

АНОТАЦІЯ

Тарасова Т.С. Діагностичне і прогностичне значення IgG4 при запальних захворюваннях кишечника – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії із галузі знань 22 – «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 – «Медицина». – ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України», Дніпро, 2023.

Метою дисертації є удосконалення діагностики виразкового коліту і хвороби Крона на підставі вивчення сироваткового й тканинного IgG4 й розробка алгоритму прогнозування їх перебігу та оптимізації лікування.

В основу дисертаційного дослідження покладено результати загальноклінічного та лабораторно-інструментального обстеження 100 хворих на запальні захворювання кишечника (ЗЗК), які перебували на стаціонарному лікуванні у відділенні захворювань кишечника ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України» в період з 2019 по 2022 рр.. У пацієнтів досліджували рівень сироваткового IgG4 в крові й тканинного IgG4 в слизовій оболонці товстого кишечника (СО ТК). Для досягнення поставленої мети всіх пацієнтів поділено залежно від нозології й тяжкості перебігу захворювання – легкий ступінь виразкового коліта (ВК) – 7 пацієнтів, ВК середнього ступеня – 54 пацієнтів, 14 пацієнтів з важким ступенем тяжкості перебігу ВК, хворі на хворобу Крона (ХК) середнього ступеня тяжкості – 17 пацієнтів та 8 пацієнтів на ХК важкого ступеня. У зв'язку з тим, що мета та завдання нашої роботи були спрямовані на вивчення факторів гуморального імунітету та розробку комплексу прогностичних критеріїв перебігу ВК і ХК, в дослідженні були використані як методи загальноприйнятого клінічного обстеження, так і спеціальні методи, які дозволяють верифікувати діагноз (ендоскопічне дослідження товстої кишки, гістологічне та імуногістохімічне дослідження біоптатів).

Усім хворим проведено загальноклінічні обстеження. Вивчалися та деталізувалися скарги обстежених, проводився фізикальний огляд, антропометричні дослідження, лабораторні та інструментальні методи

обстеження та їх аналіз. Усім пацієнтам виконувалось ендоскопічне обстеження кишечника, яке проводилося за загальноприйнятими методиками з використанням відеоколоноскопу Olympus EVIS EXERA III («Olympus» Japan 2016), з метою встановлення діагнозу, проведення детальної оцінки стану слизової оболонки (СО) товстої кишки (ТК), отримання біопсійного матеріалу для гістологічного досліджень. Усім пацієнтам визначали кількісний вміст імуноглобулінів (Ig) класів А, М, G, G4 в сироватці крові й рівнів інтерлейкінів-10 (ІЛ-10), TNF- α , методом імуноферментного аналізу (ІФА). Також визначали концентрацію в калі фекального кальпротектина (ФК). Вивчали загальну гістоструктуру СО за допомогою гістологічних і морфометричних методів. Усім пацієнтам із для визначення кількості IgG4-позитивних плазматичних клітин проводили імуногістохімічне дослідження. Для визначення впливу системних глюкокортикостероїдів (ГКС) на рівень сироваткового IgG4, і визначення можливості використання IgG4 як прогностичного маркера і показника ефективності терапії, хворих було розділено на дві групи: 22 хворих на ЗЗК, які впродовж останнього року приймали системні ГКС в стандартній дозі 30-40мг на добу, та 78 хворих на ЗЗК, які не приймали ГКС. Для оцінки впливу лікування хворі були розділені на дві групи: 30 хворих на ЗЗК (24 хворих з ВК та 6 хворих із ХК), яким призначали системні ГКС, згідно стандартам лікування на момент дослідження, та 14 хворих на ЗЗК (13 із ВК та 1 із ХК), які не потребували прийому ГКС на момент дослідження. Для порівняння отриманих результатів з нормою створена контрольна група практично здорових осіб, репрезентативна із групою порівняння за віком та статтю (n=15).

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

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

Аналіз імунологічних показників виявив такі зміни: у 17,4 % хворих на ВК та у 32,1 % хворих на ХК встановлено зниження кількості В – лімфоцитів. У хворих на ВК встановлено вірогідне зниження кількості IgM (у 2,0 рази, $p < 0,05$) та IgG (у 1,4 рази, $p < 0,05$). У групи хворих на ХК вірогідно знижено рівень IgM (в 1,9 рази, $p < 0,05$) та IgG (в 1,4 рази, $p < 0,05$) порівняно із контрольною групою, що вказує на зниження гуморальної ланки імунітету. Підвищення концентрація IgG4 в сироватці крові визначено у хворих на ВК в 2 рази ($p < 0,05$) та в 2,5 рази ($p < 0,05$) частіше порівняно із його рівнем у групі контролю та хворих на ХК, відповідно. У хворих на ВК рівень ЦІК був вірогідно вище в 1,4 рази ($p > 0,05$) порівняно із рівнем у групи хворих на ХК. Рівень цитокінів при ЗЗК має значні відмінності: так, TNF- α вірогідно перевищує контрольні значення у хворих на ВК (в 9,9 рази, $p < 0,05$) та ХК (в 14,6 рази, $p < 0,05$). Рівень TNF- α був вірогідно вищий у хворих на ВК легкого ступеня (в 8,8 рази, $p < 0,05$), у хворих на ВК середнього ступеня (в 9,9 рази, $p < 0,05$) та у хворих на ВК важкого ступеня (в 12,6 рази, $p < 0,05$) порівняно із його рівнем у групі контролю.

