

Імунологічні відмінності при неспецифічному виразковому коліті залежно від статі

О.В. Яремко¹, Р.А. Пеленьо¹, І.Я. Мазур¹, Р.В. Милостивий²,
Д.Ф. Милостива³, А.В. Бабченко³

¹Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнології імені С.З. Гжицького;

²Дніпровський державний аграрно-економічний університет;

³Дніпропетровський науково-дослідний інститут судових експертиз міністерства юстиції України, Дніпро; e-mail: mylostivad@i.ua

Дослідження механізмів розвитку виразкового коліту (ВК) є актуальною проблемою. Метою нашої роботи було визначення показників імунної системи при ВК залежно від статі. На моделі гострого та хронічного ВК, індукованого 1%-м розчином декстрансульфату натрію, вивчали статеві відмінності субпопуляційного складу лімфоцитів периферичної крові у щурів. У самиць на відміну від самців були нижчі у 2,67 раза значення регуляторних Т-лімфоцитів ($CD4^+, CD25^+, Foxp3^+$), цитотоксичних ($CD3^+, CD8^+$) – у 2,24 раза та В-лімфоцитів ($CD3^-CD19^+$) – у 1,46 раза. При цьому у контрольних самиць число регуляторних Т-лімфоцитів було у 4,89 раза більше порівняно з самцями. При хронічному ВК у самиць кількість лейкоцитів, лімфоцитів, Т-хелперів та В-лімфоцитів знижувалася на 59,3; 51,4; 91,7 та 79,0% відповідно. Підвищення числа Т-регуляторних лімфоцитів пов'язане з посиленням їх диференціювання в тимусі та міграцією у вогнище запалення. Таким чином, отримані результати щодо статевих відмінностей субпопуляційного складу лімфоцитів периферичної крові є базовими при проведенні подібних досліджень і показують, що лікування ВК різними лікарськими засобами, включаючи імуноотропні препарати, слід проводити з урахуванням статі.

Ключові слова: запалення; кишечник; імунологічна відповідь; статеві відмінності; субпопуляційний склад лімфоцитів.

ВСТУП

Запальні захворювання кишечника (ЗЗК), включаючи хворобу Крона (ХК) та виразковий коліт (ВК), є хронічною, прогресуючою, імуноопосередкованою патологією шлунково-кишкового тракту та пов'язані зі значним ускладненням життя, інвалідністю та навіть смертністю. ВК є однією з найтяжчих хвороб не лише кишечника, але й органів травлення. Патогенез ЗЗК являє собою складну взаємодію генетичної спадковості та порушеної регуляції вродженої, а також адаптивної імунної системи в умовах впливу екологічних тригерів та ймовірного дисбактеріозу кишечника [1]. Етіопатологія ЗЗК є багатофакторною і складною, що включає різницю, яка залежить від статі

як у навколишньому середовищі, так і в генетиці, а також їхню взаємодію [2]. Останні епідеміологічні дані вказують на відмінності у захворюваності як на ХК, так і на ВК між чоловіками та жінками. У чоловіків порівняно вищі показники розвитку більшості запальних інфекційних захворювань, а також смертності [3–5].

Фізіологічні відмінності імунної системи за статтю відіграють ключову роль у розвитку запальних захворювань, визначаються каріотипом та вмістом стероїдних статевих гормонів – естрогенів, прогестерону, андрогенів та експресією клітинних рецепторів до них. Статеві відмінності, зумовлені каріотипом, пов'язані з експресією генів на статевих хромосомах. Ці гени кодують

специфічні білки, які беруть участь у запуску та регуляції механізмів вродженої та адаптивної імунної відповіді. Так, на Х-хромосомі було виявлено кілька локусів генетичної сприйнятливості як до ХК, так і ВК [2].

Запальний процес при ВК зазвичай обмежується слизовою оболонкою товстої кишки і не зачіпає підслизовий шар, хоча при тяжкому перебігу може уражати всі шари стінки кишечника [7]. Статевий диморфізм частоти розвитку та тяжкості перебігу інфекційно-запальних та аутоімунних захворювань у людини особливо яскраво проявляється після статевого дозрівання, що, очевидно, зумовлено дією статевих гормонів на морфофункціональний стан імунної системи [8]. Вплив андрогенів на епітеліальний бар'єр товстої кишки та на шлунково-кишковий тракт загалом у літературі достатньою мірою не описано. У жінок репродуктивного віку вираженість реакцій клітинної опосередкованої та гуморальної імунної відповіді вища, ніж у чоловіків [9]. У них більший вміст імуноглобулінів (Ig) у сироватці крові, а також підвищена продукція протизапальних цитокінів. Різниця у функції імунних клітин може бути зумовлена експресією генів, що локалізуються на статевих хромосомах Х або Y, або за умов впливу статевих гормонів [10].

