

Факторы роста (G-CSF, GM-CSF) и хемокины (MCP-1, MIP-1 β) в толстой кишке при тяжелой форме язвенного колита

Е.А. Конович, К.Е. Широких, М.В. Шапина, И.Л. Халиф

ФГБУ «Государственный научный центр колопроктологии им. А.Н. Рыжих»
Минздрава РФ, г. Москва, Российская Федерация

Colonic growth factors (G-CSF, GM-CSF) and chemokines (MCP-1, MIP-1 β) in severe ulcerative colitis

Ye.A. Konovich, K.Ye. Shirokikh, M.V. Shapina, I.L. Khalif

Federal government-financed institution «Ryzhikh State Scientific Center of Coloproctology»
Ministry of healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

Цель исследования. Определить содержание факторов роста (G-CSF, GM-CSF) и хемокинов (MCP-1, MIP-1 β) в резецированной толстой кишке больных с тяжелой формой язвенного колита (ЯК).

Материал и методы. Исследовали 48 биоптатов слизистой оболочки толстой кишки, резецированной у 7 больных тотальным ЯК. Всем пациентам по поводу тяжело протекавшего заболевания, резистентного к консервативной терапии, проведено хирургическое лечение в объеме колэктомии. Активность воспалительного процесса определяли на основании степени выраженности эрозивно-язвенного поражения толстой кишки. Определение концентрации факторов роста и хемокинов в надосадочной жидкости после центрифугирования гомогената биоптата массой 10 мг проводили на анализаторе протеинов «Bio-Plex» («Bio-Rad», США). В качестве контрольной группы использовали биоптаты неизменной слизистой оболочки толстой кишки, удаленной у 10 больных раком.

Aim of investigation. To determine the content of growth factors (G-CSF, GM-CSF) and chemokines (MCP-1, MIP-1 β) in resected colon specimens of patients with severe ulcerative colitis (UC).

Material and methods. Overall 48 biopsy specimens of the colonic mucosa resected at 7 patients with total UC were investigated. All patients underwent colectomy due to severe disease, resistant to conservative treatment. Inflammation activity was determined according to severity of erosive and ulcerative lesions of the colon. Growth factor and chemokine levels in supernatant fluid after centrifugal separation of homogenate of 10 mg biopsy specimen were investigated by the protein analyzer «Bio-Plex» («Bio-Rad», USA). Biopsy specimens of uninvolved colonic mucosa resected in 10 cancer patients were used as a control.

Results. Growth factor and chemokine levels were significantly elevated in colonic biopsy specimens of UC patients in comparison to that of controls: G-CSF 52,5 \pm 17,0 and 0,4 \pm 0,1 pg/10 mg ($p < 0,01$), GM-CSF

Конович Евгений Аронович — доктор медицинских наук, старший научный сотрудник отдела микробиологических и иммунологических исследований ФГБУ «ГНЦ колопроктологии им. А.Н. Рыжих». Контактная информация: evgkonovich@mail.ru;

123423, г. Москва, ул. Саляма Адиля, д. 2

Konovich Yevgeny A. — MD, PhD, senior research associate, department of microbiology and immunology, Ryzhikh State Scientific Center of Coloproctology. Contact information: evgkonovich@mail.ru; 123423, Moscow, Salyama Adilya street, 2

Халиф Игорь Львович — доктор медицинских наук, профессор, руководитель отдела по изучению воспалительных и функциональных заболеваний кишечника ФГБУ «ГНЦ колопроктологии им. А.Н. Рыжих»

Khalif Igor L. — MD, PhD, professor, head of department of inflammatory and functional bowel diseases, Ryzhikh State Scientific Center of Coloproctology.

Поступила: 04.05.2016 / Received: 04.05.2016

Результаты. Уровень факторов роста и хемокинов был значительно повышен в биоптатах толстой кишки больных ЯК по сравнению с таковым в биоптатах контрольной группы: соответственно G-CSF $52,5 \pm 17,0$ и $0,4 \pm 0,1$ пг/10 мг ($p < 0,01$), GM-CSF $6,8 \pm 1,0$ и $2,7 \pm 0,26$ пг/10 мг ($p < 0,001$), MCP-1 $126,0 \pm 11,4$ и $1,5 \pm 0,15$ пг/10 мг ($p < 0,05$), MIP-1 β $12,5 \pm 2,8$ и $3,2 \pm 0,4$ пг/10 мг ($p < 0,01$). Содержание G-CSF, MCP-1 и MIP-1 β в биоптатах толстой кишки было увеличено по сравнению с их уровнем в биоптатах, взятых из терминального отдела тонкой кишки, свободной от воспаления. Их уровень в левых отделах толстой кишки и поперечной ободочной кишке был выше, чем в слепой и восходящей ободочной кишке. Концентрация факторов роста и хемокинов значительно возрастала при выраженной активности воспалительного процесса по сравнению с таковой при умеренной активности: G-CSF в 25 раз, MCP-1 в 6,4 раза, MIP-1 β в 3 раза и GM-CSF в 2,6 раза. Профили GM-CSF > G-CSF и MIP-1 β > MCP-1 наблюдались соответственно в 22 (95,7%) и 19 (82,6%) из 23 биоптатов толстой кишки контрольной группы, профили G-CSF > GM-CSF и MCP-1 > MIP-1 β — в 17 (89,4%) и 12 (63,1%) из 19 биоптатов толстой кишки больных ЯК при выраженной активности воспалительного процесса.

