

PECULIARITIES OF THE RELATIONSHIP BETWEEN MICROBIOME, MATRIX METALLOPROTEINASES AND MORPHOLOGICAL CHANGES OF EPITHELIUM IN PATIENTS WITH FUNCTIONAL AND ORGANIC INTESTINAL PATHOLOGY

Poltava State Medical University (Poltava, Ukraine)

hel_kirjan@i.ua

Intestinal dysbiosis has recently been considered as one factor that significantly impacts the development of both functional and organic intestinal pathology. Therefore, determining the relationships between the microbiota, morphological changes in the epithelium, and immune abnormalities that may occur under the influence of microbiotic disorders can help to identify a predisposition to intestinal diseases and correct treatment in a timely manner. The aim of our study was to investigate in patients with irritable bowel syndrome (IBS), ulcerative colitis (UC) and adenomatous colon polyps (ACP) in Poltava Region the possibility of a relationship between intestinal dysbiosis activity of matrix metalloproteinases -1,-3,-9, tissue inhibitor of matrix metalloproteinases-1 in blood serum, morphological changes and the degree of accumulation of mucins MUC1 and MUC5AC in the intestinal epithelium. The study was conducted in 127 patients with IBD, UC, and ACP; the control groups consisted of 34 healthy individuals and 18 patients with CRC. The most pronounced abnormalities in the microbiota were found in patients with UC with high disease activity ($p \leq 0.05$), in the general group of patients with UC ($p \leq 0.01$) ($r=0.69$) and in patients with CP that occurred on the background of IBS compared to the groups of IBS and CP ($p \leq 0.05$) ($r=0.88$). In dysbiosis of II and III degrees, the amount of MMP-1 in the blood increased in all patients, most pronouncedly in UC ($p \leq 0.001$) and with high UC activity ($p \leq 0.01$). The average content of MMP-9 in all patients went beyond the range of fluctuations of reference values, most pronounced in UC ($p \leq 0.01$) ($r=+0.61$). Among the examined groups, the association of dysbiosis of II and III degrees with severe acuteness of the CM lesion in UC ($p \leq 0.05$) and a sharp decrease in the PAS response of goblet cells ($p \leq 0.05$) and with moderate acuteness of the process in IBS ($p \leq 0.001$) was revealed. In patients with UC with II and III degrees of dysbiosis, the frequency of detection of weak or absent MUC1 expression in the crypt epithelium significantly increased compared with the first degree of dysbiosis ($p \leq 0.05$), which worsened the protective functions of the intestinal mucosal barrier. The data obtained indicate the presence of a relationship between the increase in the degree of dysbiosis, the quantitative content of serum matrix metalloproteinases MMP-1,-9 and the increase in the severity of colon epithelial damage, most pronounced in patients with UC. The detected changes have a negative prognosis for the course and progression of intestinal diseases and require the development of corrective therapy.

Key words: microbiota, matrix metalloproteinases, mucous membrane, mucins, colon, relationship.

Connection of the publication with planned research works.

The work is a fragment of the research work «Multidisciplinary personalized approach to the management of patients with comorbidities and mental health disorders» (state registration number 0124U000097).

Introduction.

Disruption of the intestinal microbiota is one of the factors that has a significant effect on the onset, course and progression of intestinal diseases such as irritable bowel syndrome (IBS), ulcerative colitis (UC), and adenomatous colon polyps (ACP) [1, 2, 3]. The formation of intestinal dysbiosis due to the action of certain factors changes the balance between the microbiota and the human body and leads to the transformation of the integrity of the intestinal barrier [4] due to modification of mucus production, changes in the synthesis of short-chain fatty acids, disorders in the mucosal immune response [5, 6]. In addition, the quantitative imbalance in the microbiota and functional disorders of the large intestine microflora (LI) lead to a chronic inflammatory process in the intestinal epithelium [7, 8], which plays an essential role in pathological conditions.

The colonic mucosa (CM) is the first line of defense of the intestine against dysbiotic effects, which regulates the stability of homeostasis maintained by goblet cells.

Goblet cells produce more than 20 subtypes of mucins that ensure balance and equilibrium in the intestine [9, 10]. Most authors believe mucin dysfunction (MUC) plays a leading role in developing intestinal diseases. Mucin expression is regulated by nonspecific factors such as microbiota [11], especially butyrate-producing microbiota [9] and specific epigenetic modulators [12]. Some scientists have found that mucin secretion is increased in IBS, along with increased permeability to the CM [13]. Other authors have linked changes in mucin expression to the development of spontaneous colitis and dysplastic disorders [14]. The role of MUC1 overexpression in the development and progression of UC has also been proven, as well as MUC5AC, whose ectopic expression was observed in UC, dysplastic changes and neoplasms [12, 15].

In addition, the stability of CM functioning depends on regulatory proteins such as cytokines, growth factors, and matrix metalloproteinases (MMPs), which are proteolytic enzymes that modulate cellular homeostasis and immune responses. MMPs play an essential role in regulating extracellular matrix remodeling, inflammatory and neoplastic changes in tissues, and may influence the formation of intestinal pathology. Any abnormalities in the functioning of MMPs that occur under the influence of external and internal factors, including dysbiotic

disorders, can alter signaling cascades, initiating inflammatory processes in the TC [16, 17, 18].

In turn, some authors have shown the protective role of MMPs in the stability of the gut microbiota, which is a change that significantly impacts intestinal disease development. Thus, the expression of MMP-9 in the LI epithelium preserves the intestinal microbiota and promotes the normalization of Bacteroidetes and Firmicutes levels, which comprise the bulk of the healthy intestinal bacterial population. Overexpression of MMP-9 is associated with decreased extracellular permeability [19]. Such MMPs as MMP-1,-8,-9,-10,-12,-13 are not detected in healthy CM, and their expression affects the reparative processes. Other MMPs-2,-3,-7 perform protective functions, regulate cellular homeostasis and are constantly expressed in inflammatory bowel disease [17]. And the appearance of an imbalance in the ratio of MMPs and tissue inhibitors of matrix metalloproteinases (TIMPs) disrupts the protective functions of the epithelium, provoking the onset of diseases [11, 17].

Thus, the LI microbiota and its stability is an essential factor in developing both functional and organic intestinal pathology. Changes in the production of MMPs, intestinal barrier functioning, with the corresponding production of mucins, directly affect the formation of intestinal diseases and may depend on LI dysbiosis. Therefore, determining the relationships between dysbiotic disorders, the expression of mucins that ensure CM stability, and MMP production, which modify immune responses and can provoke the appearance of LI diseases, will help to identify a predisposition to intestinal diseases in a timely manner and prescribe appropriate corrective therapy in the future, which encourages an in-depth study of these changes in our patients.

The aim of the study.

To evaluate the possibility of a relationship between dysbiotic disorders of the colon microbiota, MMP-1,-3,-9, TIMP-1 activity, morphological changes and the degree of accumulation of MUC1 and MUC5AC mucins in CM in patients with IBD, UC and ACP in Poltava Region.

Object and research methods.

The study included 127 patients who were treated at the Poltava Regional Clinical Hospital named after M.V. Sklifosovsky from 2018 to 2021. The study was conducted following the principles of the Helsinki Declaration of Human Rights, the Council of Europe Convention on Human Rights and Biomedicine, and the provisions of the relevant laws of Ukraine. The Local Ethics Committee approved the study protocol for all participants. Written informed consent was obtained from all patients who participated in the study. The diagnosis of IBS was established following the recommendations of the Rome Criteria IV, 2016 revision. The diagnosis of UC was based on the Montreal classification, which was adapted by Silverberg M.S. and Satsangi J. et al., 2005. The diagnosis of ACP was verified using the recommendations of the endoscopic Paris classification (2002). The obtained results were compared with the group of patients with CRC, whose diagnosis was established following the order of the Ministry of Health of Ukraine №703 of 12.07.2016, to identify predictors of neoplastic changes.

All patients underwent a study of qualitative and/or quantitative changes in the bacterial flora of the LI

using standard methods, using sets of nutrient media, to determine anaerobic and aerobic bacteria. The results were compared with the data of 18 patients in the control group with colorectal cancer (CRC) and the results of 34 healthy individuals. Dysbiotic abnormalities were studied in 48 patients with different subtypes of IBS, 36 patients with ACP, including 11 patients with adenomatous polyps on the background of IBS and 43 patients with UC. Separately, we studied the data obtained from 6 patients with UC, who had a high degree of activity and manifestations of pseudopolyposis, characterized by severe inflammatory changes in the CM, according to colonoscopy.

Given the greater impact of severe microbiome disorders on the course and progression of diseases and the possible correlation of changes in the quantitative content of serum MMP with disorders of the LI microflora, the analysis of MMP content was performed in patients with subcompensated and decompensated dysbiotic changes (II and III degrees) of the LI microbiota [20], compared with the general group of patients, healthy individuals and CRC. Quantitative determination of MMP-1,-3,-9 and their serum TIMP-1 was performed in 49 patients with dysbiotic disorders of the TC microflora of the II and III degree with IBS, UC, ACP and healthy control groups – 23 patients and 6 patients with CRC. The determination of MMP was performed using enzyme-linked immunosorbent assay in the laboratory of the Ukrainian-German Gastroenterological Center “BYK-KYIV”, Kyiv. The following test systems were used: Human MMP-1 ELISA kit (Korea), Human MMP-3 ELISA kit (USA), Human MMP-9 Quantikine ELISA (USA & Canada), Human TIMP-1 Platinum ELISA (Austria).

To verify the diagnosis, all patients of the study groups underwent rectoromanoscopy (devices ND – 5, Re VS – 3), colonoscopy (devices WC88WM, KUVO – 1, Olympus – CF – 30L), where the condition of CM was assessed, the presence of pain syndrome was detected during the examination, biopsy material was taken with subsequent morphological diagnosis and compliance with international standards. To identify possible similar mechanisms of influence on the development of IBS, UC and ACP, immunohistochemical examination of MUC1, MUC5AC mucins in LI tissues was performed in 21 patients with UC and 8 patients with IBS and ACP according to a standardized method [21].

