

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования

«Кубанский государственный медицинский университет»

Министерства здравоохранения Российской Федерации

*На правах рукописи*

**ЮМУКЯН КНАРА АНДРАНИКОВНА**

**ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ  
РЕЦИДИВА У ПАЦИЕНТОВ С ЯЗВЕННЫМ КОЛИТОМ**

3.1.18. Внутренние болезни

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Болотова Елена Валентиновна

Краснодар – 2022

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ.....</b>	<b>4</b>
<b>ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ ЯЗВЕННОГО КОЛИТА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....</b>	<b>13</b>
1.1. Современные представления о механизмах развития язвенного колита .....	13
1.2. Иммунологические особенности. Роль нейтрофилов в патогенезе язвенного колита.....	20
1.3. Перспективные биомаркеры нейтрофильного происхождения при язвенном колите.....	25
1.4. Реструктуризация ядер нейтрофильных гранулоцитов.....	32
<b>ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....</b>	<b>35</b>
2.1. Клиническая характеристика пациентов, включенных в исследование.....	35
2.2. Методы обследования.....	44
2.2.1. Общеклинические исследования.....	44
2.2.2. Лабораторные исследования.....	45
2.2.3. Инструментальные исследования.....	47
2.2.4. Статистический анализ.....	51
<b>ГЛАВА 3. РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ АНАЛИЗ ЧАСТОТЫ РЕЦИДИВОВ И ИХ ВЗАИМОСВЯЗЬ С КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ У ПАЦИЕНТОВ С ЯЗВЕННЫМ КОЛИТОМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ АТАКИ.....</b>	<b>53</b>
3.1. Факторы риска рецидива язвенного колита, по данным амбулаторных карт.....	54
3.2. Математическая модель оценки риска рецидива язвенного колита.....	57
3.3. Факторы риска тяжелой атаки язвенного колита, по данным карт	

стационарного больного.....	59
3.4. Математическая модель прогнозирования тяжелой атаки язвенного колита.....	66
<b>ГЛАВА 4. ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ОТДЕЛЬНЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ МАРКЕРОВ В ОЦЕНКЕ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ АТАКИ ЯЗВЕННОГО КОЛИТА.....</b>	<b>69</b>
4.1. Информативность сывороточных и фекальных маркеров в оценке степени тяжести атаки язвенного колита.....	69
4.2. Особенности реструктуризации нейтрофильных гранулоцитов в зависимости от степени тяжести атаки язвенного колита.....	75
4.3. Сравнительная оценка диагностической значимости фекальных и сывороточных маркеров и степени реструктуризации ядра нейтрофильных гранулоцитов в определении тяжести атаки язвенного колита.....	78
4.4. Алгоритм ранней диагностики рецидива и тяжелой атаки язвенного колита.....	84
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....</b>	<b>91</b>
<b>ВЫВОДЫ.....</b>	<b>99</b>
<b>ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....</b>	<b>100</b>
<b>ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ.....</b>	<b>101</b>
<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....</b>	<b>102</b>
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>	<b>104</b>

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

Язвенный колит (ЯК) и болезнь Крона (БК) классифицируются как воспалительные заболевания кишечника (ВЗК), которые имеют сходные симптомы, приводят к расстройствам пищеварения и характеризуются хронической воспалительной реакцией в пищеварительной системе [4]. Этиология данных заболеваний остается до сих пор не изученной. В настоящее время исследован ряд факторов, ассоциированных с ВЗК, включающий географическое положение, особенности диеты, генетику и наличие неадекватного иммунного ответа [4, 5]. Язвенный колит (ЯК) – важная медико-социальная проблема, что связано с его развитием в молодом и детском возрасте. Особенности эпидемиологии ЯК в России являются запоздалая диагностика и связанное с этим преобладание тяжелых форм с сопутствующими осложнениями и высокой летальностью [4, 5, 96, 103]. Точных данных о распространенности ЯК в России нет, поскольку часто остаются неучтенными легкие случаи ЯК, особенно в начале заболевания [4, 5, 85, 88]. Самые высокие показатели смертности имеются в течение первого года болезни, что обусловлено крайне тяжелым молниеносным течением заболевания [4, 85, 70, 113]. В зависимости от степени тяжести, рецидив ЯК может представлять собой потенциально угрожающее жизни состояние с системными проявлениями [4, 5, 70]. Важно отметить, что 15% пациентов с ЯК имеют риск тяжелой атаки, а 10% дебютов заболевания изначально протекают в виде фульмитантного колита [16, 17, 20]. Отсроченная диагностика ЯК способствует росту частоты тяжелых форм болезни с осложнениями и необходимостью оперативных вмешательств, а также инвалидизации и длительной нетрудоспособности пациентов молодого возраста [13, 15, 21]. Лечение ЯК является серьезным бременем для федерального и региональных бюджетов: величина годового экономического бремени для ЯК составляет более 2,4 млн руб. [5, 23, 37, 46].

## Степень разработанности темы исследования

Ранняя диагностика рецидива заболевания и оценка активности процесса в период обострения – факторы, определяющие успешность проводимой терапии, существенно осложняются разнообразием клинических форм ЯК. Ряд клинических, эндоскопических, гистологических и лабораторных показателей, используемых для оценки степени тяжести атаки имеют свои преимущества и недостатки [21, 43, 46, 59, 130]. Так, клинические показатели обеспечивают только косвенное измерение активности заболевания и не отражают морфологические изменения. В свою очередь, эндоскопические и гистологические исследования являются точными, но инвазивными и дорогостоящими [13, 15, 22]. Эндоскопическое исследование, используемое для мониторинга состояния слизистой оболочки толстой кишки на разных этапах заболевания, может ухудшить течение заболевания даже у пациентов с ЯК в стадии ремиссии и явиться провоцирующим фактором рецидива ЯК [21, 43, 46, 59, 130]. Применение фекальных тестов в повседневной клинической практике ограничено отсутствием единых референсных интервалов [53].

Таким образом, проблема ранней диагностики рецидива ЯК является серьезной задачей, что определяет актуальность поиска новых малоинвазивных маркеров активности у больных с рецидивом ЯК, обладающих высокой прогностической чувствительностью и специфичностью. Это позволит улучшить раннюю диагностику рецидива ЯК и снизит риск осложнений у данной категории больных [13, 15, 22]. Несмотря на огромное число предложенных индексов активности ЯК, ни один из них не дает адекватного представления об истинной активности воспалительного процесса, так как не отражает всю полноту иммунопатогенетических особенностей заболевания [13, 15, 22]. В этой связи, поиск надежных лабораторных маркеров, которые можно использовать для оценки рецидива и степени тяжести атаки ЯК в условиях рутинной клинической практики, является актуальным.

Поэтому в настоящее время актуальным направлением является поиск и внедрение новых эффективных прогностических маркеров активности ЯК.

### **Цель исследования**

Повышение эффективности ранней диагностики рецидива у пациентов с язвенным колитом на основании комплексной оценки клинических, лабораторных, эндоскопических и морфологических данных.

### **Задачи исследования:**

1. Провести ретроспективный анализ предикторов рецидива и тяжелой атаки язвенного колита.
2. Изучить особенности показателей цитокинового профиля (IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF $\alpha$ , IL-17), фекального кальпротектина, фекального лактоферрина, фекального неоптерина у пациентов с язвенным колитом в зависимости от степени тяжести атаки.
3. Оценить диагностическую значимость реструктуризации хроматина нейтрофильных гранулоцитов у пациентов с язвенным колитом в зависимости от степени тяжести атаки.
4. Сопоставить параметры эндоскопической и морфологической активности язвенного колита с уровнем лабораторных показателей (цитокинового профиля, фекального кальпротектина, лактоферрина, фекального неоптерина, реструктуризацией хроматина нейтрофильных гранулоцитов) в зависимости от степени тяжести атаки.
5. Разработать алгоритм ранней диагностики рецидива язвенного колита на основании наиболее информативных цитохимических и иммунологических показателей.

## **Научная новизна исследования**

Впервые проведено исследование степени реструктуризации хроматина нейтрофильных гранулоцитов у больных язвенным колитом и дана клиническая, лабораторная и инструментальная оценка полученных результатов в зависимости от степени тяжести атаки язвенного колита.

Впервые проведена сравнительная комплексная оценка эндоскопической и морфологической активности язвенного колита с уровнем лабораторных показателей (цитокинового профиля, фекального кальпротектина, лактоферрина, фекального неоптерина) и степенью анизотропии ядер нейтрофильных гранулоцитов.

Впервые разработаны прогностические модели для определения риска раннего (<6 месяцев) рецидива и развития тяжелой атаки язвенного колита.

Впервые предложен алгоритм повышения эффективности ранней диагностики рецидива и тяжелой атаки язвенного колита, включающий использование прогностических моделей и степени анизотропии ядер нейтрофильных гранулоцитов.