Важливу роль у розвитку гострого та хронічного ВК відіграє і адаптивний імунітет, реакції якого розвиваються протягом тривалого часу. При стимуляції імунної системи антигенами активуються процеси проліферації, диференціювання та міграції Т- і В-лімфоцитів. Останні диференціюються в плазмоцити, що продукують антигенспецифічні Ig, головним чином секреторні IgA. Основними субпопуляціями Т-клітин є цитотоксичні CD8⁺Т-лімфоцити, CD4⁺Т-хелпери типу 1 (Th1) і типу 2 (Th2), FoxP3⁺-регуляторні Т-клітини (Treg) та Th17-клітини [11].

Метою нашої роботи було дослідження

статевих відмінностей субпопуляційного складу лімфоцитів периферичної крові при гострому та хронічному ВК, індукованому декстрансульфатом натрію (ДСН) у статевозрілих щурів.

МЕТОДИКА

Для вивчення механізмів розвитку ВК використовуються багато експериментальних моделей: спонтанного коліту у генетично модифікованих тварин, коліту, індукованого хімічними речовинами – ДСН [12]. Найбільш поширеною у дослідженнях є модель ДСН-індукованого коліту [13]. Вона є оптимальною, оскільки морфологічні прояви ДСН-індукованого коліту у тварин загалом подібні до таких у людини. Крім того, ця модель технічно легко- та високовідтворювана і дає змогу охарактеризувати як гострий, так і хронічний запальний процес у ободовій кишці.

Дослідження проводили на самцях та самицях білих щурів лінії Вістар (n = 60) віком 6 міс, масою 245–250 г. Тварин утримували в умовах віварію Дніпровського державного аграрно-економічного університету у клітках, встановлених на металевих стелажах. Вони мали суцільне дно і підстилку. Підстилкою була деревинна тирса, яку продезінфікували у сухожаровій шафі (150–180° С протягом 15–20 хв). Щури перебували на збалансованому харчуванні з вільним доступом до води. Дослідження проводили згідно з «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах», які схвалені III Національним конгресом (Київ, 2007) та відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших цілей» (Страсбург, 1986). На проведення досліджень було отримано дозвіл Комітету з біоетики Дніпровського державного аграрно-економічного університету (протокол № 7 від 20.07.2024).

Гострий ВК у статевозрілих самиць (n = 10) та самців (n = 10) моделювали 1%-м

водним розчином ДСН («BioChemica», Німеччина) протягом 5 діб [13], потім тварини дослідних груп з 2-ї доби споживали питну воду та були виведені з експерименту на 7-му добу.

Для моделювання хронічного ВК шури обох статей отримували 1%-й водний розчин ДСН протягом перших 4 діб експерименту та повторно 3 дні (з 12-ї по 14-ту добу експерименту) і 5 днів (з 22-ї по 26-ту добу експерименту). Тварин з хронічним ВК виводили з експерименту передозуванням діетилового ефіру на 60-ту добу. Контрольні групи самиць ($n = 10$) і самців ($n = 10$) отримували питну воду.

Для підтвердження розвитку ВК були проведені морфологічні дослідження кишечника дослідних тварин, яким проводили забір проксимального, медіального та дистального відділів ободової кишки. Зразки ободової кишки фіксували в рідині Буена, проводку матеріалу здійснювали в апараті Tissue-Tek VIP5Jr («Sakura», США). Зневоднені зразки заливали в гістомікс на апараті Tissue-Tek TEC («Sakura», США), виготовляли зрізи товщиною 5 мкм на мікромомі моделі Microm HM340E («Thermo Scientific», США), монтували їх на предметні скельця і забарвлювали гематоксиліном та еозином. Гістологічний аналіз і фотодокументацію проводили з використанням системи AxioPlan 2 Imaging та камери AxioCam RHC («Carl Zeiss», Німеччина).

Забір крові здійснювали з шийних вен; як антикоагулянт використовували 5 мг/мл етилендіамінтетраацетату (ЕДТА). Субпопуляційний склад лімфоцитів периферичної крові визначали методом проточної цитофлуориметрії на приладі Cytomics FC 500 («Beckman Coulter», США), використовували антитіла CD3e-FITC, CD4-PE-Cy5, CD8a-PE-Cy7, CD19-PE («eBioscience», США). Субпопуляції регуляторних Т-лімфоцитів виявляли згідно з протоколом за допомогою наборів Mouse Regulatory T Cell Staining Kit #3 («eBioscience», США).