Women predominated among patients with IBS (with a male/female ratio of 0.42). In other groups, men predominated. Differences between the groups were not significant ($p>0.05$). The average age of patients in the control group was 29.6 ± 6.2 years, in patients with PBS 38.4 ± 5.1 years, in patients with UC 42.7 ± 6.9 years, in patients with ACP 47.8 ± 6.1 years. In the comparison group of CRC patients, the average age was 61.9 ± 5.8 years. Compared to the control group of healthy subjects, no significant difference in age was found in patients of all three study groups ($p>0.05$). At the same time, a significant age difference was found between patients with IBS ($p=0.003$) compared to the comparison group of patients with CRC.

Statistical processing and analysis to determine the reliability of the results obtained were performed on a personal computer using standard analytical programs Microsoft EXCEL (2010) and Student's t-test; dif-

ferences were considered statistically significant when determining the probability ($p \leq 0.05$).

Research results and their discussion.

According to the results of our study, various manifestations of dysbiosis were found among all examined groups (table 1). The most pronounced abnormalities in the LI microbiota of the II and III degrees were determined in the group of patients with UC who had high

Table 1 – Comparison of compensated, subcompensated and decompensated (II and III degrees) dysbiotic changes in the colon microflora in the examined patients

	I degree of dysbiosis		II and III degrees of dysbiosis	
	n	%	n	%
IBS (n=48)	28	58,3**	15	31,3*
CP (n=36), of them:	15	41,7	13	36,1*
CP+IBS (n=11)	3	27,3	8	72,7
UC (n=43), of them:	13	30,2***	30	69,8***
UC, high activity (n=6)	0	0	6	100*
Total (n=127)	56	44,1	58	45,7
Control group CRC (n=18)	6	33,3	10	55,6

Notes: * – $p \leq 0.05$ – comparing dysbiosis of II and III degrees in patients with IBS, the general group of CP and CP that occurred on the background of IBS; comparing dysbiosis of II and III degrees among all patients and UC with high activity; ** – $p \leq 0.02$ – comparing dysbiosis in patients with IBS I and II+III degrees; *** – $p \leq 0.01$ – comparing the degree of dysbiosis in patients with UC I and II+III; comparing dysbiosis of II and III degrees in patients with CP and UC; * – $p \leq 0.001$ – comparing II and III degrees of dysbiosis in the IBS and UC groups.

disease activity – 6 (100%) patients, with a significant difference compared with all examined patients ($p \leq 0.05$). In the general group of patients with UC, dysbiosis of the II and III degrees was detected significantly more often – 30 (69.8%) patients, compared with the I degree of dysbiosis in UC ($p \leq 0.01$) and groups of patients with II and III degrees of dysbiosis in IBS – 15 (31.3%) patients ($p \leq 0.001$) and in patients with CP – 13 (36.1%) patients ($p \leq 0.01$) ($r = 0.69$).

In patients of the control group with CRC, a pronounced increase in the frequency of II and III degrees of dysbiosis was also determined – 10 (55.6%) patients, but the difference was not significant compared to the first degree of dysbiosis in CRC and II and III degrees in

patients with IBS and CP ($p < 0.1$). In patients with IBS, dysbiosis of the II and III degrees was determined significantly less often than that in IBS ($p \leq 0.05$). A significant deterioration in the microbiota in patients with CP that occurred in the background of IBS was also found. In this subgroup, patients with dysbiosis of the II and III degrees were significantly more often detected compared to the IBS and CP groups ($p \leq 0.05$), which had a positive correlation with the growth of dysbiotic changes in such patients ($r = 0.88$), determining the significant influence of the LI microbiota on the occurrence of LI polyps on the background of IBS.

Taking into account the significant effect of dysbiotic microflora disorders on the onset and progression of inflammation in the CM [7, 8], regulation of intestinal homeostasis and immune system [5, 6], there is a possible relationship with MMPs, which are activated during inflammatory processes [17] and the occurrence of neoplasia, we analyzed the peculiarities of determination of MMP-1, -3, -9 and TIMP-1 in the blood serum of patients of the examined groups in the detection of II and III degrees of dysbiosis LI. When considering the frequency of detection of serum MMP-1, -3, -9 and TIMP-1 in the groups of patients, the changes detected were deepened compared to all patients and healthy individuals. The results are presented in table 2.

According to the data presented, in case of dysbiosis of microflora LI of II and III degrees, a high amount of MMP-1 in the blood was maintained among all patients – 77.49 ± 18.97 ng/ml with a significant difference compared to healthy patients – 7.52 ± 5.06 ng/ml ($p \leq 0.01$). Among all examined patients, the amount of MMP-1 increased moderately with increasing degree of dysbiosis, without a significant difference between the groups. The most pronounced changes were found in patients with UC – 91.78 ± 12.65 ng/ml ($p \leq 0.001$) and in patients with UC with a high degree of disease activity – 84.22 ± 16.91 ng/ml ($p \leq 0.01$), which are significant in comparison with healthy individuals. Similar results were obtained in the CRC control group – 86.33 ± 19.61 ng/ml ($p \leq 0.01$) compared to healthy volunteers, which confirms the role of MMP-1 in the development and course of intestinal diseases. Accordingly, with deviations in serum MMP-3 and TIMP-1 content in severe dysbiosis of LI, the results did not show a significant difference compared with the general group of patients and healthy subjects.

Table 2 – Peculiarities of serum MMP-1, MMP-3, MMP-9, TIMP-1 content in patients with II and III degrees of colon microflora dysbiosis

Patient groups	n	Indicators (ng/ml)			
		MMP-1	MMP-3	MMP-9	TIMP-1
UC, of them:	24	$91.78 \pm 12.65^*$	7.88 ± 1.43	$1319.36 \pm 128.69^{**}$	997.48 ± 387.47
UC high activity	6	$84.22 \pm 16.91^{**}$	7.92 ± 1.32	$1431.15 \pm 78.67^{***}$	973.41 ± 394.10
ACP, of them:	12	$77.62 \pm 14.79^*$	6.63 ± 1.52	597.82 ± 196.18	985.83 ± 378.59
ACP+IBS	7	54.21 ± 24.17	7.41 ± 1.98	583.76 ± 159.24	981.19 ± 389.48
IBS	13	$59.46 \pm 19.48^*$	6.58 ± 1.22	493.47 ± 218.95	878.94 ± 357.63
Total	49	$77.49 \pm 18.97^*$	7.11 ± 2.34	$718.59 \pm 133.93^*$	956.29 ± 361.37
CRC	6	$86.33 \pm 19.61^{**}$	12.73 ± 2.96	$498.27 \pm 137.43^{**}$	946.25 ± 402.87
Healthy	23	7.52 ± 5.06	6.56 ± 1.01	334.49 ± 113.38	579.15 ± 137.62

Notes: * – $p \leq 0.05$ – comparison of all patients with healthy; • – $p \leq 0.01$ – UC group of high activity compared with IBS patients and CP+IBS group; *-p ≤ 0.01 – UC group compared with the examined groups, all patients, healthy individuals and CRC; **-p ≤ 0.01 – comparison of control groups; comparing UC of high activity and CRC with healthy subjects; *** – $p \leq 0.002$ – comparing UC of high activity with IBS and CRC groups; * – $p \leq 0.001$ – comparing all patients with healthy subjects; comparing IBS, CP, UC groups with healthy subjects; comparing UC of high activity with all patients and healthy subjects.

The quantitative content of MMP-9 in the blood serum in dysbiosis of II and III degrees of microflora LI increased among all examined patients compared with the general indicators. The average content of MMP-9 in all examined patients was beyond the range of reference values (169 – 705 ng/ml); in severe dysbiosis LI, it was 718.59 ± 133.93 ng/ml with a significant difference compared to healthy subjects ($p \leq 0.05$). The highest mean value of MMP-9 content was found in patients with UC – 1319.36 ± 128.69 ng/ml ($r = +0.61$), which was significantly different from all examined patients with dysbiosis of the TC microflora of the II and III degrees of healthy individuals ($p \leq 0.01$). In patients with UC with se-

vere dysbiosis, there was a significant difference between the CRC control group, IBS, ACP groups, and the ACP subgroup that occurred on the background of IBSS ($p \leq 0.01$). In the UC group, which had high disease activity and in 100% of cases subcompensated or decompensated dysbiotic changes in LI, the mean increase in MMP-9 content was the most pronounced – 1431.15 ± 78.67 ng/ml, significant compared to all patients examined ($p \leq 0.001$), the control group with CRC and IBS ($p \leq 0.002$) and the ACP group and the ACP+IBS subgroup ($p \leq 0.01$).

There was no significant difference in the MMP-1,-9/ TIMP-1 content imbalance and gender characteristics between patients with severe manifestations of LI dysbiosis and mild changes in LI microflora.

Thus, in patients of the examined groups, with the deepening of dysbiotic changes in the LI microflora, an increase in the content of MMP was detected. The mean values of MMP-1 in the blood serum with increasing LI dysbiosis increased in all groups, without a significant difference between them, but significantly different from healthy subjects. The greatest changes were found in the content of MMP-9, which correlated with the increase in dysbiosis in patients with UC and disease activity, possibly significantly impacting the progression and course of the disease.

Given the possibility of dysbiotic disorders of the LI microflora to initiate changes in the permeability of the CM epithelium, which can provoke the appearance of intestinal diseases and modify apoptotic reactions in cells, thereby provoking the appearance of neoplasia [1, 5, 7], the relationship between the degree of dysbiosis of the LI microflora, morphological features of the CM in the examined patients with additional analysis of MUC1 and MUC5AC expression was studied.

In the study of endoscopic features in patients of the examined groups with different degrees of LI dysbiosis, the frequency of pain syndrome with increased dysbiotic disorders in the LI microflora was revealed. Significant changes were identified in patients with IBS, in whom 13 (86.7%) patients with II and III degrees of dysbiosis had pain during the examination, in contrast to the first degree of dysbiosis – 9 (32.1%) patients ($p \leq 0.01$). In addition, in patients with IBS, with increased dysbiotic disorders in the LI, endoscopic changes in the CM were observed in 100% of cases, in contrast to the first degree – 10 (35.7%) patients ($p \leq 0.001$). Similar abnormalities were found in CP-9 (69.2%) patients with II and III degrees of dysbiosis and 4 (26.7%) patients with I-degree of LI microflora dysbiosis ($p \leq 0.05$). In patients with UC, regardless of dysbiotic changes, endoscopic abnormalities in the CM were detected in 100% of cases.