## **Теоретическая и практическая значимость исследования**

Теоретическая значимость работы состоит в определении роли цитохимических показателей (степени реструктуризации хроматина нейтрофильных гранулоцитов) в оценке активности воспаления, достижения клинико-лабораторной и эндоскопической ремиссии у пациентов с язвенным колитом.

Практическая значимость проведенного исследования заключается в разработке алгоритма диагностики рецидива язвенного колита, основанного на использовании прогностических шкал, что позволяет сформировать группы больных язвенным колитом с высоким риском раннего рецидива и тяжелой атаки язвенного колита, а также использования цитохимического исследования степени анизотропии ядер нейтрофильных гранулоцитов, что позво-

ляет уточнить наличие и тяжесть рецидива язвенного колита и определить дальнейшую тактику лечения.

### **Методология и методы исследования**

Методологическую основу исследования составили работы отечественных и зарубежных авторов, где отражены современные эпидемиологические, этиологические, патогенетические данные, освещены вопросы диагностики и лечения ЯК, дана оценка роли отдельных клинических, эндоскопических, серологических, цитохимических и фекальных маркеров в определении активности заболевания.

Диссертационная работа является прикладным научным исследованием, основу которого составляет решение актуальной задачи оптимизации и совершенствования диагностических и терапевтических мероприятий у пациентов с ЯК.

Объектом исследования явились пациенты с ЯК. Предметом исследования явилось изучение клинико-лабораторных, морфологических, инструментальных предикторов развития рецидива у больных ЯК.

Гипотеза исследования: выявление предикторов развития рецидива ЯК и сравнительный анализ неинвазивных воспалительных маркеров с учетом их взаимосвязи с инструментальными методами рецидива позволит разработать алгоритм ранней диагностики ЯК.

В работе применялись общие методы эмпирического исследования (сравнение, измерение, наблюдение), специальные методы (анкетирование, сбор анамнеза, лабораторные, инструментальные), статистические методы.

Диссертационная работа выполнена в соответствии с требованиями Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации об этических принципах проведения медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов и одобрена Независимым этическим комитетом ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России.

## Основные положения, выносимые на защиту

1. Прогностический индекс, рассчитанный на основе бинарной логистической регрессии, включающий такие независимые переменные как присоединение оппортунистической инфекции при последнем обострении и длительность анамнеза язвенного колита, при значении функции  $\geq 22,1$  указывает на риск развития рецидива язвенного колита в ближайшие 6 месяцев с чувствительностью 76,6% и специфичностью 92,2%.

2. Прогностический индекс, рассчитанный на основе бинарной логистической регрессии, включающий такие независимые переменные как величина индекса массы тела и частота рецидивов в анамнезе при значении функции  $\geq 36,3$  указывает на риск развития тяжелой атаки с чувствительностью 86,0% и специфичностью 90,9%.

3. Тяжесть атаки язвенного колита статистически значимо коррелирует с уровнем фекальных (ФКП, ФНП, ФЛФ) и сывороточных (IL-6, IL-17, TNF $\alpha$ ) биомаркеров воспаления.

4. Степень оптической анизотропии нейтрофильных гранулоцитов – ранний маркер рецидива язвенного колита, коррелирующий со степенью тяжести атаки язвенного колита по шкале Мейо и сопоставимый с диагностической значимостью фекального кальпротектина, по данным дисперсионного анализа.

5. Эффективность ранней диагностики рецидива и тяжелой атаки язвенного колита повышается при использовании алгоритма, включающего разработанные прогностические шкалы и определение степени оптической анизотропии нейтрофильных гранулоцитов.

## **Степень достоверности исследования**

О достоверности полученных результатов свидетельствуют репрезентативность исходной базы данных (315 медицинских карт пациентов с ЯК для ретроспективного исследования: 167 карт стационарного больного и 148 карт амбулаторного больного; 178 медицинских карт стационарного больного для проспективного исследования, 40 таблиц с данными здоровых добровольцев для контрольной группы, результаты общеклинических и специальных методов обследования); правильное формирование выборки исследования, четкое соблюдение критериев включения и невключения; обоснованное применение современных методов исследования; соответствие принципам и методам доказательной медицины; адекватность и соответствие статистической обработки данных имеющемуся материалу; список использованных литературных источников, включающий 24 отечественных и 126 зарубежных авторов; выводы и практические рекомендации логично и аргументированно вытекающие из результатов исследования.

## **Личный вклад автора в получении научных результатов**

На основе анализа современной научной литературы по теме диссертации при непосредственном участии диссертанта сформулированы цель и задачи, определены критерии включения и невключения, дизайн, план и методы исследования. В рамках сбора материала диссертантом тщательно изучена медицинская документация для ретроспективного исследования, проведен анализ полученных данных, отобраны и обследованы пациенты с ЯК, проведено изучение их клинического, лабораторного и эндоскопического статуса в зависимости от тяжести атаки, обследованы лица группы контроля, заполнены индивидуальные регистрационные карты, информация из которых внесена в электронную базу данных.

Автор диссертации принимал участие в обследовании пациентов, наборе материала, осуществил статистический анализ данных. Диссертантом проанализированы, систематизированы полученные данные и сопоставлены с результатами других исследователей, на основании чего сформулированы выводы и практические рекомендации. Автором последовательно описаны все разделы диссертационного исследования, внедрены в клиническую деятельность практические рекомендации. Результаты работы обсуждены автором в научных докладах и отражены в публикациях.

### **Практическое использование результатов исследования**

Теоретические и практические результаты диссертационного исследования внедрены в практику работы гастроэнтерологических отделений ГБУЗ НИИ-ККБ №1 им. С.В. Очаповского и ГБУЗ ККБ №2, а также в учебный и научно-исследовательский процесс на кафедре терапии №1 ФПК и ППС и кафедре факультетской терапии ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России.

### **Публикации и апробация результатов работы**

Основные положения диссертационной работы опубликованы в 15 научных работах, из них 1 – в журнале с цитированием в Scopus, 6 – в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для публикации результатов диссертаций: «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики» (2019), «Доктор Ру» (2022), «Казанский медицинский журнал» (2022), «Врач» (2022), «Крымский терапевтический журнал» (2022), «Кубанский научный медицинский вестник» (2022).

Получен патент «Способ прогнозирования риска развития рецидива язвенного колита», приоритетная справка на патент «Способ прогнозирования риска развития осложнений язвенного колита при клиническом обострении»,

приоритетная справка на программу для ЭВМ «Система индивидуального расчета риска раннего рецидива язвенного колита». Выпущена монография «Роль нейтрофильных маркеров в диагностике язвенного колита».

Результаты исследования доложены и обсуждены на 46-й научной сессии ЦНИИ гастроэнтерологии «Генетика в гастроэнтерологии: возможности и перспективы» (Москва, 2020), 48-й научной сессии ЦНИИ гастроэнтерологии «Детские корни взрослых проблем» (Москва, 2022), Всероссийской конференции молодых терапевтов (лауреат конкурса молодых ученых, Санкт-Петербург, 2022).

Работа апробирована на совместном заседании кафедры поликлинической терапии с курсом семейной медицины, кафедры терапии №1 ФПК и ППС, кафедры факультетской терапии, ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России (Краснодар, 2022).

## ГЛАВА I. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ ЯЗВЕННОГО КОЛИТА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

### 1.1. Современные представления о механизмах развития язвенного колита

Воспалительные заболевания кишечника (ВЗК) являются серьезной проблемой современного здравоохранения. Это связано с устойчивым ростом заболеваемости прежде всего среди лиц молодого трудоспособного возраста, высокими экономическими затратами государства, обусловленными длительным лечением, временной и длительной утратой трудоспособности [4, 13, 15, 22]. Язвенный колит (ЯК) и болезнь Крона (БК) классифицируемые как ВЗК, имеют сходные симптомы, приводят к расстройствам пищеварения и характеризуются хронической воспалительной реакцией в пищеварительной системе [4, 13, 15, 22, 23]. В отличие от БК, воспаление при ЯК ограничено в пределах слизистой оболочки, затрагивает прямую кишку и зачастую, распространяется на проксимальные отделы толстой кишки [4, 23].

Согласно современным эпидемиологическим данным, наиболее высокая распространенность ЯК отмечается в Юго-Восточной Норвегии – 505 случаев / 100.000 населения и в Северной Америке – 286,3 случая / 100 тыс. населения [70, 131, 132]. Для сравнения – в азиатских странах частота ЯК составляет от 5,3 до 63,6 случаев / 100.000 населения [70, 131, 132]. Есть ряд различий в распространенности и заболеваемости ЯК в разных регионах мира: уровень заболеваемости ЯК может составлять от 0,5 до 31,5 случаев / 100.000 населения ежегодно [23, 132]. Важно отметить, что исследователи отмечают стабилизацию и даже некоторое снижение распространенности ЯК с 1990 г. в развитых западных странах при одновременном приросте показателей в промышленно развитых странах Азии, Африки и Южной Америки, включая Бразилию и Тайвань [46, 70, 123, 131]. Кроме того, наблюдается прирост показателей заболеваемости ЯК у детей и подростков, например в

Шотландии отмечен прирост в возрастной группе до 16 лет [35, 70, 75, 89, 101, 136].