Слід зазначити, що встановлене статистично достовірне підвищення рівня IgG4 в сироватці крові у хворих на ВК порівняно з ХК у 2,5 рази ($p < 0,05$), дає можливість використовувати цей показник як додатковий маркер для

диференційної діагностики між цими захворюваннями. В прогностичних цілях при ВК може бути використан показник підвищеного сироваткового IgG4, т.к. при ВК середнього ступеня тяжкості цей показник у 1,2 рази зустрічається частіше ніж при тяжкому ступені і в 1,1 частіше ніж при ВК легкого ступеня тяжкості.

Встановлено, що рівень сироваткового IgG4 та співвідношення IgG4/IgG можна використовувати як додаткові діагностичні маркери ендоскопічної активності хвороби при ВК та ХК. Підставою для цього стало виявлення прямого кореляційного зв'язку між співвідношенням IgG4/IgG та такими ендоскопічними ознаками патології, як наявність зернистості, кровоточивість та ендоскопічний індекс активності при ВК, та позитивної кореляції вмісту IgG4 із такими ендоскопічними ознаками, як фібринозний наліт, зернистість та поліпами при ХК.

Детальний аналіз показників маркерів запалення вказує на те, що рівень ФК перевищував значення норми у 28,0 разів ($p < 0,05$) – у хворих на ВК та в 14,8 разів ($p < 0,05$) – у хворих на ХК. Середні значення цього показника у хворих на ВК були вищими в 1,9 рази ($p < 0,05$), ніж у хворих на ХК. Рівень ФК позитивно корелював зі ступенем тяжкості ВК ($r = 0,589$; $p = 0,001$) та індексом Мейо ($r = 0,496$; $p = 0,007$). У групі хворих на ВК важкого ступеня вміст ФК був у 6,6 разів ($p < 0,05$) та у 2,3 разів ($p < 0,05$) вище ніж у хворих легкого та середнього ступеня ВК, відповідно. Встановлено зворотний кореляційний зв'язок рівня ФК із рівнем IgG у пацієнтів з ЗЗК ($r = -0,396$; $p = 0,019$). Рівень ФК був вищим у 14,8 разів ($p < 0,05$) у хворих на ХК середнього ступеня та в 19,0 разів ($p < 0,05$) у пацієнтів із ХК важкого ступеня в зрівнянні з контрольною групою.

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

ендоскопічної активності (частоти виразок, кровоточивості, фібринозного нальоту, стриктур, уражень перианальної ділянки) разом із тяжкістю перебігу захворювання.

Дані морфологічних і морфометричних досліджень свідчили про типову гістологічну й морфометричну картину у всіх випадках ЗЗК. Пацієнти з легкою формою ВК характеризувалися найнижчою клітинною щільністю інфільтрату, низькою чисельністю нейтрофілів у складі запального інфільтрату. У пацієнтів з ВК легкої форми важкості найменше всього відмічалася наявність ерозій і виразок, атрофічних та диспластичних змін СО. У пацієнтів із середньою формою важкості ВК частіше зустрічались ерозії СО та крипт-абсцеси. Інфільтрація СО при середній формі важкості ВК в основному середнього ступеня, частіше зустрічались крипти з порушеною архітектонікою. Показник клітинної інфільтрації був найвищим при ВК важкого ступеня тяжкості. У хворих з важкою формою перебігу ВК мікроскопічно виявлялись атрофічні зміни (71,4 %) та порушення цілісності епітелію (57,1 %), щільна інфільтрація нейтрофілами, фібробластами, базофілами та макрофагами. Середня форма важкості ХК характеризувалася значними порушеннями цілісності епітелію (64,7 %), виразками (23,5 %), збереженою архітектонікою крипт. Порівняно з середнім ступенем тяжкості ХК, при важкій формі ХК у запальному інфільтраті частіше зустрічались лімфоцити, фібробласти, базофіли, нейтрофільні й еозинофільні лейкоцити та макрофаги, клітинна щільність інфільтрату відповідно також була найвищою. При ВК позитивний тканинний IgG4 зустрічався у 2 рази частіше ($p < 0,05$) ніж при ХК. При розподілі хворих на ВК за ступенем тяжкості, позитивний тканинний IgG4 зустрічався в 1,6 ($p < 0,05$) рази частіше при середньому ступені тяжкості ніж при важкому. Одночасне підвищення сироваткового IgG4 і наявність позитивного тканинного IgG4 при ВК зустрічалася у 2,6 ($p < 0,05$) рази частіше ніж при ХК і в 4 рази частіше ($p < 0,05$) зустрічалася при середньому ступені ВК. Встановлена залежність рівня IgG4 від тяжкості й тривалості захворювання та зв'язок наявності тканинного IgG4 з

гістологічною активністю при ЗЗК, що може використовуватись, як прогностичний маркер.