Нормальність розподілу результатів оцінювали за допомогою критерію Шапіро-Уїлка. Оскільки результати вказали на ненормальний розподіл ($P \leq 0,05$), для забезпечення надійності аналізу були застосовані непараметричні статистичні методи. Зокрема, для порівняння між двома групами використовували критерій Манна-Уїтні, а між кількома групами – критерій Краскела-Уолліса (зокрема, для чотирьох груп: самці/самиці x контроль/ВК). Взаємозв'язки ступеня морфологічних змін і вмісту субпопуляцій лімфоцитів у периферичній крові, а також між формами ВК та кількістю лейкоцитів визначали за допомогою рангової кореляції Спірмена. Результати подано як медіану та інтерквартильний розмах ($Me [Q_{0,25}-Q_{0,75}]$). Різницю вважали достовірною при рівнях значущості $P \leq 0,05$ або $P \leq 0,01$.

РЕЗУЛЬТАТИ

При морфологічному дослідженні в епітеліальній вистилці ободової кишки у шурів обох статей контрольної групи виявляли колоноцити та келихоподібні клітини овальної форми. На поверхні епітеліального шару та у вузьких просвітах крипт визначався слиз. Базальна пластинка була тонкою, власна пластинка слизової оболонки утворена пухкою волокнистою сполучною тканиною, що містить невелику кількість дифузно розсіяних клітинних елементів: макрофагів, лімфоцитів, поодиноких плазмоцитів, а також фібробластів і фіброцитів. Підслизова основа мала вигляд пухкої волокнистої сполучної тканини з невеликою кількістю дифузно розсіяних клітинних елементів – макрофагів, лімфоцитів, фібробластів, фіброцитів, поодиноких у полі зору нейтрофілів. М'язова оболонка утворена внутрішнім циркулярним шаром і зовнішнім поздовжньо орієнтованим. Лейоміоцити представлені темними та світлими клітинами. Серозна оболонка складалася з тонкого шару пухкої волокнистої сполучної тканини, вистеленої мезотелієм.

Клінічні прояви гострого ВК – діарея та кров у фекаліях – у самців з’являлися раніше та мали інтенсивніший перебіг порівняно з самицями. У самиць із гострим ВК, індукованим 1%-м розчином ДСН відносна площа макроскопічних змін (гіперемії та виразок) слизової оболонки ободової кишки була у 2,2 раза меншою, ніж у самців.

Морфологічні зміни при гострому ВК у щурів коливалися від мінімальних до тяжких. У разі найбільш значних уражень слизової оболонки виявлялися глибокі ерозії та виразки, поверхня яких була вкрита скупченнями лейкоцитів; крипти у власній пластинці слизової були відсутні, натомість визначалася грануляційна тканина з розвиненою васкуляризацією та щільною інфільтрацією, представленою макрофагами, лімфоцитами і невеликою кількістю нейтрофілів. Частина ерозій і виразок перебувала на стадії епітелізації. У ділянках збереженого епітеліального шару відзначали запальний інфільтрат, до складу якого входили макрофаги, лімфоцити, нейтрофіли, а також виражений набряк слизової та підслизової оболонок.

У самиць відносна довжина неепітелізованих виразок у дистальному відділі ободової кишки була достовірно нижчою, а частка виразок на стадії епітелізації – вищою, ніж у самців. У разі гострого перебігу ВК підвищувався вміст клітинних елементів у дистальному відділі та загалом у слизовій оболонці кишки порівняно з контрольною групою. При хронічному ВК у самиць відносна площа гіперемії та виразок перевищувала відповідні показники у самців.

При гістологічному дослідженні поздовжніх зрізів дистального відділу ободової кишки щурів із хронічним ВК картина була подібною до гострого перебігу. Відмічалася невелика кількість епітелізованих вузьких виразок щілиноподібної форми, у яких дно утворене грануляційною тканиною з частково впорядкованими колагеновими волокнами, зі слабо та помірно вираженою інфільтрацією лімфоцитами, плазмocyтами,

гістіоцитами. По краях виразок виявлялися деформовані крипти, вистелені високим призматичним епітелієм і відсутністю келихоподібних клітин.

