

# ZABURZENIA WCHŁANIANIA KWASÓW ŻÓLCIOWYCH W NIESWOISTYCH ZAPALENIACH JELIT

Magdalena Panek-Jeziorna

## **STRESZCZENIE**

W świetle wyników aktualnych badań kwasy żółciowe odgrywają istotną rolę w regulacji szeregu funkcji jelit z uwzględnieniem motoryki, czucia trzewnego, sekrecji, odpowiedzi zapalnej oraz integralności bariery jelitowej. Szczególne znaczenie mają także złożone interakcje kwasów żółciowych z mikrobiotą jelitową, która uczestniczy w ich przemianach. Zaburzenia wchłaniania kwasów żółciowych występują u około 30% chorych z przewlekłą biegunką. Nieswoiste zapalenia jelit (NZJ) to grupa przewlekłych chorób zapalnych przewodu pokarmowego, które charakteryzują się przebiegiem z okresami zaostrzeń i remisji. Do najczęstszych chorób w tej grupie należy wrzodziejące zapalenie jelita grubego (WZJG) oraz choroba Leśniowskiego-Crohna (ChLC). Dotychczas udowodniono udział zaburzeń wchłaniania kwasów żółciowych w patogenezie biegunki u pacjentów z ChLC, zwłaszcza po resekcji jelita krętego. Nadmiar niewchłoniętych kwasów żółciowych dostający się do światła jelita grubego stymuluje wydzielanie wody i elektrolitów w okrężnicy, a także pobudza czynność skurczową jelita. Wyniki nielicznych badań dotyczących zaburzeń wchłaniania kwasów żółciowych w WZJG pozostają niejednoznaczne. Niejasna jest także rola kwasów żółciowych w patogenezie innych niż biegunka objawów w przebiegu NZJ.

Dokładniejsze poznanie mechanizmów regulacji syntezy i krążenia jelitowo-wątrobowego kwasów żółciowych umożliwiło wykorzystanie w diagnostyce zaburzeń ich wchłaniania nowego testu jakim jest ocena stężenia w surowicy jelitowego czynnika wzrostu fibroblastów 19 (FGF19). Czynnikiem ten uwalniany jest przez komórki jelita krętego w odpowiedzi na aktywację receptora FXR przez wchłonięte kwasy żółciowe. W przypadku zaburzeń wchłaniania kwasów żółciowych dochodzi do obniżenia stężenia FGF19, co wywołuje wzmożenie syntezy kwasów żółciowych w wątrobie. Może to dodatkowo nasilać objawy przez wzrost ich stężenia w świetle jelita grubego. Jednocześnie wykazano, że stan zapalny hamuje aktywację FXR, natomiast agoniści tego receptora wywierają efekt

przeciwwzpalny. W związku z tym zaburzenia osi jelitowo-wątrobowej i interakcji FXR-FGF19 mogą mieć ważne implikacje diagnostyczno-terapeutyczne w NZJ.

Głównym celem pracy była ocena zaburzeń wchłaniania kwasów żółciowych i fluktuacji ich stężenia w różnych fazach dwóch głównych postaci NZJ – ChLC i WZJG – przy użyciu nowego markera jakim jest stężenie FGF19 w surowicy. Następnie oceniono korelacje pomiędzy stężeniem FGF19 a głównymi objawami NZJ, wskaźnikami aktywności klinicznej i endoskopowej oraz laboratoryjnymi wykładnikami stanu zapalnego – stężeniem kalprotektyny w stolcu oraz CRP w surowicy.

Badania przeprowadzono u 81 osób, w tym 62 chorych z NZJ (33 M i 29 K, średni wiek  $40,0 \pm 15,8$ ) oraz 19 osób w grupie kontrolnej (8 M i 11 K, średni wiek:  $39,9 \pm 13,0$ ). Pacjentów z NZJ na podstawie postaci i aktywności choroby podzielono na 4 podgrupy: WZJG – remisja (WZJG-R, n=15), WZJG – zaostrzenie (WZJG-Z, n=16), ChLC – remisja (ChLC-R, n=15) i ChLC – zaostrzenie (ChLC, n=16). U każdego chorego przeprowadzono szczegółowy wywiad kliniczny na podstawie kwestionariusza. Dominujący typ wypróżnienia oraz średni poziom natężenia bólu brzucha w okresie 7 dni przed badaniem oceniono odpowiednio na podstawie Bristolskiej Skali Uformowania Stolca oraz analogowej skali wizualnej (VAS). Aktywność kliniczną u pacjentów z WZJG oceniono przy użyciu wskaźnika Rachmilewicza, a u pacjentów z ChLC – indeksu CDAI. Aktywność endoskopową WZJG określono na podstawie klasyfikacji Mayo, a ChLC – korzystając z uproszczonej skali SES-CD. U wszystkich chorych wykonano podstawowe badania laboratoryjne krwi. Ponadto, u wszystkich pacjentów oraz osób z grupy kontrolnej oznaczono stężenie FGF19 w surowicy oraz kalprotektyny w stolcu przy użyciu metod immunoenzymatycznych (testy ELISA).

