интерлейкинов у пациентов в ремиссии (1 группа) и пациентов тяжелого – среднетяжелого течения (3-4 группа), а так же между контрольной и основными группами были получены для IL-17, IL-6 ($p < 0,05$). Средний уровень TNF α при тяжелой атаке ЯК составил 31,7 (19,1-58,4) пг/мл, что было достоверно выше, чем в группе пациентов с ремиссией ($p = 0,001$), в группе пациентов с легкой атакой ($p = 0,001$) и контрольной группе ($p = 0,0001$), тогда как при сравнении с группой пациентов со атакой средней тяжести, значения оказались сопоставимыми ($p = 0,07$). Достоверных различий в уровне IL2 и IL4, IL10, IL-1 получено не было ($p > 0,05$). Получены сильные отрицательные корреляции между степенью оптической анизотропии и уровнем TNF α ($r = -0,896$, $p = 0,0001$), IL 17 ($r = -0,806$, $p = 0,0001$), а также IL 6 ($r = -0,8367$, $p = 0,0001$).

Обсуждение

Полученные нами данные об особенностях реструктуризации НГ и взаимосвязи степени анизотропии с концентрацией цитокинов объясняются общностью этих явлений на клеточно-молекулярном уровне. Традиционно нейтрофилы всегда рассматривались как короткоживущая иммунная клетка с коротким циркулирующим периодом полувыведения 6-8 ч и базальной нормой производства $5-10 \times 10^{10}$ нейтрофилов в сутки [8]. Тем не менее, эта парадигма недавно была оспорена, исследования показали, что продолжительность жизни НГ в циркуляции составляет 4-5 дней [8]. Показано, что во время воспаления продолжительность жизни нейтрофилов значительно увеличивается в несколько раз по мере их активации [8]. Активация нейтрофилов происходит через различные цитокины и факторы роста и/или бактериальные продукты [9]. В настоящее время НГ признаны антигенпрезентирующими клетками, способными к дифференцировке и активации ядра – реструктуризации хроматина, экспрессии генов, синтезу и секреции цитокинов, хемокинов, ростовых факторов и различных пептидов [8-10]. Возможно, с этим связано полученная в нашем исследовании сильная корреляционная взаимосвязь между уровнями цитокинов и степенью анизотропии НГ.

Наше исследование продемонстрировало заметное снижение величины анизотропного эффекта в ядрах этих клеток с увеличением тяжести атаки ЯК. Вероятно, это связано с тем, что величина анизотропии отражает структурно-молекулярную упорядоченность хроматина, который является основным носителем генетической информации в клетке [6, 11]. Снижение уровня анизотропии может интер-

Клинико-лабораторные и инструментальные данные пациентов, включенных в исследование, n=218