У ході дослідження й аналізу даних, нами встановлено чіткий кореляційний зв'язок між рівнем сироваткового IgG4 та наявністю позитивного тканинного IgG4 в СО ТК ($r=0,594$; $p=0,0001$), що дає можливість використовувати сироватковий IgG4 як малоінвазивний маркер гістологічної активності ЗЗК.

Вивчення результатів отриманих при дослідженні впливу системних ГКС на результати лікування визначено, що у всіх обстежених груп хворих з підвищеним сироватковим IgG4, після лікування встановлено зниження вмісту IgG4 в сироватці крові: у хворих на ВК в 1,9 рази ($p<0,05$) та у хворих ХК в 1,2 рази. Для хворих які не приймали системні ГКС в анамнезі було характерно збільшення початкового рівня IgG4 в сироватці крові хворих в 1,9 рази ($p<0,05$) та в 1,4 рази ($p>0,05$) порівняно із групою контролю та хворими, які приймали ГКС, відповідно. Найбільший рівень зниження концентрації IgG4 в сироватці крові на фоні лікування, встановлено у 87,5 % хворих на ВК які приймали системні ГКС. Після лікування медіана рівня була вірогідно знижена у 2,3 рази ($p<0,05$) порівняно із рівнем до лікування. Отже, це дає підставу для використання сироваткового IgG4 в якості маркера, як ефективності лікування, так і маркера оптимізації тактики лікування.

Розроблено алгоритм для диференціальної діагностики між ВК і ХК. Для цього вивчали діагностичну цінність вивчених показників, у неінвазійній оцінці ВК, визначали валідність кожного із проведених досліджень. Проведення ROC-аналізу продемонструвало високу якість діагностичного показника – рівня IgG4 в сироватці крові. Так AUC дорівнює 0,718 (95 % ДІ 0,583-0,854; $p<0,001$). Порогове значення рівня IgG4 в сироватці крові, вище якого з більшою вірогідністю діагностують ВК у хворих на ЗЗК, склало 1,35 г/л, чутливість дорівнює 73,6 % та специфічність – 70,4 %.

Для визначення групи ризику рецидивів більше одного разу на рік було проведено аналіз даних, який показав відсутність вірогідної різниці рівня IgG4 в

сироватці крові залежно від рецидивів ВК. Тоді як, коефіцієнт IgG4/IgG був вірогідно вище в 1,3 рази ($p < 0,05$) у хворих із рецидивами ВК > 1 разу порівняно із групою хворих із рецидивами 1 раз на рік. Для коефіцієнту IgG4/IgG AUC дорівнює 0,665 (95 % ДІ 0,555-0,776; $p < 0,007$). Порогове значення рівня IgG4/IgG в сироватці крові, вище якого є ризик рецидиву ВК частіше 1 разу на рік, склало 0,15 ум.од, чутливість дорівнює 76,7 % та специфічність – 50,0 %. Алгоритм прогнозування ризику рецидиву ВК частіше 1 разу на рік завдяки високій діагностичній точності (чутливість 76,7 %, специфічність 50,0 %, $p < 0,05$) доцільно визнати придатним для визначення ймовірності рецидиву ВК протягом року. Проведений ROC-аналіз дозволив нам розробити алгоритм прогнозування ефективності терапії системними ГКС у хворих із ЗЗК, який з чутливістю 72,6 % та специфічністю 60 % прогнозує ефективність системний ГКС при рівні $\text{IgG4} \geq 1,4$ г/л у хворих з ВК, які не приймали ГКС в анамнезі.

Отже, запропоновані нами алгоритми, дають змогу поліпшити, як діагностику й можливість прогнозування перебігу ЗЗК, так і поліпшити контроль ефективності терапії в цих пацієнтів.

Наукова новизна одержаних результатів. Отримані в результаті роботи теоретичні дані розширили й систематизували існуючі уявлення, такі як, клінічний перебіг, особливості ендоскопічної і гістологічної картини при ЗЗК, а саме ВК і ХК. У результаті комплексного дослідження встановлені взаємозв'язки між активністю ВК і ХК та специфічними маркерами запалення, станом гуморального імунітету - на підставі визначення рівнів загального IgG і IgG4 у крові пацієнтів с ВК і ХК та вмістом IgG4-позитивних плазматичних клітин у слизовій оболонці товстої кишки. Уперше в Україні визначено додатковий маркер диференційної діагностики між ВК і ХК – сироватковий IgG4, який дозволяє в випадках сумнівного діагнозу між ВК і ХК, навіть після проведеного стандартного діагностичного пошуку, визначитися з діагнозом. Доведена інформативність визначення сироваткового IgG4 в крові й визначення наявності тканинного IgG4 в слизовій оболонці товстої кишки в діагностиці і прогнозуванні перебігу ВК і ХК. Уперше в Україні розроблено алгоритм, що дає

можливість прогнозування перебігу ВК, заснований на визначенні концентрації сироваткового IgG4 і коефіцієнту IgG4/IgG в крові та IgG4-позитивних плазматичних клітин у слизовій оболонці товстої кишки. Уперше в Україні досліджено вміст сироваткового IgG4 в крові залежно від прийому системних глюкокортикостероїдів, як в анамнезі, так і в динаміці лікування. На підставі отриманих даних запропоновано використання рівня сироваткового IgG4 в алгоритмі оптимізації тактики лікування.