W przeprowadzonych badaniach tylko u 40% chorych z WZJG-R stwierdzono remisję endoskopową. W podgrupie WZJG-Z większość chorych (75%) miała zmiany zapalne w zakresie całego jelita grubego. W przypadku pacjentów z ChLC-R u większości osób (73%) zmiany zlokalizowane były w końcowym odcinku jelita krętego, natomiast u 27% obejmowały okrężnicę. Wśród pacjentów z ChLC-Z u 79% zmiany zapalne obejmowały zarówno końcowy odcinek jelita krętego, jak i okrężnicę.

Analizując stężenie FGF19 w surowicy w grupie chorych z WZJG wykazano wyraźny trend, iż stężenie FGF19 było niższe w WZJG-Z (114,3 pg/ml) niż w WZJG-R (175,3 pg/ml) ( $p=0,093$ ). Mediana stężenia w grupie kontrolnej wynosiła 151,6 pg/ml, ale nie wykazano istotnych statystycznie różnic między grupą kontrolną a WZJG-Z i WZJG-R. U większości chorych z WZJG pomimo fluktuacji stężenia FGF19 zależnych od aktywności choroby jego

wartości nie przekraczały granic normy. W podgrupie pacjentów z ChLC-Z stężenie FGF19 w surowicy było istotnie niższe niż w grupie kontrolnej (56,5 vs 151,6 pg/ml,  $p=0,043$ ). Obniżone stężenie FGF19 w surowicy wykazano u 38% pacjentów z ChLC-Z oraz 13% pacjentów z ChLC-R. Stwierdzono ujemną korelację między stężeniem FGF19 w surowicy a liczbą wypróżnień w ciągu doby i typem uformowania stolca oraz aktywnością kliniczną choroby u pacjentów z ChLC. Nie wykazano korelacji między stężeniem FGF19 a aktywnością zmian endoskopowych w obu postaciach NZJ. U pacjentów z WZJG stwierdzono ujemną korelację między stężeniem FGF19 w surowicy a dolegliwościami bólowymi jamy brzusznej ( $R= -0,48$ ,  $p=0,007$ ) oraz markerami stanu zapalnego w postaci stężenia kalprotektyny w stolcu ( $R= -0,38$ ,  $p=0,036$ ) i CRP w surowicy ( $R= -0,36$ ,  $p=0,045$ ).

Na podstawie uzyskanych wyników wykazano przydatność oceny stężenia FGF19 jako nowego markera zaburzeń wchłaniania kwasów żółciowych w NZJ oraz potwierdzono rolę tych zaburzeń w patogenezie biegunki w ChLC. Stężenie FGF19 w surowicy, pomimo utrzymywania się w granicach normy u większości pacjentów z WZJG i ChLC, wykazuje fluktuacje zależne od fazy choroby, co świadczy o związku mechanizmów regulacji krążenia jelitowo-wątrobowego kwasów żółciowych z aktywnością NZJ. Ujemne korelacje między stężeniem FGF19 a dolegliwościami bólowymi jamy brzusznej oraz markerami stanu zapalnego mogą wskazywać na przeciwzapalne i analgetyczne działanie FGF19 – bezpośrednio lub w wyniku pobudzenia osi FXR-FGF19. Dynamika zmian stężenia FGF19 w zależności od fazy NZJ wskazuje na nowe cele terapeutyczne związane z aktywacją receptora FXR stanowiącego kluczowy element osi jelitowo-wątrobowej.

## SUMMARY

The results of recent studies have shed new light on the role of bile acids in the regulation of numerous gut functions including gastrointestinal motility, visceral sensitivity, secretion, inflammatory response and gut barrier integrity. Complex interactions between bile acids and the gut microbiota participating in their transformation play also an important role. Bile acid malabsorption occurs in approximately 30% of patients with chronic diarrhea. Inflammatory bowel diseases (IBD) is a group of chronic inflammatory conditions of the gastrointestinal tract characterized by the course with phases of exacerbation and remission. Two most frequent forms of IBD are ulcerative colitis (UC) and Crohn's disease (CD). So far the role of bile acid malabsorption has been proved in the pathogenesis of diarrhea in CD patients, particularly after resection of the ileum. The overload of non-absorbed bile acids entering the colon lumen induces water and electrolyte secretion, stimulating also colonic contractility. Some scarce data on bile acid malabsorption in UC remain ambiguous. The role of bile acids in the pathogenesis of other than diarrhea symptoms in IBD is also unclear.

