

DOI: <https://doi.org/10.17816/C1627073>

Зависимость концентрации цитокинов в копроэкстрактах детей с воспалительными заболеваниями кишечника от активности заболевания

А.П. Топтыгина^{1, 3}, Е.Л. Семикина^{2, 4}, В.С. Цветкова², А.Е. Красновидова⁴, А.С. Потапов^{2, 4}¹ Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского, Москва, Россия;² Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей, Москва, Россия;³ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия;⁴ Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия

АННОТАЦИЯ

Обоснование. Воспалительными заболеваниями кишечника, такими как болезнь Крона и язвенный колит, страдают более 6,8 млн человек. Ключевым моментом в иммунопатогенезе этих заболеваний считают инфильтрацию стенки кишечника различными иммунокомпетентными клетками и продукцию ими провоспалительных цитокинов.

Цель исследования — сопоставление уровней 14 цитокинов в копроэкстрактах больных воспалительными заболеваниями кишечника с различной активностью заболевания.

Методы. Когорту обследованных составили 30 детей с болезнью Крона, 33 ребенка с язвенным колитом и 20 условно здоровых детей контрольной группы. Диагнозы «болезнь Крона» и «язвенный колит» были установлены согласно общепринятым клиническим и эндоскопическим критериям. Концентрацию 14 цитокинов (IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, IL-17F, IL-21, IL-22, IL-23, IL-25, IL-31, IL-33, IFN- γ и TNF) в водно-солевых копроэкстрактах определяли с помощью мультиплексного метода (MagPix, BioRad, США).

Результаты. Показано, что уровни всех исследованных цитокинов были значимо повышены у всех больных детей, даже в ремиссии, по сравнению с контрольной группой. Уровни провоспалительных цитокинов (TNF, IL-1 β , IL-6, IL-17A, IL-17F) последовательно снижались в копроэкстрактах пациентов с болезнью Крона и язвенным колитом по мере снижения активности заболевания. В то же время уровни IL-22, IL-33 и IL-10, напротив, повышались по мере снижения активности воспаления.

Заключение. Отсутствие нормализации уровней цитокинов в ремиссии поднимает вопрос о необходимости дальнейшего изучения иммунопатогенеза воспалительных заболеваний кишечника и поиска новых терапевтических подходов.

Ключевые слова: цитокины; болезнь Крона; язвенный колит; воспалительные заболевания кишечника.

Как цитировать:

Топтыгина А.П., Семикина Е.Л., Цветкова В.С., Красновидова А.Е., Потапов А.С. Зависимость концентрации цитокинов в копроэкстрактах детей с воспалительными заболеваниями кишечника от активности заболевания // Цитокины и воспаление. 2023. Т. 20, № 2. С. 40–48. DOI: <https://doi.org/10.17816/C1627073>

DOI: <https://doi.org/10.17816/Ci627073>

Dependence of cytokine concentration in coproextracts in children with inflammatory bowel diseases on disease activity

Anna P. Toptygina^{1,3}, Elena L. Semikina^{2,4}, Valeriya S. Tsvetkova², Anastasia E. Krasnovidova⁴, Alexander S. Potapov^{2,4}

¹ G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia;

² National Medical Research Center of Children's Health, Moscow, Russia;

³ Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia;

⁴ I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

ABSTRACT

BACKGROUND: Inflammatory bowel diseases (IBD) such as Crohn's disease (CD) and ulcerative colitis (UC) affect more than 6.8 million people. The key factor in the immunopathogenesis of these diseases is the intestinal wall infiltration by various immunocompetent cells and their proinflammatory cytokine production.

AIM: To compare the levels of 14 cytokines in the coproextracts of patients with IBD with various disease activities.

MATERIALS AND METHODS: The examined cohort comprised 30 children with CD, 33 with UC, and 20 healthy children (control group). UC and CD were diagnosed based on generally accepted clinical and endoscopic criteria. The concentrations of 14 cytokines (IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, IL-17F, IL-21, IL-22, IL-23, IL-25, IL-31, IL-33, IFN- γ , and TNF) in aqueous-salt coproextracts were determined using the multiplex method (MagPix, BioRad, USA).

RESULTS: The levels of all studied cytokines were significantly increased in all sick children, even in remission, compared with the control group. The concentration of proinflammatory cytokines (TNF, IL-1 β , IL-6, IL-17A, and IL-17F) consistently decreased with the decrease in disease activity in the coproextracts of patients with CD and UC. Furthermore, the IL-22, IL-33, and IL-10 levels increased as the inflammation activity decreased.

CONCLUSIONS: The lack of normalization of cytokine levels in remission raises the question of the need for further study of IBD immunopathogenesis and the search for new therapeutic approaches.

Keywords: cytokines; Crohn's disease; ulcerative colitis; inflammatory bowel disease.

To cite this article:

Toptygina AP, Semikina EL, Tsvetkova VS, Krasnovidova AE, Potapov AS. Dependence of cytokine concentration in coproextracts in children with inflammatory bowel diseases on disease activity. *Cytokines and Inflammation*. 2023;20(2):40–48. DOI: <https://doi.org/10.17816/Ci627073>