Практичне значення одержаних результатів. Отримані під час дослідження результати дають можливість удосконалити діагностику й прогностичні можливості при ВК і ХК. Доведена інформативність визначення сироваткового IgG4 в крові й визначення наявності тканинного IgG4 в слизовій оболонці товстої кишки в діагностиці і прогнозуванні перебігу ВК і ХК. Встановлена доцільність використання сироваткового IgG4 як додаткового малоінвазивного маркера для диференційної діагностики між двома формами запальних захворювань кишечника – виразковим колітом і хворобою Крона. Обґрунтовано ефективність використання алгоритму прогнозування перебігу ВК, що ґрунтується на застосуванні комбінації рівня IgG4 та співвідношення IgG4/IgG, який доцільно використовувати для прогнозу ймовірності рецидиву ВК на протязі року. Аргументована інформативність використання сироваткового IgG4 як маркера оптимізації тактики лікування в пацієнтів із ВК. Отримана інформація є актуальною в практичній медицині, додаткове визначення сироваткового IgG4 поліпшить діагностичні можливості, дасть можливість прогнозування перебігу захворювання і розширить можливості оптимізації терапії пацієнтів з ВК і ХК.

Ключові слова: запальні захворювання кишечника, виразковий коліт, хвороба Крона, запальний процес, кишечник, патогенез, імунітет, імуноглобуліни, IgG4, діагностичні маркери, прозапальні маркери, лабораторна діагностика, імуногістохімічний метод, морфологічна діагностика, фекальний кальпротектин.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації

1. Stepanov, Y. M., Tarasova, T. S., Stoikeych, M. V., Gaydar, Y. A., Mylostyva, D. F., Tatarchuk, O. M., & Petishko, O. P. (2022). Diagnosis of inflammatory bowel disease according to human IgG4 and possibilities of evaluating efficacy of the therapy. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 13(4), 412-418. doi.org/10.15421/022254

<https://medicine.dp.ua/index.php/med/article/view/842/855> (Особистий

внесок – провела аналіз та статистичну обробку даних, підготувала статтю до друку).

2. Stepanov, Y. M., Klenina, I. A., Tatarchuk, O. M., Stoikeych, M. V., Tarasova, T. S., Fedorova, N. S., & Petishko, O. P. (2023). Association of calprotectin with volatile fatty acids in patients with inflammatory bowel diseases. *The World of Biology and Medicine*, 25(2), 142-146. doi.org/10.14739/2310-1210.2023.2.263222

<http://zmj.zsmu.edu.ua/article/view/263222/271259> (Особистий внесок – провела аналіз та статистичну обробку даних, підготувала статтю до друку).

3. Stepanov, Y. M., Tarasova, T. S., Stoikeych, M. V., Nedzvetska, N. V., Tatarchuk, O. M., & Petishko, O. P. (2022). Features of indicator changes in the humoral immunity link in patients with inflammatory bowel disease depending on its severity. *Public Health Review*, (ISSN 2730 — 0315) Issue 1, 39-50. <http://snpe-journal.sk/2022-2>

Словаччина (Особистий внесок – провела аналіз та статистичну обробку даних, підготувала статтю до друку).

4. Степанов, Ю. М., Тарасова, Т. С., Стойкевич, М. В., Гайдар, Ю. А., & Федорова, Н. С. (2021). Дослідження тканинних IgG4 слизової оболонки товстої кишки у хворих на запальні захворювання кишечника. *Гастроентерологія*, 55(4), 39–44. doi.org/10.22141/2308-2097.55.4.2021.247916

<https://gastro.zaslavsky.com.ua/index.php/journal/issue/view/36/8> (Особистий

внесок – провела аналіз та статистичну обробку даних, підготувала статтю до друку).

5. Гайдар, Ю. А., Стойкевич, М. В., Милостива, Д. Ф., & Тарасова, Т. С. (2022). Морфологічні особливості слизової оболонки кишки при виразковому коліті при різних формах захворювання. *Гастроентерологія*, 56(2), 38–45. doi.org/10.22141/2308-2097.56.2.2022.494

<https://gastro.zaslavsky.com.ua/index.php/journal/article/view/494/736> (Особистий внесок – провела аналіз та статистичну обробку даних, підготувала статтю до друку).

6. Степанов, Ю. М., Тарасова, Т. С., Стойкевич, М. В., Симонова, О. В., & Татарчук, О. М. (2023). Клініко-ендоскопічні та біохімічні паралелі хронічних запальних захворювань кишечника з позитивними маркерами запалення. *Гастроентерологія*, 56(4), 20–29. doi.org/10.22141/2308-2097.56.4.2022.513

<https://gastro.zaslavsky.com.ua/index.php/journal/article/view/513/752> (Особистий внесок – провела аналіз та статистичну обробку даних, підготувала статтю до друку).