Выводы. Значительное увеличение уровня фактора роста нейтрофилов G-CSF и хемокина моноцитов MCP-1 наблюдалось в биоптатах толстой кишки больных ЯК при распространенном деструктивно-язвенном воспалительном процессе.

Ключевые слова: язвенный колит, толстая кишка, G-CSF, GM-CSF, MCP-1, MIP-1 β .

$6,8 \pm 1,0$ and $2,7 \pm 0,26$ pg/10 mg ($p < 0,001$), MCP-1 $126,0 \pm 11,4$ and $1,5 \pm 0,15$ pg/10 mg ($p < 0,05$), MIP-1 β $12,5 \pm 2,8$ and $3,2 \pm 0,4$ pg/10 mg ($p < 0,01$) respectively. The content of G-CSF, MCP-1 and MIP-1 β in colonic biopsy specimens was increased in comparison to their level in non-involved terminal ileum biopsy specimens. Levels in the left part of the colon and transverse colon were higher, than in the cecum and ascending colon. Growth factor and chemokine concentrations were significantly higher at severe inflammation in comparison to moderate inflammatory activity: G-CSF — 25 fold, MCP-1 — 6,4 fold, MIP-1 β — 3 fold and GM-CSF — 2,6 fold. Profiles GM-CSF > G-CSF and MIP-1 β > MCP-1 were observed in 22 (95,7%) and 19 (82,6%) of 23 colonic biopsy specimens of the control group respectively, profiles G-CSF > GM-CSF and MCP-1 > MIP-1 β — in 17 (89,4%) and 12 (63,1%) of 19 colonic biopsies of UC patients with severe inflammatory activity.

Conclusions. Significant increase in neutrophil growth factor level G-CSF and monocyte chemokine MCP-1 was observed in colonic biopsy specimens of UC patients at widespread destructive and inflammatory ulcerative process.

Key words: ulcerative colitis, the colon, G-CSF, GM-CSF, MCP-1, MIP-1 β .

Для цитирования: Конович Е.А., Широких К.Е., Шапина М.В., Халиф И.Л. Факторы роста (G-CSF, GM-CSF) и хемокины (MCP-1, MIP-1 β) в толстой кишке при тяжелой форме язвенного колита. Рос журн гастроэнтерол гепатол колопроктол 2016; 26(5):74-81

For citation: Konovich Ye. A., Shirokikh K.Ye., Shapina M.V., Khalif I.L. Colonic growth factors (G-CSF, GM-CSF) and chemokines (MCP-1, MIP-1 β) in severe ulcerative colitis. Ross z gastroenterol gepatol koloproktol 2016; 26(5):74-81

Введение

Язвенный колит (ЯК) — хроническое воспалительное заболевание толстой кишки с длительным непрерывным или рецидивирующим течением. У 15—20% больных с тотальным поражением толстой кишки рецидив заболевания протекает в форме тяжелой атаки с наличием распространенного деструктивно-язвенного процесса и выраженных клинических проявлений на фоне неэффективности консервативной (стероиды, биологические препараты) терапии и опасных для жизни осложнений, при возникновении которых требуются хирургическое удаление толстой кишки и длительная реабилитация [5].

Согласно современным представлениям, развитие ЯК связано с генетически обусловленными дефектами взаимодействия рецепторов врожден-

ной иммунной системы и молекулярных структур микроорганизмов (PAMP — pathogen associated molecular patterns), нарушением иммунологической толерантности по отношению к аутологичной микрофлоре и патогенной активацией иммунологических механизмов, опосредованной при ЯК субпопуляциями CD4+Th2- и NKT-клеток и сопровождающейся гиперпродукцией различных факторов воспаления, включая системы провоспалительных цитокинов, хемокинов и факторов роста [4].

G-CSF (*гранулоцитарный колониестимулирующий фактор*) и GM-CSF (*гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор*) являются основными гематopoэтически регуляторами роста костно-мозговых клеток-предшественников в дифференцированные клетки крови и тканей. G-CSF стимулирует гранулоцито-

поэз с максимальной экспрессией специфического рецептора на зрелых нейтрофилах и других клетках (эндотелиальные клетки, В-клетки, активированные Т-клетки и др.) [12, 23]. Экзогенный G-CSF увеличивает количество циркулирующих нейтрофилов, стимулирует функции адгезии и фагоцитоза, а также тормозит апоптоз клеток в условиях воспаления. Провоспалительные цитокины (*интерлейкины* – ИЛ-17, ИЛ-1, ИЛ-6 и др.) усиливают продукцию G-CSF макрофагами, фибробластами и эндотелиальными клетками [12, 28].