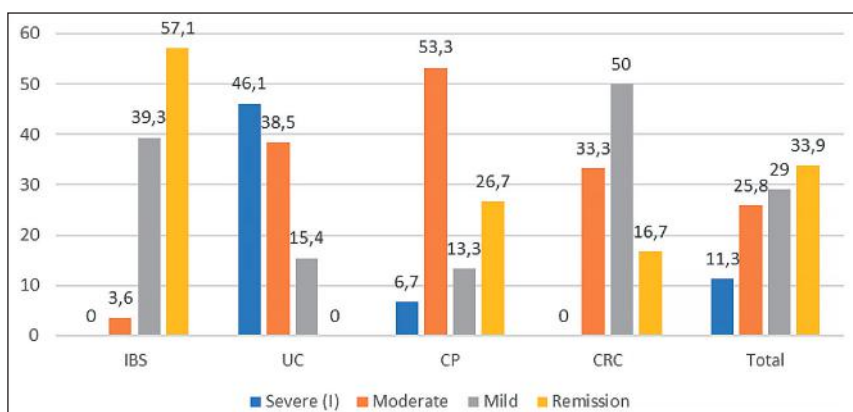


Figure 1 – Correlation of dysbiotic microflora disorders of LI degree with the severity of morphological changes in CM in the examined patients (%).

According to the data obtained by LI endoscopy, in patients with II and III degrees of dysbiosis in IBS, the frequency of focal superficial hyperemia of the mucous membrane significantly increased – 10 (66.7%) patients, compared with the first degree – 6 (21.4%) patients ($p \leq 0.01$), without a significant difference in other groups. In patients with UC at II and III degrees of dysbiosis LI, the occurrence of CM bleeding increased to 70.0% (in the general group – 41 (63.1%) patients), diffuse erythema of the mucous membrane was more often detected – 24 (80.0%) patients (in the general group 47 (72.3%) patients), but the difference compared with the first degree of dysbiosis was not significant ($p > 0.05$). Purulent exudate – 8 (26.7%) patients was detected only in patients with severe manifestations of LI microflora dysbiosis in UC, which worsened the course of the disease and required additional therapy.

To determine the possible influence of LI dysbiosis on morphological changes in CM in intestinal diseases, the severity of the processes was analyzed according to the morphology obtained during histological examination (fig. 1-2). According to the data obtained, among all the examined groups of patients with II and III degrees of dysbiosis, 25 (36.8%) patients were significantly more likely to have acute manifestations of CM lesions, which were manifested by the severity of infiltration with an increased number of polymorphonuclear leukocytes, the appearance of crypts of abscesses, microerosions, compared with mild dysbiotic disorders of mild degree – 7 (11.3%) patients ($p \leq 0.001$).

The activity of morphological manifestations of CM lesions significantly increased in II+III degrees of dysbio-

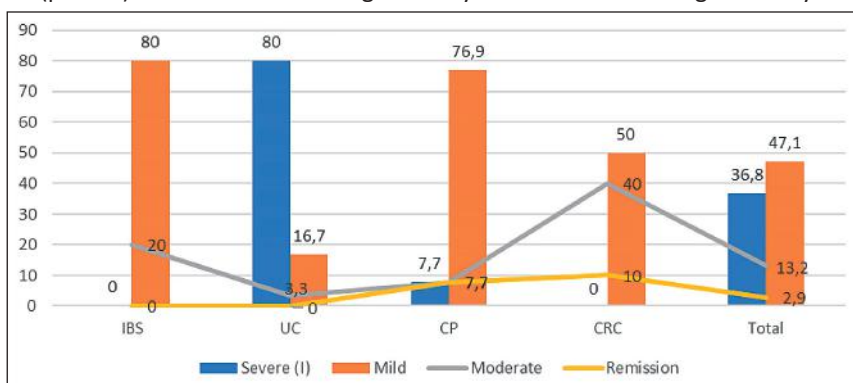


Figure 2 – Interrelation of dysbiotic microflora disorders of LI II+III degrees with the severity of morphological changes in CM in the examined patients (%).

sis in 32 (47.1%) patients, compared with the first degree – 16 (25.8%) patients, among all examined groups with moderate manifestations of the acuteness of the process ($p \leq 0.02$). At the same time, at the first degree of dysbiosis of the LI microflora, the frequency of detection of a mild degree of CM lesion, with the absence of ulcers, erosions, moderate cellular infiltration with single clusters – 18 (29.0%) patients ($p > 0.05$) and a significant difference in the detection of remission – 21 (33.9%) patients ($p \leq 0.05$), compared with severe dysbiosis.

Among the examined groups, the association of dysbiosis of II and III degrees with the acuteness of the CM lesion process with severe manifestations was found in patients with UC – 24 (80.0%) patients, compared with the first degree of dysbiosis of the LI microflora – 6 (46.1%) patients ($p \leq 0.05$). In patients with IBS, a significant difference was found in the growth of moderate manifestations of acute process in CM at II+III degrees of dysbiosis – 12 (80.0%) patients ($p \leq 0.001$), compared with the first degree of dysbiosis, Fisher's exact criterion ($p \leq 0.0001$). Similar changes were also found in patients with CP, but no significant difference was determined ($p > 0.05$).

Thus, in the examined patients, inflammatory processes in the CM increased with deepening dysbiosis of the LI microflora, the greatest dependence was found in terms of severe severity of manifestations in patients with UC, and moderate changes in the severity of the process in patients with IBS. Morphological abnormalities in the LI mucosa confirmed these features. In the group of UC patients with II and III degrees of LI dysbiosis, a marked decrease in the PAS reaction of goblet cells, sometimes the absence of this reaction was determined – 11 (78.6%) patients, significantly compared with patients with I degree of dysbiosis – 2 (28.6%) patients ($p \leq 0.05$).

When assessing the degree of accumulation of MUC1 and MUC5 AC in CM in patients with UC with severe dysbiosis, the frequency of detection of weak and absent expression of MUC1 in the crypt epithelium significantly increased – 12 (57.1%) patients compared

with the first degree of dysbiosis ($p \leq 0.05$), which confirms the decrease in the protective functions of the LI mucosa and the possibility of the influence of dysbiosis on the course of the disease. The content of MUC5 AC in the LI epithelium in patients with different degrees of dysbiosis did not differ significantly. In patients with IBS and CP, no significant changes in the content of mucins, which were assessed by the PAS reaction of goblet cells and the degree of accumulation of MUC1 and MUC5 AC mucins, were determined.

Conclusions.

Thus, in the examined patients, an increase in the content of serum matrix metalloproteinases was found with deepening of LI microflora dysbiosis. Quantitative indicators of serum MMP-1 in II and III degrees of LI dysbiosis increased in all groups of patients. The quantitative content of MMP-9 positively correlated with the deepening of dysbiotic disorders in patients with UC and increased disease activity. The increase in dysbiotic abnormalities in the microbiome was accompanied by an increase in the severity of CM lesions in both IBS and UC patients, who also showed a sharp decrease in MUC1 expression in the epithelium, impairing CM's protective properties. The detection of simultaneous impairment of serum MMP-1,-9 content, increased severity of the process according to the histological examination of CM with an increase in the degree of dysbiosis, determines the presence of a relationship between immunological, morphological changes and microbiome disorders in the examined patients and has a negative prognosis for the progression and course of the diseases.

Prospects for further research.

In the future, it is planned to develop therapeutic regimens for the correction of patient management, taking into account the possible prevention of disease progression, depending on the characteristics of the identified relationship between disorders of the colon microflora, the level of serum matrix metalloproteinases and the morphological characteristics of the intestinal mucosal barrier.

DOI 10.29254/2077-4214-2024-1-172-168-179

УДК 616.34-092-071:611.018

Кир'ян О. А.

ОСОБЛИВОСТІ ВЗАЄМОЗВ'ЯЗКУ МІКРОБІОМУ, МАТРИКСНИХ МЕТАЛОПРОТЕІНАЗ ТА МОРФОЛОГІЧНИХ ЗМІН ЕПІТЕЛІУ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ ФУНКЦІОНАЛЬНОЮ ТА ОРГАНІЧНОЮ КИШЕЧНОЮ ПАТОЛОГІЄЮ

Полтавський державний медичний університет (м. Полтава, Україна)

hel_kirjan@i.ua

Кишковий дисбіоз останнім часом розглядається як один із чинників, який має суттєвий вплив на розвиток як функціональної так і органічної патології кишечника. Тому визначення взаємозв'язків між мікробіотою, морфологічними змінами епітелію та імунними відхиленнями, які можуть виникнути під впливом мікробіотичних порушень, можуть своєчасно допомогти виявити схильність до кишкових захворювань та провести корекцію лікування. Метою наших досліджень було дослідити у пацієнтів із синдромом подразненої кишки (СПК), неспецифічним виразковим колітом (НВК) та аденоматозними поліпами товстої кишки (АПТК) Полтавського регіону можливість взаємозв'язків між кишковим дисбіозом, активністю матриксних металопротеїназ -1,-3,-9, тканинним інгібітором матриксних металопротеїназ-1 сироватки крові, морфологічними змінами та ступенем накопичення муцинів MUC1 і MUC5AC у епітелії кишечника. Обстеження проведено у 127 пацієнтів із СПК, НВК, АПТК, контрольні групи

склали 34 здорові особи та 18 пацієнтів із КРР. Найбільш виражені відхилення у мікробіоті визначено у хворих на НВК із високою активністю хвороби ($p \leq 0,05$), в загальній групі хворих на НВК ($p \leq 0,01$) ($r = 0,69$) та у хворих на ПТК, що виникли на фоні СПК, в порівнянні із групами СПК та ПТК ($p \leq 0,05$) ($r = 0,88$). При дисбактеріозі II та III ступенів зростала кількість MMP-1 у крові серед всіх пацієнтів, найбільш виражено при НВК ($p \leq 0,001$) та при високій активності НВК ($p \leq 0,01$). Середній вміст MMP-9 у всіх хворих виходив за межі коливання референтних значень, найбільш виражено при НВК ($p \leq 0,01$) ($r = +0,61$). Серед обстежених груп виявлено асоціацію дисбіозу II та III ступенів із вираженою гостротою процесу ураження СОТК при НВК ($p \leq 0,05$) і різким зниженням PAS-реакції келихоподібних клітин ($p \leq 0,05$) та із помірною гостротою процесу при СПК ($p \leq 0,001$). У хворих із НВК при II та III ступенях дисбіозу достовірно зростала частота виявлення слабкої або відсутньої експресії MUC1 в епітелії крипт, порівнюючи із I ступенем дисбіозу ($p \leq 0,05$), що погіршувало захисні функції слизового бар'єру кишечника. Отримані дані свідчать про наявність взаємозв'язку між зростанням ступеню дисбіозу, кількісним вмістом матриксних металопротеїназ MMP-1,-9 сироватки крові та підсиленням гостроти ураження епітелію товстої кишки, найбільш виражено у пацієнтів із НВК. Виявлені зміни мають негативний прогноз, щодо перебігу та прогресування кишкових захворювань і потребують розробки коригуючої терапії.

