

На правах рукописи

ЦВЕТКОВА ВАЛЕРИЯ СЕРГЕЕВНА

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ НЕИНВАЗИВНОЙ ДИАГНОСТИКИ
АКТИВНОСТИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ КИШЕЧНИКА
У ДЕТЕЙ**

14.01.08 – Педиатрия

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2021

Работа выполнена в федеральном государственном автономном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор
Потапов Александр Сергеевич

Научный консультант: доктор медицинских наук
Семикина Елена Леонидовна

Официальные оппоненты: доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры детских болезней им. профессора И.М. Воронцова факультета послевузовского и дополнительного профессионального образования федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Корниенко Елена Александровна
доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой госпитальной педиатрии им. академика В.А. Таболина педиатрического факультета федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования "Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова" Министерства здравоохранения Российской Федерации

Шумилов Петр Валентинович

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «_____» _____ 2021 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 001.023.01 при ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России по адресу 119991, г. Москва, Ломоносовский проспект, 2, стр. 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России по адресу 119991, г. Москва, Ломоносовский проспект, 2, стр. 1 и на сайте <http://www.nczd.ru/>

Автореферат разослан «_____» _____ 2021 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор РАН

Винярская Ирина Валериевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Воспалительные заболевания кишечника (ВЗК) представляют собой группу хронических рецидивирующих заболеваний, характеризующихся воспалительным поражением желудочно-кишечного тракта различной глубины и локализации с возможным развитием внекишечных осложнений. К группе ВЗК относят: болезнь Крона (БК), язвенный колит (ЯК) и недифференцируемый колит (Marcil V., 2019; Wilson D. C., 2017).

В основе патогенеза ВЗК лежит нарушение защитных механизмов интестинального барьера в результате сложного взаимодействия факторов окружающей среды, генетических факторов и дисрегуляции иммунного ответа в лимфоидной ткани слизистой оболочки кишки.

Заболеваемость ВЗК неуклонно растет, в 20–30% случаев ВЗК диагностируется в детском или подростковом возрасте (Fuller M. K., 2019; Oliveira S. B., 2017), при этом отмечается более агрессивное течение и протяженное поражение кишечника с развитием различных осложнений (Dilillo D., 2019; Wilson D. C., 2017), в связи с чем у детей особенно актуален мониторинг активности заболевания для своевременной коррекции терапии.

Ведущая роль в диагностике и мониторинге пациентов с ВЗК по-прежнему остается за илеоколоноскопией с взятием лестничной биопсии слизистой оболочки, однако данный метод исследования является инвазивным и дорогостоящим, а в педиатрической практике требует применения анестезиологического пособия (Dilillo D., 2019).

В связи с этим актуальным является поиск неинвазивных критериев активности ВЗК, доступных в клинической практике врача.

Степень разработанности темы исследования

В качестве общеклинических маркеров определения активности ВЗК широко используются такие стандартные лабораторные показатели, как уровень С-реактивного белка (СРБ), скорость оседания эритроцитов (СОЭ), а также концентрация гемоглобина (HGB), количество лейкоцитов (WBC), тромбоцитов (PLT), концентрация альбумина (Oliveira S. B., 2017). Широко распространено определение уровня фекального кальпротектина (ФК) (Matowicka-Karna J., 2016).

На современном этапе продолжается изучение различных тестов, с помощью которых можно определить степень активности ВЗК (Barnes E. L., 2015). В мировой литературе обсуждается информативность тромбоцитарных показателей для оценки активности ВЗК у взрослых: числа тромбоцитов (PLT), тромбокрита (PCT), среднего объема тромбоцитов (MPV), ширины распределения тромбоцитов (PDW), коэффициента больших тромбоцитов (P-LCR), фракции незрелых тромбоцитов (IPF) (Nakarai A., 2018; Tang J., 2015; Voudoukis E., 2014; Öztürk Z. A., 2013).

Большое внимание в литературе уделяется анемическому синдрому как наиболее частому внекишечному проявлению ВЗК (Miller S. D., 2019; Aljomah G., 2018). Вместе со стандартными показателями общего клинического анализа крови, такими как концентрация HGB, средний объем эритроцита (MCV), среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH), количество ретикулоцитов (RET), современные автоматизированные анализаторы позволяют определить ряд новых

параметров, в частности среднее содержание гемоглобина в ретикулоците (RET-He), которое отражает обеспеченность эритропоэза железом (Urrechaga E., 2020). Среди лейкоцитарных показателей анализа крови вместе с оценкой уровня лейкоцитов (WBC), нейтрофилов (NEU), моноцитов (MON) и лимфоцитов (LYM) обсуждается информативность некоторых лейкоцитарных характеристик, например, анизоцитоза нейтрофилов (NVDW) в качестве дополнительного маркера обострения ВЗК (Aydemir Y., 2017).

Особый интерес в качестве информативных и неинвазивных маркеров воспаления представляет оценка различных показателей в копрофильтратах – не только ФК, но и других маркеров воспалительных реакций (Galgut B. J., 2018; Ministro P., 2017).

Дальнейшая разработка неинвазивных способов мониторинга активности ВЗК является актуальной и перспективной. Однако в педиатрии неинвазивная диагностика недостаточна разработана, в связи с чем необходимы дальнейшие исследования в этой области.

Цель исследования

Разработка критериев неинвазивной диагностики активности воспалительных заболеваний кишечника у детей на основании современного автоматизированного клинического анализа крови и исследования копрофильтратов.

Задачи исследования

1. Определить взаимосвязь клинической и эндоскопической активности у детей с болезнью Крона и язвенным колитом.
2. Установить взаимосвязь между комплексом параметров автоматизированного клинического анализа крови с показателями клинической и эндоскопической активности болезни Крона и язвенного колита у детей.
3. Определить корреляцию уровней иммунологических маркеров (цитокины, anti-GP2 IgA и IgG антитела, секреторный IgA) в копрофильтратах с клиническими и эндоскопическими индексами активности воспалительных заболеваний кишечника у детей.
4. На основании комплекса изученных неинвазивных лабораторных показателей разработать математические модели для оценки эндоскопической активности процесса с целью оптимизации показаний к проведению эндоскопического исследования при болезни Крона и язвенном колите у детей.

Научная новизна

Впервые проведен комплексный анализ изменения как рутинных, так и ряда дополнительных лабораторных маркеров диагностики воспалительной активности болезни Крона и язвенного колита у детей в зависимости от степени клинической и эндоскопической активности заболевания.

Впервые у детей с воспалительными заболеваниями кишечника показано, что достижение клинической и эндоскопической ремиссий не сопровождается нормализацией уровня anti-GP2 IgA и IgG антител, секреторного IgA и провоспалительных цитокинов.

Выделены наиболее информативные показатели современного автоматизированного клинического анализа крови для оценки активности ВЗК, для

которых определены пороговые значения («cut-off» point) с оптимальной чувствительностью и специфичностью.

Впервые разработаны математические модели с использованием высокотехнологичных показателей автоматизированного анализа крови и маркеров кишечного воспаления для неинвазивной оценки эндоскопической активности воспалительных заболеваний кишечника у детей по показателям простой эндоскопической оценки болезни Крона (SES-CD) и эндоскопического индекса тяжести язвенного колита (UCEIS).

Теоретическая и практическая значимость

В результате исследования определены основные изменения как рутинных, так и дополнительных маркеров активности ВЗК у детей в зависимости от степени клинической и эндоскопической активности заболевания. Установлены оптимальные значения показателей ряда дополнительных лабораторных маркеров воспаления для неинвазивной диагностики стадии эндоскопической активности при воспалительных заболеваниях кишечника у детей. Показана высокая диагностическая эффективность разработанных математических моделей для прогнозирования эндоскопической активности заболевания с помощью исследуемых лабораторных показателей. На основании проведенного исследования оптимизирован подход к проведению эндоскопического исследования у пациентов с отсутствием клиничко-лабораторных признаков активности заболевания.

Внедрение результатов работы в практику

Результаты работы внедрены в клиническую практику гастроэнтерологического отделения с гепатологической группой федерального государственного автономного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России), гастроэнтерологического отделения Государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Морозовская детская городская клиническая больница департамента здравоохранения города Москвы», отделения гастроэнтерологии обособленного структурного подразделения «Российская детская клиническая больница федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Методология и методы исследования

При выполнении работы был осуществлен анализ литературы, современных научных данных по вопросу методов и критериев диагностики степени активности ВЗК у детей. Особое внимание уделено изучению новых дополнительных неинвазивных маркеров диагностики ВЗК у детей.

В диссертационном исследовании были оценены данные 370 детей с диагнозом БК или ЯК, установленным на основании клинической картины, а также по результатам лабораторных и инструментальных методов исследований.

Оценку медицинской документации проводили за период 3 года, с учетом клиничко-лабораторных и инструментальных показателей пациентов. Анализ полученных данных осуществляли в соответствии с современными методиками,

включающими описательные статистики, оценку статистической значимости, ROC-анализ, корреляционный анализ. Для построения математических моделей прогнозирования эндоскопической активности с применением исследуемых лабораторных показателей был использован метод бинарной логистической регрессии.