При морфологічному дослідженні в ободовій кишці при хронічному ВК відмічали гострий фібринозно-виразковий коліт. У слизовій оболонці кишки виявлено фібриноїдний некроз стінок і маси фібрину. Також на відміну від самців у самиць у дистальному відділі та у всій кількості епітелізованих виразок порівняно з виразками без епітелізації була більшою. Просвіт крипт розширений, відстань між ними збільшена. Власна пластинка слизової оболонки набрякла, інфільтрована макрофагами, лімфоцитами та нейтрофілами. Лейоміоцити м’язової пластинки витягнутої форми з чіткими ядрами і гомогенною еозинофільною цитоплазмою. Підслизовий шар нерівномірно розширений через набряк, дифузно й осередково інфільтрований макрофагами, лімфоцитами та поодинокими нейтрофілами. Лімфатичні судини базального відділу пластинки слизової оболонки та підслизового шару розширені. Слід відмітити, що у самиць з хронічним ВК поширеність виразок і вогнищ гіперемії була на 30,2% нижчою, ніж у самців. Морфологічне дослідження ободової кишки показало, що у проксимальному відділі самців виразковий процес був менше виражений, ніж у медіальному та дистальному, а шар фібрину на уражених ділянках мав незначну товщину. У середньому та дистальному сегментах ураження охоплювали 70–100% довжини кишки, спостерігалися масивні фібринозні нашарування, нитки яких проникали у поверхневі шари дефектів слизової.

Аналіз субпопуляційного складу лімфоцитів периферичної крові тварин дав змогу встановити, що у контрольних групах самиць порівняно з самцями статистично значущі вища відносна кількість регуляторних Т-лімфоцитів ($CD4^+$, $CD25^+$, $FoxP3^+$) та цитотоксичних Т-лімфоцитів ($CD3^+$, $CD8^+$). У самиць число лейкоцитів, лімфоцитів,

Т-хелперів та В-лімфоцитів при хронічному ВК вірогідно знижувалося на 59,3; 14,9; 23,3 та 35,3% ($P \leq 0,05$) відповідно, а кількість Т-лімфоцитів ($CD3^+$, $CD8^+$) та регуляторних Т-лімфоцитів підвищувалася на 10,6 та 21,7% відповідно (табл. 1).

У самців при хронічному ВК порівняно з контролем знижувалася абсолютна кількість лейкоцитів 39,0%, Т-хелперів ($CD3^+$, $CD4^+$) на 26,3% ($P \leq 0,05$) та В-лімфоцитів ($CD3^-$, $CD19^+$ на 48,9% ($P \leq 0,01$), але підвищувалося число регуляторних Т-лімфоцитів ($CD4^+$, $CD25^+$, $FoxP3^+$) на 41,7% ($P \leq 0,05$), число лімфоцитів був меншим на 23,8% ($P \leq 0,05$).

При гострому ВК у самиць порівняно з контрольною групою була більшою відносна кількість Т-хелперів ($CD3^+$, $CD4^+$), але число цитотоксичних Т-лімфоцитів ($CD3^+$, $CD8^+$), В-лімфоцитів та регуляторних Т-лімфоцитів зменшувалося на 56,1; 68,9 та 46,6% ($P \leq 0,05$). Також була меншою кількість лейкоцитів на 41,8% ($P \leq 0,05$) та лімфоцитів

на 46,8% ($P \leq 0,05$; табл. 2).

У самців при гострому ВК вірогідно знижувалося число лімфоцитів та лейкоцитів на 21,3 ($P \leq 0,05$) та 115,9% відповідно ($P \leq 0,01$). Також число Т-хелперів ($CD3^+$, $CD4^+$), Т-лімфоцитів ($CD3^+$, $CD8^+$) та В-лімфоцитів у самців знижувалося на 253,3% ($P \leq 0,01$), 43,1 та 59,4% ($P \leq 0,05$).

У периферичній крові у контрольних самиць відповідно на відміну від самців нижча кількість регуляторних Т-лімфоцитів ($CD4^+$, $CD25^+$, $Foxp3^+$) на 126,7% ($P \leq 0,01$), цитотоксичних Т-лімфоцитів ($CD3^+$, $CD8^+$) – на 10,3% та В-лімфоцитів ($CD3^-$, $CD19^+$) – на 54,6% ($P \leq 0,01$). Також у самиць при гострому ВК відмічалася тенденція підвищення числа Т-хелперів.

ОБГОВОРЕННЯ

Літературні дані щодо статевих фізіологічних відмінностей у структурі та функціонуванні

Таблиця 1. Субпопуляційний склад лімфоцитів у периферичній крові щурів при хронічному виразковому коліті (ВК), (Ме [0,25; 0,75])