Ключові слова: мікробіота, матриксні металопротеїнази, слизова оболонка, муцини, товста кишка, взаємозв'язок.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.

Робота є фрагментом науково-дослідної роботи «Мультидисциплінарний персоналізований підхід до менеджменту пацієнтів з коморбідною патологією та порушенням ментального здоров'я» (№ державної реєстрації 0124U000097).

Вступ.

Порушення мікробіоти кишечника є одним із чинників, який має значний ефект на появу, перебіг та прогресування таких кишкових захворювань, як синдром подразненого кишечника (СПК), неспецифічний виразковий коліт (НВК), а також аденоматозних поліпів товстої кишки (АПТК) [1, 2, 3]. Формування кишкового дисбактеріозу за рахунок дії певних факторів, змінює рівновагу між мікробіотою та людським організмом і призводить до трансформації цілісності кишкового бар'єру [4] завдяки модифікації продукції слизу, змін у синтезі коротколанцюгових жирних кислот, розладів у роботі мукозальної імунної відповіді [5, 6]. Крім того, не лише кількісний дисбаланс у мікробіоті, але і функціональні порушення мікрофлори товстої кишки (ТК) спонукають до хронічного запального процесу в кишковому епітелії [7, 8], який відіграє важливу роль у виникненні патологічних станів.

Слизова оболонка товстої кишки (СОТК) є першою лінією захисту кишечника від дисбіотичного впливу, яка регулює стабільність гомеостазу, що підтримується келихоподібними клітинами. Келихоподібні клітини продукують більше 20 підтипів муцинів, які забезпечують рівновагу та баланс у роботі кишечника [9, 10]. Більшістю авторів саме порушенню в функціонуванні муцинів (МУС), відводиться провідна роль у розвитку захворювань кишечника. Експресія муцинів регулюється неспецифічними факторами, такими як мікробіота [11], особливо, яка продукує бутират [9] та специфічними епігенетичними модуляторами [12]. Деякі науковці виявили, що при СПК підсилюється секреція муцинів, поряд із підвищеною проникністю в СОТК [13]. Інші автори пов'язують зміни в експресії муцинів із розвитком спонтанного коліту та диспластичними порушеннями [14]. Також доведена роль надмірної експресії MUC1 при розвитку та прогресуванні НВК, як і MUC5AC, ектопічна експресія якого спостерігалась при НВК, диспластичних змінах і новоутвореннях [12, 15].

Крім того, стабільність роботи СОТК залежить від таких регуляторних білків як цитокіни, фактори росту та матриксні металопротеїнази (ММР), які відносяться до протеолітичних ферментів і модулюють клітинний гомеостаз та імунні відповіді. ММР відіграють важливу роль у регуляції перебудови позаклітинного матриксу, запальних та неопластичних зрушеннях у тканинах і можуть впливати на формування кишкової патології. Будь які відхилення у функціонуванні ММР, що виникають під впливом зовнішніх та внутрішніх факторів, в тому числі і дисбіотичних порушень, можуть змінити сигнальні каскади, ініціювавши запальні процеси у ТК [16, 17, 18].

В свою чергу, деякі автори доводять захисну роль ММР у стабільності мікробіоти кишечника, зміни якої вагомо впливають на розвиток кишкових захворювань. Так експресія MMP-9 в епітелії ТК зберігає кишкову мікробіоту та сприяє нормалізації рівнів Bacteroidetes і Firmicutes, які складають основну частину здорової бактеріальної популяції кишечника. Надмірна експресія MMP-9 пов'язана зі зниженням екстрацелюлярної проникності [19]. Такі ММР, як MMP-1,-8,-9,-10,-12,-13 не визначаються в здоровій СОТК, а їх експресія впливає на репаративні процеси. Інші MMP-2,-3,-7 виконують захисні функції, регулюють клітинний гомеостаз та постійно експресуються при запальних захворюваннях кишечника [17]. А поява дисбалансу у співвідношенні ММР та тканинних інгібіторів матриксних металопротеїназ (ТІМР) порушує захисні функції епітелію, провокуючи виникнення захворювань [11, 17].

Таким чином, мікробіота ТК та її стабільність є важливим фактором у розвитку як функціональної, так і органічної кишкової патології. Зміни у продукції ММР, функціонуванні кишкового бар'єру, із відповідною продукцією муцинів, безпосередньо впливають на формування захворювань кишечника і можуть залежати від дисбактеріозу ТК. Тому визначення взаємозв'язків між дисбіотичними порушеннями, експресією муцинів, які забезпечують стабільність СОТК, а також продукцією ММР, які модифікують імунні відповіді та можуть провокувати появу хвороб ТК, допоможе своєчасно виявити схильність до кишкових захворювань та призначити в подальшому відповідну коригуючу терапію, що спонукає до поглибленого вивчення даних змін у наших хворих.

Мета дослідження.

Оцінити у пацієнтів із СПК, НВК та АПТК Полтавського регіону можливість взаємозв'язку між дисбіотичними порушеннями мікробіоти товстої кишки, активністю MMP-1,-3,-9, TIMP-1, морфологічними змінами та ступенем накопичення муцинів MUC1 і MUC5AC у COTK.

Об'єкт і методи дослідження.

У дослідження було включено 127 пацієнтів, які лікувалися в Полтавській обласній клінічній лікарні ім. М.В.Склясовського із 2018 по 2021 рік. Дослідження проводилося згідно з принципами Гельсінської декларації охорони прав людини, конвенції Ради Європи про права людини і біомедицину та положенням відповідних законів України. Протокол дослідження погоджено Локальним етичним комітетом для всіх, хто брав участь. Письмова інформована згода була отримана від усіх хворих, які брали участь у дослідженні. Діагноз СПК встановлювали відповідно рекомендацій Римських критеріїв IV, перегляду 2016 року. При встановленні діагнозу НВК керувалися Монреальською класифікацією, яка була адаптована Silverberg M.S. та Satsangi J. et al., 2005 р. Діагноз АПТК верифікували, використовуючи рекомендації ендоскопічної Паризької класифікації (2002 рік). Отримані результати, для виявлення предикторів появи неопластичних змін, порівнювали із групою пацієнтів із КРР, діагноз яким встановлювали відповідно наказу МОЗ України №703 від 12.07.2016 р.

Всім хворим проведено вивчення якісних або/та кількісних змін у бактеріальній флорі ТК за допомогою використання стандартних методів, із застосуванням наборів живильних середовищ, для визначення анаеробних та аеробних бактерій. Отримані результати порівнювали з даними 18 пацієнтів контрольної групи із колоректальним раком (КРР) та результатами 34 здорових осіб. Дисбіотичні відхилення дослідили у 48 хворих різних підтипів СПК, 36 пацієнтів, що мали АПТК, серед яких у 11 хворих, аденоматозні поліпи з'явилися на фоні СПК та 43 пацієнтів із НВК. Окремо вивчили одержані дані 6 хворих на НВК, які мали високий ступінь активності та прояви псевдополіпозу, що характеризували виражені запальні зміни COTK, за даними колоноскопії.

Враховуючи вагомий вплив виражених порушень мікробіому на перебіг та прогресування захворювань, можливий взаємозв'язок змін у кількісному вмісті MMP сироватки крові із порушеннями мікрофлори ТК, аналіз вмісту MMP проводили у пацієнтів, що мали субкомпенсовані та декомпенсовані дисбіотичні зміни (II та III ступеню) мікробіоти ТК [20], порівнюючи із загальною групою хворих, здоровими особами та КРР. Кількісне визначення MMP-1,-3,-9 та їх TIMP-1 сироватки крові проведено у 49 хворих, які мали дисбіотичні порушення мікрофлори ТК II та III ступеню із СПК, НВК, АПТК і контрольних груп здорових – 23 особи та 6 хворих із КРР. Визначення MMP виконано із використанням методики імуноферментного аналізу в лабораторії Українсько-німецького гастроентерологічного центру «ВУК-КІІВ», м. Київ. Використовували тест-системи Human MMP-1 ELISA kit (Корея), Human MMP-3 ELISA kit (USA), Human MMP-9 Quantikine ELISA (USA&Canada), Human TIMP-1 Platinum ELISA (Австрія).

Всім пацієнтам досліджуваних груп, для верифікації діагнозу, проводили ректороманоскопію (апарати НД – 5, Ре ВС – 3), колоноскопію (апарати WC-88WM, КУВО – 1, «Olympus – CF – 30L), де оцінювали стан COTK, виявляли наявність больового синдрому при дослідженні, виконували забір біопсійного матеріалу із послідувальною морфологічною діагностикою та дотриманням міжнародних стандартів. Для виявлення можливих схожих механізмів впливу на розвиток СПК, НВК та АПТК, у 21 хворого на НВК та 8 пацієнтів із СПК та АПТК проводили імуногістохімічне дослідження муцинів MUC1, MUC5AC в тканинах ТК відповідно до стандартизованої методики [21].

Серед пацієнтів із СПК переважали жінки (зі співвідношенням чоловіків/жінок 0,42). В інших групах переважали чоловіки. Відмінності між групами недовірогідні ($p > 0,05$). Середній вік пацієнтів контрольної групи становив $29,6 \pm 6,2$ рік, у хворих на СПК $38,4 \pm 5,1$ років, у пацієнтів із НВК $42,7 \pm 6,9$ років, у хворих на АПТК $47,8 \pm 6,1$ років. У групі порівняння хворих на КРР, середній вік становив $61,9 \pm 5,8$ років. Порівняно з контрольною групою здорових, у хворих всіх трьох досліджуваних груп достовірної різниці за віком не виявлено ($p > 0,05$). У той же час знайдено достовірну різницю у віці між хворими на СПК ($p = 0,003$), порівнюючи з групою порівняння хворих на КРР.