ОБОСНОВАНИЕ

Воспалительные заболевания кишечника (ВЗК) являются иммуноопосредованными воспалительными заболеваниями, включающими болезнь Крона (БК) и язвенный колит (ЯК). Более 6,8 млн человек в мире страдают этими заболеваниями [1]. Этиологическими факторами ВЗК признаны генетические, микробиологические (длительное нарушение микробиоты кишечника), факторы окружающей среды и нарушение баланса врождённого и адаптивного иммунитета. Ключевым моментом в иммунопатогенезе ВЗК считается инфильтрация стенки кишечника различными иммунокомпетентными клетками и продукция ими провоспалительных цитокинов [2]. Однако цитокиновая сеть охватывает не только клетки иммунной системы. Эпителиальные, эндотелиальные, мезенхимальные клетки, клетки печени, нервной и эндокринной систем также активно участвуют в продукции и рецепции цитокинов, внося вклад в воспалительные реакции. Цитокины являются универсальным языком межклеточного общения. Они осуществляют связь между различными клетками организма и координируют эффекты врождённого и адаптивного иммунитета [3]. Для ВЗК типично вовлечение в патологический процесс провоспалительных цитокинов, таких как интерлейкин (IL)-1 β , фактор некроза опухолей (TNF). Традиционно БК связывают с Th1- и Th17-типом иммунного ответа и продукцией IL-12, IL-23, IL-17 и интерферона- γ (IFN- γ). Для ЯК более типичным является Th2-тип ответа и продукция IL-4, IL-5 и IL-13 [1]. Однако позже было показано, что существуют и обратные зависимости. На данный момент считается, что ключевую роль играет именно дисбаланс в иммунорегуляторных механизмах, приводящий к нарушению контроля за продукцией цитокинов на местном уровне. Дисфункция местного иммунитета кишечника и дисбаланс цитокиновой сети рассматриваются как основное звено иммунопатогенеза ВЗК, поддерживающее воспаление в стенке кишечника [4]. Изучение местного иммунитета кишечника при ВЗК представляет достаточно сложную задачу, так как исследования на мышиных моделях не совсем точно отражают ситуацию в человеческом организме, а исследование биоптатов кишечника большого человека весьма травматично и чревато осложнениями, поскольку стенка кишечника и без того поражена воспалением [5]. Следует обратить внимание, что у детей отмечается более агрессивное течение ВЗК по сравнению со взрослыми, а иммунные механизмы патогенеза ВЗК изучены гораздо хуже. Ранее нами была показана возможность определять цитокины в копроэкстрактах больных ВЗК для оценки состояния местного иммунитета кишечника. Уровень основных исследованных цитокинов у детей с ВЗК был значимо повышен по сравнению с контрольной группой [6].

Цель исследования — сопоставление уровней 14 цитокинов в копроэкстрактах педиатрических пациентов с ВЗК с активностью заболевания.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В простое сравнительное исследование были включены 83 ребенка (48 мальчиков и 35 девочек) в возрасте 6–17 лет, в том числе 30 детей с БК (группа 1), 33 ребенка с ЯК (группа 2) и 20 условно здоровых детей, составивших контрольную группу (группа 3). Диагноз у детей групп 1 и 2 был установлен на основании анамнеза, клинико-лабораторных, эндоскопических и гистологических критериев Леннарда-Джонса. Фенотип заболевания определяли на основе Монреальской классификации. Длительность заболевания на момент обследования варьировала от 1 мес. до 12 лет, в среднем составила 4,3 года. Активность заболевания у детей с БК оценивали с помощью индекса PCDAI (Pediatric Chron's Disease Activity Index), активность ЯК оценивали на основании индекса PUCAI (Pediatric Ulcerative Colitis Activity Index). Исследование было проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией. Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом НМИЦ НЦЗД (№ 14 от 19.11.2018).

Водно-солевой копроэкстракт получали смешивая один объём фекалий с тремя объёмами забуференного фосфатами физиологического раствора, перемешивали и центрифугировали при 3000 об/мин в течение 15 мин. Цитокины определяли в надосадочной жидкости. Для контрольной группы разведение биологического материала было 1:4, а для групп 1 и 2 конечное разведение составило 1:40, так как ранее было показано, что у больных ВЗК уровень цитокинов существенно выше [6].

Концентрацию 14 цитокинов (IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, IL-17F, IL-21, IL-22, IL-23, IL-25, IL-31, IL-33, IFN- γ и TNF) в водно-солевых копроэкстрактах определяли с помощью мультиплексного метода (MagPix, BioRad, США) с использованием коммерческих тест-систем Th17-Plex, согласно инструкции производителя.

Полученные результаты были исследованы на предмет нормальности распределения методом Колмогорова–Смирнова. В случае подтверждения нормальности распределения признака применяли параметрическую статистику с вычислением средней арифметической и стандартной ошибки ($M \pm SE$), а в случае неподтверждения нормальности распределения использовали непараметрические методы с вычислением медианы, первой и третьей квартили [Me (LQ–HQ)]. Различия оценивали методом Манн–Уитни, значимыми считали различия при $p < 0,05$. Корреляции рассчитывали методом Пирсона.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На основании значений индексов активности заболевания больные дети групп 1 и 2 были разделены на подгруппы (табл. 1). Коэффициент корреляции между клиническим индексом активности БК PCDAI и эндоскопическим индексом активности заболевания SES-CD составил 0,353,

Таблица 1. Распределение детей по степени активности заболевания
Table 1. Children distribution according to the degree of disease activity

Клиническая активность Clinical activity	Болезнь Крона (группа 1) Crohn's disease (group 1)		Язвенный колит (группа 2) Ulcerative colitis (group 2)	
	Количество детей Number of children	Индекс PDAI Index PDAI	Количество детей Number of children	Индекс PUCAI Index PUCAI
Ремиссия Remission	9	8,33±0,83	8	6,88±0,86
Низкая активность Low activity	–	–	9	21,67±2,36
Умеренная активность Moderate activity	14	20,54±1,72	11	40,45±1,75
Высокая активность High activity	7	46,79±3,38	5	66±1,86

что свидетельствует о слабой положительной связи, а для индекса активности ЯК PUCAI и соответствующего эндоскопического индекса UCEIS — 0,704, что свидетельствует о сильной положительной связи.