Данные о частоте ВЗК в России ограничены. Согласно отдельным региональным исследованиям, заболеваемость составляет 4,1 на 100 тыс. населения для ЯК и 0,8 / 100.000 населения для БК [22]. Отмечается прирост заболеваемости на 5-20 случаев / 100.000 населения в год с тенденцией к увеличению заболеваемости примерно в 6 раз за последние 40 лет [22, 23]. Среди госпитализированных пациентов наблюдается больший прирост больных ЯК: с 2012 по 2015 г. на 31,7% [22, 23].

Большая часть эпидемиологических исследований не выявили гендерных различий в заболеваемости ЯК. Однако, некоторые авторы, в своих работах отмечают преобладание либо женщин, либо мужчин в популяции пациентов с ЯК и подчеркивают ряд особенностей течения ЯК, ассоциированных с полом. Так, G. Mavroudis и соавт. женский пол был ассоциирован с тяжестью симптомов при ЯК [139]. Достаточно изученным предиктором развития ЯК является семейный анамнез ВЗК. Интересно что по мнению исследователей, данный фактор не является негативным в отношении прогноза для пациентов. В проспективном исследовании L. Henriksen и соавт., включавшем 454 человек с ЯК, семейный анамнез ВЗК имели 10,1% [71] В изучаемой когорте в течение 5-ти лет наблюдения существенных различий в медикаментозной терапии и частоте колэктомии между лицами, имеющим семейный анамнез ВЗК и остальными участниками исследования не выявлена [71]. В ретроспективном исследовании M. Ruban и соавт. показало, что из 325 детей с ВЗК, у 25,2% был положительный семейный анамнез и различий в течение заболевания, у лиц имеющих, и не имеющих семейный анамнез выявлено не было [73]. E. Kuwahara и соавт. изучили клинические данные 46 114 случаям ЯК, продемонстрировавшие более ранний возраст начала ЯК у пациентов с семейным анамнезом ВЗК, по сравнению с когортой с неотягощенным анамнезом, однако различия в клиническом течении ЯК выявлено так же не было [50].

Вопрос этиологии ЯК в настоящее время остается до конца не изученным. Современные исследователи полагают, что к ЯК имеется генетическая предрасположенность [29, 62]. Крупные популяционные исследования это подтверждают, демонстрируя более высокий риск заболевания ВЗК у близнецов [29, 39, 62]. Показательным в этом отношении является исследование К. Amsoff и соавт., исследовавших влияние генетической предрасположенности к ВЗК: среди близнецов была выявлена более высокая генетическая предрасположенность относительно БК, чем ЯК [39].

Анализ научных данных свидетельствует, что исключительно генетической предрасположенности для развития ВЗК недостаточно [61]. Развитие заболевания происходит при сочетании генетической восприимчивости к ВЗК и воздействию некоторых факторов риска, что суммарно приводит к нарушению гомеостаза кишечника [105]. Важная роль в этом отношении отводится нарушению микробиоценоза кишечника, что довольно характерно для ВЗК и проявляется в виде снижения биоразнообразия кишечника с изменением состава пространственного распределения микробиоты кишечника, а также аномальным взаимодействием между штаммами микробиоты и хозяином [63]. Вместе с тем, по мнению многих отечественных и зарубежных исследователей, остается спорным: дисбиоз кишечника провоцирует развитие ВЗК или наоборот ВЗК приводит к нарушению биоценоза кишечника. Однако, вне зависимости от причинно-следственных взаимосвязей, очевидно, что вмешательство в гомеостаз кишечника способствует патофизиологии ВЗК.

Несомненно, важна роль взаимодействия генетических и средовых факторов риска развития ВЗК. Так, в работе Min Zhao и соавт. (2022 г.) было проанализировано 255 исследований и определено 25 факторов риска развития ВЗК, семь из которых были актуальны как для восточной, так и для западной популяции: семейная история БК или ЯК, анамнез курения, аппендэктомия, тонзиллэктомия, употребление мяса и мясных продуктов, дефицит витамина D [125]. Остальные факторы, включающие проживание в городской местности, текущее курение, прием антибиотиков и оральных контра-

цептивов, кесарево сечение, прием изотретиноина, ожирение, употребление жира, яиц и безалкогольных продуктов, были связаны с повышенным риском ВЗК только в одной из популяций. Из них факторами риска развития ВЗК для восточного населения стали: употребление яиц, повышенное потребление жира и жирных кислот (как мононенасыщенных, так и полиненасыщенных) [125]. Вместе с тем, авторами определено более 20-ти протективных факторов для ВЗК, восемь из которых стали общими для восточной и западной популяций: наличие домашних и сельскохозяйственных животных, многочисленные роды, физическая активность, анамнез грудного вскармливания, инфицирование *H.pylori*, текущий статус курения и потребление кофе [125]. Примечательно, что защитная роль *H.pylori* так же была ранее продемонстрирована в отдельных работах: получены отрицательные корреляции между *H. pylori* и распространенностью ВЗК, *H. pylori* оказывала защитное действие против ВЗК, а эрадикация *H. pylori*, согласно данным мета-анализа, способствовала рецидиву ВЗК [65].

Недавно проведенный мета-анализ 19 исследований продемонстрировал важную роль питания в развитии ВЗК [125]. Целью этого исследования стало обобщение данных о повседневном рационе питания взрослых с ВЗК по сравнению со здоровыми людьми, сопоставимыми по возрасту и полу. Выяснилось, что взрослые с ВЗК получают недостаточно энергии, клетчатки, жирорастворимых витаминов, важных питательных веществ, таких как фолиевая кислота, витамины В1, В2, В3, В6, калий, магний и фосфор. Было обнаружено, что взрослые с ВЗК потребляют значительно больше жира и меди, а пациенты с ВЗК значительно меньше белка, железа и клетчатки по сравнению со здоровыми контрольными группами. Другим важным выводом этого обзора стало то, что потребление основных продуктов, считающиеся основой здорового питания, таких как злаки, бобовые, фрукты, овощи и молочные продукты признано недостаточным для людей с ВЗК [125].

Исследования показали, что ряд генов восприимчивости к ВЗК, связаны с активностью микробиома [60, 76]. Предполагается, что эти локусы не

позволяют организму поддерживать устойчивость к комменсальным кишечным бактериям, тем самым снижая иммунную активность [26, 144]. В свою очередь, нарушенное взаимодействие хозяина и микробиома приводит к дисрегуляции иммунного ответа слизистой относительно микробиоты, находящейся в просвете кишечника. В свою очередь, наличие пептидных аутоантител провоцирует развитие воспалительного ответа и, соответственно, внекишечных проявлений [26, 97, 144]. Таким образом, риск развития ВЗК, в том числе и ЯК, опосредован генетическими особенностями, средовыми факторами и составом комменсальной микрофлоры кишечника [26, 43, 85].

Заболеваемость ЯК, согласно современным эпидемиологическим данным тесно связана с индустриализацией, что подтверждается ростом частоты ВЗК в развивающихся странах за последние десятилетия [130]. Вместе с тем, имеются некоторые доказательства того, что прогрессирование заболевания и генетические варианты, которые обуславливают восприимчивость к ЯК, имеют межрегиональные и межпопуляционные различия, что существенно усложняет поиск «универсальных» триггеров или генов [130]. Несмотря на мультифакториальность риска развития ЯК, выявлены некоторые общие тенденции: частота заболеваемости ВЗК прямо пропорциональна распространению продуктов высокой степени переработки, рафинированных углеводов и насыщенных жиров в изучаемых популяциях [30, 77]. Полагают, что внедрение этих элементов в рацион человека влияет на здоровье кишечника путем нарушения состава кишечной микрофлоры [113, 144]. Ряд исследований, продемонстрировал ассоциацию применения антибактериальных препаратов в раннем детском возрасте с повышенным риском развития ВЗК [135]. Это может свидетельствовать об имеющейся взаимосвязи между особенностями взаимодействия микрофлоры кишечника с организмом хозяина и развитием ЯК. В исследованиях Genome-Wide Association Studies (GWAS - общегеномных ассоциаций) выявлена тесная взаимосвязь между генами врожденного иммунитета и генетическими локусами, ассоциированными с ЯК [96]. Этот факт предполагает развитие ЯК, как результат нарушений иммунных реакций

относительно микроорганизмов [96]. Патологические изменения в составе и пространственном распределении микробиоты кишечника коррелируют с потерей полезных метаболитов, полученных из микробиоты, и наличием коли-тогенных видов [96, 113, 144]. Данные свидетельствуют о том, что гомеостаз и микробиота кишечника неразрывно связаны, поэтому нарушения гомеостаза способствуют патологическому взаимодействию микробиоты и кишечного эпителия [96, 113, 144]. В исследовании S. Joossens и соавт. обнаружены нарушения микробиоценоза с пропорциональным увеличением уровня фекального кальпротектина (ФКП) у здоровых родственников первой степени родства пациентов с ВЗК [39]. Это подтверждает генетическую предрасположенность к патологическим взаимодействиям хозяина и микроорганизма при ВЗК [39, 125]. Интересно, что у близких родственников пациентов с ВЗК выявлены и другие патологические фенотипы, такие как повышенная проницаемость кишечника и наличие сывороточных антител к *Saccharomyces cerevisiae* [30].