Положения, выносимые на защиту

1. Наибольшую информативность среди расширенных показателей клинического анализа крови для оценки активности воспалительных заболеваний кишечника у детей имеет повышение числа тромбоцитов в сочетании со снижением их среднего объема, уменьшением крупной фракции и показателя анизоцитоза тромбоцитов.
2. Отмечается взаимосвязь выраженности анемического синдрома и степени активности воспалительных заболеваний кишечника у детей, при этом анемия при болезни Крона и язвенном колите имеет разные лабораторные характеристики: при болезни Крона лабораторные признаки дефицита биодоступного железа (гипохромия эритроцитов и ретикулоцитов) прогрессируют по мере нарастания степени активности; при язвенном колите значительный вклад в развитие анемического синдрома вносит кровопотеря.
3. Определение комплекса медиаторов воспаления в копрофильтратах больных болезнью Крона и язвенным колитом информативно для уточнения особенностей патогенеза воспалительных заболеваний кишечника.
4. Разработанные на основании неинвазивных лабораторных исследований математические модели позволяют оптимизировать показания к проведению эндоскопических исследований у детей с клинико-лабораторной ремиссией воспалительных заболеваний кишечника.

Степень достоверности результатов

Исследование основывается на современных представлениях о диагностике и ведении пациентов с ВЗК в детском возрасте, которые обсуждаются в отечественной и иностранной литературе.

Достоверность результатов диссертационного исследования подтверждается выбором релевантного дизайна исследования, репрезентативной выборкой пациентов, современными методами исследования, которые соответствуют поставленным в работе целям и задачам. Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, подкреплены убедительными фактическими данными. Подготовка, анализ и интерпретация полученных результатов проведены с использованием современных методов обработки информации и статистического анализа.

Апробация результатов

Основные результаты работы доложены и обсуждены на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Осенние Филатовские чтения — важные вопросы детского здоровья» (26-27 сентября 2019 г., г. Пенза); Научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Студеникинские чтения» (2 декабря 2019 г., г. Москва); 15th congress of ECCO (12-15 февраля 2020 г., г. Вена, Австрия); Научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Студеникинские чтения-2020» (2 декабря 2020 г.,

г. Москва); XXVII Конгрессе детских гастроэнтерологов России и стран СНГ (22-24 сентября 2020 г., г. Москва); XXVIII Конгрессе детских гастроэнтерологов России и стран СНГ (23 – 25 марта 2021 г., г. Москва).

Публикации

По теме диссертации всего опубликовано 8 научных работ, в том числе в изданиях, рекомендованных ВАК РФ для публикаций основных научных результатов диссертационных исследований – 3 (из них статей в журналах, индексируемых в Scopus – 1), тезисов – 5.

Личный вклад автора

Вклад автора состоит в непосредственном активном участии в исследовательской работе на всех ее этапах: в анализе литературы, постановке цели и задач исследования, разработке методических подходов и их выполнении, ведении пациентов в стационаре, обработке медицинской документации, формировании базы данных, статистической обработке, анализе полученных результатов, участии в научно-практических конференциях, внедрении в клиническую практику разработанных рекомендаций, на основании которых были сформулированы основные положения диссертационного исследования, выводы и практические рекомендации.

Объем и структура диссертации

Общий объем работы составляет 160 страниц машинописного текста. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием материалов и методов исследования, 3 глав собственных наблюдений, главы с клиническими примерами, главы обсуждения результатов, выводов и практических рекомендаций. Работа иллюстрирована 40 таблицами, 30 рисунками и 4 клиническими примерами. Список использованной литературы включает 144 источника: 11 отечественных и 133 зарубежных.

Этическая экспертиза

Исследование было одобрено на совместном заседании ученого совета и этического комитета ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, протокол № 14 от 09.11.2018 г.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объем и методы исследования

Работа выполнена в гастроэнтерологическом отделении с гепатологической группой (заведующий отделением – д.м.н. А.Н. Сурков). Исследование клинического и биохимического анализа крови, уровня ФК проводили в централизованной клиничко-диагностической лаборатории (заведующая лабораторией – д.м.н. Е.Л. Семикина), илеоколоноскопию проводили в отделении эндоскопических исследований (заведующий отделением – д.м.н. М.М. Лохматов) ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России (директор - заслуженный врач Российской Федерации, д.м.н., профессор А.П. Фисенко). Иммунологические исследования в копрофильтратах проводили в лаборатории цитокинов (руководитель – д.м.н. А.П. Топтыгина) Федерального бюджетного учреждения науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии

им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (директор – д.б.н. С.Ю. Комбарова).

Согласно дизайну (Рисунок 1), в исследование было включено 370 детей: 150 пациентов с БК (96 мальчиков и 54 девочки) и 220 пациентов с ЯК (115 мальчиков и 105 девочек) в возрасте от 5 лет до 17 лет 11 месяцев, наблюдавшихся в период с 2018 по 2020 гг. в гастроэнтерологическом отделении с гепатологической группой ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России.



Рисунок 1 – Дизайн исследования: ретроспективно-проспективное нерандомизированное неконтролируемое исследование

За период наблюдения выполнено 270 клинических анализов крови у 150 пациентов с БК и 360 клинических анализов крови у 220 пациентов с ЯК на автоматическом анализаторе Sysmex XN 1000 (Япония) с определением показателей HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW, RET, IRF, LFR, RET-He, WBC,

NEU, LYM, MON, NE-SSC, NE-SFL, PLT, MPV, PDW, P-LCR. Показатель СОЭ определяли на автоматическом анализаторе Roller (Alifax, Италия) с помощью аналога метода Вестергрена. Концентрацию СРБ определяли с помощью автоматического анализатора UniCel 800 (BC, США). Уровень ФК в копрофильтратах определяли иммунохроматографическим методом по технологии Quantum Blue (Bühlmann, Швейцария). У 160 пациентов (80 – БК, 80 – ЯК) в остаточном биологическом материале из копрофильтратов была определена концентрация 11 цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-17А, ИЛ-17F, ИЛ-21, ИЛ-23, ИЛ-33, TNF α , IFN γ) на двулучевом лазерном автоматическом анализаторе Bio-Plex Protein Assay System (BioRad, США), а также уровень секреторного IgA, антител IgG и IgA против GP2 с помощью набора для иммуноферментного анализа (Generic Assays, Dahlewitz/Berlin, Германия).

В зависимости от степени клинической активности согласно шкале PCDAI пациенты с БК были распределены в следующие группы: 1-я группа – в стадии клинической ремиссии ($n=122$); 2-я группа – с низкой степенью активности ($n=115$); 3-я группа – с высокой степенью активности ($n=33$). В зависимости от степени клинической активности согласно шкале PUCAI пациенты с ЯК распределены в 4 группы: 1-я группа – в стадии клинической ремиссии ($n=196$); 2-я группа – с низкой степенью активности ($n=101$); 3-я группа – с умеренной степенью активности ($n=48$); 4-я группа – с высокой степенью активности ($n=15$).

Илеоколоноскопия проведена у 80 пациентов с диагнозом БК (46 мальчиков и 34 девочки) и у 80 пациентов с диагнозом ЯК (42 мальчика и 38 девочек). Согласно степени эндоскопической активности по классификации SES-CD пациенты с БК распределены на 4 группы: 1-я группа – в стадии ремиссии ($n=26$); 2-я группа – с низкой степенью активности ($n=20$); 3-я группа – с умеренной степенью активности ($n=18$); 4-я группа – с высокой степенью активности ($n=16$). Согласно степени эндоскопической активности по классификации UCEIS пациенты с ЯК распределены на 4 группы: 1-я группа – в стадии ремиссии ($n=12$); 2-я группа – с низкой степенью активности ($n=40$); 3-я группа – с умеренной степенью активности ($n=23$); 4-я группа – с высокой степенью активности ($n=5$).

Статистическая обработка данных выполнена с помощью программы IBM SPSS Statistics, версия 26 (StatSoft Inc., США). При проверке переменных на нормальность распределения с использованием критерия Колмогорова - Смирнова получено распределение отличное от нормального, в связи с чем применены методы непараметрической статистики (медиана, 25 и 75-й перцентили и диапазон значений min – max исследуемых показателей). Различия между группами определяли при помощи критерия Краскела-Уоллиса, при обнаружении статистически значимых различий проводили апостериорные сравнения с помощью критерия Данна с поправкой Бонферрони (post-hoc анализ). Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$. Анализ связи (корреляции) двух признаков осуществляли непараметрическим методом ранговой корреляции по Спирмену (ρ). Функциональную связь оценивали по шкале Чеддока: при коэффициенте корреляции менее 0,1 расценивали как отсутствие корреляционной связи, 0,1-0,3 – слабую, 0,3-0,5 – умеренную, 0,5-0,7 – заметную, 0,7-0,9 – высокую, 0,9-0,99 – весьма высокую. Выполнен ROC-анализ для определения пороговых

значений исследуемых показателей. Для построения математической модели прогнозирования эндоскопической активности заболеваний был использован метод бинарной логистической регрессии.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам корреляционного анализа между индексами клинической и эндоскопической активности как при БК, так и при ЯК выявлена положительная взаимосвязь умеренной силы (ρ Спирмена 0,658, $p < 0,001$; ρ Спирмена 0,660, $p < 0,001$ соответственно). Это статистически значимые изменения, однако степень их тесноты недостаточна, в связи с чем необходим поиск дополнительных маркеров, с помощью которых можно неинвазивно оценивать активность воспалительного процесса при ВЗК.