GM-CSF, который продуцируется широким спектром клеток, включающим фибробласты, стромальные, эндотелиальные, гладкомышечные и другие клетки, регулирует пролиферацию и дифференцировку клеток-предшественников моноцитов, нейтрофилов, макрофагов и дендритных клеток, активирует функции дифференцированных эффекторных клеток и увеличивает их выживаемость. GM-CSF и его рецептор, влияя на баланс дендритных и других клеток слизистой оболочки кишечника, регулируют целостность кишечного эпителия и гомеостаз врожденного иммунитета в процессе микробной инвазии и воспаления [8, 21, 32].

Уровень G-CSF увеличивается при активном воспалении в органных культурах биоптатов толстой кишки больных ЯК [16, 28]. Секреция GM-CSF в биоптатах толстой кишки, по данным одних авторов [28], не изменяется, по данным других – увеличивается, но в меньшей степени по сравнению с таковой G-CSF [16, 27]. Установлено также значительное снижение экспрессии рецептора GM-CSF (CD116) и его функции активации внутриклеточной сигнализации [14].

MCP-1 (CCL2), *моноцитарный хемотаксический протеин-1*, – хемоаттрактант моноцитов, который продуцируется также макрофагами, фибробластами, эпителиальными клетками кишечника и почек, эндотелиоцитами, клетками опухолевых линий и др. Посредством активации рецептора CCR2 MCP-1 выполняет как провоспалительные (антигенпрезентирующие клетки, Т-эффекторные клетки), так и противовоспалительные (Т-регуляторные клетки) функции [22, 28].

MIP-1 β (CCL4), *макрофагальный воспалительный протеин-1 β* , продуцируемый преимущественно макрофагами и Т-клетками, является хемоаттрактантом клеток врожденного (моноциты, дендритные клетки, NK-клетки) и адаптивного (активированные Т-клетки) иммунитета, экспрессирующих рецептор CCR5, которые рециркулируют в пораженной ткани при различных заболеваниях [10, 22, 28, 35].

По данным С. Banks и соавт. [6], G. McCormack и соавт. [24], S.K. Yang и соавт. [34], экспрессия MCP-1 и MIP-1 β в клетках и их концентрация

в гомогенатах образцов, полученных во время операции, и биоптатов толстой кишки больных ЯК значительно увеличивались. Продукция хемокинов в органных культурах возрастала под влиянием *фактора некроза опухоли альфа* (ФНО- α) [34]. Однако J.E. Onken и соавт. [28] не выявили различий уровней MCP-1 и MIP-1 β при культивировании биоптатов толстой кишки с активным процессом и без него в сравнении с таковыми в нормальной толстой кишке. W.I. Khan и соавт. [18] изучали роль MCP-1 в патогенезе экспериментального колита, вызванного динитробензолсульфоновой кислотой у MCP-1-нокаутных мышей, у которых по сравнению с мышами с сохраненной продукцией хемокина наблюдалось менее тяжелое течение колита, снижались инфильтрация толстой кишки макрофагами и Т-клетками, концентрация провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-12 и *интерферона гамма* (ИФН- γ) и активность миелопероксидазы [18].

Изучение роли множества молекул воспаления в иммунопатогенезе ЯК, поиск на этой основе методов прогнозирования течения заболевания, предикторов резистентности к гормональной и биологической терапии и обоснование целесообразности применения новых методов антицитокиновой терапии составляют значительную часть проводимых в настоящее время исследований.

В связи с этим *целью настоящего исследования* состояла в изучении уровня факторов роста G-CSF и GM-CSF, хемокинов MCP-1 и MIP-1 β в резецированной толстой кишке у больных ЯК на высоте развития неконтролируемого деструктивного воспалительного процесса.

Материал и методы исследования

Материалом для исследования послужили 48 биоптатов слизистой оболочки из всех отделов толстой кишки, резецированной у 7 больных ЯК: 3 мужчин и 4 женщин, средний возраст 39,2 \pm 7,1 года (от 20 до 67 лет). Диагноз устанавливали на основании результатов клинко-инструментальных (колоноскопия, лучевые методы и др.) и лабораторных исследований в соответствии с международными критериями заболеваний [5].

Длительность заболевания составляла от 1,5 мес до 17 лет. Острое течение ЯК отмечено у 3 больных, хроническое непрерывное – у 2 и рецидивирующее – у 2. Фульминантная форма заболевания наблюдалась у 2 больных, тяжелая – у 3, среднетяжелая – у 2, гормонорезистентная и гормонозависимая формы – каждая у 2 больных. У всех больных диагностировано тотальное поражение толстой кишки, в связи с чем им было проведено хирургическое лечение в объеме колэктомии с илеостомией по Бруку.