Таким образом в настоящее время уделяется пристальное внимание, микробиоте кишечника и ее особенностям, играющим основополагающую роль в гомеостазе и функционировании иммунной системы. У генетически предрасположенных лиц, нарушение регуляции иммунной функции ЖКТ и стойкое воспаление кишечника связаны с формированием патогенной микрофлоры связано и изменениями функции кишечного эпителия [105]. Эти наблюдения подтверждают, что генетическая предрасположенность, наряду с факторами окружающей среды, является одним из основных предикторов развития ЯК.

Интересным представляется тот факт, что среди факторов внешней среды на риск развития ЯК доказано влияние курения и удаления аппендикса [129, 134]. Курение табака связано как с риском, так и с клиническим течением ВЗК. Так, согласно некоторым данным, риск развития ВЗК различается у активных курильщиков и тех, кто курил ранее, однако, эта взаимосвязь в зависимости от клинического подтипа варьируется. Важно отметить, что куре-

ние является протективным фактором относительно ЯК, а при БК ситуация противоположная [61]. Так, в недавнем мета-анализе 22 исследований отмечено, что у активных курильщиков повышен риск развития БК по сравнению с таковым у прекративших курение, в то время, как у нынешних курильщиков риск развития ЯК меньше, чем у прекративших курение [85]. Этот мета-анализ также выявил статистически значимый риск развития ЯК в течение ближайшего года после отказа от курения [85].

Имеется ряд гипотез о существовании возможных механизмов, с помощью которых табакокурение может оказывать этиопатогенетическое влияние на ВЗК, посредством воздействия на иммунную систему и проницаемость кишечной стенки [33, 34]. Вместе с тем, данные этих наблюдений могут не вполне точно отражать истинные причинно-следственные взаимосвязи, так как не учитывают ряд таких существенных факторов как социально-экономическое положение, статус употребления алкоголя и некоторые другие.

Существует ряд исследований, в которых рассматривается роль аппендэктомии как этиологического фактора развития ВЗК [61, 85, 129, 134]. Наряду с этим, часть исследований продемонстрировала протективное влияние аппендэктомии относительно развития ЯК [129]. В проведенном недавно мета-анализе с участием 2980 больных ЯК, 3,7% (111) из которых, имели в анамнезе аппендэктомию (63 – до манифестации ЯК, 48 – после), было показано, что аппендэктомия, явилась независимым предиктором колэктомии (ОШ = 1,9; 95% ДИ: 1,1–3,1) [134]. Аппендэктомия, проведенная после манифестации ЯК, была статистически значимо ассоциирована с колэктомией (ОШ = 2,2; 95% ДИ: 1,1–4,5) [134]. Таким образом, данные о влиянии аппендэктомии на особенности течения ЯК нуждается в дальнейшем изучении.

Особый интерес представляют исследования, посвященные роли ожирения как фактора риска развития ВЗК и предиктора тяжести течения заболевания. Ряд ретроспективных когортных исследований демонстрируют, что избыточная масса тела ассоциирована с более благоприятным клиническим

течением ЯК, чем нормальная масса тела и ее дефицит [78, 117, 119]. Исследователи полагают, что это может быть обусловлено противовоспалительным действием цитокинов жировой ткани, а именно адипонектина, продуцируемого в основном адипоцитами [117, 119]. В этой связи некоторые авторы подчеркивают структурную гомологию адипонектина и TNF $\alpha$  – цитокина, участвующего в патогенезе ВЗК [117, 118].

## **1.2. Иммунологические особенности: роль нейтрофилов в патогенезе язвенного колита**

Первыми изученными серологическими маркерами ВЗК были ASCA (антитела против *S. Cerevisiae*) и p-ANCA (перинуклеарные антинейтрофильные цитоплазматические антитела) [122]. За последние годы два этих серологических маркера стали использоваться не только для дифференциальной диагностики форм ВЗК: с БК ассоциирован положительный ASCA, с ЯК положительный p-ANCA), но и показали свою прогностическую значимость: наличие ASCA связано с тяжелым и рефрактерным течением БК, в то время, как p-ANCA-позитивность у пациентов с ЯК, по-видимому, связана с резистентностью к лечению [120, 122]. Недавно проведенный многомерный анализ A. Yoshida и соавт., продемонстрировал, что PR3-ANCA-позитивность связана с невосприимчивостью к анти-TNF $\alpha$  агентам (ОШ = 19,29; 95%-ный ДИ: 3,30–172,67;  $p = 0,002$ ) [122]. Аналогичные результаты получены в исследованиях D' Haens и соавт., продемонстрировавших недостаточный клинический ответ на терапию инфликсимабом у пациентов с ЯК и p-ANCA+/ASCA [40]. Выявлено также первичное отсутствие ответа на анти-TNF $\alpha$  и повышенный риск стероидной зависимости у пациентов с ЯК и p-ANCA+ [28, 40].

Центральная роль в патогенезе ЯК в настоящее время отводится нарушению регуляции иммунного ответа относительно кишечной микрофлоры в сочетании с дисрегуляцией в работе противовоспалительных или провоспа-

лительных реакций [29]. Вышеперечисленные патогенетические механизмы непосредственно влияют на эпителиальный барьер, увеличивая его проницаемость для новых антигенов и приводя к стойкому хроническому воспалению [35]. В поддержании гомеостаза кишечника принимают участие как врожденный, так и приобретенный иммунитет. В этом процессе задействованы многочисленные воспалительные иммунные клетки, такие как макрофаги, нейтрофилы, CD4+ Т-клетки [67, 68].

Первыми лейкоцитами, концентрирующимися в очаге воспаления, являются нейтрофилы, также известные как полиморфноядерные лейкоциты [8-11]. Они считаются наиболее распространенными и короткоживущими эффекторными клетками врожденной иммунной системы [8-11]. При внедрении чужеродных микроорганизмов, нейтрофилы достаточно быстро адаптируются под выполнение большого спектра антимикробных функций: фагоцитоза, дегрануляции, продукции активных форм кислорода и образования внеклеточных нейтрофильных ловушек [1, 6, 10, 11].

При гистологическом исследовании биоптата толстой кишки больных ЯК выявляется массивная инфильтрация нейтрофилами сопровождающаяся выработкой активных форм кислорода и высвобождением сериновых протеаз, матриксных металлопротеиназ (ММП) и миелопероксидазы, которые повреждают стенку кишечника. Миграция нейтрофилов в слизистую толстой кишки при ЯК является признаком воспаления и коррелирует с тяжестью заболевания [4, 67, 108, 109].

Нейтрофилы непосредственно участвуют в патогенезе ЯК путем активного протеолитического и окислительного повреждения эпителиального слоя и прилежащих к нему тканей. Кроме того, они способствуют поддержанию воспаления за счет синтеза провоспалительных медиаторов: TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , IL-12, IL-17, MIF, хемокинов, ростовых факторов, гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF), воспалительных медиаторов и гранулярных энзимов: эластазы, азуроцидина, липокалина [91-95]. Результаты экспериментального моделирования функциональной ак-

тивности инфильтрата кишки у лабораторных животных демонстрируют гетерогенность популяции НГ и их способность выступать в роли регуляторов воспаления путем продукции цитокинов и синтеза аргиназы [1, 91-94].

Нейтрофильная инфильтрация является отличительной чертой гистопатологии ЯК, отражающей центральную роль НГ как эффекторных клеток в повреждении слизистой оболочки кишечника при данном заболевании. В этой связи рецептор CXCR2, экспрессируемый в нейтрофилах, заслуживает отдельного внимания [34, 147]. Являясь членом семейства 7-трансмембранных (связанных с G-белком) рецепторов, он имеет высокую аффинность к IL-8 и является нативным рецептором для многих других хемокинов [1]. Эксперименты показали, что CXCR2 обуславливает хемотаксис НГ в зонах воспаления и принимает участие во врожденном иммунитете. Показано, что CXCR2 участвует в ангиогенных эффектах IL-8 в эпителиальных клетках кишечной стенки и является мощным медиатором рекрутирования НГ в доклинических моделях аллергических реакций, артрита, бронхолегочных заболеваний и ЯК [42, 44]. Снижение экспрессии CXCR2 в НГ ассоциировано с внедрением бактериальных агентов и связано с нарушением миграции в очаги воспаления [126, 146, 147]. Во многочисленных современных работах показано, что экспрессия CXCR2 повышается в тканях слизистой оболочки толстого кишечника и клетках периферической крови у пациентов с рецидивом ЯК [145, 146]. Кроме того, увеличение экспрессии CXCR2 НГ положительно коррелировало с активностью ЯК [146]. Напротив, ингибирование CXCR2 в НГ уменьшало выработку провоспалительных медиаторов и снижало миграционную способность НГ, аналогично периоду ремиссии [146].