Особенности изменения эритроцитарных показателей в зависимости от степени активности болезни Крона и язвенного колита у детей

По данным нашего исследования у пациентов с БК по мере нарастания воспалительной активности зарегистрировано статистически значимое ($p_{к-у} < 0,001$) снижение таких эритроцитарных индексов, как MCV, MCH, MCHC, на фоне увеличения показателя анизоцитоза ($p_{к-у} \leq 0,001$) (Рисунки 2,3). При этом ретикулоцитарная реакция была умеренной и не нарастала по мере увеличения индекса клинической и эндоскопической активности БК ($p > 0,05$).

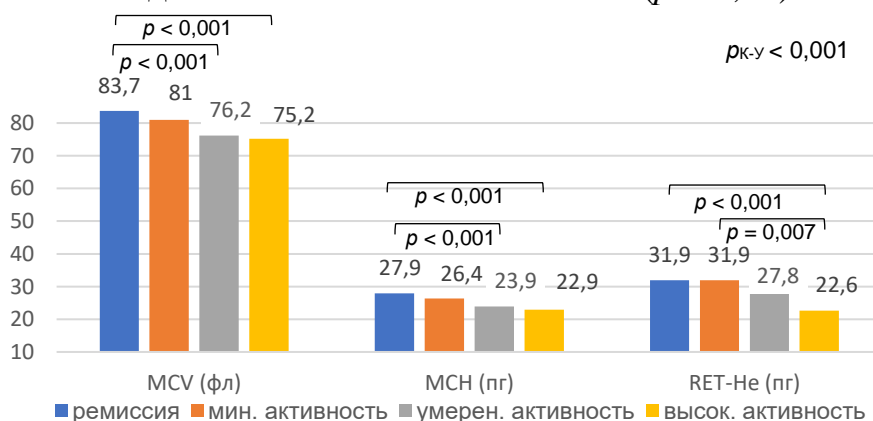


Рисунок 2 – Изменение эритроцитарных индексов в зависимости от степени эндоскопической активности (SES-CD) при БК у детей

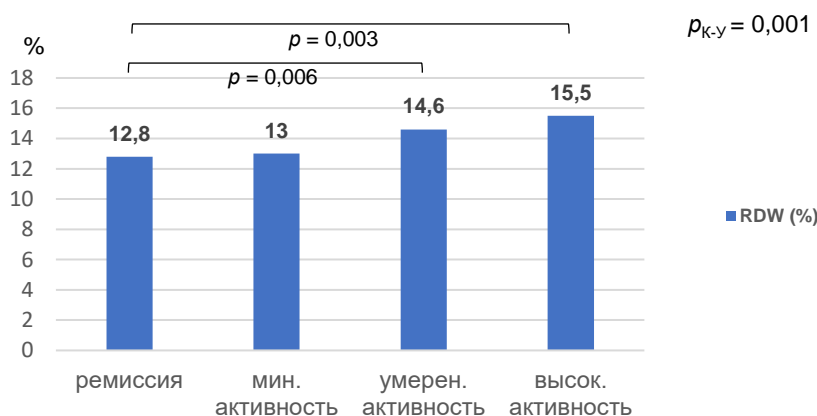


Рисунок 3 – Изменение показателя анизоцитоза эритроцитов в зависимости от степени эндоскопической активности (SES-CD) при БК у детей

По мере нарастания клинической и эндоскопической активности заболевания отмечалось статистически значимое снижение показателя RET-He ($p < 0,001$), что также свидетельствует о снижении гемоглобинизации созревающих эритроцитов и гипохромном характере развивающейся анемии.

Полученные данные позволяют предположить, что при БК ведущую роль в развитии анемии играет дефицит биодоступного железа, причиной которого может быть как истинный его дефицит, так и воспалительная блокада утилизации.

Результат корреляционного анализа эритроцитарных показателей и клинической, эндоскопической активности БК представлен на Рисунке 4.

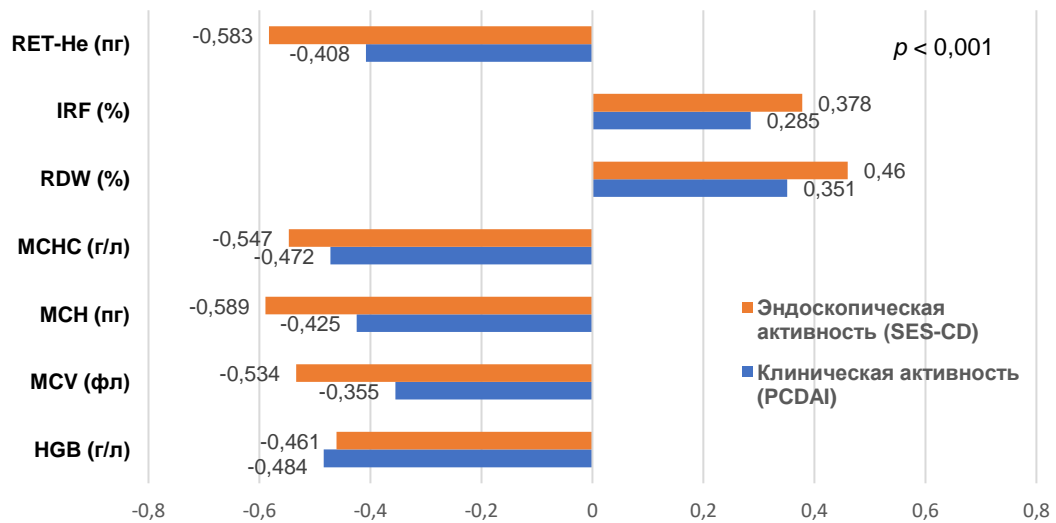


Рисунок 4 – Взаимосвязи (р Спирмена) клинической и эндоскопической активности БК с эритроцитарными показателями

Концентрация HGB имела статистически значимую отрицательную взаимосвязь умеренной силы. При сопоставлении MCV, MCH, MCHC, RET-He и индекса эндоскопической активности SES-CD выявлена обратная взаимосвязь заметной силы, а для аналогичных показателей и индекса клинической активности PCDAI – связь умеренной тесноты. Показатель RDW имел прямую связь умеренной силы при сравнении с клиническим и эндоскопическим индексом активности БК. Количество IRF и LFR имели слабую прямую и обратную взаимосвязь с индексом клинической активности PCDAI и умеренную прямую и обратную взаимосвязь с индексом эндоскопической активности SES-CD, соответственно.

Картина эритроцитарных показателей у пациентов с ЯК отличается от результатов у детей с БК. Так, по мере нарастания клинической активности ЯК отмечаются умеренные признаки гипохромии эритроцитов, которые становятся выраженными только при высокой активности процесса ($p_{к-у} < 0,001$ для всех показателей, кроме MCV, для которого $p_{к-у} = 0,018$). При нарастании эндоскопической активности отмечена тенденция к снижению MCV, MCH, RET-He и нарастанию уровня ретикулоцитов, однако эти изменения не были статистически значимы ($p_{к-у} > 0,05$). При высокой активности отмечена отчетливая ретикулоцитарная реакция: статистически значимое повышение относительного и абсолютного уровня ретикулоцитов при высокой клинической активности

($p_{к-у} < 0,001$) и повышение доли молодых (незрелых) ретикулоцитов при высокой эндоскопической активности ($p_{к-у} = 0,015$) (Рисунки 5,6). Такая гематологическая картина позволяет предположить, что при высокой активности ЖК существенный вклад в развитие анемии вносит кровопотеря.

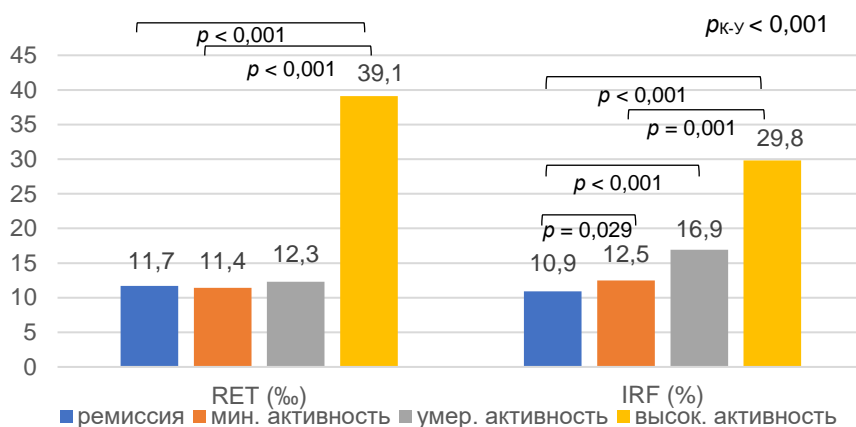


Рисунок 5 – Количество RET и IRF в зависимости от степени клинической активности (PUCAI) ЖК у детей

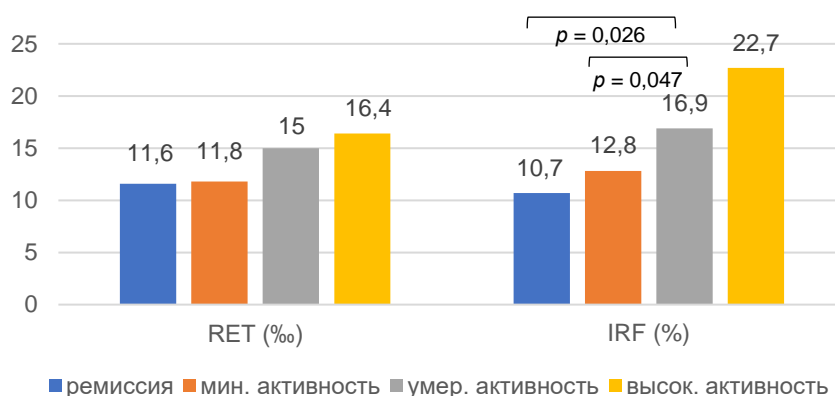


Рисунок 6 – Количество RET и IRF в зависимости от степени эндоскопической активности (UCEIS) ЖК у детей

По мере нарастания активности ЖК отмечалась отчетливая тенденция к снижению числа RET-He, статистически значимая при умеренной ($p = 0,034$) и высокой ($p \leq 0,001$) клинической активности заболевания. При высокой эндоскопической активности тенденция не была статистически значимой ($p_{к-у} = 0,050$).