Показники	Самиці		Самці	
	Контрольна група	Хронічний ВК	Контрольна група	Хронічний ВК
Лейкоцити, $10^9/\text{л}$	8,60 [6,70; 8,80]	5,40 [5,20; 5,40]*	9,38 [8,80; 9,60]	6,75 [4,40; 11,70]*
Лімфоцити, %	64,7 [56,55; 66,80]	56,32 [35,44; 66,43]*	68,66 [57,88; 76,88]	55,44 [45,3; 70,43]*
Т-хелпери ($CD3^+$, $CD4^+$), % від кількості лімфоцитів	18,00 [16,40; 18,10]	14,60 [14,80; 17,70]	14,84 [14,14; 16,00]	11,75 [6,90; 14,20]*
Т-лімфоцити ($CD3^+$, $CD8^+$), % від кількості лімфоцитів	16,00 [13,80; 17,65]	17,90 [14,80; 17,90]	12,88 [11,20; 14,60]	10,95 [9,30; 19,40]
В-лімфоцити ($CD3^-$, $CD19^+$), % від кількості лімфоцитів	58,10 [53,70; 60,35]	42,95 [39,60; 50,85]	65,80 [57,90; 66,80]	44,20 [30,00; 54,00]**
Регуляторні Т-лімфоцити ($CD4^+$, $CD25^+$, $Foxp3^+$), % від Т-хелперів	5,95 (5,40; 6,80)	7,60 (6,75; 8,00)	5,80 (3,40; 5,10)	9,95 (7,30; 11,50)*

Примітки: тут і в табл. 2: * $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$ щодо контролю за критерієм Манна-Уїтні.

Таблиця 2. Субпопуляційний склад лімфоцитів у периферичній крові щурів при гострому виразковому коліті (ВК), (Ме [0,25; 0,75])

Показники	Самиці		Самці	
	Контрольна група	ВК	Контрольна група	ВК
Лейкоцити, 10 ⁹ /л	7,80 [6,70; 8,80]	5,50 [4,90; 6,90]*	8,68 [6,50; 9,90]	4,02 [3,40; 12,57]**
Лімфоцити, %	64,7 [56,55; 66,80]	57,33 [48,90; 62,35]*	68,66 [57,88; 76,88]	56,62 [46,66; 68,77]*
Т-хелпери (CD3 ⁺ , CD4 ⁺), % від кількості лімфоцитів	16,60 [14,80; 17,70]	15,20 [13,30; 16,10]	14,84 [14,14; 16,00]	4,20 [3,90; 9,20]**
Т-лімфоцити (CD3 ⁺ , CD8 ⁺), % від кількості лімфоцитів	15,33 [11,30; 18,35]	13,90 [11,20; 17,70]	14,88 [9,20; 13,60]	10,40 [3,30; 14,68]*
В-лімфоцити (CD3 ⁺ , CD19 ⁺), % від кількості лімфоцитів	65,55 [51,40; 64,33]	42,40 [28,10; 56,70]**	66,70 [55,90; 69,80]	59,41 [16,44; 75,20]*
Регуляторні Т-лімфоцити (CD4 ⁺ , CD25 ⁺ , Foxp3 ⁺), % від Т-хелперів	4,95 [5,40; 7,40]	11,22 [8,66; 15,66]**	2,40 [2,33; 4,60]	9,40 [6,44; 16,66]*

товстого кишечника при ВК у людини обмежуються переважно клінічними спостереженнями та окремими лабораторними дослідженнями [14]. У здорових осіб статеві відмінності субпопуляційного складу лімфоцитів у периферичній крові полягають у вищому числі Т-хелперів і Т-регуляторних клітин у жінок порівняно з чоловіками. Водночас особливості перебігу запального процесу та імунологічних змін при ВК з урахуванням статі як у людей, так і в експериментальних тварин залишаються недостатньо вивченими.

У хворих на гострий ВК (без розмежування за статтю) виявлено зниження числа Т-регуляторних лімфоцитів FoxP3⁺ у периферичній крові при одночасному підвищенні в слизовій оболонці ободової кишки [15, 16]. За окремими повідомленнями, імунна система кишечника у жінок є більш активною, ніж у чоловіків: у них вища кількість лімфоцитів Ki67⁺, CD4⁺ і підвищена експресія фактора трансформації росту β (TGF-β) у слизовій оболонці тонкої кишки [17]. Тому питання про особливості імунних механізмів розвитку коліту в чоловіків і жінок досі залишається відкритим. Це пояснюється складністю підбору на

клінічному матеріалі груп спостереження за етнічним складом, репродуктивним статусом, особливостями харчування, супутніми захворюваннями та лікуванням. Водночас відомості про гендерні відмінності перебігу ВК та механізми його розвитку необхідні для розробки підходів до лікування цього захворювання з урахуванням статі.