7. Степанов, Ю. М., Стойкевич, М. В., Гайдар, Ю. А., Тарасова, Т. С., Симонова, О. В., Татарчук, О. М., & Петішко, О. П. (2023). Ендоскопічні особливості слизової оболонки кишки у хворих на неспецифічний виразковий коліт залежно від рівня IgG4. *Гастроентерологія*, 57(1), 42–46. doi.org/10.22141/2308-2097.57.1.2023.526

<https://gastro.zaslavsky.com.ua/index.php/journal/article/view/526/764> (Особистий внесок – провела аналіз та статистичну обробку даних, підготувала статтю до друку).

Опубліковані праці апробаційного характеру

8. Карачинова, В. А., Кленіна, І. А., Стойкевич, М. В., & Тарасова, Т. С. (2021). Вміст коротколанцюгових жирних кислот в калі пацієнтів з хронічними запальними захворюваннями кишечника. *Комплексний Підхід до Модернізації Науки: Методи, Моделі та Мультидисциплінарність*. Збірник наукових робіт міжнародної наукової конференції, м. Вінниця, 2021. С. 93-98.

<https://ojs.ukrlogos.in.ua/index.php/mcnd/issue/download/19.11.2021/648>

(Особистий внесок – провела аналіз та статистичну обробку даних, підготувала статтю до друку).

9. Степанов, Ю. М., Стойкевич, М. В., Недзвецька, Н. В., Федорова, Н. С., Псарева, І. В., & Тарасова, Т. С. (2021). Неінвазивна діагностика неспецифічного виразкового коліту: методичні рекомендації. Дніпро, 43 с. (Особистий внесок – провела аналіз та статистичну обробку даних, підготувала статтю до друку).

10. Тарасова, Т. С., Стойкевич, М. В., Татарчук, О. М. (2020). Значення сироваткового IgG4 в діагностиці хворих на запальні захворювання кишечника. *VIII наукова сесія Інституту гастроентерології НАМН України. Новітні технології в теоретичній та клінічній гастроентерології*: матеріали наук.-практ. конф. з міжнародною участю, м. Дніпро, 26–27 листопада 2020 р. (с. 127). Дніпро. (Особистий внесок – провела аналіз та статистичну обробку даних, підготувала статтю до друку).

11. Тарасова, Т. С., Сімонова, О. В., Гайдар, Ю. А. (2021). Стан IgG4-позитивних клітин у слизовій оболонці товстої кишки при запальних захворюваннях кишечника. *IX наукова сесія Інституту гастроентерології НАМН України. Новітні технології в теоретичній та клінічній гастроентерології*: тези наук.-практ. конф. з міжнародною участю, м. Дніпро, 17–18 червня 2021 р. *Гастроентерологія*. 2021. № 2 (55). С. 102. (Особистий внесок – провела аналіз та статистичну обробку даних, підготувала статтю до друку).

12. Стойкевич, М. В., Татарчук, О. М., Недзвецька, Н. В., & Тарасова, Т. С. (2021). Оцінка стану показників гуморального імунітету у хворих на неспецифічний виразковий коліт в залежності від тяжкості перебігу хвороби. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії та призначення лікарських засобів*: матеріали конгресу, м. Харків, 11-12 березня 2021 р. (с. 747-748). Харків. (Особистий внесок – провела аналіз та статистичну обробку даних, підготувала статтю до друку).

13. Тарасова, Т. С. Стойкевич, М. В. Недзвецька, Н. В., & Татарчук О. М. (2021). Залежність рівня IgG4 у хворих з неспецифічним виразковим колітом від активності захворювання. *Щорічні терапевтичні читання. Неінфекційні захворювання: профілактика та зміцнення здоров'я в Україні*: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, м. Харків, 22 квітня 2021 р. (с. 141). Харків. (Особистий внесок – провела аналіз та статистичну обробку даних, підготувала статтю до друку).

14. Тарасова, Т. С., Стойкевич, М. В., Татарчук, О. М. (2022). Динаміка вмісту IgG4 в крові у хворих із запальними захворюваннями кишечника на фоні лікування. *XIV Український гастроентерологічний тиждень*: тези науково-практичної конференції з міжнародною участю, м. Дніпро, 29-30 вересня 2022 р. (с.87). *Гастроентерологія*. 2022. № 3 (56). С. 87. (Особистий внесок – провела аналіз та статистичну обробку даних, підготувала статтю до друку).

15. Стойкевич, М. В., Тарасова, Т. С., Сімонова, О. В., Федорова, Н. С., & Шевцова, З. І. Роль IgG4 при запальних захворюваннях кишечника (ЗЗК). *У з'їзд колопроктологів України*: матеріали з'їзду, м. Київ, 20-22 жовтня 2022 р. *Клінічна хірургія*. 2022. №10. С. 44. (Особистий внесок – провела аналіз та статистичну обробку даних, підготувала статтю до друку).