Определяющая роль НГ в патогенезе ЯК подтверждается огромным количеством исследований. Так, нейтрофильная инфильтрация в слизистой оболочке кишечника коррелирует с эндоскопической тяжестью и системными показателями острофазовых белков сыворотки крови [4]. Эндоскопические и гистологическими методами проводится контроль снижения или пол-

ного исчезновения НГ, что позволяет оценить эффективность лечения язвенного колита [2, 4, 14]. Кроме того, улучшение гистологических показателей тесно коррелирует с клиническим улучшением, что позволяет сделать вывод, о том, что гистологическая ремиссия, наряду с клиническими и эндоскопическими исследованиями, должна быть конечной терапевтической точкой при лечении ЯК [2, 4, 14].

Нарушение регуляции апоптоза нейтрофилов обнаруживается не только при ЯК, но и при других хронических нейтрофильных воспалительных заболеваниях [2, 4, 14]. Предполагают, что это связано с высвобождением антиапоптотических цитокинов, например GM-CSF, продолжительность жизни которых выше, чем у гранулоцитов в период воспаления [44, 48]. В активной стадии ЯК происходит неконтролируемое чрезмерное накопление НГ и их персистенция в слизистой оболочке кишечника, что задерживает своевременное разрешение воспаления, способствуя хронизации патологического процесса [4, 14].

Наиболее характерным гистологическим вариантом при ЯК является нарушение строения слизистой оболочки толстого кишечника и/или крипт с ветвлением и изменение размеров, атрофией и неровностью слизистой оболочки и базальным плазмцитозом. Эти признаки суммарно демонстрируют хронизацию воспалительного процесса в слизистой толстого кишечника. Они формируются при воспалительной реакции продолжительностью > 4-х недель, сохраняясь в фазу ремиссии [49, 50, 55]. В период обострения у больных ЯК имеются и иные воспалительные признаки: эрозии и грануляционная ткань, группы НГ в собственной пластинке слизистой кишечной стенки, которые проникают в поверхностный эпителий и эпителий крипт с образованием «крипт-абсцессов» [4, 14, 49, 50]. Указанные признаки в период атаки говорят об активности процесса и исчезают в период ремиссии ЯК [4, 14, 49, 50]. В настоящее время клинические исследования регулярно включают эндоскопическую оценку заживления в качестве конечной точки, и консенсус

экспертов рекомендует его в качестве важной цели лечения в клинической практике [67].

Несмотря на прогресс в медикаментозном лечении ЯК, значительная доля пациентов имеет рецидивы заболевания [3, 4, 14]. Это объясняется тем, что у пациентов, достигших заживления слизистой по данным эндоскопии, обычно наблюдается активное микроскопическое воспаление слизистой оболочки толстой кишки [67]. Многочисленные исследования демонстрируют сохранение микроскопического воспаления у большинства пациентов с эндоскопически диагностированной ремиссией, что позволяет предположить, что эндоскопическая оценка слизистой оболочки сама по себе может не полностью характеризовать уровень воспаления при ЯК [4, 16, 17]. Таким образом, имеются основания полагать, что гистологическая ремиссия связана с улучшением клинического результата и именно этот параметр может быть конечной терапевтической целью при лечении ЯК. Являясь важной частью патогенеза ЯК, НГ, безусловно, привлекают внимание в качестве ценного маркера активности и тяжести течения ЯК, а также потенциально привлекательной фармакологической мишени.

У пациентов с ЯК наблюдается массивная инфильтрация нейтрофилами кишечной стенки с выработкой активных форм кислорода и сериновых протеаз, ММП и миелопероксидазы [2, 4, 17]. Установлено, что нейтрофилы экспрессируют более 1200 клеточных белков, из которых более 400 находятся в секреторных пузырьках и почти 300 в гранулах [51, 55, 56]. Активность заболевания взаимосвязана с прогрессирующей нейтрофильной инфильтрацией от минимальной воспалительной активности до выраженного изъязвления [2, 56]. Таким образом, нейтрофильная инфильтрация – отличительная черта гистопатологии ЯК, отражающей центральную роль нейтрофилов как эффекторных клеток в повреждении слизистой оболочки [110]. Инфильтрация нейтрофильных клеток в эпителий и собственную пластинку является важнейшим компонентом оценки тяжести ЯК, в частности, для гистологической оценки ЯК в баллах Райли и Гебо, а также в недавно предложенном гис-

тологическом индексе Нэнси [4, 112]. Нейтрофильная инфильтрация слизистой оболочки коррелирует с эндоскопической тяжестью ЯК и такими системными показателями воспаления, как уровень С-реактивного белка (СРБ) в сыворотке крови [108]. У пациентов с ЯК выявлено нарушение регуляции апоптоза нейтрофилов, что может быть связано с высвобождением антиапоптотических цитокинов, таких как гранулоцитарно-макрофагальный колоние-стимулирующий фактор (GM-CSF), пролонгирующим длительность жизни гранулоцитов в период воспаления слизистой оболочки [98]. Практически неконтролируемое накопление НГ и их персистенция в слизистой кишечной стенке в период рецидива ЯК способствуют задержке своевременного разрешения воспаления кишечника [100, 102]. Таким образом, НГ – важная часть патогенеза ЯК, ценный диагностический маркер рецидива и оценки тяжести заболевания, а также привлекательная терапевтическая мишень.

### **1.3. Перспективные биомаркеры нейтрофильного происхождения при язвенном колите**

В настоящее время в качестве перспективных неинвазивных маркеров активности ЯК наиболее широко исследованы фекальные маркеры нейтрофильного происхождения: фекальный кальпротектин (ФКП) и лактоферрин (ФЛФ) [104, 128].

ФКП представляет собой цинк - и кальций-связывающий белок массой 36 кДа. Основным его источником являются нейтрофилы и, в меньшей степени, моноциты и макрофаги. ФКП представляет собой около 60% растворимых цитозольных белков НГ и используется в качестве маркера круговорота нейтрофилов. Он обнаруживается в различных биологических жидкостях, например: сыворотка крови, слюна и моча, кал [58]. Концентрация ФКП в кале пропорциональна миграции нейтрофилов в желудочно-кишечный тракт, и, таким образом, кальпротектин является наиболее широко измеряемым маркером в кале [4, 58]. В клинической практике измерение ФКП использу-

ется для дифференциации функциональных расстройств кишечника, главным образом, синдрома раздраженного кишечника, и воспалительных заболеваний кишечника [64]. У пациентов с ВЗК он применяется в качестве ценного неинвазивного инструмента для мониторинга активности заболевания [4, 58, 64].

Лактоферрин – это белок, связывающий железо в количестве 80 кДа, впервые идентифицированный в молоке и присутствующий во многих других выделениях. Лактоферрин высвобождается из вторичных гранул нейтрофилов при активации и выполняет множество функций. В дополнение к своим антибактериальным свойствам, он участвует в иммунном ответе, росте и дифференцировке клеток [64].

В нескольких клинических исследованиях изучалась информативность ФКП и ФЛФ в дифференциальной диагностике ВЗК и синдрома раздраженного кишечника (СРК), для прогнозирования рецидива ВЗК и в качестве биомаркера активности заболевания при ЯК [86, 138]. Недавно проведенное многоцентровое поперечное исследование ACERTIVE, включавшее 371 пациента, доказало, что уровни ФКП были статистически выше у пациентов с эндоскопической и гистологической активностью, были предложены уровни отсечения 150-250 мкг/г [100]. В крупном исследовании, проведенном в 2013-2017 гг. с участием 185 пациентов показало, что уровень ФКП  $\geq 170$  мкг/г предсказывает эндоскопическую активность, а уровень ФКП  $\geq 135$  мкг/г предсказывает гистологическую активность [62]. Поэтому в клинической практике для оптимизации идентификации пациентов с постоянной эндоскопической и гистологической активностью заболевания могут быть выбраны более низкие пороговые значения ФКП. Систематический обзор ФКП и ФЛФ в качестве суррогатов для эндоскопического мониторинга при ЯК, выполненный М.Н. Mosli и соавт. (2017 г.), обнаружил их высокую чувствительность и специфичность (0,88 и 0,73 для ФК и 0,82 и 0,79 для ЛФ соответственно) [67]. В других опубликованных исследованиях чувствительность и специфичность ФКП и ФЛФ варьирует от 70 % до 90 % [52-54].