Степень активности воспалительного процесса определяли по выраженности эрозивно-язвенного

Таблица 1

Концентрация G-CSF, GM-CSF, MCP-1 и MIP-1 β в биоптатах слизистой оболочки толстой кишки больных язвенным колитом и биоптатах контрольной группы, пг/10 мг

Клинические группы	Факторы роста и хемокины (M \pm m)			
	G-CSF	GM-CSF	MCP-1	MIP-1 β
ЯК (n=48)	52,5 \pm 17,0 (0–458)	6,8 \pm 1,0 (1,2–30,0)	26,0 \pm 11,4 (1,0–308)	12,5 \pm 2,8 (0–75)
Контрольная группа (n=23)	0,4 \pm 0,1 (0–1,9)	2,7 \pm 0,26 (0,8–4,9)	1,5 \pm 0,15 (0,3–3,1)	3,2 \pm 0,4 (0,5–7,8)
p	<0,01	<0,001	<0,05	<0,01

Таблица 2

Концентрация G-CSF, GM-CSF, MCP-1 и MIP-1 β в биоптатах слизистой оболочки различных отделов толстой кишки и терминального отдела тонкой кишки больных язвенным колитом, пг/10 мг

Локализация поражения	Факторы роста и хемокины (медиана)			
	G-CSF	GM-CSF	MCP-1	MIP-1 β
Прямая кишка (n=12)	11,2* (0,3–415)	4,1 (2,0–24,5)	5,1* (0,3–210)	7,4* (0,5–49,6)
Сигмовидная ободочная кишка (n=7)	5,1* (0,1–246)	4,1 (2,1–21,4)	7,1 (0,7–36,5)	5,9* (0,8–20,1)
Нисходящая ободочная кишка (n=7)	4,9 (1,3–458)	5,8 (2,3–30,1)	12,1* (0,7–308)	11,2* (0–75,2)
Поперечная ободочная кишка (n=7)	16,5*, ** (3,1–58,6)	4,3 (1,2–8,1)	16,7* (1,2–26,7)	9,6* (0,8–26,4)
Восходящая ободочная кишка (n=8)	1,7 (0–180)	4,6 (2,5–25,3)	4,1* (1,2–68,4)	4,5 (0,5–18,7)
Слепая кишка (n=7)	2,5 (0–135)	4,3 (2,4–20,1)	4,7* (0,9–43,3)	6,5* (1,6–56,7)
Тонкая кишка (n=5)	1,0 (0–2,3)	2,0 (1,1–8,1)	1,3 (1,1–3,2)	1,1 (0,8–4,5)

* p<0,05 – различия между уровнями цитокинов в отделах толстой кишки и тонкой кишке.

** p<0,05 – различия между уровнями цитокинов в поперечной ободочной и слепой кишке.

поражения слизистой оболочки: умеренная активность – изменения в виде эрозий и отдельных язв диаметром менее 5 мм; выраженная активность – изменения в виде крупных (диаметром более 5 мм) множественных язв, образующих обширные язвенные дефекты [1]. Контрольную группу составили 23 биоптата макроскопически не измененной слизистой оболочки прямой и ободочной кишки, резецированной у 10 больных раком.

Биоптат массой 10 мг гомогенизировали в 500 мкл физиологического буферного раствора (pH 7,2). Гомогенат ткани центрифугировали при 13000 g в течение 30 мин при температуре 4°C; надосадочную жидкость хранили до исследования при температуре –70°C. Исследование проводили на анализаторе протеинов «Bio-Plex» («Bio-Rad», США), представляющем собой проточную систему с двумя лазерами для детекции и регистрации флуоресценции биомолекулярных реакций на поверхности микросфер. В работе использовали тест-наборы «Bio-Rad» в соответствии с инструкцией фирмы. Концентрацию хемокинов и факторов роста выражали в пг/биоптат (10 мг).

Результаты исследований статистически проанализированы с использованием метода Манна–Уитни для определения различий концентраций хемокинов и факторов роста и точного критерия Фишера для оценки разности долей (процентов) при уровне значимости p < 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

Представленные данные (табл. 1) свидетельствуют, что концентрация G-CSF, GM-CSF, MCP-1 и MIP-1 β и ее вариабельность значительно увеличены в биоптатах толстой кишки больных ЯК по сравнению с таковыми в биоптатах контрольной группы. Превышение максимального уровня G-CSF, GM-CSF, MCP-1 и MIP-1 β в контрольной группе наблюдалось соответственно в 72,9% (35/48), 39,5% (19/48), 70,8% (34/48) и 39,5% (19/48) биоптатов толстой кишки больных ЯК. В пораженной толстой кишке также было значительно изменено соотношение исследованных факторов роста и хемокинов: про-

Таблица 3

Концентрация G-CSF, GM-CSF, MCP-1 и MIP-1β в биоптатах слизистой оболочки толстой кишки больных язвенным колитом при различной эндоскопической активности воспаления, пг/10 мг