Данные корреляционного анализа выявили статистически значимые взаимосвязи слабой силы клинической активности ЖК, согласно шкале PUCAI, и показателями MCV, MCH, MCHC, RET-He, RDW, RET и умеренной силы с показателями HGB, HCT, IRF, LFR. При оценке взаимосвязи эритроцитарных показателей с эндоскопической активностью ЖК, согласно шкале UCEIS с выявлена статистически значимая корреляция умеренной силы со всеми показателями кроме MCH, где связь была слабой силы (Рисунок 7).

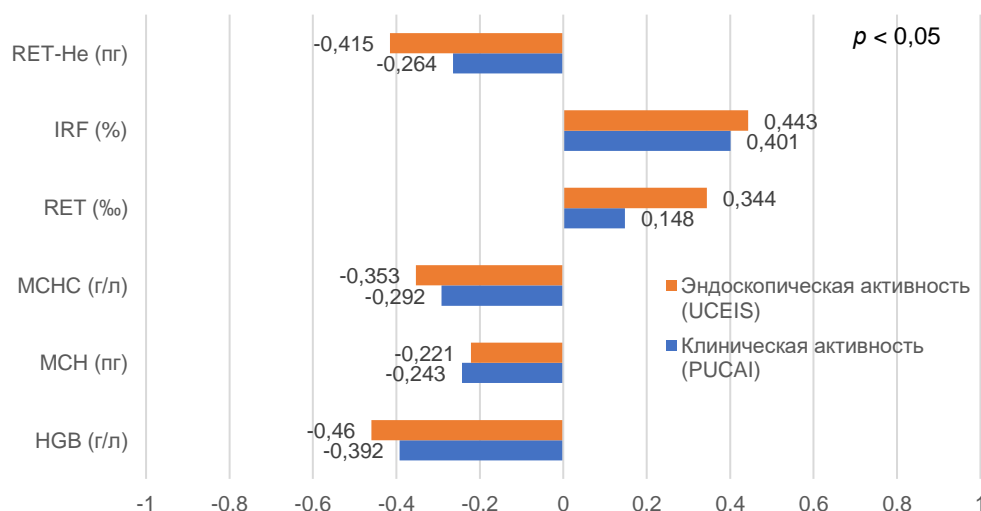


Рисунок 7 – Взаимосвязи (r Спирмена) клинической и эндоскопической активности ЯК у детей с эритроцитарными показателями

По результату ROC-анализа для определения эндоскопической активности БК cut-off значения со специфичностью более 95% получены для показателей: MCV – 77,5 фл, MCH – 23,5 пг, MCHC – 313 г/л, RDW 16,6%. Для оценки эндоскопической активности ЯК cut-off значения составили: для RDW 18,6%, для показателя RET-He – 26,8 пг, IRF – 19,3%. Пороговому уровню диагностики анемии 110 г/л соответствует специфичность определения эндоскопической активности БК 88% и 89% при ЯК.

Показатель RET-He подтвердил информативность для оценки активности ВЗК у детей, особенно в отношении пациентов БК.

Снижение MCV, MCH, MCHC в сочетании с повышением RDW относительно приведенных пороговых значений с включением в анализируемый комплекс ретикулоцитарных показателей (RET-He для БК и IRF для ЯК) свидетельствует об эндоскопической активности заболевания с вероятностью более 90%.

Особенности изменения количества тромбоцитов и тромбоцитарных показателей в зависимости от степени активности болезни Крона и язвенного колита у детей

При анализе количества тромбоцитов у детей с БК и ЯК мы получили ожидаемую картину повышения по мере нарастания клинической и эндоскопической активности ($p_{к-у} \leq 0,001$). У детей с высокой активностью БК и ЯК медиана числа PLT вышла за пределы референсных значений.

По мере нарастания клинической и эндоскопической активности ВЗК отмечалось статистически значимое снижение MPV, PDW, P-LCR ($p_{к-у} \leq 0,001$ в зависимости от степени клинической активности и $p_{к-у} \leq 0,05$ в зависимости от степени эндоскопической активности при БК и ЯК), более выраженное у детей с ЯК.

Динамика изменения количества тромбоцитов и тромбоцитарных показателей в зависимости от степени эндоскопической активности БК и ЯК представлены на Рисунках 8 – 10.

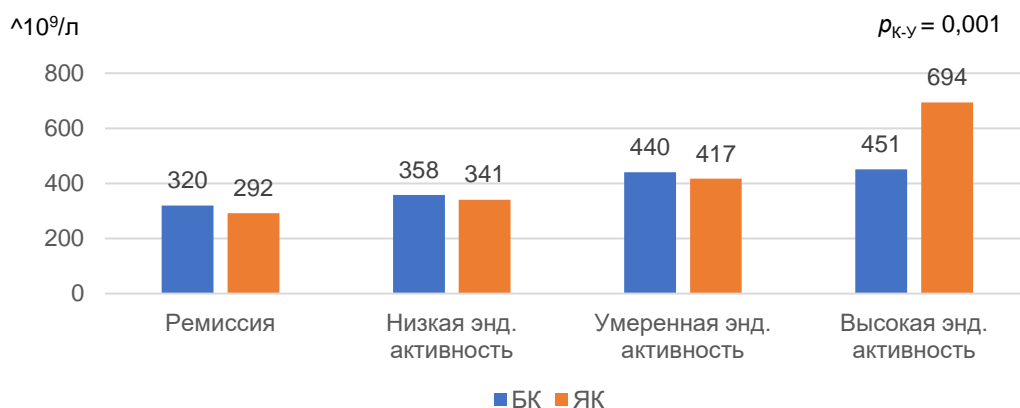


Рисунок 8 – Динамика изменения количества PLT в зависимости от степени эндоскопической активности при БК (SES-CD) и ЯК (UCEIS) у детей

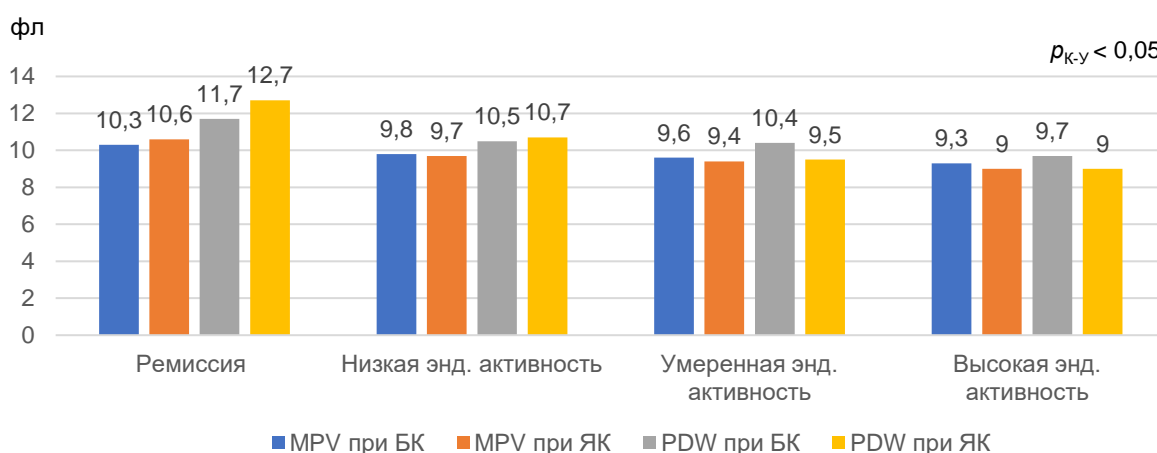


Рисунок 9 – Динамика изменения количества MPV и PDW в зависимости от степени эндоскопической активности при БК (SES-CD) и ЯК (UCEIS) у детей



Рисунок 10 – Динамика изменения показателя P-LCR зависимости от степени эндоскопической активности при БК (SES-CD) и ЯК (UCEIS) у детей

Корреляционный анализ выявил статистически значимую ($p \leq 0,001$) положительную взаимосвязь индексов клинической и эндоскопической активности БК и ЯК с числом тромбоцитов и отрицательные связи с изучаемыми тромбоцитарными индексами (Рисунки 11, 12).