Статистичну обробку та аналіз визначення достовірності у отриманих результатах, проводили на персональному комп'ютері, використовуючи стандартні аналітичні програми Microsoft EXCEL (2010 р.), критерії t – Стюдента, відмінності вважалися достовірними статистично при визначенні ймовірності ($p \leq 0,05$).

Результати дослідження та їх обговорення.

За результатами нашого дослідження серед всіх обстежених груп виявили різні прояви дисбактеріозу (табл. 1). Найбільш виражені відхилення у мікробіоті ТК II та III ступенів визначено в групі хворих на НВК, які мали високу активність захворювання – 6 (100%) хворих, із достовірною різницею в порівнянні з всіма обстеженими пацієнтами ($p \leq 0,05$). В загальній групі хворих на НВК, дисбактеріоз II та III ступенів виявлено достовірно частіше – 30 (69,8%) пацієнтів, в порів-

Таблиця 1 – Порівняння компенсованих, субкомпенсованих та декомпенсованих (II та III ступеню) дисбіотичних змін мікрофлори товстої кишки в обстежених пацієнтів

	I ступінь дисбіозу		II та III ступені дисбіозу	
	n	%	n	%
СПК (n=48)	28	58,3**	15	31,3*
ПТК (n=36), із них:	15	41,7	13	36,1*
ПТК+СПК (n=11)	3	27,3	8	72,7
НВК (n=43), із них:	13	30,2***	30	69,8***
НВК, високої активності (n=6)	0	0	6	100*
Всього (n=127)	56	44,1	58	45,7
Контрольна група КРР (n=18)	6	33,3	10	55,6

Примітки: * – $p \leq 0,05$ – порівнюючи дисбіоз II та III ступенів у пацієнтів із СПК, загальної групи ПТК та ПТК, що виникли на фоні СПК; порівнюючи дисбіоз II та III ступенів серед всіх хворих та НВК із високою активністю; ** – $p \leq 0,02$ – порівнюючи дисбіоз у хворих на СПК I та II+III ступенів; *** – $p \leq 0,01$ – порівнюючи ступені дисбіозу пацієнтів із НВК I та II+III; порівнюючи дисбіоз II та III ступенів у хворих на ПТК та НВК; * – $p \leq 0,001$ – порівнюючи II та III ступені дисбіозу в групах СПК та НВК.

нянні із I ступенем дисбіозу при НВК ($p \leq 0,01$) та групами хворих, що мали II та III ступені дисбіозу при СПК – 15 (31,3%) хворих ($p \leq 0,001$) та у пацієнтів із ПТК – 13 (36,1%) хворих ($p \leq 0,01$) ($r=0,69$).

У хворих контрольної групи із КРР також визначено виражене зростання частоти II та III ступенів дисбактеріозу – 10 (55,6%) пацієнтів, але різниця не була достовірною, порівнюючи із I ступенем дисбактеріозу при КРР та II і III ступенів у хворих на СПК та ПТК ($p < 0,1$). У пацієнтів із СПК, дисбіоз II та III ступеню визначали достовірно рідше, в порівнянні із I ступенем при СПК ($p \leq 0,05$). Виявлено також достовірне погіршення стану мікробіоти у хворих на ПТК, що виникли на фоні СПК. В даній підгрупі, у хворих дисбіоз II та III ступеню виявляли достовірно частіше, в порівнянні із групами СПК та ПТК ($p \leq 0,05$), який мав позитивну кореляцію із зростанням дисбіотичних змін у таких пацієнтів ($r=0,88$), визначаючи вагомий вплив мікробіоти ТК на виникнення поліпів ТК на фоні СПК.

Враховуючи суттєвий ефект дисбіотичних порушень мікрофлори на появу та прогресування запалення в СOTK [7, 8], регуляцію гомеостазу та імунної системи кишечника [5, 6], можливий взаємозв'язок із MMP, які активізуються при запальних процесах [17] і виникненні неоплазії, впливають на перебіг кишкових захворювань [11, 16, 17], проаналізували особливості визначення MMP-1,-3,-9 та TIMP-1 у сироватці крові пацієнтів обстежених груп при виявленні II та III ступенів дисбактеріозу ТК. При розгляді частоти виявлення MMP-1,-3,-9 та TIMP-1 сироватки крові у групах хворих виявлені зміни поглиблювалися, в порівнянні з усіма пацієнтами та здоровими особами. Результати представлено в **таблиці 2**.

Відповідно представлених даних, при дисбактеріозі мікрофлори ТК II та III ступенів зберігалася висока кількість MMP-1 у крові серед всіх пацієнтів – $77,49 \pm 18,97$ ng/ml із достовірною різницею, порівнюючи зі здоровими – $7,52 \pm 5,06$ ng/ml ($p \leq 0,01$). Серед всіх обстежених груп пацієнтів, кількість MMP-1 помірно зростала при підвищенні ступеню дисбіозу, без достовірної різниці між групами. Найбільш виражені зміни, виявлено у пацієнтів із НВК – $91,78 \pm 12,65$ ng/ml ($p \leq 0,001$) та у хворих із НВК, які мали високий ступінь активності хвороби – $84,22 \pm 16,91$ ng/ml ($p \leq 0,01$), достовірні в порівнянні зі здоровими особами. Подібні результати отримано у контрольній групі КРР – $86,33 \pm 19,61$ ng/ml ($p \leq 0,01$), порівнюючи зі здоровими добровольцями, що підтверджує роль MMP-1 у розвитку та перебігу кишкових захворювань. Відповідно відхилень у вмісті MMP-3 та TIMP-1 сироватки крові, при вираженому дисбіозі ТК результати не мали достовірної різниці в порівнянні із загальною групою хворих та здоровими.

Кількісний вміст MMP-9 в сироватці крові при дисбіозі II та III ступенів мікрофлори ТК зростав серед всіх обстежених хворих, в порівнянні із загальними показниками. Середній вміст MMP-9 у всіх обстеже-

Таблиця 2 – Особливості вмісту MMP-1, MMP-3, MMP-9, TIMP-1 сироватки крові у обстежених хворих із II та III ступенями дисбактеріозу мікрофлори товстої кишки

Групи пацієнтів	n	Показники (ng/ml)			
		MMP-1	MMP-3	MMP-9	TIMP-1
НВК, із них:	24	$91,78 \pm 12,65^{**}$	$7,88 \pm 1,43$	$1319,36 \pm 128,69^{**}$	$997,48 \pm 387,47$
НВК високої активності	6	$84,22 \pm 16,91^{**}$	$7,92 \pm 1,32$	$1431,15 \pm 78,67^{***}$	$973,41 \pm 394,10$
АПТК, із них:	12	$77,62 \pm 14,79^{**}$	$6,63 \pm 1,52$	$597,82 \pm 196,18$	$985,83 \pm 378,59$
АПТК+СПК	7	$54,21 \pm 24,17$	$7,41 \pm 1,98$	$583,76 \pm 159,24$	$981,19 \pm 389,48$
СПК	13	$59,46 \pm 19,48^{**}$	$6,58 \pm 1,22$	$493,47 \pm 218,95$	$878,94 \pm 357,63$
Всього	49	$77,49 \pm 18,97^{**}$	$7,11 \pm 2,34$	$718,59 \pm 133,93^{*}$	$956,29 \pm 361,37$
КРР	6	$86,33 \pm 19,61^{**}$	$12,73 \pm 2,96$	$498,27 \pm 137,43^{**}$	$946,25 \pm 402,87$
Здорові	23	$7,52 \pm 5,06$	$6,56 \pm 1,01$	$334,49 \pm 113,38$	$579,15 \pm 137,62$

Примітки: * - $p \leq 0,05$ – порівняння всіх хворих із здоровими; • - $p \leq 0,01$ – група НВК високої активності в порівнянні з хворими СПК та групою ПТК+СПК; * - $p \leq 0,01$ група НВК в порівнянні з обстеженими групами, всіма хворими, зі здоровими особами та КРР; ** - $p \leq 0,01$ – порівнюючи контрольні групи; порівнянні НВК високої активності та КРР зі здоровими; *** - $p \leq 0,002$ – порівняння НВК високої активності із групою СПК та КРР; * - $p \leq 0,001$ – порівняння всіх пацієнтів зі здоровими; порівнюючи групи СПК, ПТК, НВК зі здоровими; порівняння НВК високої активності із всіма хворими та здоровими.

них хворих виходив за межі коливання референтних значень ($169 - 705$ ng/ml), при важкому дисбактеріозі ТК склав $718,59 \pm 133,93$ ng/ml із достовірною різницею, порівнюючи зі здоровими ($p \leq 0,05$). Найбільше середнє значення вмісту MMP-9 виявлено у хворих із НВК – $1319,36 \pm 128,69$ ng/ml ($r=+0,61$), яке достовірно відрізнялося від всіх обстежених хворих із дисбактеріозом мікрофлори ТК II та III ступенів здорових осіб ($p \leq 0,01$). У пацієнтів із НВК при вираженому дисбіозі зберігалася достовірна різниця із контрольною групою КРР, групами СПК, АПТК, та підгрупою АПТК, що виникли на фоні СПК ($p \leq 0,01$). В групі НВК, що мали високу активність захворювання та в 100% випадків субкомпенсовані або декомпенсовані дисбіотичні зміни ТК, середнє зростання вмісту MMP-9 було найбільш вираженим – $1431,15 \pm 78,67$ ng/ml, достовірно в порівнянні з всіма обстеженими хворими ($p \leq 0,001$), групою контролю із КРР та СПК ($p \leq 0,002$) і групою АПТК та підгрупою АПТК+СПК ($p \leq 0,01$). Достовірної різниці у дисбалансі вмісту MMP-1,-9/TIMP-1 і гендерних ознаках між пацієнтами, які мали виражені прояви дисбіозу ТК та легкі зміни мікрофлори ТК не визначено.