Активность воспаления	Факторы роста и хемокины (M±m)			
	G-CSF	GM-CSF	MCP-1	MIP-1β
Выраженная (n=19)	100,3±29,2 (1,3–458)	10,0±1,7 (2,1–30,0)	46,0±19,5 (2,7–308)	19,1±4,5 (4,7–75,2)
Умеренная (n=20)	3,8±1,6 (0–27,3)	3,9±0,4 (1,2–8,4)	7,0±2,9 (0,7–47,9)	6,2±1,1 (0–18,7)
Контрольная группа (n=23)	0,4±0,1 (0–1,9)	2,7±0,2 (0,8–4,9)	1,5±0,15 (0,3–3,1)	3,2±0,4 (0,5–7,8)
p	p ₁₋₂ <0,01 p ₁₋₃ <0,002 p ₂₋₃ <0,05	p ₁₋₂ <0,01 p ₁₋₃ <0,001	p ₁₋₃ <0,05	p ₁₋₂ <0,02 p ₁₋₃ <0,002

филь G-CSF > GM-CSF выявлен соответственно в 56,2% (27/48) и 4,3% (1/23) (p<0,001) биоптатов толстой кишки больных ЯК и контрольной группы, профиль MCP-1 > MIP-1β – соответственно в 47,9% (23/48) и 8,7% (2/23) (p<0,001) биоптатов. Большое увеличение индивидуальных показателей G-CSF по сравнению с GM-CSF и MCP-1 по сравнению с MIP-1β в биоптатах толстой кишки больных ЯК оказывало выраженное влияние на соотношение их средних уровней (M) в сравниваемых группах: отношение G-CSF/GM-CSF в нормальной и пораженной толстой кишке составило соответственно 1:6,7 и 7,7:1, отношение MCP-1/MIP-1β – 1:2,1 и 2,0:1.

Во всех отделах пораженной толстой кишки наблюдалась более высокая концентрация факторов роста и хемокинов, чем в терминальном отделе тонкой кишки, свободном от воспалительного процесса (табл. 2). Уровень MCP-1 и MIP-1β достоверно повышен в 5 из 6 отделов толстой кишки, уровень G-CSF – в 3 отделах. Концентрация GM-CSF во всех отделах толстой кишки также имела тенденцию к росту, но не достигала уровня статистической значимости. Содержание G-CSF, MCP-1 и MIP-1β в левых отделах толстой кишки (прямая кишка, сигмовидная ободочная и нисходящая ободочная кишка) и в поперечной ободочной кишке в 1,5–8 раз выше, чем в ее правой половине (слепая кишка, восходящая ободочная кишка). В проведенном нами ранее исследовании концентрации в этих биоптатах провоспалительных цитокинов ИЛ-1β, ИЛ-6, ФНО-α и ИФН-γ наблюдались аналогичные изменения [2], что подтверждает представление о распространении воспалительного процесса из дистального отдела толстой кишки (прямая кишка) в ее вышележащие отделы [1].

При умеренной активности воспалительного процесса наблюдается достоверное увеличение содержания G-CSF, в то время как уровень MCP-1 и MIP-1β имеет отчетливую тенденцию к повышению. Концентрация факторов роста и

хемокинов значительно повышается при выраженной эндоскопической активности по сравнению с их уровнем при умеренном воспалении: G-CSF в 25 раз, MCP-1 в 6,4 раза, MIP-1β в 3 раза, GM-CSF в 2,6 раза (табл. 3). Из 23 биоптатов толстой кишки контрольной группы профили факторов роста GM-CSF>G-CSF и хемокинов MIP-1β>MCP-1 наблюдались соответственно в 22 (95,7%) и 19 (82,6%). Увеличение распространенности деструктивно-воспалительного поражения слизистой оболочки ассоциировано с высокой продукцией G-CSF и MCP-1, уровень которых при выраженной активности воспаления преобладает профили G-CSF>GM-CSF и MCP-1>MIP-1β наблюдались соответственно в 17 (89,4%) и 12 (63,15%) из 19 биоптатов толстой кишки (табл. 4).

В ранее проведенных исследованиях было показано, что вектор влияния G-CSF на воспалительный процесс зависел от его природы – инфекционной или аутоиммунной. С одной стороны, введение G-CSF мышам с респираторной вирусной инфекцией способствовало увеличению количества активированных гранулоцитов и клиренса вируса и сопровождалось уменьшением распространенности воспалительного процесса в легких [15]. При экспериментальной болезни Чагаса введение G-CSF приводило к снижению инфицированности мышей *Trypanosoma cruzi* и активности миокардита [33].