Результаты определения цитокинов в копроэкстрактах здоровых детей представлены в табл. 2. Уровень цитокинов в копроэкстрактах здоровых детей невысокий, но вполне определяемый. Для пациентов групп 1 и 2 уровни цитокинов были подсчитаны в зависимости от активности заболевания и представлены на графиках. Следует сразу подчеркнуть, что в копроэкстрактах больных из групп 1 и 2 уровни цитокинов превышали соответствующие уровни цитокинов группы сравнения в 5–30 раз, то есть для всех больных ВЗК детей различия в уровнях всех исследованных цитокинов были высоко значимы по сравнению с группой 3 ($p < 0,000$). Поскольку уровни

Таблица 2. Концентрация цитокинов в копроэкстрактах здоровых детей, пг/мл
Table 2. Cytokine concentration in coproextracts of healthy children (pg/ml)

Цитокин Cytokine	Концентрация, Ме (LQ–HQ) Concentration, Me (LQ–HQ)
IL-1 β	38 (32–49,25)
IL-4	34,52 (25,18–50,37)
IL-6	44 (39,25–48,75)
IL-10	59,65 (45,17–67,65)
IL-17A	13,85 (9,37–18,64)
IL-17F	64,74 (53,92–95,63)
IL-21	389,34 (255,98–481,12)
IL-22	53,03 (24,57–71,13)
IL-23	92,96 (92,96–318,22)
IL-25	19,74 (17,8–22,95)
IL-31	45,39 (38,33–63,92)
IL-33	42,43 (22,35–57,55)
IFN- γ	60,49 (48,39–70,9)
TNF	3,33 (0,57–7,33)

разных цитокинов различались иногда в десятки раз, цитокины на графиках были сгруппированы в соответствии с диапазоном полученных значений для удобства графического представления.

На рис. 1, *a* видно, что уровень провоспалительных цитокинов в группе 1 (БК) прогрессивно снижался от уровня с высокой активностью заболевания до уровня в ремиссии. Для TNF такое снижение составило с 169,16 (153,35–178,25) пг/мл до 84,88 (78,3–92,85) пг/мл, $p < 0,05$. Для детей с ЯК (группа 2, см. рис. 1, *b*) аналогичное снижение составило с 110,5 (78,4–126,2) пг/мл до 71,65 (66,83–85,13) пг/мл, $p < 0,05$. Похожая динамика была обнаружена для IL-17A. У детей с БК (группа 1) выявлено снижение с 162,17 (143,7–184,27) пг/мл до 84,07 (65,28–91,43) пг/мл, $p < 0,05$, а у детей с ЯК (группа 2) — с 119,26 (96,95–126,28) пг/мл до 73,28 (60,36–82,58) пг/мл, $p < 0,05$. Для противовоспалительного цитокина IL-10 в группе 1 выявлена обратная зависимость, он нарастал с уменьшением активности заболевания с 194,78 (143,01–246,36) пг/мл до 287,85 (279,26–335,29) пг/мл, $p < 0,05$. Обнаружена отрицательная корреляция средней силы между индексом PDAI и уровнем IL-10 ($r = -0,401$). В группе 2 выявлена другая тенденция: IL-10 сначала нарастал с уровня высокой активности 143,01 (130,51–175,01) пг/мл до уровня низкой активности 207,02 (204,76–232,9) пг/мл, $p < 0,05$, а в подгруппе с ремиссией значимо снизился до 152,76 (107,58–196,2) пг/мл, $p < 0,05$. При этом уровень IL-25, цитокина, выделяемого повреждёнными клетками эпителия, практически не зависел от активности клинических проявлений и колебался в диапазоне 225–250 пг/мл в обеих группах.

Представленные на рис. 2 уровни провоспалительных цитокинов, таких как IL-1 β , IL-6 и IL-17F, по мере уменьшения активности заболевания постепенно снижались, составив для IL-1 β в группе 1 при высокой активности 471,85 (391,32–498,17) пг/мл и снизившись в ремиссии до 291,02 (284,5–307,19) пг/мл, $p < 0,05$. В группе 2 (см. рис. 2, *b*) обнаружено такое же снижение с 481,4 (372–567,08) пг/мл до 247,03 (241,03–253,3) пг/мл, $p < 0,05$. Выявлена положительная корреляция средней силы между индексом

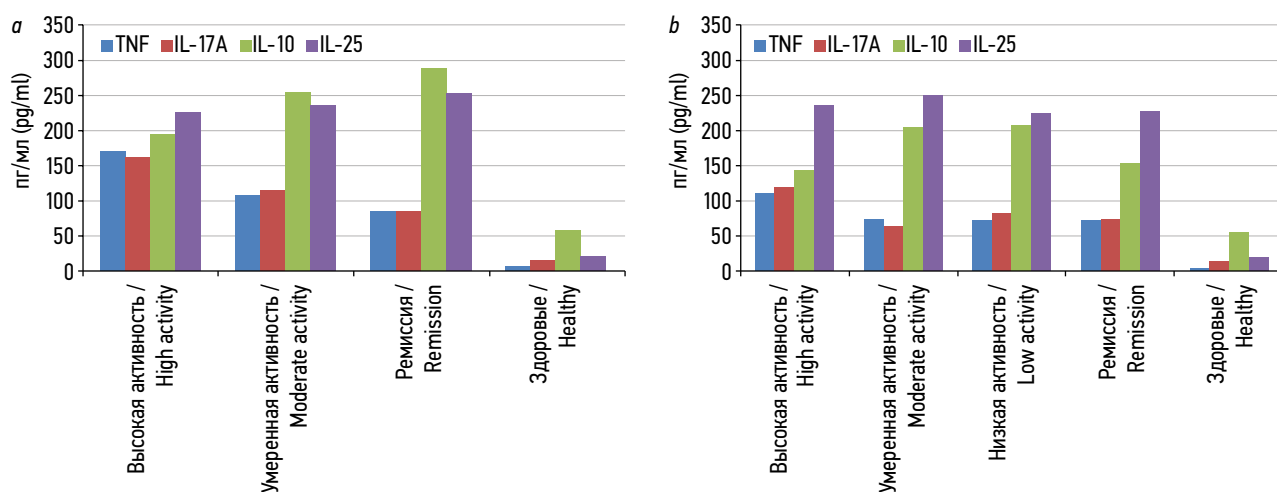


Рис. 1. Изменение уровней про- и противовоспалительных цитокинов в копроэкстрактах детей с воспалительными заболеваниями кишечника в зависимости от клинической активности заболевания: *a* — болезнь Крона; *b* — язвенный колит.