У пациентов с ЯК показатель ФКП коррелировал с эндоскопической активностью заболевания с более высокой точностью, достигающей 89%, по сравнению с индексом клинической активности, повышением уровня СРБ и лейкоцитозом крови (общая точность: 73 %, 62 % и 60 % соответственно) [55]. Кроме того, ФКП используется для дифференцировки тяжести колита (чувствительность 84 %, специфичность 88 %, AUC: 0,92) [53]. ФКП является прогностическим фактором для оценки лечения и течения заболевания (рецидив и послеоперационный рецидив), ремиссии (чувствительность: 92,3 %, специфичность: 82,4%, AUC=0,924) и обострения ЯК (чувствительность 76 %, специфичность 85 %) [52]. У пациентов с ЯК, получавших инфликсимаб, снижение уровня ФКП являлось прогностическим фактором ремиссии заболевания [98]. ФКП используется для комплексной оценки пациентов в клинических исследованиях, тестирующих новые лекарственные средства [98].

ФЛФ также был использован для прогнозирования рецидива ЯК. Предельное значение ФЛФ 140 мкг/г кала предсказывало рецидив с чувствительностью 67% и специфичностью 68% [52-54, 98]. W.A. Faubion и соавт. (2018 г.) исследована корреляция биомаркеров при ЯК и БК с эндоскопическими показателями [44]. Маркерами, показавшими наиболее сильную взаимосвязь с эндоскопической картиной, являлись ФКП, ФЛФ и липокалин [44]. Систематический обзор Y. Wang и соавт. (2015 г.) демонстрирует, что ФЛФ является чувствительным и специфичным маркером, который может дифференцировать ВЗК от СРК, по крайней мере, на когортном уровне [66]. Самые высокие уровни ФЛФ наблюдались у пациентов с ЯК. Вместе с тем, информативность ФЛФ в качестве биомаркера ЯК была поставлена под сомнение D. Turner и соавт. (2010 г.), поскольку ФЛФ продемонстрировал ограниченную ценность в прогнозировании чувствительности к кортикостероидам при тяжелом детском ЯК [52].

Учитывая прочную связь с ВЗК, ФКП в настоящее время является общей вторичной конечной точкой в клинических интервенционных исследованиях. A. Sakuraba и соавт. (2014 г.) обнаружили, что увеличение дозы

месалазина приводило к последовательному снижению уровней ФКП, что коррелировало с более низкой частотой рецидивов [48]. В нескольких работах Р. Molander и соавт. (2013 г.) показано, что нормализация уровня ФКП после индукционного лечения инфликсимабом предсказывает устойчивую клиническую ремиссию [28].

Важно понимать, что как ФЛФ, так и ФКП происходят из активированных нейтрофилов, а также макрофагов, и их уровни хорошо коррелируют с количеством нейтрофилов в кишечнике [80]. Оба маркера обладают антимикробными свойствами, включая связывание железа, которое необходимо бактериям для размножения и связывания липополисахарида [58, 80]. Использование данных белков как биомаркеров обусловлено их устойчивостью к протеолитическому расщеплению и стабильностью в кале [4].

Нейтрофильные гранулоциты являются многофункциональными клетками, которые инициируют и координируют иммунный ответ организма на травматизацию тканей и внедрение инородных агентов [8]. При активации НГ происходит дегрануляция и высвобождение лейкоцитарных протеаз как во внеклеточное пространство, так и на поверхность клетки. Таким образом, обеспечивается взаимодействие систем врожденного и адаптивного иммунитета через модуляцию экспрессию и активацию рецепторов клеток, продуцируемых различными видами цитокинов [8]. Протеолитически активируемые рецепторы, которые экспрессируются на поверхности тромбоцитов, лейкоцитов, макрофагов, эпителиальных, эндотелиальных, тучных, дендритных и прочих клеток, участвующих в развитии иммунного ответа и воспаления в свою очередь, являются сенсорами протеиназ [9]. Исходя из этого, изучение интенсивности дегрануляции НГ может быть важным аспектом с точки зрения патогенеза многих заболеваний и оценки свойств иммуномодуляторов [9].

Семейство матриксных металлопротеиназ (ММП) состоит из 24-х цинк-зависимых эндопептидаз, участвующих в разрушении внеклеточного матрикса в нормальных физиологических процессах [106]. Их активность ре-

гулируется тканевым ингибитором ММП (TIMP 1-4) [106, 111]. Одним из наиболее тщательно исследованных ферментов ММП является ММП-9 (матриксная металлопротеиназа-9, желатиназа В или желатиназа 92 кДа), демонстрирующая повышенный уровень в сыворотке и слизистой оболочке кишечника у пациентов с активным ЯК [106]. В исследовании M. de Bruyn и соавт. у 85 пациентов с ЯК, 64 пациентов с БК уровень ММП-9 в сыворотке крови положительно коррелировал с активностью заболевания и был значительно выше в активной фазе ВЗК по сравнению с неактивной, а также при активном ЯК по сравнению с активной стадией БК [121]. Отмечена положительная корреляция ММП-9 с уровнями IL-6 в сыворотке крови, количеством тромбоцитов и лейкоцитов при ЯК. Установлено, что уровни ММП-9 в кале достоверно коррелируют с общим баллом по шкале Майо, уровнями сывороточного СРБ и ФКП [80]. Представлены данные I фазы клинического исследования для GS-574 (антитела против MMP-9), в котором продемонстрирована частота клинического ответа у 43 % пациентов с ЯК против 13 % в группе плацебо [84].

У пациентов с активным ЯК и БК, по сравнению с группами контроля, в сыворотке крови выявлен повышенный уровень липокалина, связанного с нейтрофильной желатиназой (NGAL), что указывает на его потенциал в качестве биомаркера активности ЯК [79]. De Bruin и соавт. измерили уровень ММП9/NGAL в сыворотке крови в двух независимых когортах ЯК, получавших инфликсимаб, и отметили, что снижение уровня MMP-9/NGAL, наблюдавшееся среди испытуемых, могло предсказать заживление слизистой оболочки с высокой специфичностью, достигающей 91 % [102].

Элафин (ингибитор пептидазы-3 или антилейкопротеаза) является ингибитором эластазы нейтрофильных клеток и обладает широкой антимикробной активностью. В исследованиях J. Wang и соавт., уровни элафина в биоптатах толстой кишки были повышены при наличии стриктур у пациентов с ВЗК, что, по мнению авторов, иллюстрирует изменение баланса между протеазами и антипротеазами [47]. Вместе с тем, W. Zhang и соавт. в недавно

опубликованном исследовании продемонстрировали статистически значимое снижение мРНК элафина при активном ЯК и его повышение в период ремиссии [47]. Относительная экспрессия элафиновой мРНК в лейкоцитах периферической крови при ЯК отрицательно коррелировала со скоростью оседания эритроцитов, С-реактивным белком и модифицированными баллами Майо, а при БК отрицательно коррелировала с показателями индекса клинической активности [47].

Нейтрофильная эластаза семейства сериновых протеаз (HNE), хранящаяся в азурофильных гранулах нейтрофилов, обладает широкой субстратной специфичностью и способна разрушать структурные белки, включая эластин, коллагены и протеогликаны [35, 82]. Внеклеточная активность HNE в дополнение к элафину контролируется многими другими эндогенными ингибиторами протеаз, такими как  $\alpha$ 1-антитрипсин ( $\alpha$ 1-АТ), ингибитор секреторной лейкопротеазы (SLPI) и  $\alpha$ 2-макроглобулин [47, 66]. Согласно данным некоторых авторов, уровни эластазы нейтрофильных клеток человека повышены в тканях слизистой оболочки у пациентов с ЯК, поэтому они потенциально могут использоваться в качестве биомаркера активности заболевания [66].

Наличие аутоантител против белков нейтрофильных клеток является отличительной чертой многих аутоиммунных заболеваний. В ряде публикаций описываются различные антинейтрофильные цитоплазматические антитела (ANCA), являющиеся биомаркерами для диагностики и прогноза ЯК [47, 66]. В частности, антипротеиназа-3 ANCA значительно чаще распространена при ЯК, чем у пациентов с БК [93]. Это предполагает возможную роль антипротеиназы-3 ANCA в качестве серологического биомаркера не только для диагностики, но и для дифференциации ЯК от БК.

Другой сериновой протеазой, связанной с ЯК, является катепсин G (Cat-G). Обнаружено, что экспрессия Cat-G выше в биоптатах толстой кишки и образцах кала у пациентов с ЯК по сравнению со здоровыми [97]. Экспрессия PAR4 (Proteinase-activated receptor 4) не только выше в этих биоптатах, но также локализуется, в основном, в криптах. Напротив, в биоптатах здоровых

добровольцев экспрессия PAR4 наблюдается в цитоплазме неэпителиальных клеток [88].