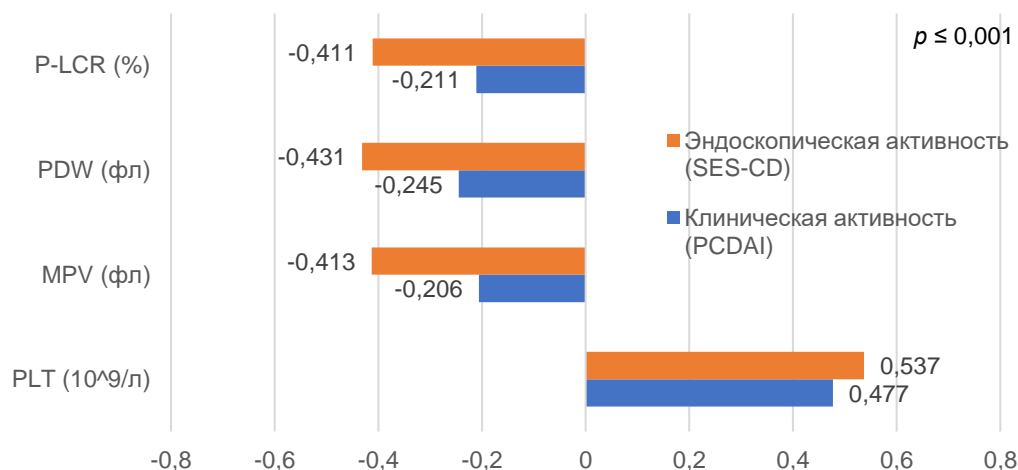


Рисунок 11 – Взаимосвязи (ρ Спирмена) клинической и эндоскопической активности БК у детей с числом тромбоцитов, тромбоцитарных индексов

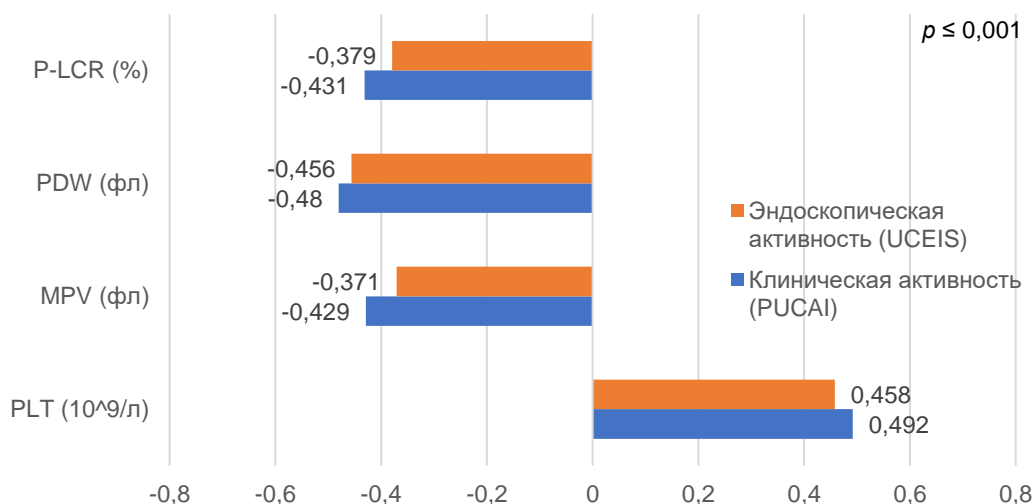


Рисунок 12 – Взаимосвязи (ρ Спирмена) клинической и эндоскопической активности ЯК у детей с числом тромбоцитов, тромбоцитарных индексов

Результат ROC-анализа подтвердил диагностическую ценность тромбоцитарных показателей для оценки эндоскопической активности БК и ЯК у детей. Специфичность 99% получена для $PLT 459 \times 10^9/\text{л}$ и $390 \times 10^9/\text{л}$, $MPV 7,8$ фл и $9,25$ фл, $PDW 7,25$ фл и $9,85$ фл, $P-LCR 15,2\%$ и $17,5\%$ для БК и ЯК, соответственно.

Таким образом, повышение числа PLT и снижение MPV , PDW и $P-LCR$ могут быть суррогатными маркерами эндоскопической активности ВЗК.

Особенности изменения маркеров воспаления у детей с болезнью Крона и язвенным колитом

В обработку включены показатели WBC , NEU , LYM , MON , $СОЭ$, $СРБ$ и $ФК$, как наиболее диагностически значимые рутинные показатели оценки активности воспаления при ВЗК и поисковые показатели параметров гранулярности ($NE-SSC$) и реактивности нейтрофилов ($NE-SFL$) у детей

В группах детей с БК разной степени клинической и эндоскопической активности, диагностически значимых повышений общего числа WBC , абсолютных чисел NEU и MON не отмечено. У детей с ЯК изменения рутинных лабораторных показателей более существенные: при высокой клинической и

эндоскопической активности отмечено статистически значимое ($p_{к-у} \leq 0,001$) повышение числа WBC, NEU, MON.

Уровень LYM у детей с БК и ЯК при всех степенях активности был в пределах нормы. Уровень СОЭ и СРБ ожидаемо повышался по мере нарастания клинической и эндоскопической активности БК и ЯК ($p_{к-у} < 0,001$).

Оценка поискового показателя NE-SSC у детей с БК не выявила значимых различий. Показатель NE-SFL продемонстрировал статистически значимое ($p_{к-у} < 0,001$) повышение по мере нарастания клинической активности БК (Рисунок 13). У детей с высокой клинической и эндоскопической активностью БК медиана NE-SFL превысила границу нормы.

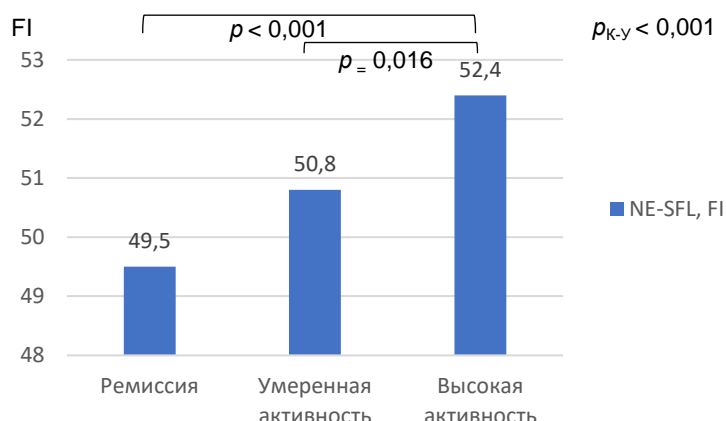


Рисунок 13 – Изменение показателя реактивности нейтрофилов по мере нарастания клинической активности (PCDAI) БК у детей

Медиана показателя NE-SSC у детей с ЯК повышалась по мере нарастания клинической и эндоскопической активности ($p_{к-у} \leq 0,001$ и $p_{к-у} = 0,045$, соответственно). Однако медианы NE-SSC для всех групп находились в пределах диапазона нормы (Рисунок 14).

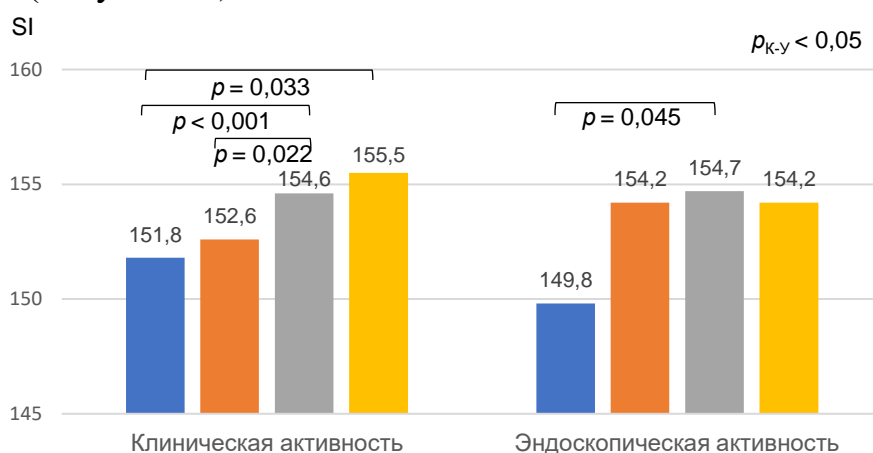


Рисунок 14 – Изменение показателя гранулярности нейтрофилов по мере нарастания воспалительной активности ЯК у детей

Медиана показателя NE-SFL у детей с ЯК показала четкую тенденцию к повышению ($p_{к-у} \leq 0,001$) и превысила верхнюю границу нормы при умеренной и высокой клинической активности. Медиана NE-SFL с эндоскопической ремиссией и низкой эндоскопической активностью ЯК – в пределах нормы; у детей с

умеренной и высокой активностью – выше верхней границы нормы, но данные изменения статистически незначимы ($p_{к-у} = 0,105$).