A better understanding of the regulatory mechanisms in bile acid synthesis and entero-hepatic circulation has enabled to use a new test in the diagnosis of their malabsorption, which is the evaluation of serum fibroblast growth factor 19 (FGF19) concentration. The factor is released from the epithelial cells of the ileum in response to the FXR receptor activation by absorbed bile acids. In case of bile acid malabsorption, serum FGF19 level decreases, which results in increased bile acid synthesis in the liver. It may additionally exacerbates symptoms due to increased bile acid concentration in the colon. Simultaneously, it has been shown that inflammation inhibits the FXR activation, while FXR agonists exert anti-inflammatory effect. Therefore, disturbances within the gut-liver axis and FXR-FGF19 interaction may have significant diagnostic and therapeutic implications in IBD.

The main aim of the study was to evaluate bile acid malabsorption and the fluctuation of bile acid concentration in different phases of the two main forms of IBD – CD and UC – using serum FGF19 level as a new marker. Afterwards, the evaluation of correlations between serum FGF19 level and main IBD symptoms, clinical and endoscopic activity indices, and laboratory markers of inflammation such as fecal calprotectin and serum CRP levels were conducted.

Eighty one subjects participated in the study including 62 IBD patients (33 M, 29 F, mean age  $40.0 \pm 15.8$ ) and 19 healthy control subjects (8 M, 11 F, mean age:  $39.9 \pm 13.0$ ).

The IBD patients were divided into 4 subgroups based on the disease form and activity: non active UC (n=15), active UC (n=16), non-active CD (n=15) and active CD (n=16). In each patient a careful clinical interview was conducted using a questionnaire. The dominant stool type and mean level of abdominal pain intensity over the last 7 days before examination was evaluated using Bristol Form Stool Scale and Visual Analog Scale (VAS), respectively. The clinical disease activity in UC patients was assessed by Rachmilewitz index, and in CD by CDAI. The endoscopic disease activity was evaluated using the Mayo Endoscopic Score in UC and SES-CD in CD. In all patients basic laboratory blood tests were performed. Additionally, in all patients and control subjects serum FGF19 and fecal calprotectin levels were measured using immunoenzymatic methods (ELISA tests).

In the performed study, only in 40% of patients with non-active UC endoscopic remission was found. The majority of subjects with active UC (75% ) had pancolitis. Most of the patients with non-active CD (73%) had inflammatory changes in the distal part of the ileum, while in 27% of these subjects the changes were located in the colon. Among patients with active CD in 79% of subjects inflammatory changes were present both in the distal ileum and the colon.

Analyzing serum FGF19 level in UC patients a clear tendency was revealed that FGF19 level was lower in active UC (114.3 pg/ml) than in patients with non-active UC (175.3 pg/ml) ( $p=0.093$ ). Median FGF19 level in the healthy controls amounted to 151.6 pg/ml, but there were no statistically significant differences between controls compared to the patients with active and non-active UC. Despite the fluctuations of FGF19 level depending on the disease activity, in the majority of UC patients it was still within the normal range. In patients with active CD, serum FGF19 level was significantly lower than that in the controls (56.5 vs 151.6 pg/ml,  $p=0.043$ ). The lower serum FGF19 level was found in 38% of patients with active CD, and 13% of patients with non-active CD. An inverse correlation was observed between serum FGF19 and number of stools per 24 hours and Bristol Stool Form Scale score, as well as clinical disease activity in CD. No correlation between FGF19 level and endoscopic disease activity was revealed in either form of IBD. In patients with UC the inverse correlations between FGF19 level and abdominal pain intensity ( $R= -0.48$ ,  $p=0.007$ ), as well as inflammatory markers including fecal calprotectin level ( $R= -0.38$ ,  $p=0.036$ ) and serum CRP level ( $R= -0.36$ ,  $p=0.045$ ) were found.

The obtained results confirmed the utility of FGF19 level measurement as a new marker of bile acid malabsorption in IBD and the role of bile acid malabsorption in the pathogenesis of diarrhea in CD. Serum FGF19 level, although remaining within the normal

range in the majority of patients with UC and CD, shows fluctuation depending on the disease activity, which indicates the association between the regulatory mechanisms of bile acid entero-hepatic circulation and IBD activity. The inverse correlations between FGF19 level and abdominal pain and inflammatory markers may imply its potential anti-inflammatory and analgesic effects – direct or due to FXR-FGF19 axis activation. The dynamic of FGF19 level fluctuation depending on the IBD phase suggests new therapeutic aims associated with FXR activation, which constitutes a key element of the gut-liver axis.