16. Стойкевич, М. В., Гайдар, Ю. А., Татарчук, О.М., Тарасова, Т. С., & Милостива, Д. Ф. (2023). Зв'язок морфометричних показників, сироваткового та тканинного імуноглобуліну IgG4 при запальних захворюваннях кишечника. *VI міжнародної науково-практичної конференції «Scientific directions of research in educational activity»*: матеріали науково-практичної конференції, Osaka, Japan 14-17 лютого 2023 р. (с.252-255). Osaka. (Особистий внесок – провела аналіз та статистичну обробку даних, підготувала статтю до друку).

ABSTRACT

Tarasova T.S. Diagnostic and prognostic value of IgG4 in inflammatory bowel disease - Qualification scientific work on the rights of a manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in the field of knowledge 22 - "Health care", speciality 222 - "Medicine" - State Institution "Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Dnipro, 2023.

The aim of the dissertation is to improve the diagnosis of ulcerative colitis and Crohn's disease based on the study of serum and tissue IgG4 and to develop an algorithm for predicting their course and optimizing treatment.

The dissertation study is based on the results of a general clinical and laboratory-instrumental examination of 100 patients with inflammatory bowel disease (IBD) who were treated in the Department of Intestinal Diseases of the State Institution "Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine" in the period from 2019 to 2022. The patients were tested for serum IgG4 levels in the blood and tissue IgG4 in the colonic mucosa (CM). To achieve this goal, all patients were divided according to the nosology and severity of the disease: mild ulcerative colitis (UC) - 7 patients, moderate UC - 54 patients, 14 patients with severe UC, moderate Crohn's disease (CD) - 17 patients, and 8 patients with severe CD. Due to the fact that the aim and objectives of our work were aimed at studying the factors of humoral immunity and developing a set of prognostic criteria for the course of UC and CD, the study used both methods of conventional clinical examination and special methods that allow verifying the diagnosis (endoscopic examination of the colon, histological and immunohistochemical examination of biopsies).

All patients underwent general clinical examinations. The complaints of the patients were studied and detailed, physical examination, anthropometric studies, laboratory and instrumental methods of examination and their analysis were performed. All patients underwent an endoscopic examination of the intestine, which was performed according to generally accepted methods using an Olympus EVIS

EXERA III video colonoscope (Olympus Japan 2016), in order to establish the diagnosis, conduct a detailed assessment of the condition of the colon mucosa (CM), and obtain biopsy material for histological examination. All patients had their serum immunoglobulins (Ig) classes A, M, G, G4 and interleukin-10 (IL-10) and TNF- α levels measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The concentration of faecal calprotectin (FC) in the faeces was also determined. The general histological structure of the UC was studied using histological and morphometric methods. All patients underwent immunohistochemical examination to determine the number of IgG4-positive plasma cells. To determine the effect of systemic glucocorticosteroids (SCS) on serum IgG4 levels and to determine the possibility of using IgG4 as a prognostic marker and an indicator of therapy effectiveness, patients were divided into two groups: 22 patients with IBD who had been taking systemic GCS at a standard dose of 30-40mg per day for the past year, and 78 patients with IBD who had not been taking GCS. To assess the impact of treatment, patients were divided into two groups: 30 IBD patients (24 UC patients and 6 IBD patients) who were prescribed systemic GCS according to the treatment standards at the time of the study, and 14 IBD patients (13 UC patients and 1 IBD patient) who did not require GCS at the time of the study. To compare the results obtained with the norm, a control group of practically healthy individuals' representative of the comparison group in terms of age and gender was created (n=15).

The results of the clinical study indicate a more characteristic lesion of the rectum (57.1 %) in the mild course of UC and a significantly higher number of patients with total colon lesions (57.2 % vs. 11.1 % ($p < 0.05$)) in patients with severe UC than in the moderate degree. The predominance of stool looseness in the clinical symptoms was found, which was significantly more common in patients with moderate UC than in the group of UC with the corresponding severity of pathology. The presence of pathological impurities is probably more common in patients with UC than with CD. Most often, patients with UC had pain along the colon (71.4% - mild UC group; 74.6% - moderate UC and 95.5% - severe UC), which is more common in patients with severe disease than in patients with moderate disease. The predominant localisation of pain in

UC was the umbilical region (with a significant difference between patients with severe UC and mild to moderate UC, and moderate UC and moderate UC). A significantly higher incidence of anemia was found in patients with UC with severe disease than in patients with mild and moderate severity (2.5 and 3.5 times, respectively ($p < 0.05$)) and in patients with UC with severe disease than with moderate severity (44.4% vs. 10.5%).