Виявлено у самиць порівняно з самцями більш висока відносна кількість у периферичній крові регуляторних Т- та цитотоксичних Т-лімфоцитів узгоджується з даними літератури та відповідає даним, отриманим при обстеженні чоловіків і жінок репродуктивного віку [14]. Показано, що тестостерон впливає на диференціювання лімфоцитів, пригнічуючи фосфорилування транскрипційного фактора STAT4, індуковане інтерлейкіном-12. Цей фактор відіграє ключову роль у сигнальній передачі, що сприяє диференціюванню Th1-клітин [18].

Збільшення об'ємної частки келихоподібних клітин в епітелії ободової кишки у самиць при гострому ВК пов'язане з менш інтенсивним запаленням, активацією регенерації та посиленням диференціювання

незрілих клітин у секреторні. При гострому ВК у периферичній крові у самиць порівняно з контролем підвищується кількість Т-хелперів, але знижується цитотоксичність Т-лімфоцитів, а у самців – регуляторних Т-лімфоцитів. Підвищення вдвічі числа Т-хелперів у самиць відображає активацію імунної відповіді, а зміна вмісту цитотоксичних Т-лімфоцитів збігається з меншою вираженістю запального процесу. Зниження кількості регуляторних Т-лімфоцитів у периферичній крові самців із гострим ВК пов'язане з їх активною міграцією до вогнища запалення та регіонарних лімфатичних вузлів [16].

Відмінності прояву ВК у самиць та самців безпосередньо залежать від статевих гормонів. Відомо, що тестостерон посилює диференціювання Т-регуляторних лімфоцитів, а естрадіол – проліферацію лімфоцитів [17]. Менш тяжкі клінічні прояви гострого ВК у самиць щурів зумовлені тим, що естрогени активують імунну систему, яка ефективно контролює запальну відповідь. Низькі концентрації естрогенів активують реакції клітинного імунітету, а високі – гуморального [18]. Естрогени також дозозалежно впливають на рівень експресії низки транскрипційних факторів – Tbet (Specific transcription factor) та IRF1 (Interferon regulatory factor 1), які регулюють диференціювання клітин Tbet-типу та продукцію ними цитокінів Tх1. У фізіологічних концентраціях вони посилюють експресію цих молекул. Водночас тестостерон та його активна форма 5 α -дигідротестостерон не впливають на продукцію цитокінів Tх1 і Tх2 Т-лімфоцитами [19].

При хронічному ВК у периферичній крові у самиць знижується абсолютна кількість лейкоцитів та лімфоцитів, число В-лімфоцитів, але збільшується – регуляторних Т-лімфоцитів. У самців при хронічному ВК порівняно з контролем підвищується і відносна, і абсолютна кількість Т-хелперів і В-лімфоцитів, а регуляторних Т-лімфоцитів – зростає. Число регуляторних Т-лімфоцитів у

периферичній крові у самиць збільшується в 1,2 раза, а у самців – 3,5 раза, В-лімфоцитів у самців знижується в 1,4 раза. Підвищення кількості та функціональної активності Т-лімфоцитів можуть бути пов'язані деструктивні зміни у слизовій товстому кишечника. При загостренні ВК у останній збільшується кількість інтраепітеліальних цитотоксичних CD8⁺-лімфоцитів і порушується кооперація CD4⁺- і CD8⁺-клітин, що розглядається як додатковий фактор агресії при прогресуванні захворювання [20].

Регуляторні Т-лімфоцити супресують проліферацію ефекторних клітин секрецією інтерлейкіну-10 та трансформуючого фактора росту β . Вважається, що недостатня кількість Т-регуляторних лімфоцитів у периферичній крові призводить до загострення аутоімунних та запальних захворювань [21, 22]. Ці зниження, вочевидь, зумовлені порушенням їх диференціювання в тимусі, а також посиленням міграції у вогнище запалення.

У хворих на ЗЗК знижується число CD4⁺-, CD25⁺-клітин у периферичній крові, а в слизовій оболонці товстої кишки при загостренні захворювання кількість Т-регуляторних клітин вища, ніж на стадії ремісії [23, 24]. Підвищення числа FoxP3⁺-, CD4⁺ Т-лімфоцитів, що одночасно експресують IL-17, у власній пластинці слизової оболонки при ВК, з одного боку, сприяє продукції прозапальних цитокінів, а з іншого — супресії функції ефекторних Т-клітин [17]. Таким чином, Т-регуляторні лімфоцити виконують різноспрямовані функції у регуляції запалення, що вимагає подальшого вивчення.

ВИСНОВКИ

1. У самиць щурів порівняно з самцями статистично значимо вища відносна кількість регуляторних Т- та цитотоксичних Т-лімфоцитів.

2. При гострому ВК у самиць підвищується відносна кількість хелперів, але знижується –

рівень цитотоксичних Т-лімфоцитів. У самців знижується абсолютна кількість лейкоцитів, лімфоцитів, а також цитотоксичних і регуляторних Т-лімфоцитів.