Тяжесть атаки ЯК/группы Показатели	Основные группы, n=178				Контрольная группа n=40	Статистическая значимость различий
	1 группа (ремиссия)	2 группа (легкая степень тяжести атаки)	3 группа (средняя степень тяжести атаки)	4 группа (тяжелая степень атаки)		
	n=39	n= 48	n= 46	n= 45		
пол м/ж, абс	19/20	22/26	26/20	22/23	20/20	p=0,07
Шкала Мейо, баллы M±SD	-	3,4±0,9	6,5±1,1	10,7±1,3	-	p ^{1,3} =0,001 p ^{1,2} =0,03
Индекс клинической активности, баллы, M±SD	-	2,9±0,9	7,9±1,8	12,8±2,2	-	p ^{1,3} =0,0001 p ^{1,2} =0,001
Возраст на момент исследования, лет M±SD	39,6±4,8	38,3±6,4	36,7±6,6	32,4±5,1	32,3±3,9	p=0,06
Возраст на момент постановки диагноза, лет M±SD	37,6±6,7	28,1±4,1	22,6±5,9	17,6±7,3	-	p ^{1,4} =0,001
Средняя продолжительность заболевания, лет	1,6 (0,7-4,9) лет	5,5(3,5-9,7)	7,9(5,6-10,9)	11,6(7,5-14,9)	-	p ^{1,4} =0,001 p ^{2,4} =0,001 p ^{3,4} =0,01
Семейный анамнез ВЗК, абс (%)	5 (12,8)	5 (10,4)	11(23,9)	12(26,7)	3(7,5)	p ^{1,4} =0,01 p ^{2,3} =0,01 p ^{к,3} =0,01 p ^{4,к} =0,001
Анамнез курения, абс (%): - Активный курильщик	11 (28,2)	8 (16,6)	7(15,2)	6(13,3)	8(2,0)	p ^{1,4} =0,01 p ^{к,3} =0,01 p ^{к,2} =0,01 p ^{к,4} =0,01 p ^{к,1} =0,01
- Бывший курильщик	23 (58,9)	19 (39,5)	20 (43,5)	21 (46,7)	13 (32,5)	p>0,05
- Некурящий	5 (12,8)	21 (43,8)	19 (41,3)	18 (40,0)	19 (47,5)	p ^{1,2} =0,01 p ^{1,3} =0,01 p ^{1,4} =0,01 p ^{к,1} =0,01
Локализация поражения, абс (%):						
- левосторонний колит	11 (28,2)	18 (37,5)	17 (36,9)	14 (31,1)	-	p>0,05
- проктит	22 (56,4)	25 (52,1)	15 (32,6)	13 (28,8)	-	p ^{1,4} =0,003
- панколит	5 (12,8)	5 (10,4)	14 (30,4)	18 (40,0)	-	p ^{1,4} =0,002 p ^{1,3} =0,001 p ^{2,3} =0,001 p ^{2,4} =0,001
СРБ, мг/л Me (25-75)	2,9 (0,0-5,4)	5,2 (2,1- 8,5,5)	10,1 (6,5-16,6)	22,5 (17,3- 30,2)	2,1 (0,0-4,1)	p ^{1,3} =0,001 p ^{1,контр} =0,001
СОЭ, мм/час Me (25-75)	6,2 (4,4-7,8)	12,7 (8,6- 15,9)	22,4 (18,6-28,9)	39,6 (28,7- 41,1)	5,8 (4,1-7,8)	p ^{1,3} =0,001 p ^{2,контр} =0,01 p ^{1,4} =0,0001
Фибриноген, г/л	3,9 (2,9-4,4)	5,2 (3,9-5,5)	5,1 (4,5-6,6)	6,9 (4,9-7,1)	3,6 (2,1-4,1)	p>0,05
Гемоглобин, г/л	127,2 (105,6- 156,6)	128,9 (110,5- 156,7)		123,5 (79,8- 145,3)	135,3 (117,4- 161,2)	p ³ , контр=0,001

Степень оптической анизотропии ядер НГ в зависимости от тяжести атаки ЯК (n=179)