По результату корреляционного анализа для изучаемого комплекса лейкоцитарных показателей у детей с БК в основном получены статистически значимые положительные коэффициенты корреляции слабой силы. У детей с ЯК коэффициенты корреляции для абсолютного числа WBC, NEU и MON характеризуют умеренную положительную взаимосвязь. Для показателя NE-SSC коэффициент корреляции с индексом клинической активности соответствовал слабой положительной связи, а с индексом эндоскопической активности отмечена умеренная положительная корреляция. Для показателя NE-SFL при ЯК – умеренная положительная корреляция с индексом клинической и слабая – с индексом эндоскопической активности. Для всех изучаемых лейкоцитарных показателей (в том числе NE-SFL и NE-SSC) получена статистически значимая положительная корреляция с уровнем ФК – в основном с умеренной силой связи (Рисунок 15).

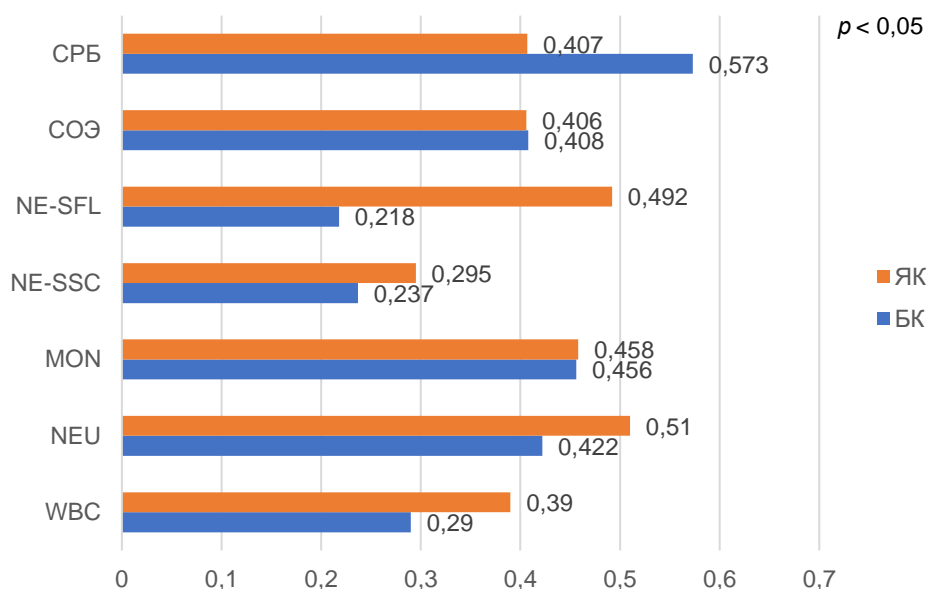


Рисунок 15 – Взаимосвязи (r Спирмена) числа лейкоцитов, лейкоцитарных показателей, СРБ с уровнем ФК у детей с БК и ЯК

Установлены положительные корреляции умеренной силы показателей гранулярности и реактивности нейтрофилов с СРБ у детей с БК и ЯК, достоверных корреляций с показателями СОЭ в этой группе больных не обнаружено.

Рутинные лабораторные показатели: абсолютное число нейтрофилов и моноцитов, СОЭ и СРБ в оценке активности ВЗК у детей имеют диагностическую ценность – изменения этих показателей наиболее выражены при высокой активности БК и ЯК.

Показатели реактивности и гранулярности нейтрофилов повышаются у детей с высокой активностью БК и ЯК, а также достоверно коррелируют с индексами клинической и эндоскопической активности БК и ЯК, что позволяет нам характеризовать данные показатели как потенциально информативные и заслуживающие дальнейшего изучения.

Показатели воспаления и иммунологической активности в копрофильтратах при болезни Крона и язвенном колите у детей

При исследовании копрофильтратов у пациентов с БК с наличием клинической и эндоскопической активности заболевания в сравнении с пациентами в ремиссии отмечено прогнозируемое повышение медианы уровня ФК с 129,5 до 806 мкг/г ($p < 0,001$) и с 84 до 1015 мкг/г ($p < 0,001$), соответственно.

У детей с клинической активностью БК отмечено статистически значимое снижение концентрации ИЛ-10 и TNF α ($p = 0,022$ и $p = 0,045$, соответственно).

При сравнении пациентов с БК в зависимости от наличия или отсутствия эндоскопической активности заболевания выявлено статистически значимое повышение уровня anti-GP2 IgG антител, снижение концентрации ИЛ-1, ИЛ-6 и TNF α ($p < 0,001$, $p = 0,013$, $p = 0,035$ и $p = 0,040$, соответственно).

Изменения медиан концентрации прочих исследованных медиаторов статистически незначимы.

В копрофильтратах пациентов с ЯК с наличием клинической и эндоскопической активности заболевания, аналогично пациентам с БК, отмечено повышение уровня ФК с 135 до 2130 мкг/г ($p < 0,001$) и с 39 до 1804,5 мкг/г ($p < 0,001$) соответственно в сравнении с пациентами в ремиссии.

Выявлено статистически значимое повышение уровня anti-GP2 IgG антител ($p < 0,001$) и anti-GP2 IgA антител ($p = 0,011$), секреторного IgA (sIgA) ($p = 0,005$), ИЛ-1 ($p = 0,022$) и ИЛ-17F ($p = 0,044$) в копрофильтратах при наличии клинической активности ЯК, согласно шкале PUSAI.

При исследовании концентрации цитокинов в зависимости от наличия эндоскопической активности ЯК выявлено статистически значимое повышение уровня anti-GP2 IgG антител ($p < 0,001$), sIgA ($p = 0,004$), и снижение медианы концентрации ИЛ-33 ($p = 0,008$).

Изменения медиан концентрации прочих исследованных медиаторов статистически незначимы.

При сравнении исследуемых иммунологических показателей в копрофильтратах при БК и ЯК подтверждено, что для оценки воспалительной активности БК и ЯК наиболее информативен уровень anti-GP2 IgG антител (Рисунок 16).

Соответственно в клинической практике возможно использование anti-GP2 IgG антител в качестве дополнительного информативного маркера воспаления в кишечнике.

Важно отметить, что концентрация провоспалительных цитокинов в копрофильтратах у детей с БК и ЯК статистически значимо ($p \leq 0,001$) превышала их уровни у детей с отсутствием ВЗК даже в стадии ремиссии, что подтверждает иммуноопосредованный генез ВЗК и его хроническое течение (Рисунки 17, 18).

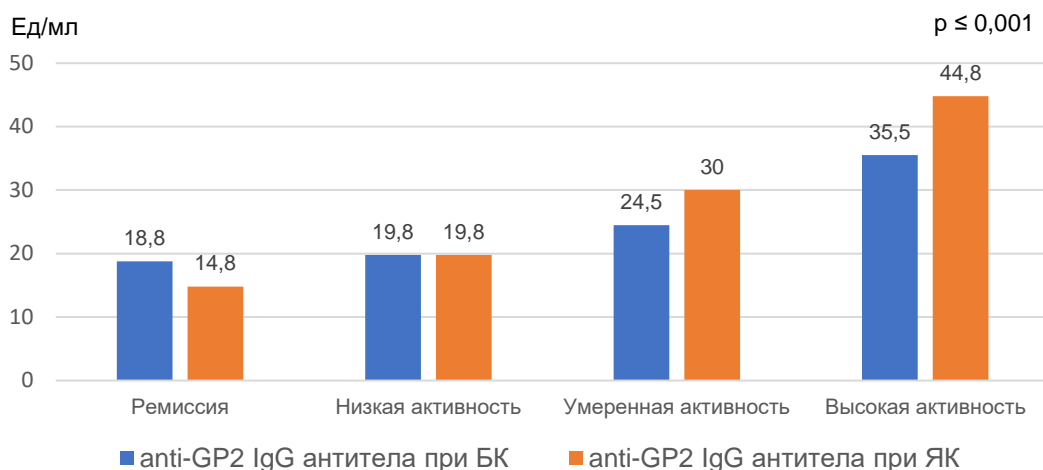


Рисунок 16 – Изменение уровня anti-GP2 IgG антител по мере нарастания эндоскопической активности согласно шкале SES-CD при БК и UCEIS при ЯК у детей

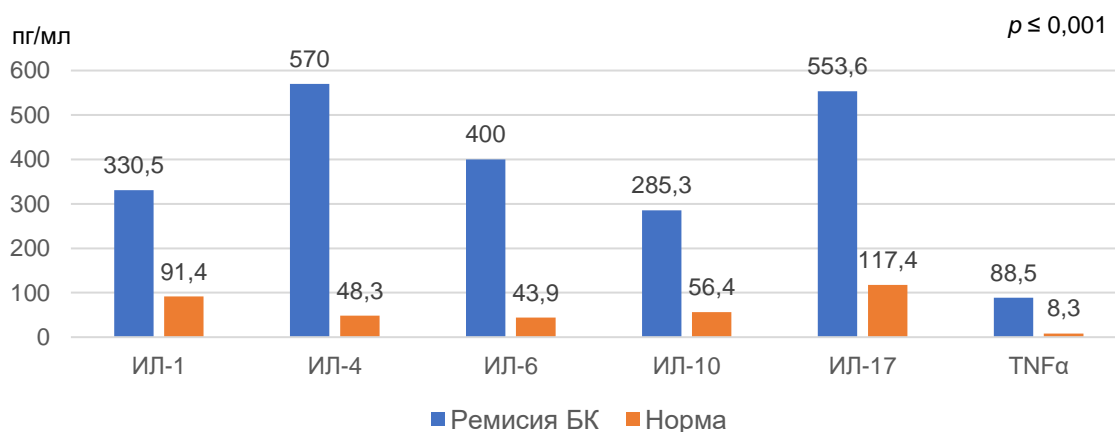


Рисунок 17 – Сравнение концентрации цитокинов при ремиссии БК с референсными значениями в копрофильтратах у детей