Fig. 1. Changes in the levels of pro- and anti-inflammatory cytokines in coproextracts of children with inflammatory bowel diseases depending on the disease clinical activity: *a* — Crohn's disease; *b* — ulcerative colitis.

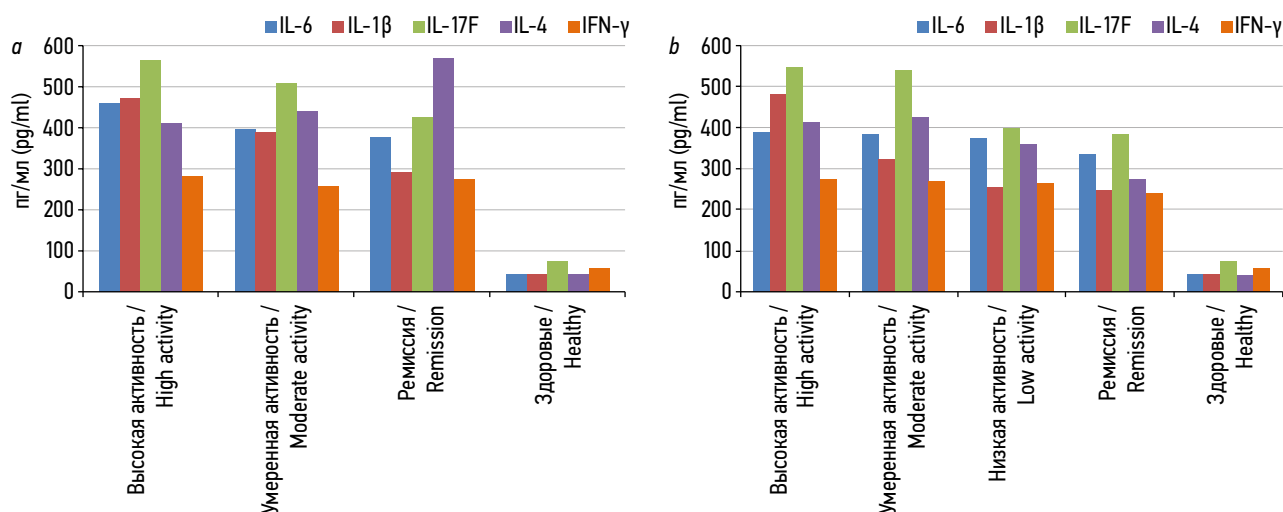


Рис. 2. Зависимость уровней провоспалительных цитокинов в копроэкстрактах детей с воспалительными заболеваниями кишечника от клинической активности заболевания: *a* — болезнь Крона; *b* — язвенный колит.

Fig. 2. Dependence of the proinflammatory cytokines levels in coproextracts of children with inflammatory bowel diseases on the disease clinical activity: *a* — Crohn's disease; *b* — ulcerative colitis.

PUSAI и уровнем IL-1β ($r=0,476$). Снижение уровня IL-6 было не столь выражено. В группе 1 его уровень снизился с 458,29 (360,5–481,07) пг/мл до 376,88 (374,1–400,22) пг/мл, а в группе 2 с 389,6 (374,1–422,91) пг/мл до 333,5 (320,2–353,75) пг/мл. Более выраженная динамика отмечена для IL-17F. В группе 1 его уровень снизился с 564,41 (474,93–595,8) пг/мл до 424,52 (404,37–455,81) пг/мл, $p < 0,05$, а в группе 2 с 547,48 (434,06–581,04) пг/мл до 396,69 (357,04–413,85) пг/мл, $p < 0,05$. Обнаружена положительная корреляция средней силы между индексом PUSAI и уровнем IL-17F ($r=0,493$). Обращает внимание то, что уровень IFN-γ не зависел от активности заболевания и незначимо колебался в диапазоне 240–280 пг/мл в обеих группах. Интересно, что для IL-4 в исследованных группах пациентов выявлены разнонаправленные изменения. Если у больных ЯК его концентрация

прогрессивно снижалась по мере снижения активности с 413,83 (334,9–449,14) пг/мл до 275,7 (212,73–334,9) пг/мл, $p < 0,05$ в ремиссии, то при БК она, напротив, нарастала с 411,86 (375,7–449,14) пг/мл до 569,58 (461,53–746,62) пг/мл, $p < 0,05$. Выявлена отрицательная корреляция средней силы между индексом PCDAI и уровнем IL-4 ($r=-0,452$).

На рис. 3 представлены результаты определения уровня цитокинов, отвечающих за репарацию эпителия. Они демонстрируют сходные тенденции. Так, концентрация IL-22 по мере снижения активности заболевания нарастала с 375,30 (245,73–391,59) пг/мл до 532,13 (374,48–721,1) пг/мл, $p < 0,05$ в группе 1 и с 385,89 (294,65–431,99) пг/мл до 796,91 (515,05–1247,44) пг/мл, $p < 0,05$ в группе 2. Уровень IL-33 также возрастал с 143,19 (107,13–173,66) пг/мл до 358,12 (273,6–490,77) пг/мл, $p < 0,05$ в группе 1 и с 173,24 (107,13–235,2) пг/мл до 484,97 (407,88–679,26) пг/мл, $p < 0,05$