The analysis of immunological parameters revealed the following changes: in 17.4 % of patients with UC and in 32.1 % of patients with CD, a decrease in the number of B lymphocytes was found. A significant decrease in the number of IgM (2.0 times, $p < 0.05$) and IgG (1.4 times, $p < 0.05$) was found in patients with UC. In the group of patients with CD, the level of IgM (1.9-fold, $p < 0.05$) and IgG (1.4-fold, $p < 0.05$) was significantly reduced compared with the control group, indicating a decrease in the humoral immunity. An increase in the concentration of IgG4 in the blood serum was determined in patients with UC 2 times ($p < 0.05$) and 2.5 times ($p < 0.05$) more often compared with its level in the control group and patients with CD, respectively. In patients with UC, the level of CEC was significantly higher by 1.4 times ($p > 0.05$) compared with the level in the group of patients with CD. The level of cytokines in IBD has significant differences: TNF- α is significantly higher than the control values in patients with UC (9.9 times, $p < 0.05$) and CD (14.6 times, $p < 0.05$). The level of TNF- α was significantly higher in patients with mild UC (8.8 times, $p < 0.05$), in patients with moderate UC (9.9 times, $p < 0.05$) and in patients with severe UC (12.6 times, $p < 0.05$) compared with its level in the control group.

It should be noted that the statistically significant increase in serum IgG4 levels in patients with UC by 2.5 times ($p < 0.05$), which was found, makes it possible to use this indicator as an additional marker for differential diagnosis between these diseases. For prognostic purposes in UC, the index of elevated serum IgG4 can be used, since in moderate UC this index is 1.2 times more common than in severe UC and 1.1 times more common than in mild UC.

It has been established that the level of serum IgG4 and the ratio of IgG4/IgG can be used as additional diagnostic markers of endoscopic disease activity in UC and CD. The basis for this was the identification of a direct correlation between the

IgG4/IgG ratio and such endoscopic signs of pathology as the presence of granularity, bleeding and endoscopic activity index in UC, and a positive correlation of IgG4 content with such endoscopic signs as fibrinous plaque, granularity and polyps in CD.

A detailed analysis of inflammatory markers indicates that the level of FC exceeded the normal value by 28.0 times ($p < 0.05$) in patients with UC and by 14.8 times ($p < 0.05$) in patients with CD. The mean values of this indicator in patients with UC were 1.9 times higher ($p < 0.05$) than in patients with CD. The level of FC was positively correlated with the severity of UC ($r = 0.589$; $p = 0.001$) and Mayo index ($r = 0.496$; $p = 0.007$). In the group of patients with severe UC, the content of FC was 6.6 times ($p < 0.05$) and 2.3 times ($p < 0.05$) higher than in patients with mild and moderate UC, respectively. An inverse correlation between FC level and IgG level was found in patients with IBD ($r = -0.396$; $p = 0.019$). The level of FC was 14.8 times higher ($p < 0.05$) in patients with moderate UC and 19.0 times higher ($p < 0.05$) in patients with severe UC compared to the control group.

The results of endoscopic studies confirm that the endoscopic examination of the TC of patients with UC and CD in all cases revealed a typical picture of diseases in the acute phase and varying degrees of severity. Increased severity of the disease was accompanied by an increase in the frequency of the main endoscopic signs of UC and CD. Analysis of the features of the endoscopic picture of the colon mucosa in UC and CD indicates an increase in the degree of endoscopic activity (frequency of ulcers, bleeding, fibrinous plaque, strictures, perianal lesions) along with the severity of the disease.

The data of morphological and morphometric studies showed a typical histological and morphometric picture in all cases of IBD. Patients with mild UC were characterised by the lowest cellular density of the infiltrate, low number of neutrophils in the inflammatory infiltrate. In patients with mild UC, the presence of erosions and ulcers, atrophic and dysplastic changes in the UC were the least common. In patients with moderate UC severity, UC erosion and crypt abscesses were more common. The infiltration of the UC in moderate UC severity was mainly of moderate degree, and crypts with disturbed architectonics were more common. The rate of cellular

infiltration was the highest in severe UC. In patients with severe UC, microscopic examination revealed atrophic changes (71.4%) and epithelial integrity disorders (57.1%), dense infiltration with neutrophils, fibroblasts, basophils and macrophages. The moderate form of CD severity was characterised by significant impairment of epithelial integrity (64.7%), ulcers (23.5%), and preserved crypt architecture. Compared with the average severity of UC, in severe UC, lymphocytes, fibroblasts, basophils, neutrophils, eosinophils, and macrophages were more common in the inflammatory infiltrate, and the cell density of the infiltrate was also the highest. In UC, positive tissue IgG4 was 2 times more common ($p<0.05$) than in CD. In the distribution of patients with UC by severity, positive tissue IgG4 was 1.6 ($p<0.05$) times more common in moderate severity than in severe severity. Simultaneous increase in serum IgG4 and the presence of positive tissue IgG4 in UC was 2.6 ($p<0.05$) times more common than in CD and 4 times more common ($p<0.05$) in moderate UC. The dependence of IgG4 levels on the severity and duration of the disease and the association of tissue IgG4 with histological activity in IBD, which can be used as a prognostic marker, were established.

In the course of the study and data analysis, we found a clear correlation between the level of serum IgG4 and the presence of positive tissue IgG4 in the SOB ($r=0.594$; $p=0.0001$), which makes it possible to use serum IgG4 as a minimally invasive marker of IBD histological activity.