Группы Показатели	Основные группы, n=178				Контрольная группа		Статистическая значимость различий
	1 группа ремиссия	2 группа (легкая степень тяжести атаки)	3 группа (средняя степень тяжести атаки)	4 группа (тяжелая степень атаки)	группы контроля		
	n=39	n= 48	n= 46	n= 45	n=40	n=40	
Степень оптической анизотропии	2,0±0,06	1,92±0,09	1,67±0,03	0,79±0,05	2,21±0,08	2,11±0,06	p ^{1,4} =0,001 p ^{3,контр.} =0,03 p ^{2,4} =0,03 p ^{3,4} =0,002 p ^{1,2} =0,06
Показатель активации нейтрофильных гранулоцитов (ПАН)	1,18±0,09	1,87±0,006	2,03±0,008	3,97±0,005	1,25±0,11	1,15±0,12	p ^{1,3} =0,03 p ^{1,контр.} =0,05 p ^{2,3} =0,02 p ^{1,2} =0,06
Коэффициент вариации (CV),%	12,4	15,5	16,3	14,9	13,2	13,3	-
TNFα, пг/мл	3,9 (0,5-7,7)	15,2 (5,3-19,7)	25,4 (6,6-41,3)	31,7 (19,1-58,4)	4,0 (0,00-7,6)	3,8 (0,00-7,4)	p ^{1,3} =0,001 p ^{1,4} =0,001 p ^{2,к.} =0,002
IL-1, пг/мл	2,5 (2,1-2,7)	3,4 (3,1-3,7)	3,9 (3,5-4,7)	4,9 (3,1-7,7)	1,8 (1,1-2,7)	2,2 (1,1-3,1)	p>0,05
IL-2, пг/мл	5,1 (2,3-6,1)	6,3 (3,9-7,9)	7,5 (0,0- 12,3)	6,5 (0,0- 12,3)	5,2 (0,0-7,8)	5,1 (0,0-7,6)	p>0,05
IL-4, пг/мл	0,7 (0,0-0,9)	1,2 (0,0-2,1)	1,1 (0,0-1,9)	0,8 (0,1-1,0)	0,6 (0,0-1,0)	0,6(0,0-1,0)	p>0,05
IL-6, пг/мл	11,3 (8,9- 14,4)	14,8 (6,2- 27,3)	21,3 (6,1- 33,2)	29,3 (17,8- 54,8)	8,9 (0,0-17,5)	9,2 (0,0-16,1)	p ^{1,4} =0,001 p ^{2,4} =0,002 p ^{1,3} =0,01 p ^{2,контр.} =0,01
IL-10, пг/мл	4,5 (3,3-5,8)	5,8 (0,0- 25,8)	6,4 (0,0-9,6)	8,1 (0,0- 11,3)	3,5 (0,0- 13,9)	5,5(0,0- 13,9)	p>0,05
IL-17, пг/мл	5,8 (3,3-7,9)	14,3 (5,8- 21,8)	17,3 (5,9- 27,7)	28,1 (8,1- 62,6)	4,9 (0,0- 13,2)	5,8 (0,0- 13,2)	p ^{1,3} =0,001 p ^{1,4} =0,01 p ^{2,контр.} =0,01

претироваться как показатель, свидетельствующий о явлениях деспирализации хроматина и диссоциации комплекса ДНК-гистон в ядрах нейтрофильных гранулоцитов [11]. Подобные явления указывают на реструктуризацию хроматина и повышение матричной активности ДНК, а значит, и на увеличение биосинтетической активности этих клеток, показатель ПАН, являющийся величиной, обратной уровню анизотропного эффекта, наглядно демонстрирует это явление [6, 9, 12]. Более высокие значения ПАН у больных ЯК, имеющих легкое течение атаки по сравнению с контрольными группами, начиная с 1-й группы, отражает активационную готовность хроматина ядер нейтрофильных гранулоцитов и указывает на наличие патологического процесса.

Полученные в нашем исследовании достоверные корреляции между выраженностью атаки ЯК и кон-

центрацией цитокинов TNFα, IL-6, IL-17, согласуются с данными других исследований. TNFα принадлежит основная роль в каскаде провоспалительных цитокинов: повышение экспрессии клеточных и сосудистых молекул адгезии-1, участвующих в миграции лимфоцитов в зону воспаления, активация синтеза простагландинов, лейкотриенов, оксида азота, матриксных металлопротеиназ (ММП), пролиферация фибробластов. IL-6 обладает провоспалительной активностью, которой предшествует активация генов-мишеней, участвующих в дифференцировке, выживаемости, апоптозе и пролиферации [10,12]. Эти процессы приводят к интенсивному синтезу цитокинов, а также матриксных металлопротеиназ, тем самым способствуя хроническому воспалению и разрушению тканей, что является одной из клинических особенностей ЯК и ВЗК, в целом [10, 12].

Роль IL-17 была изучена недавно, в ряде исследований, показано, что экспрессия IL17A и IL17F была значительно увеличена в воспаленной слизистой оболочке при ВЗК [13, 14]. Примечательно, что корреляция между уровнями IL17 и эндоскопической и клинической активностью заболевания была обнаружена при ЯК, а при БК лишь с клиническими проявлениями [14].

Таким образом, выявленная нами высокая диагностическая значимость степени оптической анизотропии НГ, сопоставимая с клинико-лабораторными маркерами, является перспективным направлением и требует дальнейшего изучения.