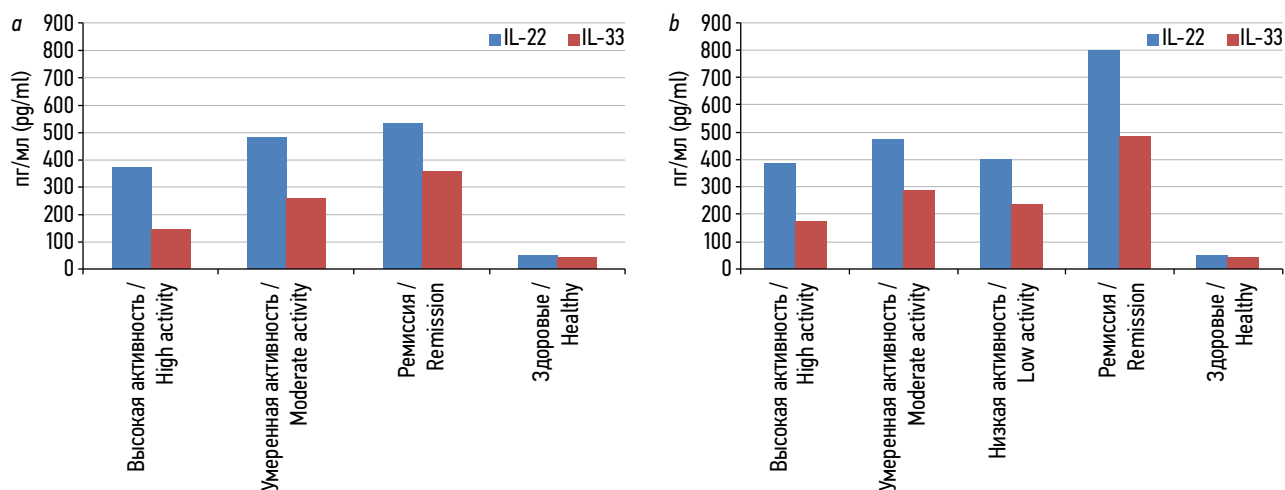


Рис. 3. Изменение уровней цитокинов, ответственных за репарацию эпителия, в копроэкстрактах детей с воспалительными заболеваниями кишечника в зависимости от клинической активности заболевания: *a* — болезнь Крона; *b* — язвенный колит.
Fig. 3. Changes in the cytokines levels responsible for epithelial repair in coproextracts of children with inflammatory bowel diseases depending on the disease clinical activity: *a* — Crohn's disease; *b* — ulcerative colitis.

в ремиссии в группе 2. Выявлены отрицательные корреляции средней силы между индексом PCDAI и уровнем IL-22 ($r=-0,409$), а для уровня IL-33 $r=-0,467$.

Результаты исследования концентрации IL-23, IL-31 и IL-21 представлены на рис. 4. Уровень IL-23 демонстрировал тенденцию к снижению по мере снижения активности заболевания с 6003,75 (5737,8–6269,7) пг/мл до 5555,22 (4886,4–5950,5) пг/мл в группе 1 и с 5737,68 (5311,8–6163,2) пг/мл до 5311,95 (4886,4–5418,3) пг/мл в группе 2, однако различия оказались незначимыми. Концентрация IL-31 в группе 1 снизилась с 1579,14 (903,15–1991,91) пг/мл до 1051,12 (838,95–1178,67) пг/мл, $p < 0,05$, а в группе 2 снижение с 733,35 (499,29–923,56) пг/мл до 499,29 (377,52–669,135) пг/мл проявилось лишь как тенденция. Уровень IL-21 не зависел от активности заболевания и колебался в диапазоне от 2703,27 до 3489,02 пг/мл в обеих группах.

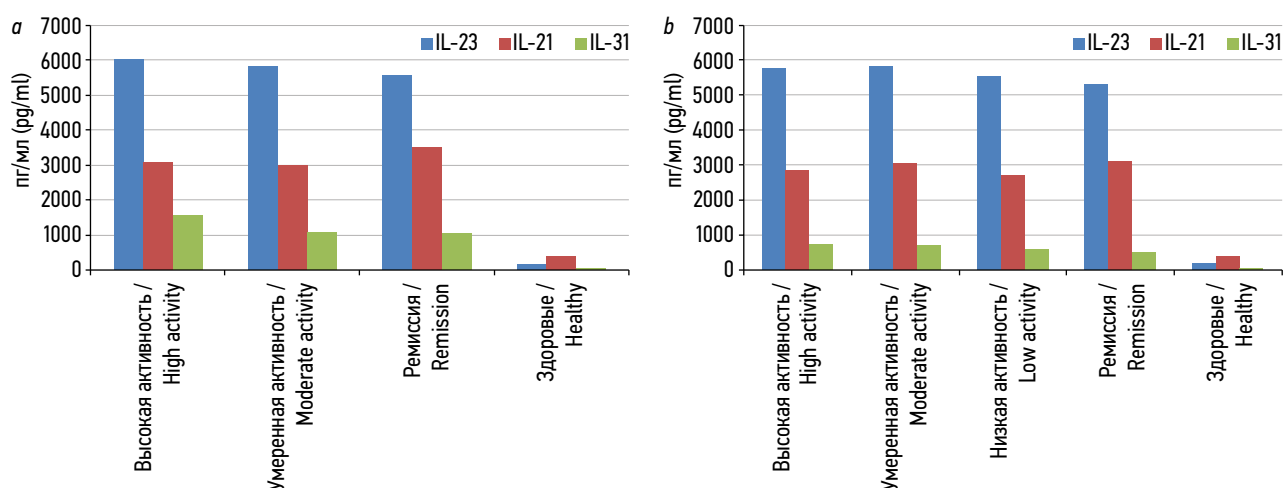


Рис. 4. Зависимость уровней IL-21, IL-23 и IL-31 в копроэкстрактах детей с воспалительными заболеваниями кишечника от клинической активности заболевания: *a* — болезнь Крона; *b* — язвенный колит.

Fig. 4. Dependence of IL-21, IL-23 and IL-31 levels in coproextracts of children with inflammatory bowel diseases on the disease clinical activity: *a* — Crohn's disease; *b* — ulcerative colitis.

ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведённых исследований было показано, что все 14 изученных нами цитокинов вовлечены у детей в иммунопатогенез ВЗК. Все они были значимо повышены по сравнению с результатами обследования группы здорового контроля. Важно отметить, что провоспалительные цитокины, такие как TNF, IL-1 β и IL-6, последовательно снижались в копроэкстрактах больных БК и ЯК по мере снижения активности заболевания. Это свидетельствует о том, что снижение клинических индексов, по которым оценивается активность ВЗК, соответствует снижению активности воспаления на местном уровне. При этом уровень IL-23 был очень высоким при обеих нозологиях, хотя и демонстрировал тенденцию к снижению по мере снижения активности заболевания. Известно, что комбинация IL-6, IL-23 и IL-1 β способствует индукции Th17-ответа. Действительно, уровни IL-17A и IL-17F

у обследованных детей были повышены в 8–10 раз относительно уровней контрольной группы при высокой активности заболевания, тогда как в ремиссии такое превышение было в 5–6 раз. Связывание IL-17 с рецептором регулирует функции кишечного барьера и способствует высвобождению провоспалительных цитокинов, поддерживающих воспаление [7]. Таким образом, выявленное нами снижение уровней IL-17 в копроэкстрактах больных ВЗК в ремиссии также свидетельствует о снижении активности местного воспаления. Однако даже в стадии ремиссии цитокины, производимые Th17, остаются значимо повышенными, поддерживая патологическое воспаление в кишечнике, что было показано и другими исследователями [8]. Такой цитокин, как IL-21, считается маркером Tfh, однако его также производят и Th17-клетки, поэтому сохраняющийся высокий уровень этого цитокина, независимо от активности заболевания, также свидетельствует о сохранении активности Th17 даже в стадии ремиссии. Наши данные об уровне IL-21 согласуются с результатами, полученными при исследовании биоптатов больных БК и ЯК, где показано, что этот цитокин был значимо повышен и его уровень не коррелировал ни с активностью заболевания, ни с проводимым лечением [9].

Согласно исследованию цитокинов-маркеров Th1/Th2 субпопуляций (IFN- γ и IL-4), уровень IFN- γ практически не зависит от стадии заболевания и значимо не различается в группах с БК и ЯК. Однако если оценить соотношение IFN- γ /IL-4 в копрофильтратах, то в группе здоровых этот коэффициент равен 1,45, что свидетельствует о преобладании IFN- γ . При высокой активности в группах 1 и 2 он оказался сниженным до 0,67 (преобладание IL-4), а в стадии ремиссии у больных ЯК он повысился до 0,87, хотя был всё ещё ниже, чем у здоровых, а в группе БК продолжил снижаться до 0,48. Возможно, такие различия отражают разное участие Th1- и Th2-субпопуляций в патогенезе этих нозологий [10]. Если учесть, что для БК типичен Th1-ответ, то снижение индекса IFN- γ /IL-4 у больных в ремиссии говорит о подавлении такого ответа, тогда как в группе больных ЯК, для которых типичен Th2-ответ, напротив, повышение этого индекса в ремиссии говорит о подавлении этого ответа. Обе ситуации следует рассматривать как положительные.

Цитокины IL-22 и IL-33 ответственны за репарацию эпителиальных клеток. В частности, IL-22 поддерживает функции эпителиального барьера, способствует продукции слизи и антимикробных пептидов [11]. IL-33 защищает от воспаления в кишечнике, способствуя индукции Treg и синтезу амфирегулина, который отвечает за репарацию эпителия [12]. Повышение уровней этих цитокинов по мере снижения активности заболевания может свидетельствовать об усилении процессов репарации кишечного эпителия. Методом иммуногистохимии в биоптатах больных БК было также показано нарастание уровня IL-33 после лечения пациентов с помощью анти-TNF-препаратов и снижения активности заболевания [9].

Известно, что IL-25 активно секретируется повреждёнными эпителиальными клетками, сигнализируя иммунокомпетентным клеткам о необходимости защиты. Более того, оказалось, что IL-25 может подавлять активность Th17 [13]. При исследовании кишечных биоптатов взрослых, больных ВЗК, обнаружено снижение экспрессии РНК для IL-25 и экспрессии самого цитокина [14], что не соответствует нашим данным, выявившим повышение уровня IL-25 в копроэкстрактах больных ВЗК. Такие различия могут быть связаны с тем, что при биопсии выбирают наиболее поражённый участок кишечника. В результате длительной персистенции воспаления в этом участке способность эпителиальных клеток к синтезу IL-25, как и жизнеспособность самих этих клеток, может быть нарушена. При исследовании концентрации цитокина в копроэкстракте мы имеем суммарный уровень, который может быть обеспечен повреждением эпителиальных клеток по краю очага воспаления, недавно вовлечённых в воспаление и способных ещё синтезировать IL-25. Более того, оказалось, что IL-25 способствует снижению продукции IFN- γ , TNF и IL-17A за счёт усиления продукции IL-10 [15]. Таким образом, повышенный уровень IL-25 следует рассматривать как протективный.

Противовоспалительный цитокин IL-10 продуцируется преимущественно субпопуляцией Treg и направлен на подавление активности воспаления, поэтому повышение его уровня по мере снижения активности воспалительного процесса следует рассматривать как позитивный факт.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на всю вышеперечисленную позитивную динамику снижения уровней провоспалительных цитокинов и повышение концентрации противовоспалительных цитокинов по мере снижения активности ВЗК, следует подчеркнуть, что у детей даже в периоде ремиссии уровни исследованных цитокинов значимо отличались от соответствующих уровней группы здорового контроля. Важно, что все больные дети находились на плановой терапии в соответствии с различными протоколами. В терапии были использованы: 5-аминосалициловая кислота (месалазин), азатиоприн, глюкокортикоиды, генно-инженерные биологические препараты и различные комбинации этих препаратов. При этом даже при достижении ремиссии уровни цитокинов в копроэкстрактах были значимо повышены. Следовательно, при достижении клинической ремиссии на фоне лечения не достигается полной иммунологической ремиссии. Активность воспаления при лечении ВЗК может снизиться до субклинического уровня, но патологический процесс не исчезает и может быть выявлен иммунологическими методами. Из этого можно сделать два вывода. Во-первых, известные на данный момент схемы лечения ВЗК не излечивают болезнь, а лишь снижают её активность, и при отмене терапии крайне высока вероятность обострения заболевания. Во-вторых,

остаётся актуальной задача более детального изучения иммунопатогенеза ВЗК и поиска принципиально новых подходов к терапии этих тяжёлых заболеваний.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией). Наибольший вклад распределён следующим образом: А.П. Топтыгина — тестирование цитокинов, написание статьи; Е.Л. Семикина — сбор и обработка биологического материала, обсуждение результатов; В.С. Цветкова — ведение пациентов, статистическая обработка результатов; А.Е. Красновидова — ведение пациентов, анализ литературы; А.С. Потапов — концепция работы, редактирование статьи.