The study of the results obtained in the study of the effect of systemic GCS on the results of treatment determined that in all examined groups of patients with elevated serum IgG4, after treatment, a decrease in the content of IgG4 in the blood serum was found: in patients with UC by 1.9 times ($p<0.05$) and in patients with CD by 1.2 times. Patients who did not take systemic GCS in the anamnesis were characterised by an increase in the initial level of IgG4 in the serum of patients by 1.9 times ($p<0.05$) and 1.4 times ($p>0.05$) compared with the control group and patients taking GCS, respectively. The highest level of decrease in the concentration of IgG4 in the blood serum during treatment was found in 87.5% of patients with UC taking systemic GCS. After treatment, the median level was significantly reduced by 2.3 times ($p<0.05$)

compared with the level before treatment. Thus, this gives grounds for the use of serum IgG4 as a marker of both treatment efficacy and a marker of optimisation of treatment tactics.

An algorithm for the differential diagnosis between UC and CD was developed. For this purpose, the diagnostic value of the studied indicators in the non-invasive assessment of UC was studied, and the validity of each of the studies was determined. The ROC analysis demonstrated the high quality of the diagnostic indicator - the level of IgG4 in the blood serum. Thus, the AUC was 0.718 (95 % CI 0.583-0.854; $p < 0.001$). The threshold value of serum IgG4 level, above which UC is more likely to be diagnosed in patients with IBD, was 1.35 g/l, with a sensitivity of 73.6 % and a specificity of 70.4 %.

To determine the risk group for recurrence more than once a year, data analysis was performed, which showed no significant difference in serum IgG4 levels depending on the recurrence of UC. In contrast, the IgG4/IgG ratio was significantly higher by 1.3 times ($p < 0.05$) in patients with UC relapses > 1 time compared to the group of patients with relapses 1 time per year. For the IgG4/IgG ratio, the AUC was 0.665 (95% CI 0.555-0.776; $p < 0.007$). The threshold value of the serum IgG4/IgG level above which there is a risk of UC recurrence more than once a year was 0.15 units, with a sensitivity of 76.7% and a specificity of 50.0%. The algorithm for predicting the risk of UC recurrence more than once a year due to its high diagnostic accuracy (sensitivity 76.7%, specificity 50.0%, $p < 0.05$) should be considered suitable for determining the probability of UC recurrence during the year. The ROC analysis allowed us to develop an algorithm for predicting the effectiveness of systemic GCS therapy in patients with IBD, which predicts the effectiveness of systemic GCS at an IgG4 level of ≥ 1.4 g/l in patients with UC who did not have a history of GCS.

Thus, our proposed algorithms allow us to improve both the diagnosis and prognosis of IBD and to improve the monitoring of the effectiveness of therapy in these patients.

Scientific novelty of the results. The theoretical data obtained as a result of the work expanded and systematised the existing concepts, such as the clinical course,

features of the endoscopic and histological picture in IBD, namely UC and CD. As a result of a comprehensive study, the relationship between the activity of IBD and CD and specific markers of inflammation, the state of humoral immunity was established based on the determination of the levels of total IgG and IgG4 in the blood of patients with IBD and CD and the content of IgG4-positive plasma cells in the colon mucosa. For the first time in Ukraine, an additional marker of differential diagnosis between UC and CD, serum IgG4, was identified, which allows to determine the diagnosis in cases of doubtful diagnosis between UC and CD, even after a standard diagnostic search. The informativeness of serum IgG4 determination in the blood and determination of the presence of tissue IgG4 in the colon mucosa in the diagnosis and prognosis of the course of UC and CD has been proven. For the first time in Ukraine, an algorithm was developed to predict the course of UC based on the determination of serum IgG4 concentration and IgG4/IgG ratio in the blood and IgG4-positive plasma cells in the colon mucosa. For the first time in Ukraine, the content of serum IgG4 in the blood was studied depending on the intake of systemic glucocorticosteroids, both in the anamnesis and in the dynamics of treatment. Based on the data obtained, it was proposed to use the level of serum IgG4 in the algorithm for optimising treatment tactics.

Practical significance of the results. The results obtained during the study make it possible to improve the diagnosis and prognostic capabilities in UC and CD. The informativeness of determining serum IgG4 in the blood and determining the presence of tissue IgG4 in the colon mucosa in the diagnosis and prognosis of UC and CD has been proven. The feasibility of using serum IgG4 as an additional minimally invasive marker for differential diagnosis between two forms of inflammatory bowel disease - ulcerative colitis and Crohn's disease - has been established. The effectiveness of using an algorithm for predicting the course of UC based on the use of a combination of IgG4 level and IgG4/IgG ratio, which is advisable to use to predict the probability of UC recurrence during the year, is substantiated. The informative value of using serum IgG4 as a marker for optimising treatment tactics in patients with UC is substantiated. The information obtained is relevant in practical medicine; additional determination of

serum IgG4 will improve diagnostic capabilities, enable prediction of the disease course and expand the possibilities of optimising the treatment of patients with UC and CD.

Key words: inflammatory bowel disease, ulcerative colitis, Crohn's disease, inflammatory process, intestine, pathogenesis, immunity, immunoglobulins, IgG4, diagnostic markers, pro-inflammatory markers, laboratory diagnostics, immunohistochemical method, morphological diagnosis, faecal calprotectin.