3. При хронічному ВК у самиць порівняно з контрольною групою та з гострим ВК знижується абсолютна кількість лейкоцитів, лімфоцитів, Т-хелперів, цитотоксичних Т-лімфоцитів і В-лімфоцитів, але підвищується число регуляторних Т-лімфоцитів. У самців при хронічному ВК абсолютна кількість Т-хелперів і В-лімфоцитів зменшується порівняно з контрольною групою, тоді як число регуляторних Т-лімфоцитів порівняно з гострим ВК зростає.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of co-authors of the article.

**O. Yaremko¹, R. Peleno¹, I. Mazur¹,
R. Mylostyyi², D. Mylostiva³, A. Babchenko³**

IMMUNOLOGICAL DIFFERENCES IN NONSPECIFIC ULCERATIVE COLITIS DEPENDING ON GENDER

¹Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary
Medicine and Biotechnologies Lviv;

²Dnipro State Agrarian and Economic University;

³Dnipropetrovsk Scientific Research Institute of Forensic
Expertise of the Ministry of Justice of Ukraine;
e-mail: mylostivad@i.ua

The study of the mechanisms underlying ulcerative colitis (UC) remains a pressing issue. Limited data exist on sex-related differences in immune responses and intestinal damage in UC. This study aimed to investigate the immunological characteristics of UC in relation to sex. Using a model of acute and chronic UC induced by 1% dextran sulfate sodium (DSS) in rats, sex-specific differences in the subpopulation composition of peripheral blood lymphocytes were examined. In healthy animals, females had a 4.89-fold higher number of CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ regulatory T cells compared to males. In chronic UC, females showed a significant decrease in the number of leukocytes, lymphocytes, T-helper cells, and B-lymphocytes by 59.3%, 51.4%, 91.7%, and 79.0%, respectively. In contrast, the number of regulatory T-lymphocytes increased,

which may be associated with enhanced thymic differentiation and their migration to sites of inflammation. These findings highlight fundamental sex-based immunological differences in UC and support the need to consider sex when selecting immunomodulatory therapies.

Key words: inflammation; intestine; immune response; sex differences; lymphocyte subpopulations.

REFERENCES

1. Agrawal M, Petralia F, Tepler A, Durbin L, Reinisch W, Colombel JF, Shah SC. Gender-based differences in response to tumor necrosis factor inhibitor therapies for ulcerative colitis: Individual participant data meta-analyses of clinical trials. *Inflamm Bowel Dis.* 2023; 29(1): 1-8. DOI: 10.1093/ibd/izac067.
2. Mortlock S, Lord A, Montgomery G, Zakrzewski M, Simms LA, Krishnaprasad K, et al. An extremes of phenotype approach confirms significant genetic heterogeneity in patients with ulcerative colitis. *J Crohn's Colit.* 2023; 17(2): 277-88. DOI: 10.1093/ecco-jcc/jjac121.
3. Rustgi SD, Kayal M, Shah SC. Sex-based differences in inflammatory bowel diseases: a review. *Therapeut Advan Gastroenterol.* 2020; 13:1-11. DOI: 10.1177/1756284820915043.
4. Calabrò A, Accardi G, Aiello A, Caruso C, Candore G. Sex and gender affect immune aging. *Front Aging.* 2023; 4: 1-16. DOI: 10.3389/fragi.2023.1272118.
5. Shah SC, Khalili H, Gower-Rousseau C, Olen O, Benchimol EI, Lyng E, et al. Sex-based differences in incidence of inflammatory bowel diseases-pooled analysis of population-based studies from Western countries. *Gastroenterology.* 2018;155(4):1079-1089. DOI: 10.1053/j.gastro.2018.06.043.
6. Xu M, Kong Y, Chen N, Peng W, Zi R, Jiang M, Zhu J, Wang Y, Yue J, Lv J, Zeng Y, Chin YE. Identification of immune-related gene signature and prediction of CeRNA network in active ulcerative colitis. *Front Immunol.* 2022;13:1-17. DOI: 10.3389/fimmu.2022.855645.
7. Ambhore NS, Kalidhindi RSR, Sathish V. Sex-steroid signaling in lung diseases and inflammation. *Advan Exp Med Biol.* 2021; 1303:243-73. DOI: 10.1007/978-3-030-63046-1_14.
8. Dias SP, Brouwer MC, van de Beek D. Sex and gender differences in bacterial infections. *Infect Immun.* 2022;90(10):1-19. DOI: 10.1128/iai.00283-22.
9. Parikh K, Antanaviciute A, Fawcner-Corbett D, Jagielowicz M, Aulicino A, Lagerholm C, et al. Colonic epithelial cell diversity in health and inflammatory bowel disease. *Nature.* 2019;567(7746), 49-55. DOI: 10.1038/s41586-019-0992-y.
10. Hoffmann JP, Liu JA, Seddu K, Klein SL. Sex hormone signaling and regulation of immune function. *Immunity.* 2023; 56(11):2472-2491. DOI: 10.1016/j.immuni.2023.10.008.
11. Park J, Son MJ, Ho CC, Lee SH, Kim Y, An J, Lee SK. Transcriptional inhibition of STAT1 functions in