Информированное согласие на публикацию. Авторы получили письменное согласие законных представителей пациентов на публикацию медицинских данных.

ADDITIONAL INFORMATION

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Authors' contribution. All authors confirm that their authorship meets the international ICMJE criteria (all authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work). A.P. Topytina — cytokine testing, wrote the manuscript; E.L. Semikina — collection and processing of biological material, discussion of results; V.S. Tsvetkova — patient supervision, statistical processing of results; A.E. Krasnovidova — patient supervision, analyze the literature data; A.S. Potapov — generated themes and ideas and edited the manuscript.

Consent for publication. Written consent was obtained from the patients' parents for publication of relevant medical information within the manuscript.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Raphael I., Nalawade S., Eagar T.N., Forsthuber T.G. T cell subsets and their signature cytokines in autoimmune and inflammatory diseases // *Cytokine*. 2015. Vol. 74, N. 1. P. 5–17. doi: 10.1016/j.cyto.2014.09.011
- Cao H., Diao J., Liu H., et al. The Pathogenicity and Synergistic Action of Th1 and Th17 Cells in Inflammatory Bowel Diseases // *Inflamm Bowel Dis*. 2023. Vol. 29, N 5. P. 818–829. doi: 10.1093/ibd/izac199
- Ghilas S., O'Keefe R., Mielke L.A., et al. Crosstalk between epithelium, myeloid and innate lymphoid cells during gut homeostasis and disease // *Front Immunol*. 2022. Vol. 13. P. 944982. doi: 10.3389/fimmu.2022.944982
- Mahapatro M., Erkert L., Becker C. Cytokine-Mediated Crosstalk between Immune Cells and Epithelial Cells in the Gut // *Cells*. 2021. Vol. 10, N 1. P. 111. doi: 10.3390/cells10010111
- Katsandegwaza B., Horsnell W., Smith K. Inflammatory Bowel Disease: A Review of Pre-Clinical Murine Models of Human Disease // *Int J Mol Sci*. 2022. Vol. 23, N 16. P. 9344. doi: 10.3390/ijms23169344
- Топтыгина А.П., Семикина Е.Л., Бобылева Г.В., Мирошкина Л.В., Петричук С.В. Цитокиновый профиль у детей с воспалительными заболеваниями кишечника // *Биохимия*. 2014. Т. 79, № 12. С. 1673–1679. EDN: TQQMVZ
- Singh R.P., Hasan S., Sharma S., et al. Th17 cells in inflammation and autoimmunity // *Autoimmun Rev*. 2014. Vol. 13, N 12. P. 1174–1181. doi: 10.1016/j.autrev.2014.08.019
- Zhao J., Lu Q., Liu Y., et al. Th17 Cells in Inflammatory Bowel Disease: Cytokines, Plasticity, and Therapies // *J Immunol Res*. 2021. Vol. 2021. P. 8816041. doi: 10.1155/2021/8816041
- Toskas A., Miliadis S., Delis G., et al. Expression of IL-21 and IL-33 in Intestinal Mucosa of Inflammatory Bowel Disease: An Immunohistochemical Study // *Diagnostics*. 2023. Vol. 13, N 13. P. 2185. doi: 10.3390/diagnostics13132185
- Zorzi F., Monteleone I., Sarra M., et al. Distinct profiles of effector cytokines mark the different phases of Crohn's disease // *PLoS ONE*. 2013. Vol. 8, N 1. P. e54562. doi: 10.1371/journal.pone.0054562
- Shohan M., Dehghani R., Khodadadi A., et al. Interleukin-22 and intestinal homeostasis: Protective or destructive? // *IUBMB Life*. 2020. Vol. 72, N 8. P. 1585–1602. doi: 10.1002/iub.2295
- Monticelli L.A., Osborne L.C., Noti M., et al. IL-33 promotes an innate immune pathway of intestinal tissue protection dependent on amphiregulin-EGFR interactions // *Proc Natl Acad Sci USA*. 2015. Vol. 112, N 34. P. 10762–10767. doi: 10.1073/pnas.1509070112
- Mantani P.T., Vallejo J., Ljungcrantz I., et al. Interleukin-25 reduces Th17 cells and inflammatory responses in human peripheral blood mononuclear cells // *Hum Immunol*. 2018. Vol. 79, N 9. P. 685–692. doi: 10.1016/j.humimm.2018.06.008
- Fina D., Franzè E., Rovedati L., et al. Interleukin-25 production is differently regulated by TNF- α and TGF- β 1 in the human gut // *Mucosal Immunol*. 2011. Vol. 4, N 2. P. 239–244. doi: 10.1038/mi.2010.68
- Su J., Chen T., Ji X.Y., et al. IL-25 downregulates Th1/Th17 immune response in an IL-10-dependent manner in inflammatory bowel disease // *Inflamm Bowel Dis*. 2013. Vol. 19, N 4. P. 720–728. doi: 10.1097/MIB.0b013e3182802a76