С другой стороны, G-CSF способствовал увеличению выраженности артрита, индуцированного коллагеном, в то время как у G-CSF-дефицитных мышей наблюдалась резистентность к его развиту [19]. Уровень G-CSF также повышался в крови и синовиальной жидкости больных активным ревматоидным артритом [26]. При васкулите мышей с наличием гломерулонефрита, вызванного иммунизацией миелопероксидазой нейтрофилов, введение G-CSF приводило к увеличению количества пораженных клубочков почек в 5 раз, а нейтрофилы пациентов с васкулитом и наличием антинейтрофильных цитоплазматических

Таблица 4

Соотношение факторов роста и хемокинов в биоптатах слизистой оболочки толстой кишки больных язвенным колитом при различной эндоскопической активности воспаления

Активность воспаления	Количество биоптатов, абс.(%)	
	G-CSF > GM-CSF	MCP-1 > MIP-1 β
Выраженная (n=19)	17 (89,4)**.	12 (63,15)**
Умеренная (n= 20)	5 (25)	7 (35)*
Контрольная группа (n=23)	1 (4,3)	2 (8,7)

* p<0,05 – различия между показателями группы с умеренной активностью воспаления и контрольной группы.

** p<0,001 – различия между показателями группы с выраженной активностью воспаления и контрольной группы.

^ p<0,001 – различия между показателями групп с умеренной и выраженной активностью воспаления.

антител при воздействии G-CSF и данных антител реагировали по типу респираторного взрыва [13]. Подобный механизм комплексной активации нейтрофилов возможен при ЯК, так как рANCA (перинуклеарные антинейтрофильные цитоплазматические антитела), по нашим данным, выявлялись у 73% больных тотальным колитом при его непрерывном тяжелом течении [3]. При исследовании GM-CSF также выявлено увеличение его концентрации в патологически измененной ткани больных ревматоидным артритом, астмой, фиброзом легких, рассеянным склерозом и другими заболеваниями [29, 32].

При хронических воспалительных заболеваниях повышается также экспрессия MCP-1 и MIP-1 β . MCP-1 обнаруживали в клубочках, канальцах и эндотелии сосудов почек в ранней фазе экспериментального гломерулонефрита [11], в эпителии легких при фиброзе [25] и спинномозговой жидкости при болезни Паркинсона [20]. D. Shah и соавт. [30] установили, что у больных ревматоидным артритом и системной красной волчанкой между уровнем MCP-1 в крови, с одной стороны, и параметрами оксидативного стресса и уровнем антиоксидантных ферментов, с другой – отмечаются соответственно прямая и обратная корреляционные связи. MIP-1 β и MCP-1 выявляли в синовиальной жидкости больных ревматоидным артритом [35], культуре фибробластов и пораженной коже больных системным склерозом [11], мышечной ткани при идиопатической воспалительной миопатии [10]. Ингибция эндогенного MCP-1 при адьювантном артрите сопровождалась уменьшением выраженности признаков деструкции [31], а отсутствие продукции его рецептора (CCR2) у нокаутных мышей вызывало резистентность к индукции аутоиммунного энцефаломиелита [17].

При активном ЯК в слизистой оболочке толстой кишки в большом количестве присутствуют нейтрофилы и моноциты / макрофаги, являющиеся основными источниками провоспалительных цитокинов. Ранее было установлено, что активность воспалительного процесса коррелирует со степенью миграции сегментоядерных нейтрофи-

лов, которые накапливаются в полости крипт слизистой оболочки (крипт-абсцессы), в результате чего образуются микроязвы, а в последующем развивается распространенное поражение стенки толстой кишки [7]. Уменьшение количества циркулирующих нейтрофилов и моноцитов путем их экстракорпоральной адсорбции (лейкаферез) у больных ЯК сопровождалось развитием клинической ремиссии [9], что подтверждает патогенетическую роль хемокинов и факторов роста, регулирующих миграцию и активацию этих клеток. Основным селективным хемоаттрактантом нейтрофилов является ИЛ-8, уровень которого в биоптатах толстой кишки, исследованных в настоящей работе, также значительно возрос и превышал уровни других провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α и др.) [2].

Таким образом, усиление напряженности воспалительного процесса от его умеренной активности с преобладанием эрозивно-поверхностных изменений слизистой оболочки к выраженной активности с наличием множественных обширных язвенных дефектов сопровождается доминирующим увеличением продукции в толстой кишке фактора роста нейтрофилов (гранулоцитарного колониестимулирующего фактора, G-CSF), хемокинов нейтрофилов (ИЛ-8) и моноцитов (MCP-1), что позволяет констатировать их значительную роль в патогенезе деструктивного воспаления толстой кишки при ЯК. В связи с этим их как провоспалительные молекулы можно рассматривать в качестве потенциальных мишеней антицитокиновой терапии, которую в настоящее время широко используют в лечении воспалительных заболеваний кишечника.