Внешняя поверхность нейтрофилов экспрессирует молекулы, которые могут быть биомаркерами или мишенями для лекарств. Соответственно, потенциальная значимость этих молекул в качестве биомаркеров чрезвычайно важна [18, 19]. Эти молекулы являются не просто маркерами на поверхности нейтрофилов, но также участвуют в регуляции клеточных функций. Так, CD16, или Fc гамма-рецептор типа IIIb, обнаруженный на поверхности нейтрофилов, а также на естественных клетках-киллерах и моноцитах/макрофагах, представляет собой Fc-рецептор с низким сродством к IgG [8, 18, 19]. Исследования *in vitro* показали, что CD16 участвует в активации нейтрофилов иммунными комплексами, но не играет роли в других функциях нейтрофилов, таких как фагоцитоз или уничтожение бактерий. Это делает CD16 особенно привлекательной потенциальной терапевтической мишенью при воспалительных заболеваниях, поскольку его ингибирование не поставит под угрозу защиту хозяина от инфекции [8, 18, 19]. Нейтрофильный CD16 также участвует в контексте терапевтического ответа при ВЗК [18, 19]. В литературе описаны индуцированные инфликсимабом нейтрофильные специфичные CD16-связанные аутоантитела [27].

CD177 является еще одним поверхностным маркером, избирательно экспрессируемым отдельным подмножеством нейтрофилов. Интересно, что экспрессия CD177 на нейтрофилах была связана с клинической реакцией на лечение кортикостероидами при тяжелом ЯК [141]. Транскрипт CD177 увеличивался в два раза у пациентов с ЯК, не реагирующих на системную терапию кортикостероидами, а при тестировании на прогностическую значимость стал одним из 10-ти лучших классификаторов резистентности к стероидам у этих пациентов [141]. Для лечения ЯК имеет значение экспрессия CD64, поскольку повышенная регуляция CD64 коррелирует с потерей эффективности инфликсимаба, а экспрессия мРНК CD64 в толстой кишке увеличивается у пациентов, не отвечающих на инфликсимаб [27, 141].

#### 1.4. Реструктуризация ядер нейтрофильных гранулоцитов

Нейтрофильная инфильтрация – отличительная черта гистопатологии ЯК и важнейший компонент оценки тяжести ЯК, демонстрирующая роль нейтрофилов как основных эффекторных клеток в повреждении слизистой кишечной стенки [4, 14, 17]. Это обусловлено тем, что нейтрофилы являются первыми клетками врожденной иммунной системы, достигающими воспаленных участков кишечника. После проникновения в эпителий кишечника, они вступают в контакт с огромным количеством бактериальных раздражителей, активируются, а затем играют существенную роль в ограничении инвазии микроорганизмов путем распознавания и фагоцитоза вторгшихся микроорганизмов с помощью различных цитотоксических механизмов [4, 14, 17].

В последние годы стало известно, что нейтрофилы не только участвуют в острой фазе воспаления, устраняя патогены, но и способны модифицировать общий иммунный ответ, взаимодействуя с эпителиальными клетками и клетками врожденной и адаптивной иммунной системы, такими как макрофаги, естественные клетки-киллеры, дендритные клетки и Т-клетки [149]. Взаимодействия включают прямой клеточный контакт или через секрецию цитокинов, хемокинов и хемокиновых рецепторов [149-]. Современные данные свидетельствуют о том, что нейтрофилы имеют большее значение при язвенном колите, чем при болезни Крона [78]. При активном ЯК наблюдается массивный инфильтрат нейтрофилов с огромной выработкой активных форм кислорода и высвобождением сериновых протеаз, матриксных металлопротеиназ и миелопероксидазы, приводящих к эпителиальной эрозии и абсцессам крипты [4, 14, 79, 82]. Нейтрофилы являются мощными регуляторами воспаления, которое реализуется путем высвобождения провоспалительных факторов и ряда цитокинов. Однако, в последние годы стало известно, что НГ имеют различные функции и механизмы, способны контролировать

окончательный результат и, предположительно, имеют еще ряд функций, который до конца не изучен [82]. На ранних стадиях воспаления слизистой кишечной стенки у больных ВЗК НГ способствуют заживлению слизистой кишечника и разрешению воспаления. Однако, огромное количество НГ, проникающих в воспаленную слизистую кишечника и накапливаются в эпителии, приводя к выработке медиаторов воспаления, которые, в свою очередь, провоцируют повышенную проницаемость эпителия [82]. До недавнего времени считалось, что НГ, являясь клетками врожденной иммунной системы, способны исключительно к уничтожению бактериальных, вирусных и грибковых агентов, с помощью своей фагоцитарной функции.

Современные исследования убедительно показывают, что эти клетки обладают протеинсинтетической функцией, секретируют огромное количество гранулярных ферментных и неферментных белков, имеющих антибактериальные и регуляторные свойства, а также цитокины, хемокины, регуляторные молекулы, ростовые факторы и др. На поверхностную мембрану НГ экспрессируется несколько сотен различных молекул – рецепторов, которые обеспечивают их связь с микроокружением и другими иммунными клетками. Изменение физико-химических свойств хроматина ядер НГ, которое приводит его к активации, является процессом реструктуризации. При этом хроматин приобретает структуру, свойственную менее дифференцированным клеткам гранулоцитарного ряда, таким как метамиелоциты, палочкоядерные гранулоциты и становится способным к матричному синтезу РНК [80]. Физико-химические изменения хроматина, возникающие в период его активации, регистрируются количественными цитохимическими методами, такими как цитофотометрический анализ реакции Фельгена на ДНК, использованием дробного гидролиза и метод количественной поляризационной микроскопии [6, 8, 9]. В связи с этим, отдельного внимания заслуживает методика оценки реструктуризации хроматина ядер НГ по степени их анизотропии, предложенная И.В. Нестеровой и соавт. [6]. На основе данной методики были изучены особенности реструкту-

ризации хроматина у пациентов с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки, больных колоректальным раком [18,19].

Таким образом, клинические проявления и течение ЯК неоднородны и могут варьировать в виде различной степени выраженности атаки/ремиссии [4, 14, 17]. В этой связи, основной проблемой в настоящее время является оценка риска рецидива и степени тяжести атаки у пациентов с ЯК. Работы последних лет убедительно продемонстрировали существенную роль в развитии ЯК цитокинов, хемокинов и факторов роста ангиогенеза как медиаторов иммуновоспалительных реакций [22, 24, 27]. Достижение заживления слизистой оболочки у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника связано с более высокой частотой стойкой клинической ремиссии, снижением частоты госпитализаций, неоплазии, иммуносупрессии, внекишечных проявлений ЯК и хирургических вмешательств [17]. Настоятельная потребность в неинвазивных индексах при ЯК определяется и глобальным ростом заболеваемости ЯК во всем мире, прежде всего, в трудоспособном возрасте (на втором-третьем десятилетиях жизни) [17, 27]. Ряд клинических, эндоскопических, гистологических и лабораторных показателей, используемых для оценки степени тяжести атаки, имеют свои преимущества и недостатки [17]. Так, клинические показатели обеспечивают только косвенное измерение активности заболевания и не отражают морфологические изменения. В свою очередь, эндоскопические и гистологические исследования являются точными, но инвазивными и дорогостоящими [17]. Использование фекальных тестов в повседневной клинической практике ограничено отсутствием единых референсных интервалов [17, 38]. Поэтому поиск надежных лабораторных маркеров, которые можно было использовать для оценки рецидива и степени тяжести атаки ЯК в условиях рутинной клинической практики, является актуальным.

## **ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Диссертация выполнена на кафедре терапии №1 ФПК и ППС на базе гастроэнтерологического отделения ГБУЗ НИИ ККБ №1 им. С.В. Очаповского. Всеми пациентами было подписано информированное согласие на обработку персональных данных. Протокол исследования был одобрен Независимым этическим комитетом ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России (протокол заседания № 67 от 05.10.18).

### **2.1. Клиническая характеристика пациентов, включенных в исследование**

В соответствии с поставленными задачами в исследование было включено 479 пациентов. Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

На первом этапе проведено ретроспективное исследование, включающее изучение 315 медицинских карт пациентов с ЯК (167 карт стационарного больного и 148 карт амбулаторного больного), проходивших обследование и лечение по поводу ЯК в гастроэнтерологическом отделении и наблюдавшихся в поликлинике ГБУЗ «НИИ - КККБ №1 им. С.В. Очаповского» в период с 2015 по 2019 годы.

Критерии включения в исследование:

1. наличие документированного диагноза ЯК;
2. возраст старше 18-ти лет;
3. наличие информированного добровольного согласия.