REFERENCES

- Raphael I, Nalawade S, Eagar TN, Forsthuber TG. T cell subsets and their signature cytokines in autoimmune and inflammatory diseases. *Cytokine*. 2015;74(1):5–17. doi: 10.1016/j.cyto.2014.09.011
- Cao H, Diao J, Liu H, et al. The Pathogenicity and Synergistic Action of Th1 and Th17 Cells in Inflammatory Bowel Diseases. *Inflamm Bowel Dis*. 2023;29(5):818–829. doi: 10.1093/ibd/izac199
- Ghilas S, O’Keefe R, Mielke LA, et al. Crosstalk between epithelium, myeloid and innate lymphoid cells during gut homeostasis and disease. *Front Immunol*. 2022;13:944982. doi: 10.3389/fimmu.2022.944982
- Mahapatro M, Erkert L, Becker C. Cytokine-Mediated Crosstalk between Immune Cells and Epithelial Cells in the Gut. *Cells*. 2021;10(1):111. doi: 10.3390/cells10010111
- Katsandegwaza B, Horsnell W, Smith K. Inflammatory Bowel Disease: A Review of Pre-Clinical Murine Models of Human Disease. *Int J Mol Sci*. 2022;23(16):9344. doi: 10.3390/ijms23169344
- Toptygina AP, Semikina EL, Bobyleva GV, Miroshkina LV, Petrichuk SV. Cytokine profile in children with inflammatory bowel disease. *Biochemistry*. 2014;79(12):1673–1679. (In Russ). EDN: TQQMVZ
- Singh RP, Hasan S, Sharma S, et al. Th17 cells in inflammation and autoimmunity. *Autoimmun Rev*. 2014;13(12):1174–1181. doi: 10.1016/j.autrev.2014.08.019
- Zhao J, Lu Q, Liu Y, et al. Th17 Cells in Inflammatory Bowel Disease: Cytokines, Plasticity, and Therapies. *J Immunol Res*. 2021;2021:8816041. doi: 10.1155/2021/8816041
- Toskas A, Miliadis S, Delis G, et al. Expression of IL-21 and IL-33 in Intestinal Mucosa of Inflammatory Bowel Disease: An Immunohistochemical Study. *Diagnostics*. 2023;13(13):2185. doi: 10.3390/diagnostics13132185
- Zorzi F, Monteleone I, Sarra M, et al. Distinct profiles of effector cytokines mark the different phases of Crohn’s disease. *PLoS ONE*. 2013;8(1):e54562. doi: 10.1371/journal.pone.0054562
- Shohan M, Dehghani R, Khodadadi A, et al. Interleukin-22 and intestinal homeostasis: Protective or destructive? *IUBMB Life*. 2020;72(8):1585–1602. doi: 10.1002/iub.2295
- Monticelli LA, Osborne LC, Noti M, et al. IL-33 promotes an innate immune pathway of intestinal tissue protection dependent on amphiregulin-EGFR interactions. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2015;112(34):10762–10767. doi: 10.1073/pnas.1509070112
- Mantani PT, Vallejo J, Ljungcrantz I, et al. Interleukin-25 reduces Th17 cells and inflammatory responses in human peripheral blood mononuclear cells. *Hum Immunol*. 2018;79(9):685–692. doi: 10.1016/j.humimm.2018.06.008
- Fina D, Franzè E, Rovedatti L, et al. Interleukin-25 production is differently regulated by TNF- α and TGF- β 1 in the human gut. *Mucosal Immunol*. 2011;4(2):239–244. doi: 10.1038/mi.2010.68
- Su J, Chen T, Ji XY, et al. IL-25 downregulates Th1/Th17 immune response in an IL-10-dependent manner in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2013;19(4):720–728. doi: 10.1097/MIB.0b013e3182802a76

ОБ АВТОРАХ

* **Топтыгина Анна Павловна**, д-р мед. наук;
адрес: Россия, 125212, Москва, улица Адмирала Макарова, д. 10;
ORCID: 0000-0002-9981-4762;
eLibrary SPIN: 8523-5018;
e-mail: toptyginaanna@rambler.ru

Семикина Елена Леонидовна, д-р мед. наук;
ORCID: 0000-0001-8923-4652;
eLibrary SPIN: 3647-4967;
e-mail: semikinaelena@yandex.ru

Цветкова Валерия Сергеевна, канд. мед. наук;
ORCID: 0000-0002-8162-2957;
eLibrary SPIN: 2723-8402;
e-mail: tsvetkova.valerie@gmail.com

Красновидова Анастасия Евгеньевна;
ORCID: 0000-0003-0250-343X;
eLibrary SPIN: 2979-7431;
e-mail: dr.krasnovidova@yandex.ru

Потапов Александр Сергеевич, д-р мед. наук, профессор;
ORCID: 0000-0003-4905-2373;
eLibrary SPIN: 9507-7419;
e-mail: potapov@nczd.ru

AUTHORS' INFO

* **Anna P. Toptygina**, MD, Dr. Sci. (Medicine);
address: 10 Admiral Makarov street, 125212 Moscow, Russia;
ORCID: 0000-0002-9981-4762;
eLibrary SPIN: 8523-5018;
e-mail: toptyginaanna@rambler.ru

Elena L. Semikina, MD, Dr. Sci. (Medicine);
ORCID: 0000-0001-8923-4652;
eLibrary SPIN: 3647-4967;
e-mail: semikinaelena@yandex.ru

Valeriya S. Tsvetkova, MD, Cand. Sci. (Medicine);
ORCID: 0000-0002-8162-2957;
eLibrary SPIN: 2723-8402;
e-mail: tsvetkova.valerie@gmail.com

Anastasia E. Krasnovidova;
ORCID: 0000-0003-0250-343X;
eLibrary SPIN: 2979-7431;
e-mail: dr.krasnovidova@yandex.ru

Alexander S. Potapov, MD, Dr. Sci. (Medicine), Professor;
ORCID: 0000-0003-4905-2373;
eLibrary SPIN: 9507-7419;
e-mail: potapov@nczd.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author