Таким чином, у пацієнтів обстежених груп при поглибленні дисбіотичних змін мікрофлори ТК виявлено збільшення вмісту MMP. Середні показники вмісту MMP-1 в сироватці крові при зростанні дисбіозу ТК підвищувалися у всіх групах, без достовірної різниці між ними, але достовірно відрізняючись від здорових. Найбільші зміни виявлено у вмісті MMP-9, які корелювали із зростанням дисбіозу у пацієнтів із НВК, та активністю захворювання, можливо мали суттєвий вплив на прогресування і перебіг хвороби.

Враховуючи можливість дисбіотичних порушень мікрофлори ТК ініціювати зміни у проникності епітелію СOTK, що може спровокувати появу захворювань кишечника та модифікувати апоптичні реакції у клітинах, тим самим провокуючи появу неоплазій [1, 5, 7], вивчено взаємозв'язок між ступенями дисбактеріозу мікрофлори ТК, морфологічними особливостями СOTK у обстежених пацієнтів із додатковим аналізом експресії MUC1 та MUC5AC.

При вивченні ендоскопічних особливостей у пацієнтів обстежених груп при різних ступенях дисбіозу

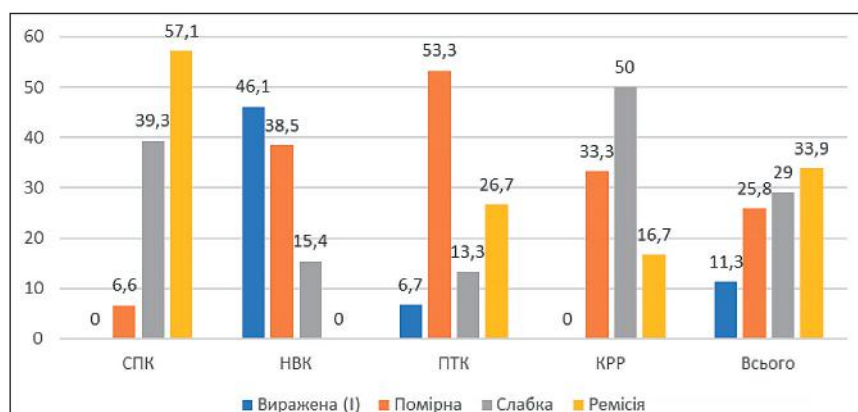


Рисунок 1 – Взаємозв'язок дисбіотичного порушення мікрофлори ТК I ступеню із гостротою проявів морфологічних змін СОТК у обстежених пацієнтів (%).

ТК, виявлено збільшення частоти появи больового синдрому при підвищенні дисбіотичних порушень в мікрофлорі ТК. Достовірні зміни визначено у пацієнтів із СПК, у яких при II та III ступенях дисбіозу відмічалась біль при обстеженні у 13 (86,7%) хворих, на відміну від I ступеню дисбактеріозу – 9 (32,1%) пацієнтів ($p \leq 0,01$). Крім цього, у хворих із СПК при підсиленні дисбіотичних порушень в ТК у пацієнтів в 100% випадків спостерігали ендоскопічні зміни в СОТК, на відміну від I ступеню – 10 (35,7%) хворих ($p \leq 0,001$). Схожі відхилення виявлено і при ПТК – 9 (69,2%) пацієнтів при II та III ступенях дисбактеріозу та 4 (26,7%) хворих при I ступені дисбіозу мікрофлори ТК ($p \leq 0,05$). У хворих із НБК, незалежно від дисбіотичних змін, в 100% випадків визначено ендоскопічні порушення в СОТК.

Відповідно отриманих даних ендоскопії ТК у пацієнтів із II та III ступенями дисбіозу при СПК достовірно зростала частота виявлення вогнищевої поверхневої гіперемії слизової оболонки – 10 (66,7%) хворих, в порівнянні із I ступенем – 6 (21,4%) хворих ($p \leq 0,01$), без достовірної різниці в інших групах обстеження. У пацієнтів із НБК при II та III ступенях дисбіозу ТК поява кровоточивості СОТК зростала до 70,0% (в загальній групі – 41 (63,1%) хворий), частіше визначали дифузну еритему слизової оболонки – 24 (80,0%) хворих (в загальній групі 47 (72,3%) хворих), але різниця в порівнянні із I ступенем дисбіозу не була достовірною ($p > 0,05$). Гнійний ексудат – 8 (26,7%) пацієнтів, визначено тільки у хворих із вираженими проявами дисбіозу мікрофлори ТК при НБК, що погіршувало перебіг захворювання та потребувало додаткової терапії.

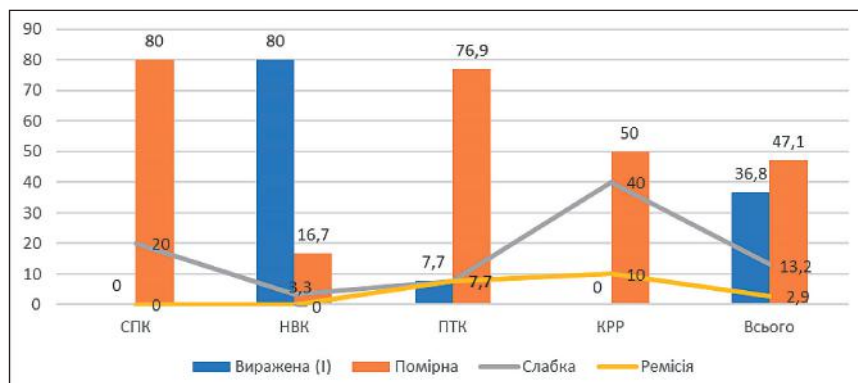


Рисунок 2 – Взаємозв'язок дисбіотичного порушення мікрофлори ТК II+III ступенів із гостротою проявів морфологічних змін СОТК у обстежених пацієнтів (%).

Для визначення можливо-го впливу дисбактеріозу ТК на морфологічні зміни СОТК при захворюваннях кишечника, проаналізовано гостроту процесів за даними отриманої морфології при гістологічному дослідженні (рис. 1-2). Відповідно отриманих даних, серед всіх обстежених груп пацієнтів із II та III ступенями дисбіозу у 25 (36,8%) хворих, достовірно частіше виявляли гострі прояви ураження СОТК, які проявлялися виразністю інфільтрації з підвищеною кількістю поліморфноядерних лейкоцитів, появою крипт абсцесів, мікроерозій, порівнюючи із легкими дисбіотичними порушеннями легкого ступеню – 7 (11,3%) хворих ($p \leq 0,001$).

Активність морфологічних проявів ураження СОТК достовірно зростала при II+III ступенях дисбіозу у 32 (47,1%) хворих, порівнюючи із I ступенем – 16 (25,8%) пацієнтів, серед всіх обстежених груп при помірних проявах гостроти процесу ($p \leq 0,02$). В той же час, при I ступені дисбактеріозу мікрофлори ТК не достовірно зростала частота виявлення слабого ступеню ураження СОТК, із відсутністю виразок, ерозій, помірною клітинною інфільтрацією із поодинокими скупченнями – 18 (29,0%) хворих ($p > 0,05$) та достовірною різницею при виявленні ремісії – 21 (33,9%) хворий ($p \leq 0,05$), порівнюючи із вираженим дисбіозом.

Серед обстежених груп, асоціацію дисбіозу II та III ступенів із гостротою процесу ураження СОТК із вираженими проявами виявлено у хворих на НБК – 24 (80,0%) пацієнти, порівнюючи із I ступенем дисбактеріозу мікрофлори ТК – 6 (46,1%) хворих ($p \leq 0,05$). У хворих із СПК достовірну різницю визначено, щодо зростання помірних проявів гостроти процесу в СОТК при II+III ступенях дисбіозу – 12 (80,0%) пацієнтів ($p \leq 0,001$), порівнюючи із I ступенем дисбактеріозу, точний критерій Фішера ($p \leq 0,0001$). У хворих на ПТК, також виявлено схожі зміни, але не визначено достовірної різниці ($p > 0,05$).

Таким чином, у обстежених пацієнтів, зростали запальні процеси в СОТК при поглибленні дисбіозу мікрофлори ТК, найбільшу залежність виявлено щодо вираженої гостроти проявів у хворих на НБК, та помірних змін гостроти процесу для пацієнтів із СПК. Дані особливості підтверджувалися морфологічними відхиленнями в слизовій оболонці ТК. В групі хворих НБК, які мали II та III ступені дисбактеріозу ТК визначено виражене зниження PAS-реакції келихоподібних клітин, іноді відсутність даної реакції – 11 (78,6%) хворих, достовірно в порівнянні з хворими I ступеню дисбіозу – 2 (28,6%) пацієнти ($p \leq 0,05$).

При оцінці ступеню накопичення в СОТК MUC1 і MUC5 AC

у хворих із НВК, що мали виражені прояви дисбіозу, достовірно зростала частота виявлення слабкої та відсутньої експресії MUC1 в епітелії крипт – 12 (57,1%) хворих, порівнюючи із I ступенем дисбіозу ($p \leq 0,05$), які підтверджують зниження захисних функцій слизової оболонки ТК та можливість впливу проявів дисбіозу на перебіг хвороби. Вміст MUC5 AC в епітелії ТК у пацієнтів різного ступеню дисбіозу не мав достовірної різниці. У пацієнтів із СПК та ПТК достовірних змін у вмісті муцинів, які оцінювалися відповідно PAS-реакції келихоподібних клітин та ступеню накопичення муцинів MUC1 і MUC5 AC не визначено.

Висновки.

Отже, у обстежених пацієнтів виявлено зростання вмісту матричних металопротеїназ сироватки крові при поглибленні дисбактеріозу мікрофлори ТК. Кількісні показники MMP-1 сироватки крові при II та III ступенях дисбіозу ТК підвищувалися у всіх груп хворих. Кількісний вміст MMP-9 мав позитивну кореляцію із поглибленням дисбіотичних порушень у пацієнтів із НВК та зростанням активності захворювання. Підсилення дисбіотичних відхилень у мікробіомі,

супроводжувалися збільшенням гостроти ураження СOTK як у хворих на СПК, так і при НВК, у яких також визначено різке зниження експресії MUC1 у епітелії, що погіршувало захисні властивості СOTK. Виявлення одночасного порушення вмісту MMP-1,-9 сироватки крові, підвищення гостроти процесу за даними гістологічного дослідження СOTK при зростанні ступеню дисбактеріозу, визначає присутність взаємозв'язку між імунологічними, морфологічними змінами та порушеннями мікробіому у обстежених пацієнтів і має негативний прогноз щодо прогресування та перебігу захворювань.