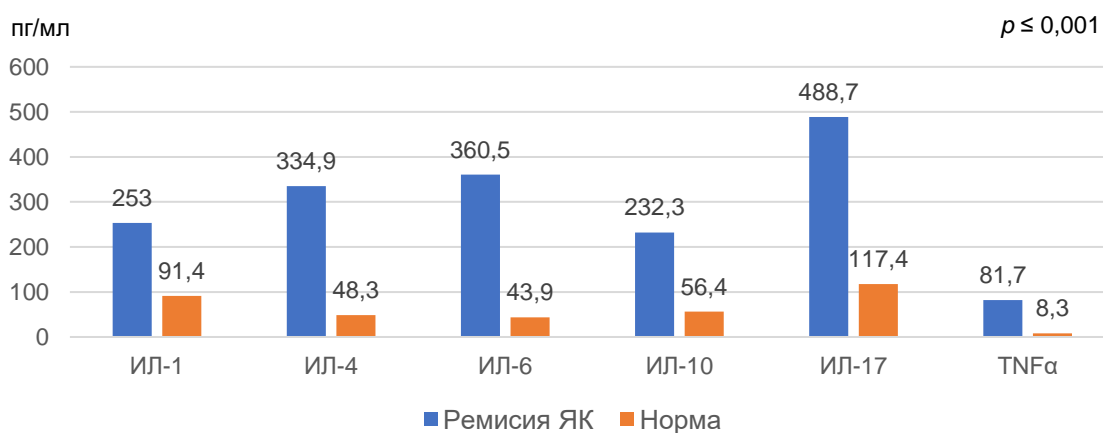


Рисунок 18 – Сравнение концентрации цитокинов при ремиссии ЯК с референсными значениями в копрофильтратах у детей

Математическая модель для оценки эндоскопической активности при болезни Крона и язвенном колите у детей

С помощью метода бинарной логистической регрессии нами была разработана математическая прогностическая модель (1), уравнение которой представлено ниже:

$$P = 1 / (1 + e^{-z})$$

$$z = 67,34 + 0,028 \times X_{\text{ФК}} - 0,145 \times X_{\text{МСНС}} - 2,43 \times X_{\text{МРV}} \times 100\% \quad (1),$$

где P – вероятность эндоскопической активности БК; $X_{\text{ФК}}$ – уровень фекального кальпротектина (мкг/г), $X_{\text{МСНС}}$ – коэффициент средней концентрации гемоглобина в эритроците (г/л), $X_{\text{МРV}}$ – коэффициент среднего объема тромбоцитов (фл).

Полученная модель (1) была статистически значимой ($p < 0,001$).

Исходя из коэффициента детерминации R^2 Найджелкерка, в модели учтено 90,2% факторов, оказывающих влияние на вероятность эндоскопической активности заболевания по шкале SES-CD.

Пороговое значение функции P составляло 0,5.

При выбранном пороговом значении чувствительность модели составила 95%, специфичность – 99%.

Математическая прогностическая модель (2), разработанная методом бинарной логистической регрессии, для оценки вероятности эндоскопической активности при язвенном колите у детей представлена ниже:

$$P = 1 / (1 + e^{-z})$$

$$z = 11,29 + 0,039 \times X_{\text{ФК}} - 0,588 \times X_{\text{P-LCR}} \times 100\% \quad (2),$$

где P – вероятность эндоскопической активности заболевания, оцененной по шкале UCEIS; $X_{\text{ФК}}$ – уровень фекального кальпротектина (мкг/г); $X_{\text{P-LCR}}$ – коэффициент крупной фракции тромбоцитов (%).

Полученная модель (2) статистически значима ($p < 0,001$).

Исходя из коэффициента детерминации R^2 Найджелкерка, в модели учтено 85,4% факторов, оказывающих влияние на вероятность эндоскопической активности заболевания.

Пороговое значение функции P составляло 0,5.

При выбранном пороговом значении чувствительность модели составила 99%, специфичность – 83,3%.

При ретроспективном применении разработанной математической модели, на представленной в нашем исследовании выборке пациентов с отсутствием клинико-лабораторных признаков активности ВЗК, в 80,8% при БК и 75% при ЯК случаев спрогнозированное отсутствие эндоскопической активности подтверждалось результатами ранее проведенной илеоколоноскопии.

На основании результатов проведенного исследования разработан алгоритм для оптимизации показаний к проведению эндоскопического исследования у детей с БК и ЯК, схема которого представлена на Рисунке 19.

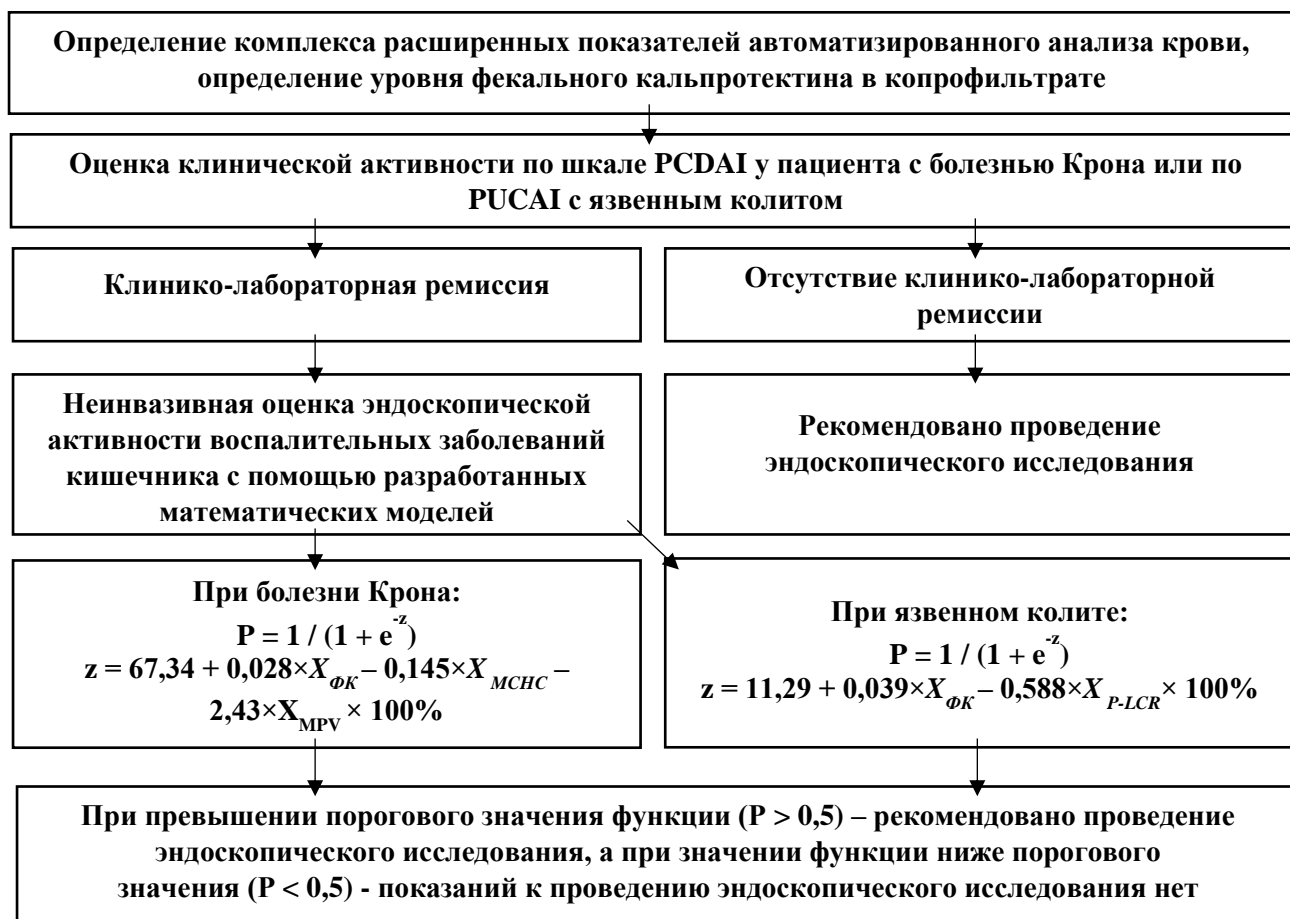


Рисунок 19 – Схема алгоритма оптимизации показаний к проведению эндоскопического исследования при БК и ЯК у детей