Выводы

В биоптатах слизистой оболочки толстой кишки, полученных во время операций, выполненных по поводу тяжелой формы тотального ЯК, значительно увеличено содержание факторов роста G-CSF и GM-CSF и хемокинов MCP-1 и MIP-1 β . Их уровень повышен во всех отделах толстой кишки по сравнению с терминальным

отделом тонкой кишки, свободной от воспалительного процесса. В левых отделах (прямая кишка, сигмовидная ободочная и нисходящая ободочная кишка) и в поперечной ободочной кишке количество G-CSF, MCP-1 и MIP-1 β увеличено по сравнению с таковым в ее правой половине (восходящая ободочная и слепая кишка). Усиление активности воспалительного процесса сочетается с высокой продукцией G-CSF и MCP-1 и изме-

нением вследствие этого профилей GM-CSF>G-CSF и MIP-1 β >MCP-1, которые наблюдались соответственно в 95,7 и 82,6% биоптатов толстой кишки контрольной группы, на профилей G-CSF>GM-CSF и MCP-1>MIP-1 β , выявленные в 89,4 и 63,8% биоптатов при распространенном деструктивно-язвенном поражении толстой кишки у больных ЯК.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Список литературы/Reference

1. *Веселов В.В.* Эндоскопическая диагностика неспецифических воспалительных заболеваний кишечника. В кн.: Неспецифические воспалительные заболевания кишечника / Под ред. *Г.И. Воробьева, И.Л. Халифа*. М.: Миклош; 2008: 190-4. [*Veselov V.V.* Endoscopic diagnosis of nonspecific inflammatory bowel diseases. In: Nonspecific inflammatory bowel diseases / Under the ed.: of *G. I. Vorobyov, I.L. Khalif*. М.: Miklosh; 2008:190-4].
2. *Конович Е.А., Широких К.Е., Халиф И.Л., Шапина М.В.* Цитокины толстой кишки при тяжелой форме язвенного колита. Рос журн гастроэнтерол гепатол колопроктол 2016; 1: 93-8. [*Konovich E.A., Shirokikh K.E., Khalif I.L., Shapina M.V.* Colonic cytokines in severe form of ulcerative colitis. Ros zhurn gastroenterol gepatol koloproktol 2016; 1:93-8].
3. *Конович Е.А., Халиф И.Л.* Перинуклеарные антинейтрофильные цитоплазматические антитела у больных язвенным колитом и болезнью Крона. Рос журн гастроэнтерол гепатол колопроктол 2009; 5:72-7. [*Konovich E.A., Khalif I.L.* Perinuclear anti-neutrophilic cytoplasmatic antibodies at ulcerative colitis and Crohn's disease. Ros zhurn gastroenterol gepatol koloproktol 2009; 5:72-7].
4. *Фиocchi Клаудио.* Этиопатогенез воспалительных заболеваний кишечника (пер. с англ.). Колопроктология 2015; 1:5-20. [*Fiocchi Claudio.* Etiopathogenesis of inflammatory bowel diseases (English translation). Koloproktologiya 2015; 1:5-20].
5. *Халиф И.Л., Михайлова Т.Л., Белоусова Е.А.* Консервативное лечение язвенного колита и болезни Крона. В кн.: Неспецифические воспалительные заболевания кишечника / Под ред. *Г.И. Воробьева, И.Л. Халифа*. М.: Миклош; 2008: 247-87. [*Khalif I.L., Mikhaylova T.L., Belousova Ye.A.* Conservative treatment of ulcerative colitis and Crohn's disease. In: Nonspecific inflammatory bowel diseases / Under the ed.: *G.I. Vorobyov, I.L. Khalif*. М.: Miklosh; 2008: 247-87].
6. *Banks C., Bateman A., Payne R.* et al. Chemokine expression in IBD. Mucosal chemokine expression is unselectively increased in both ulcerative colitis and Crohn's disease. J Pathol 2003; 199(1):28-35.
7. *Brazil J.C., Louis N.A., Parkos C.A.* et al. The role of polymorphonuclear leukocyte trafficking in the perpetuation of inflammation during inflammatory bowel disease. Inflamm Bowel Dis 2013; 19(7):1556-65.
8. *Dabritz J.* Granulocyte macrophage colony-stimulating factor and the intestinal innate immune cell homeostasis in Crohn's disease. Am J Physiol-Gastrointest Liv Physiol 2014; 306(6):G455-G465.
9. *De Cassan C., Savarino E., Marson P.* et al. Granulocyte apheresis is more effective in mild ulcerative colitis than moderate to severe disease. World J Gastroenterol 2014; 20(45):17155-62.
10. *De Paepe B., Creus K.K., De Bleecker J.L.* Role of cytokines and chemokines in idiopathic inflammatory myopathies. Curr Opin Rheum 2009; 21(6):610-6.
11. *Distler J.H., Akhmetshina A., Schett G., Distler O.* Monocyte chemoattractant proteins in the pathogenesis of systemic sclerosis. Rheumatology 2009; 48(2):98-103.
12. *Eyles Jo. L., Roberts A.W., Metcalf D., Wicks I.P.* Granulocyte colony-stimulating factor and neutrophils – forgotten mediators of inflammatory disease. Nat Clin Pract Rheum 2006; 2:500-10.
13. *Freeley S.J., Coughlan A.M., Popat R.J.* et al. Granulocyte colony stimulating factor exacerbates antineutrophil cytoplasmic antibody vasculitis. Ann Rheum Dis 2013; 72(6): 1053-8.
14. *Goldstein J.I.* Defective leukocyte GM-CSF receptor (CD116) expression and function in Inflammatory bowel disease. Gastroenterology 2011; 141(1): 208-16.
15. *Hermesh T., Moran T.M., Jain D., Lopez C.B.* Granulocyte colony-stimulating factor protects mice during respiratory virus infections. PLoS One 2012; 7(5):e37334.
16. *Ina K., Kusugani K., Hosokawa T.* et al. Increased mucosal production of granulocyte colony-stimulating factor is related to a delay in neutrophil apoptosis in Inflammatory bowel diseases. J Gastroenterol Hepatol 1999; 14(1):46-53.
17. *Izikson L., Klein R.S., Charo I.F.* et al. Resistance to experimental autoimmune encephalomyelitis in mice lacking the CC chemokine receptor (CCR)2. J Exp Med 2000; 192:1075-80.
18. *Khan W.I., Motomura Y., Wang H.* et al. Critical role of MCP-1 in pathogenesis of experimental colitis in the context of immune and enterochromaffin cells. Am J Physiol – Gastrointest Liv Physiol 2006; 291(5): 803-11.
19. *Lawlor K.E., Campbell I.C., Metcalf D.* et al. Critical role for granulocyte colony-stimulating factor in inflammatory arthritis. Proc Natl Acad Sci USA 2004; 101: 11398-403.
20. *Lindqvist D., Hall S., Surova Y.* et al. Cerebrospinal fluid inflammatory markers in Parkinson's disease-associations with depression, fatigue and cognitive impairment. Brain Behav Immun 2013; 33:183-9.
21. *Louis C., Cook A.D., Lacey D.* Specific contributions of CSF-1 and GM-CSF to the Dynamics of the Mononuclear phagocyte system. J Immunol 2015; 195(1):134-44.
22. *Maillard M.H., Snapper S.B.* Cytokines and chemokines in mucosal homeostasis. In: *Targan S.R., Shanahan F., Karp L.C.*, eds. Inflammatory bowel disease. Translating basic science into clinical practice. Chichester: Wiley-Blackwell; 2010:119-56.
23. *Martins A., Han J., Kim S.D.* The Multifaceted effects of Granulocyte colony-stimulating factor in Immunomodulation and potential roles in intestinal immune homeostasis. IUBMB Life 2010; 62(8): 611-7.
24. *McCormack G., Moriarty D., O'Donoghue D.P.* et al. Tissue cytokine and chemokine expression in inflammatory bowel disease. Inflamm Res 2001; 50(10):491-5.
25. *Mercer P.E., Johns R.H., Scotton C.J.* Pulmonary epithelium is a prominent source of proteinase-activated receptor-1-inducible CCL2 in pulmonary fibrosis. Am J Resp Crit Care Med 2009; 179(5):414-25.