Перспективи подальших досліджень.

В подальшому планується розробка терапевтичних схем корекції ведення пацієнтів із урахуванням можливого попередження прогресування захворювань в залежності від особливостей виявленого взаємозв'язку між порушеннями мікрофлори товстої кишки, рівнем матричних металопротеїназ сироватки крові та морфологічними особливостями слизового бар'єру кишечника.

References / Література

- Li D, Gao C, Zhang F, Yang R, Lan C, Ma Y, et al. Seven facts and five initiatives for gut microbiome research. *Protein Cell*. 2020 Jun 11(6):391-400. DOI: [10.1007/s13238-020-00697-8](https://doi.org/10.1007/s13238-020-00697-8).
- Zhdan VM, Kyp'ian OA, Babanina Mlu, Shylkina LM, Katepenchuk OI. Mozhlyvosti kopeksii dysbiotychnykh zmin ppy upazhenni suhlobov ta khpebta u khvopykh iz zapalnymy zakhvopiuvanniamy kyshechnyka. *Bulletin of problems biology and medicine*. 2020;4(158):131-6. DOI: [10.29254/2077-4214-2020-4-158-131-136](https://doi.org/10.29254/2077-4214-2020-4-158-131-136). [in Ukrainian].
- Kyrian OA, Derkach IA, Dorofeyev AE, Rudenko MM. Changes in the intestinal microbiota in patients with ulcerative colitis and irritable bowel syndrome combined with urolithiasis. *World of Medicine and Biology*. 2021;3(77):77-81. DOI: [10.26724/2079-8334-2021-3-77-77-81](https://doi.org/10.26724/2079-8334-2021-3-77-77-81).
- Dorofeev AE, Vasylenko IV, Diadyk OO, Snisarevskyi PP, Kyp'ian OA, Dorofeeva AA, et al. Morfolohichni aspekty diahnostryky nespetsyfychnoho vyrazkovoho kolitu: suchasnyi pohliad na problemu. *Modern gastroenterology*. 2017;4:23-32. [in Ukrainian].
- Wang Q, Qi Y, Shen W, Xu J, Wang L, Chen S, et al. The Aged Intestine: Performance and Rejuvenation. *Aging Dis*. 2021 Oct 1;12(7):1693-1712. DOI: [10.14338/AD.2021.0202](https://doi.org/10.14338/AD.2021.0202).
- Hansson GC. Mucins and the Microbiome. *Annu Rev Biochem*. 2020 Jun 20;89:769-93. DOI: [10.1146/annurev-biochem-011520-105053](https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-011520-105053).
- Thevaranjan N, Puchta A, Schulz C, Naidoo A, Szamosi JC, Verschoor CP, et al. Age-Associated Microbial Dysbiosis Promotes Intestinal Permeability, Systemic Inflammation, and Macrophage Dysfunction. *Cell Host Microbe*. 2017 Apr 12;21(4):455-66. DOI: [10.1016/j.chom.2017.03.002](https://doi.org/10.1016/j.chom.2017.03.002).
- Zeng MY, Inohara N, Nuñez G. Mechanisms of inflammation-driven bacterial dysbiosis in the gut. *Mucosal Immunol*. 2017 Jan;10(1):18-26. DOI: [10.1038/mi.2016.75](https://doi.org/10.1038/mi.2016.75).
- Herath M, Hosie S, Bornstein JC, Franks AE, Hill-Yardin EL. The Role of the Gastrointestinal Mucus System in Intestinal Homeostasis: Implications for Neurological Disorders. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020 May 28;10:248. DOI: [10.3389/fcimb.2020.00248](https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00248).
- Dowdell AS, Colgan SP. Metabolic Host-Microbiota Interactions in Autophagy and the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease (IBD). *Pharmaceuticals (Basel)*. 2021 Jul 22;14(8):708. DOI: [10.3390/ph14080708](https://doi.org/10.3390/ph14080708).
- Glover JS, Ticer TD, Engevik MA. Characterizing the mucin-degrading capacity of the human gut microbiota. *Scientific Reports*. 2022 May 19;12(1):8456. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-11819-z>.
- Pothuraju R, Krishn SR, Gautam SK, Pai P, Ganguly K, Chaudhary S, et al. Mechanistic and Functional Shades of Mucins and Associated Glycans in Colon Cancer. *Cancers (Basel)*. 2020 Mar 11;12(3):649. DOI: [10.3390/cancers12030649](https://doi.org/10.3390/cancers12030649).
- D'Antongiovanni V, Pellegrini C, Fornai M, Colucci R, Blandizzi C, Antoniolli L, et al. Intestinal epithelial barrier and neuromuscular compartment in health and disease. *World J Gastroenterol*. 2020 Apr 14;26(14):1564-79. DOI: [10.3748/wjg.v26.i14.1564](https://doi.org/10.3748/wjg.v26.i14.1564).
- Lee JS, Wang RX, Alexeev EE, Colgan SP. Intestinal Inflammation as a Dysbiosis of Energy Procurement: New Insights into an Old Topic. *Gut Microbes*. 2021;13(1):1-20. DOI: [10.1080/19490976.2021.1880241](https://doi.org/10.1080/19490976.2021.1880241).
- Krishn SR, Kaur S, Smith LM, Johansson SL, Jain M, Patel A, et al. Mucins and associated glycan signatures in colon adenoma-carcinoma sequence: Prospective pathological implication(s) for early diagnosis of colon cancer. *Cancer Lett*. 2016 May 1;374(2):304-14. DOI: [10.1016/j.canlet.2016.02.016](https://doi.org/10.1016/j.canlet.2016.02.016).
- O'Shea NR, Smith AM. Matrix metalloproteases role in bowel inflammation and inflammatory bowel disease: An up to date review. *Inflamm. Bowel Dis*. 2014;20:2379-93. DOI: [10.1097/MIB.0000000000000163](https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000000163).
- Jonsson A, Hjalmarsson C, Falk P, Lois Ivarsson M. Stability of matrix metalloproteinase-9 as biological marker in colorectal cancer. *Med Oncol*. 2018 Mar 9;35(4):50. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12032-018-1109-4>.
- Kaydashev IP. Tsitokinovyy signalnyy modul pri vospalitelnom otvete. *Zdorovia Ukrainy*. 2012;3:26-32.
- Pujada A, Walter L, Patel A, Bui TA, Zhang Z, Zhang Y, et al. Matrix metalloproteinase MMP9 maintains epithelial barrier function and preserves mucosal lining in colitis associated cancer. *Oncotarget*. 2017 Oct 17;8(55):94650-65. DOI: [10.18632/oncotarget.21841](https://doi.org/10.18632/oncotarget.21841).
- Iamborko HV, Ielynska NO, Hudzenko TV. Mikroekolohiia liudyny: kurs lektsii. Odessa: Odes.nai. un-t im. I.I.Mechnykova; 2018. 44 s. [in Ukrainian].
- Kaur S, Shimizu T, Baine MJ, Kumar S, Batra SK. Immunohistochemistry of pancreatic neoplasia. *Methods Mol Biol*. 2013;980:29-42. DOI: [10.1007/978-1-62703-287-2_3](https://doi.org/10.1007/978-1-62703-287-2_3).

ОСОБЛИВОСТІ ВЗАЄМОЗВ'ЯЗКУ МІКРОБІОМУ, МАТРИКСНИХ МЕТАЛОПРОТЕЇНАЗ ТА МОРФОЛОГІЧНИХ ЗМІН ЕПІТЕЛІУ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ ФУНКЦІОНАЛЬНОЮ ТА ОРГАНІЧНОЮ КИШЕЧНОЇ ПАТОЛОГІЄЮ

Кир'ян О. А.

Резюме. Вступ. Порушення мікробіоти є одним із факторів, який має значний ефект на появу, перебіг та прогресування таких захворювань, як синдром подразненого кишечника (СПК), неспецифічний виразковий

коліт (НВК), а також аденоматозних поліпів товстої кишки (АПТК). Визначення взаємозв'язків між дисбіозом, експресією муцинів, які забезпечують стабільність слизової оболонки, продукцією матриксних металопротеїназ, що модифікують імунні відповіді та можуть провокувати появу хвороб, допоможе своєчасно виявити схильність до кишкових захворювань та призначити в подальшому відповідну коригуючу терапію. *Метою нашої роботи* було виявити у пацієнтів із СПК, НВК та АПТК взаємозв'язок між дисбіозом, активністю матриксних металопротеїназ -1,-3,-9 і тканинним інгібітором матриксних металопротеїназ-1 сироватки крові, морфологічними змінами та ступенем накопичення муцинів MUC1 і MUC5AC у епітелії кишечника. *Об'єкт і методи обстеження.* Було обстежено мікробіотичні порушення у 127 пацієнтів із СПК, НВК, АПТК. Результати порівнювали з даними обстеження 34 здорових осіб та 18 пацієнтами з КРР. У 49 хворих, які мали II та III ступені дисбактеріозу визначали кількісний вміст MMP-1,-3,-9 та їх TIMP-1 сироватки крові, оцінювали стан епітелію за даними гістології, із дослідження MUC1, MUC5AC в тканинах ТК у 21 хворого на НВК та 8 пацієнтів із СПК та АПТК, за допомогою імуногістохімічного методу. *Результати.* Найбільш виражені відхилення у мікробіоті товстої кишки визначено у хворих на НВК із високою активністю хвороби ($p \leq 0,05$), в загальній групі хворих на НВК ($p \leq 0,01$) ($r=0,69$) та у хворих на ПТК, що виникли на фоні СПК, в порівнянні із групами СПК та ПТК ($p \leq 0,05$) ($r=0,88$). При дисбактеріозі II та III ступенів зростала кількість MMP-1 у крові серед всіх пацієнтів – $77,49 \pm 18,97$ ng/ml порівнюючи зі здоровими ($p \leq 0,01$), найбільш виражено при НВК – $91,78 \pm 12,65$ ng/ml ($p \leq 0,001$) та при НВК із високим ступенем активності – $84,22 \pm 16,91$ ng/ml ($p \leq 0,01$). Подібні результати отримано у групі КРР – $86,33 \pm 19,61$ ng/ml ($p \leq 0,01$). Середній вміст MMP-9 у всіх хворих виходив за межі коливання референтних значень та при важкому дисбактеріозі ТК склав $718,59 \pm 133,93$ ng/ml ($p \leq 0,05$). Найбільше зростання MMP-9 виявлено при НВК ($p \leq 0,01$) ($r=+0,61$), більш виражене при високій активності – $1431,15 \pm 78,67$ ng/ml ($p \leq 0,001$). Серед обстежених груп виявлено асоціацію дисбіозу II та III ступенів із вираженою гостротою процесу ураження СОТК при НВК ($p \leq 0,05$), що супроводжувалася різким зниженням PAS-реакції келихоподібних клітин ($p \leq 0,05$), із помірною гостротою процесу при СПК ($p \leq 0,001$), порівнюючи із I ступенем дисбіозу, критерій Фішера ($p \leq 0,0001$). При оцінці накопичення MUC1 і MUC5 AC в слизовій оболонці у хворих із НВК при II та III ступенях дисбіозу, достовірно зростала частота виявлення слабкої або відсутньої експресії MUC1 в епітелії крипт, порівнюючи із I ступенем дисбіозу ($p \leq 0,05$), що погіршувало захисні функції слизового бар'єру кишечника. *Висновки.* Таким чином, аналіз отриманих даних свідчить про наявність взаємозв'язку між зростанням ступеню дисбіозу, кількісним вмістом матриксних металопротеїназ MMP-1,-9 сироватки крові та підсиленням гостроти ураження епітелію товстої кишки, найбільш виражено у пацієнтів із НВК. Виявлені зміни мають негативний прогноз, щодо перебігу та прогресування кишкових захворювань і потребують розробки коригуючої терапії.