Выводы

У пациентов с ЯК выявлена достоверная корреляция баллов по шкале Мейо со степенью оптической анизотропии НГ ($r=-0,876$, $p=0,001$) и с уровнем сывороточных интерлейкинов IL-6 ($r=0,598$, $p=0,001$), IL-17 ($r=0,587$, $p=0,005$), ФНО α ($r=0,701$, $p=0,001$);

Обнаружены достоверные корреляции между САИ и степенью оптической анизотропии НГ ($r=-0,673$, $p=0,002$), концентрациями сывороточных интерлейкинов IL-6 ($r=0,525$, $p=0,001$), IL-17 ($r=0,587$, $p=0,005$), ФНО α ($r=0,624$, $p=0,001$).

Литература

- Alatab S., Sepanlou S.G., Ikuta K. et al. The global, regional, and national burden of inflammatory bowel disease in 195 countries and territories, 1990-2017: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet Gastroenterol. Hepatol.* 2019;5:17-30. Doi: 10.1016/s2468-1253(19)30333-4
- Повашкин В.Т., Шельгин Ю.А., Белоусова Е.А. и соавт. Проект клинических рекомендаций по диагностике и лечению язвенного колита. *Колонпроктология.* 2019;18(4):7-36. 2019;18(4):7-36. Doi: 10.33878/2073-7556-2019-18-4-7-36
- Zhou G.X., Lin Z.J. Potential roles of neutrophils in regulating intestinal mucosal inflammation of inflammatory bowel disease. *J. Dig. Dis.* 2017;18:495-503. Doi: 10.1111/1751-2980.12540
- Маев И.В., Шельгин Ю.А., Скалинская М.П., и соавт. Патоморфоз воспалительных заболеваний кишечника. *Вестник Российской академии медицинских наук.* 2020;75(1):27-35. Doi:10.15690/vram1219
- Langley BO, Guedry SE, Goldenberg JZ et al. Inflammatory Bowel Disease and Neutrophil-Lymphocyte Ratio: A Systematic Scoping Review. *J Clin Med.* 2021;10(18):4219. Doi: 10.3390/jcm10184219
- Нестерова И.В., Чудилова Г.А., Ковалёва С.В. и соавт. Методы комплексной оценки функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов в норме и патологии. *Методические рекомендации для иммунологов-аллергологов, врачей и биологов клинической лабораторной диагностики.* Краснодар, 2017 г. С.51.
- Astaldi G., Verga L. The glycogen content of the cells of lymphatic leukaemia. *Acta haematol (Basel).* 1957; 173:129
- Liew PX, Kubas P. The Neutrophil's Role During Health and Disease. *Physiol Rev.* 2019;1;99(2):1223-1248. Doi: 10.1152/physrev.00012.2018
- Нестерова И.В., Колесникова Н.В., Чудилова Г.А. и соавт. Нейтрофильные гранулоциты: новый взгляд на «старых игроков» на иммунологическом поле. *Иммунология.* 2015; 4: 257-263
- Baran P, Hansen S, Waetzig GH et al. The balance of interleukin (IL)-6, IL-6-soluble IL-6 receptor (sIL-6R), and IL-6-sIL-6-sgp130 complexes allows simultaneous classic and trans-signaling. *J Biol Chem.* 2018;293(18):6762-75. Doi: 10.1074/jbc.RA117.001163;
- Sollberger G, Tilley DO, Zychlinsky A. Neutrophil Extracellular Traps: The Biology of Chromatin Externalization. *Dev Cell.* 2018;12;44(5):542-553. Doi: 10.1016/j
- Malech HL, DeLeo FR, Quinn MT. The Role of Neutrophils in the Immune System: An Overview. *Methods Mol Biol.* 2020;2087:3-10. Doi: 10.1007/978-1-0716-0154-9_1
- Scheller J, Chalaris A, Schmidt-Arras D et al. The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. *Biochim Biophys Acta.*

2011;1813(5):878-88. Doi:10.1016/j.bbamcr.2011.01.034

14. Hohenberger M, Cardwell LA, Oussedik E et al. Interleukin-17 inhibition: role in psoriasis and inflammatory bowel disease. *J Dermatolog Treat.* 2018;29(1):13-18. doi: 10.1080/09546634.2017.1329511