26. Nakamura H., Ueki Y., Sakito S. et al. High serum and synovial fluid granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) concentrations in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheum* 2000; 18:713-8.
27. Noguchi M., Hiwatashi N., Toyota T. Increased secretion of granulocyte-macrophage colony-stimulation factor in mucosal lesions of inflammatory bowel disease. *Digestion* 2001; 63 (Suppl.):32-6.
28. Onken J.E., Greer P.K., Galingaert B., Hale L.P. Bromelain treatment decreases secretion of pro-inflammatory cytokines and chemokines by colon biopsies in vitro. *Clin Immunol* 2008; 126(3):345-52.
29. Reynolds G., Gibson J.R., Pratt A.G. et al. Synovial CD4+T-cell-derived GM-CSF supports the differentiation of an inflammatory dendritic cell population in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2015; Apr 28, Epub ahead of print 2014-206578.
30. Shah D., Wanchu A., Bhatnagar A. Interaction between oxidative stress and chemokines: possible pathogenic role in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Immunobiology* 2011; 216(9): 1010-7.
31. Shahrara Sh., Proudfoot A.E., Park Ch. et al. Inhibition of monocyte chemoattractant protein – 1 ameliorates rat adjuvant-induced arthritis. *J Immunol* 2008; 180(5):3447-56.
32. Shiomi A., Usui T. Pivotal roles GM-CSF in autoimmunity and inflammation. *Mediators Inflamm* 2015: 568543. Published online 2015 Mar 8.
33. Vasconcelos J.F., Souza B.S., Lins T.F. et al. Administration of granulocyte colony-stimulating factor induces immunomodulation, recruitment of T regulatory cells, reduction of myocarditis and decrease of parasite load in a mouse model of chronic Chagas disease cardiomyopathy. *FASEB J* 2013; 27(12):4691-702.
34. Yang S.K., Choi M.C., Kim O.H. et al. The expression of an array of C-X-C and C-C chemokines in the colonic mucosa of patients with ulcerative colitis: regulation by corticosteroids. *Am J Gastroenterol* 2002; 97(1):126-32.
35. Zhang L., Yu M., Deng J. et al. Chemokine signaling pathway involved in CCL2 expression in patients with rheumatoid arthritis. *Yonsei Med J* 2015; 56(4):1134-42.