ВЫВОДЫ

1. Оценка индексов клинической активности воспалительных заболеваний кишечника у детей не позволяет точно оценить эндоскопическую активность процесса. Корреляция между индексами клинической и эндоскопической активности при болезни Крона и язвенном колите у детей не достигает уровня высокой взаимосвязи: для индекса клинической (PCDAI) и эндоскопической активности (SES-CD) болезни Крона (ρ Спирмена 0,658, $p < 0,001$); для индекса клинической (PUCAI) и эндоскопической (UCEIS) активности язвенного колита (ρ Спирмена 0,660, $p < 0,001$).
2. Реактивный тромбоцитоз и структурные изменения тромбоцитов (снижение среднего объема тромбоцитов, показателя анизоцитоза тромбоцитов, процента тромбоцитов крупной фракции) являются информативными маркерами клинической и эндоскопической активности болезни Крона и язвенного колита у детей.
3. В комплексе эритроцитарных показателей наибольшей диагностической ценностью для определения эндоскопической активности у детей с болезнью Крона обладают показатели анизоцитоза эритроцитов и среднего содержания гемоглобина в ретикулоците, а у детей с язвенным колитом – показатель молодой фракции ретикулоцитов. Нарастание клинической и эндоскопической активности болезни Крона сопровождается усилением гипохромии эритроцитов и ретикулоцитов (снижение среднего объема эритроцита, среднего содержания и средней

концентрации гемоглобина в эритроците, среднего содержания гемоглобина в ретикулоците), что отражает ведущую роль дефицита биодоступного железа. У детей с язвенным колитом проявления гипохромии отмечаются только на стадии умеренной и высокой активности и сочетаются с признаками раздражения эритроидного ростка в виде нарастания ретикулоцитоза и фракции молодых ретикулоцитов, что отражает значительный вклад кровопотери.

4. Нарастание клинической и эндоскопической активности при воспалительных заболеваниях кишечника у детей не сопровождается диагностически значимым увеличением числа лейкоцитов и нейтрофилов в крови; нейтрофильный лейкоцитоз выявлен только при высокой активности язвенного колита. При исследовании расширенных показателей гранулярности и реактивности нейтрофилов отмечена тенденция к их нарастанию по мере усиления активности заболевания. У детей с высокой степенью клинической активности болезни Крона и язвенного колита повышение показателей гранулярности и реактивности нейтрофилов статистически значимо.

5. Концентрация провоспалительных цитокинов в копрофильтратах у детей с болезнью Крона и язвенным колитом даже в стадии ремиссии статистически значимо превышает их уровень у детей с отсутствием воспалительных заболеваний кишечника. Нарастание эндоскопической активности сопровождается повышением концентрации анти-GP2 IgG антител, более выраженным при язвенном колите.

6. Разработанные математические модели позволяют оценить вероятность эндоскопической активности при болезни Крона с чувствительностью 95% и специфичностью 99%, при язвенном колите – с чувствительностью 99% и специфичностью 83,3% и персонализировать подход к проведению эндоскопического исследования у пациентов с отсутствием клинико-лабораторных признаков активности воспалительных заболеваний кишечника.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В качестве информативного и доступного метода неинвазивной диагностики активности болезни Крона и язвенного колита у детей рекомендуется применение расширенных параметров автоматизированного анализа крови.

2. Для прогнозирования эндоскопической активности при болезни Крона у детей с вероятностью 95% целесообразно использовать установленные пороговые значения (cut-off point): для среднего объема эритроцита – 77,5 фл, для среднего содержания гемоглобина в эритроците – 23,5 пг, для средней концентрации гемоглобина в эритроцитах – 313 г/л, для показателя анизоцитоза эритроцитов 16,6%, для показателя содержания гемоглобина в ретикулоците – 26 пг; для числа тромбоцитов – 459×10^9 /л, для показателя среднего объема тромбоцита – 7,8 фл, для показателя анизоцитоза тромбоцитов – 7,25 фл, для фракции крупных тромбоцитов – 15,2%.

3. Для прогнозирования эндоскопической активности при язвенном колите у детей с вероятностью 93% целесообразно использовать установленные пороговые значения (cut-off point): для показателя анизоцитоза эритроцитов 18,6%, для показателя содержания гемоглобина в ретикулоците – 26,8 пг, для фракции незрелых ретикулоцитов – 19,3%; для числа тромбоцитов – 390×10^9 /л, для

показателя среднего объема тромбоцита 9,25 фл, для показателя анизоцитоза тромбоцитов – 9,85 фл, для фракции крупных тромбоцитов – 17,5%.

4. Для оптимизации показаний к проведению эндоскопического исследования у детей с отсутствием клинико-лабораторных признаков активности воспалительного заболевания кишечника рекомендуется использовать разработанные прогностические математические модели для болезни Крона, включающие показатели – фекальный кальпротектин, средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах и средний объем тромбоцитов, а при язвенном колите – фекальный кальпротектин и фракция крупных тромбоцитов.

СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах, рекомендованных ВАК для публикации

результатов диссертации на соискание ученой степени кандидата наук

1. Цветкова В.С., Потапов А.С., Семикина Е.Л., Фисенко А.П., Лохматов М.М., Сурков А.Н., Анушенко А.О., Копыльцова Е.А., Будкина Т.Н., Акулова С.С. Неинвазивная оценка активности язвенного колита у детей. *Российский педиатрический журнал*. 2021; 24(1):12-19.

2. Семикина Е.Л., Цветкова В.С., Потапов А.С., Копыльцова Е.А., Фисенко А.П., Акулова С.С., Сурков А.Н., Лохматов М.М., Вершинина М.Г. Динамика лейкоцитарных показателей крови в зависимости от активности воспалительных заболеваний кишечника у детей. *Российский педиатрический журнал*. 2021; 24(3):148-156.

3. Семикина Е.Л., Цветкова В.С., Потапов А.С., Фисенко А.П., Копыльцова Е.А., Акулова С.С., Сурков А.Н., Лохматов М.М., Будкина Т.Н., Вершинина М.Г. Диагностическое значение числа тромбоцитов и тромбоцитарных индексов в оценке активности воспалительных заболеваний кишечника у детей. *Вопросы детской диетологии*. 2021; 19(3):26-36.

Публикации в других изданиях

1. Semikina E., Potapov A., Tsvetkova V., Akulova S., Anushenko A. Erythrocyte and reticulocyte parameters in children with Inflammatory Bowel Diseases. *Journal of Crohn's and Colitis*. 2020; 14 (Supplement 1):169-170.

2. Цветкова В.С., Потапов А.С., Семикина Е.Л., Сурков А.Н. Особенности эритроцитарных и ретикулоцитарных показателей крови у детей с болезнью Крона и язвенным колитом. *Российский педиатрический журнал*. 2019; 22(5):307.

3. Цветкова В.С., Потапов А.С., Семикина Е.Л. Уровень тромбоцитов и тромбоцитарных показателей в оценке активности язвенного колита у детей. *Российский педиатрический журнал*. 2020; 23(6):416.

4. Цветкова В.С., Потапов А.С., Семикина Е.Л. Особенности анемии при болезни Крона и язвенном колите у детей. *Российский педиатрический журнал*. 2021; 24(4):284.

5. Цветкова В.С., Потапов А.С., Семикина Е.Л. Прогностические модели риска эндоскопической активности болезни Крона и язвенного колита у детей. *Российский педиатрический журнал*. 2021; 24(4):284.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

Anti-GP2 IgA и IgG антитела – антитела классов IgA и IgG к GP2 антигену centroacinarных клеток поджелудочной железы	эндоскопический индекс болезни Крона
Cut-off point – пороговое значение показателя	sIgA – секреторный IgA
HGB – гемоглобина	TNFα – фактор некроза опухоли альфа
IFNγ – интерферон гамма	UCEIS (Ulcerative Colitis Endoscopic Index of Severity) – эндоскопический индекс тяжести язвенного колита
IRF – относительное количество незрелых ретикулоцитов	WBC – лейкоциты
LFR – относительное количество зрелых ретикулоцитов	БК – болезнь Крона
LYM – лимфоциты	ВЗК – воспалительные заболевания кишечника
MCH – среднее содержание гемоглобина в эритроците	ИЛ – интерлейкин
MCHC – средняя концентрация гемоглобина в эритроците	СОЭ – скорость оседания эритроцитов
MCV – средний объем эритроцита	СРБ – С-реактивный белок
MON – моноциты	ФК – фекальный кальпротектин
MPV – средний объема тромбоцита	ЯК – язвенный колит
NE-SFL – реактивность нейтрофилов	
NE-SSC – гранулярность нейтрофилов	
NEU – нейтрофилы	
P_{K-y} – критерий Краскела-Уоллиса	
PCDAI (Pediatric Crohn's Disease Activity Index) – педиатрический индекс активности болезни Крона	
PDW – ширина распределения (анизцитоз) тромбоцитов	
P-LCR – фракция (коэффициент) больших тромбоцитов	
PLT – тромбоциты	
PUCAI (Pediatric Ulcerative Colitis Activity Index) – педиатрический индекс активности язвенного колита	
RDW – ширина распределения эритроцитов	
RET – ретикулоциты	
RET-He – содержание гемоглобина в ретикулоците	
SES-CD (Simple Endoscopic Score for Crohn's Disease) – простой	