- the nucleus alleviates Th1 and Th17 cell-mediated inflammatory diseases. *Front Immunol.* 2022; 13. DOI: 10.3389/fimmu.2022.1054472.
12. Targan SR, Karp LC. Defects in mucosal immunity leading to ulcerative colitis. *Immunol Rev.* 2005; 206: 296-305. DOI: 10.1111/j.0105-2896.2005.00286.x.
 13. Okayasu I, Hatakeyama S, Yamada M, Ohkusa T, Inagaki Y, Nakaya R. A novel method in the induction of reliable experimental acute and chronic ulcerative colitis in mice. *Gastroenterology.* 1990; 98(3): 694-702. DOI: 10.1016/0016-5085(90)90290-h.
 14. Xu L, Huang G, Cong Y, Yu Y, Li Y. Sex-related differences in inflammatory bowel diseases: The potential role of sex hormones. *Inflammat Bowel Dis.* 2022; 28(11): 1766-1775. DOI: 10.1093/ibd/izac094.
 15. Berrehail Z, Boibessot C, Gris T, Joncas FH, Gaignier F, Guillemette C, Lacombe L, Fradet Y, Toren P. Sex steroid modulation of macrophages within the prostate tumor microenvironment. *Am J Clin Exp Urol.* 2022;10(2). DOI: 98-110.
 16. Nakanishi Y, Ikebuchi R, Chtanova T, Kusumoto Y, Okuyama H, Moriya T, Honda T, Kabashima K, Watanabe T, Sakai Y, Tomura M. Regulatory T cells with superior immunosuppressive capacity emigrate from the inflamed colon to draining lymph nodes. *Mucosal Immunol.* 2018;11(2):437-448. DOI: 10.1038/mi.2017.64.
 17. Buendía-González FO, Legorreta-Herrera M. The similarities and differences between the effects of testosterone and DHEA on the innate and adaptive immune response. *Biomolecules.* 2022; 12(12): 1768. DOI: 10.3390/biom12121768.
 18. Anesi N, Miquel CH, Laffont S, Guéry JC. The Influence of sex hormones and X chromosome in immune responses. *Current Topic Microbiol Immunol.* 2023; 441:21-59. DOI: 10.1007/978-3-031-35139-6_2.
 19. Vancolen S, Sébire G, Robaire B. Influence of androgens on the innate immune system. *Andrology;* 2023 11(7):1237-1244. DOI: 10.1111/andr.13416
 20. Saez A, Herrero-Fernandez B, Gomez-Bris R, Sánchez-Martinez H, Gonzalez-Granado JM. Pathophysiology of inflammatory bowel disease: Innate immune system. *Int J Mol Sci.* 2023;24(2):1526-1551. DOI: 10.3390/ijms24021526.
 21. Wen Y, Zhu Y, Zhang C, Yang X, Gao Y, Li M, Yang H, Liu T, Tang H. Chronic inflammation, cancer development and immunotherapy. *Front Pharmacol.* 2022;13: 1040163. DOI: 10.3389/fphar.2022.1040163.
 22. Göschl L, Scheinecker C, Bonelli M. Treg cells in autoimmunity: from identification to Treg-based therapies. *Semin Immunopathol.* 2019; 41(3):301-314. DOI: 10.1007/s00281-019-00741-8.
 23. Frosali S, Pagliari D, Gambassi G, Landolfi R, Pandolfi F, Cianci R. How the intricate interaction among toll-like receptors, microbiota, and intestinal immunity can influence gastrointestinal pathology. *J Immunol Res.* 2015; 489821. DOI: 10.1155/2015/489821.
 24. Chiba T, Endo M, Miura S, Hayashi Y, Asakura Y, Oyama K, Matsumoto T. Regulatory T cells in Crohn's disease following anti-TNF- α therapy. *J Gastroenterol Hepatol.* 2019; 4(3):378-381. DOI: 10.1002/jgh3.12259.

*Матеріал надійшов
до редакції 17.02.2025*