Ключові слова: мікробіота, матриксні металопротеїнази, слизова оболонка, муцини, товста кишка, взаємозв'язок.

PECULIARITIES OF THE RELATIONSHIP BETWEEN MICROBIOME, MATRIX METALLOPROTEINASES AND MORPHOLOGICAL CHANGES OF EPITHELIUM IN PATIENTS WITH FUNCTIONAL AND ORGANIC INTESTINAL PATHOLOGY

Kyrian O. A.

Abstract. *Introduction.* Disruption of microbiota is one of the factors that has a significant effect on the appearance, course and progression of such diseases as irritable bowel syndrome (IBS), ulcerative colitis (UC), and adenomatous colon polyps (ACP). Determining of relationships between dysbiosis, expression of mucins that ensure the stability of the mucous membrane, and the production of matrix metalloproteinases that modify immune responses and can provoke the appearance of diseases, will help to timely detect a predisposition to intestinal diseases and to prescribe appropriate advanced therapy in the future. *The aim of our research* was to determine the relationship between dysbiotic disturbances, the activity of matrix metalloproteinases-1,-3,-9 and the tissue inhibitor of matrix metalloproteinases-1 in blood serum, morphological changes and the degree of accumulation of mucins MUC1 and MUC5AC in the epithelium intestines in patients with IBS, UC and ACP. *Material and methods.* Microbiotic disorders of colon were examined in 127 patients with IBS, UC, ACP. The results were compared with the examination data of 34 healthy persons and 18 patients with colorectal cancer (CRC). In 49 patients who had II and III degrees of dysbacteriosis, the quantitative content of MMP-1,-3,-9 and their TIMP-1 blood serum was determined, the state of epithelium was evaluated according to the results of histology, after studying MUC1, MUC5AC in colon tissues in 21 patients with UC and 8 patients with IBS and ACP, using the immunohistochemical method. *The results.* The most pronounced deviations in the colon microbiota were identified in patients with UC with high disease activity ($p \leq 0.05$), in the general group of patients with UC ($p \leq 0.01$) ($r=0.69$) and in patients with ACP that arose on the background of IBS, compared to ACP and IBS groups ($p \leq 0.05$) ($r=0.88$). With grade II and III dysbacteriosis, the amount of MMP-1 in the blood increased among all patients – 77.49 ± 18.97 ng/ml compared with healthy ones ($p \leq 0.01$), most pronounced in UC – 91.78 ± 12.65 ng/ml ($p \leq 0.001$) and at high-activity UC – 84.22 ± 16.91 ng/ml ($p \leq 0.01$). Similar results were obtained in the CRC group – 86.33 ± 19.61 ng/ml ($p \leq 0.01$). The average content of MMP-9 in all patients was outside of the range of reference values and with severe colon dysbacteriosis the content was 718.59 ± 133.93 ng/ml ($p \leq 0.05$). The largest increase in MMP-9 was found in UC ($p \leq 0.01$) ($r=+0.61$), more pronounced at high activity – 1431.15 ± 78.67 ng/ml ($p \leq 0.001$). Among the examined, the association of dysbiosis of the II and III degrees with the pronounced severity of the process of damage to the epithelium in UC ($p \leq 0.05$), which was accompanied by a sharp decrease in the PAS-reaction of goblet cells ($p \leq 0.05$), with the moderate severity of the process in IBS ($p \leq 0.001$), comparing with the grade I dysbiosis, Fisher's test ($p \leq 0.0001$). When assessing the accumulation of MUC1 and MUC5 AC in the mucous membrane in patients with UC with II and III degrees of dysbiosis, detection frequency of weak or absent expression of MUC1 in the crypt epithelium significantly increased, compared with I

degree of dysbiosis ($p \leq 0.05$), which impaired the protective functions of the intestinal mucosal barrier. **Conclusions.** Thus, the analysis of the obtained data indicates the existence of a relationship between the increase of the degree of dysbiosis, the quantitative content of matrix metalloproteinases MMR-1,-9 of blood serum and the aggravation of epithelial damage of the large intestine, most pronounced in patients with UC. The detected changes have a negative prognosis regarding the course and progression of intestinal diseases and require the development of advanced therapy.

Key words: microbiota, matrix metalloproteinases, mucous membrane, mucins, colon, relationship.

ORCID and contributionship: / ORCID автора та його внесок до статті:

Kyrian O. A.: <https://orcid.org/0000-0003-4855-4208> ^{ABCDEF}

Corresponding author / Адреса для кореспонденції

Kyrian Olena Anatoliivna / Кир'ян Олена Анатоліївна

Poltava State Medical University / Полтавський державний медичний університет

Ukraine, 36000, Poltava, 23 Shevchenko str / Адреса: Україна, 36000, м. Полтава, вул. Шевченка 23

Tel.: 0954503535 / Тел.: 0954503535

E-mail: hel_kirjan@i.ua

A – Work concept and design, B – Data collection and analysis, C – Responsibility for statistical analysis, D – Writing the article, E – Critical review, F – Final approval of the article / A – концепція роботи та дизайн, B – збір та аналіз даних, C – відповідальність за статистичний аналіз, D – написання статті, E – критичний огляд, F – остаточне затвердження статті.

Received 14.08.2023 / Стаття надійшла 14.08.2023 року

Accepted 01.02.2024 / Стаття прийнята до друку 01.02.2024 року

DOI 10.29254/2077-4214-2024-1-172-179-184

UDC 616.37:613.863]–092.9–092:612.345

Kovaltsova M. V., Kucheriavchenko M. O., Huliieva V. K., Buha V. V., Boiko I. S., Sliusarenko D. S., Butko V. V.

BIOCHEMICAL CHANGES IN THE ENDOCRINE PART OF THE PANCREAS UNDER THE EFFECT OF A HYPERCALORIC DIET IN THE EXPERIMENT

Kharkiv National Medical University (Kharkiv, Ukraine)

mv.kovaltsova@knmu.edu.ua

Hypercaloric nutrition of rats negatively affects the functional state of the endocrine part of the pancreas and leads to an imbalance in blood plasma parameters. Malnutrition leads to hyperinsulinemia, while glycemia levels remain elevated, requiring the production of even more insulin by pancreatic β -cells. Gradually, chronic compensatory hyperinsulinemia develops, which is secondary and has an adaptive value for reducing glycemia. The absence of adequate glucose levels for insulin release leads to a shift in the balance between hormones towards counterinsulin factors that stimulate lipolysis, glycolysis, and gluconeogenesis, with the subsequent development of hyperglycemia. High levels of unesterified fatty acids inhibit glycolysis. Ultimately, the metabolism of fatty acids produces ketone bodies, which reflect intracellular glucose deficiency and, under conditions of oxygen deficiency, can damage cell membranes and disconnect oxidation and phosphorylation in the mitochondria of cells. High levels of unesterified fatty acids and glucose have a joint inhibitory effect on the use of each other as an energy source: when unesterified fatty acids are available as energy substrates, their metabolism causes high levels of acetyl-CoA in mitochondrial cells, which leads to impaired use of glucose as an energy source. The established hormonal-substrate relationships due to the consumption of excessive amounts of fats and carbohydrates in the diet of rats reflect pancreatic hyperfunction and associated metabolic disorders, which is a risk factor for the development of functional pancreatic disorders in animals.

Key words: hypercaloric diet, endocrine part, pancreas, rats, experiment.

Connection of the publication with planned research works.

The publication is related to the research work "Pathogenesis of the effect of exogenous harmful factors on the morphofunctional state of the pancreas", state registration number 012U002381.

Introduction.

Pancreatic gland pathology (PG) is a category of socially significant diseases with epidemic growth and prevalence. Disorders of the endocrine function of the pancreas often lead to serious metabolic disorders and severe complications [1]. Pancreatic pathology resulting

from overeating is a multifactorial disease that has both genetic and exogenous and endogenous components. Scientists suggest that exposure to endocrine factors and chemicals can alter the structure and function of adipose tissue, liver, pancreas, gastrointestinal tract, and brain, thus changing the control point for metabolic control [2]. The importance of oxidative stress reactions associated with hyperglycemia in the phenomenon of «metabolic memory» is also known. Scientists have clarified the main pathways of changes in glucose metabolism, oxidative damage to pancreatic β -cells, and endothelial dysfunction due to oxidative stress [3].