Критерии невключения в исследование:

1. положительный тест на антитела к вирусам гепатита В, С;
2. первичный и вторичный иммунодефицит;
3. аутоиммунные заболевания;
4. хронические заболевания в стадии декомпенсации;
5. злокачественные новообразования; колэктомия;

6. острые инфекционные заболевания;
7. психические заболевания.



Рис. 1 – Дизайн исследования: ретроспективное и проспективное сравнительное исследование в параллельных группах

Клиническо-инструментальная характеристика пациентов ретроспективного этапа исследования представлена в таблицах 1-3.

Согласно полученным данным, из 148 амбулаторных пациентов – 107 (72%) пациентов оставались в стойкой симптоматической ремиссии в течение 6 месяцев и обратились для планового осмотра, а 41 (38,3) – обратились с рецидивом ЯК (табл. 1).

Таблица 1 – Характеристика амбулаторных пациентов, включенных в ретроспективный этап исследования (n=148)

	Ремиссия n=107	Рецидив n=41	<i>p</i> - значение
Средний возраст, лет (M±SD)	47,8±12,2	51,6±9,5	0,3
Женский пол/мужской пол	51/56	24/17	0,2
Возраст на момент постановки диагноза, лет (Me [25-75])	36,4 (27,9-40,1)	18,6 (10,5-26,9)	<b>0,01</b>
Длительность заболевания, лет (Me [25-75])	6,7 (4,8-7,5)	19,6 (10,5-22,3)	<b>0,001</b>
Панколит, абс (%)	17 (15,8)	22 (53,7)	<b>0,001</b>
Левосторонний колит, абс (%)	56 (52,3)	12 (29,3)	0,05
Проктит, абс (%)	34 (31,8)	7 (17,1)	0,05
Внекишечные проявления ЯК, абс (%)	11 (10,2)	23 (56,1)	<b>0,0001</b>
Проведена повторная эндоскопия, абс (%)	64 (59,8)	41 (100)	0,06
Из них наличие эндоскопической активности, абс (%):	15 (23,4)	41 (100)	<b>0,001</b>
Анамнез применения биологических препаратов или иммуномодуляторов, абс (%)	23 (21,5)	22 (53,7)	<b>0,01</b>
Максимальная продолжительность ремиссии между эндоскопическими оценками, месяцев (Me [25-75])	15,5 (9,7-17,9)	5,6 (4,5-11,1)	<b>0,001</b>
Анамнез курения, абс (%):			
- активный курильщик	54 (50,5)	9 (21,9)	<b>0,001</b>
- бывший курильщик	37 (34,6)	7 (17,1)	<b>0,001</b>
- некурящий	16 (15,0)	25 (60,9)	0,05
Присоединение оппортунистической инфекции при предыдущей атаке ЯК в анамнезе, абс (%)	23 (21,1)	20 (48,7)	<b>0,001</b>

Таблица 2 – Характеристика больных, получавших лечение в стационаре (по ретроспективным данным) (n=167)

Тяжесть атаки ЯК Показатели	Легкая атака (1 группа)	Атака средней тяжести (2 группа)	Тяжелая атака (3 группа)	Статистическая значимость различий
	n= 63	n= 61	n= 43	нд
Пол м/ж, абс	32/31	34/27	19/24	нд
Шкала Мейо, баллы (M±SD)	3,4±0,9	6,6±1,1	10,8±1,4	p <sup>1,3</sup> =0,001 p <sup>1,2</sup> =0,03
Индекс клинической активности, баллы, (M±SD)	2,9±0,9	7,9±1,8	12,8±2,2	p <sup>1,3</sup> =0,0001 p <sup>1,2</sup> =0,001
Возраст на момент дебюта заболевания, лет (Me[25-75])	36,5 (32,3-45,7)	38,7 (35,3-49,7)	23,5 (20,3-39,7)	нд
Возраст на момент госпитализации, лет (M±SD)	40,3±2,4	45,7±3,6	36,4±2,1	нд
ИМТ, кг/м <sup>2</sup> , (M±SD)	30,4±5,6	27,4±6,1	22,5±3,9	нд
Средняя продолжительность заболевания, лет (Me[25-75])	1,5 (0,5-5,7)	2,3 (0,6-5,9)	3,8 (1,5-7,1)	p <sup>1,3</sup> =0,002
Семейный анамнез ВЗК, абс (%)	7 (10,4)	7 (11,4)	10 (23,2)	p <sup>1,3</sup> =0,001 p <sup>1,2</sup> =0,001
Анамнез курения, абс (%):				
- активный курильщик	11 (17,5)	13 (21,3)	6 (13,9)	нд
- бывший курильщик	31 (49,2)	28 (45,9)	25 (60,9)	нд
- некурящий	21 (33,3)	20 (32,8)	10 (16,4)	p=0,04
Локализация поражения, абс (%):				
- левосторонний колит (n=67), абс (%)	33 (52,4)	26 (42,6)	8 (19,5)	нд
- проктосигмоидит (n=67), абс (%)	23 (36,5)	25 (40,9)	15 (36,6)	p <sup>1,3</sup> =0,001 p <sup>2,3</sup> =0,002
- панколит (n=37), абс (%)	7 (11,1)	10 (16,4)	20 (46,5)	p <sup>1,3</sup> =0,001 p <sup>2,3</sup> =0,001,
СРБ, мг/л	5,9 (4,0-7,8)	7,5 (3,3-15,5)	12,1 (8,5-17,6)	p <sup>1,3</sup> =0,001
СОЭ, мм/час	11 (8,0-16,5)	21 (13,2-31,4)	30,4 (21,6-36,7)	p <sup>1,3</sup> =0,001
Гемоглобин, г/л	122,3 (106,6-136,6)	121,9 (100,5-139,7)	113,5 (79,8-135,8)	нд
Внекишечные проявления ЯК, абс (%)	3 (4,8)	11 (18,0)	19 (46,3)	p <sup>1,3</sup> =0,0001 p <sup>2,3</sup> =0,001,

Примечание: нд – недостоверно.

Проведен ретроспективный анализ данных пациентов, получавших лечение в стационаре (табл. 2). По характеру течения больные ЯК, получавшие лечение в стационаре, распределились следующим образом: острое течение (первая атака) – 24,5% (41) пациентов, хроническое непрерывное течение – 12,6% (21) пациентов, хроническое рецидивирующее – 62,8% (105) пациентов.

Из оставшихся 64 (59,8%) пациентов в стойкой симптоматической ремиссии, которым была проведена повторная эндоскопия, 44 (68,8%) прошли второе обследование для подтверждения эндоскопического заживления, 20 (31,3%) пациентов прошли второе обследование для наблюдения за участками дисплазии. Во время повторной эндоскопии у 15 (23,4%) пациентов было обнаружено эндоскопически активное заболевание. Остальные 49 (76,6%) пациентов продемонстрировали стойкую симптоматическую и эндоскопическую ремиссию в течение последующих  $12,5 \pm 4,5$  месяцев.

Чтобы минимизировать потенциальную предвзятость отбора пациентов и разницу в численности групп, мы сравнили исходные характеристики пациентов в стойкой симптоматической ремиссии без последующих эндоскопий (n=43) с пациентами в стойкой симптоматической ремиссии, у которых была повторная эндоскопия, демонстрирующая стойкую эндоскопическую ремиссию (n=49).

Статистически значимых различий в ключевых клинических и анамнестических характеристиках, включая возраст на момент активного ЯК, возраст на момент постановки диагноза ЯК, частоту обострений и длительность заболевания не выявлено (табл. 3).

Таблица 3 – Сравнение клинико-демографических характеристик пациентов с ЯК, с эндоскопически подтвержденной и неподтвержденной ремиссией

	Ремиссия без эндоскопического контроля, n=43	Ремиссия с эндоскопическим контролем, n=49	<i>p</i> -значение
Средний возраст, лет (M±SD)	46,4±9,2	45,7±7,2	0,3
Женский пол/мужской пол	23/20	20/29	0,2
Возраст на момент постановки диагноза, лет (Me [25-75])	32,3 (25,7-42,1)	28,6 (22,7-33,4)	0,3
Продолжительность заболевания, лет (Me [25-75])	7,7 (5,8-9,5)	9,6 (7,5-12,3)	0,3
Панколит, абс (%)	5 (11,6)	7 (14,3)	0,07
Левосторонний колит, абс (%)	29 (67,4)	27 (55,1)	0,06
Проктит, абс (%)	9 (20,9)	15 (30,6)	0,05
Анамнез применения биологических препаратов или иммуномодуляторов, абс (%)	3 (7,0)	22 (10,2)	0,03
Максимальная продолжительность ремиссии, месяцев (Me [25-75])	12,4 (9,6-15,7)	10,7 (5,5-14,1)	0,04

На втором этапе в проспективное исследование было включено 178 больных ЯК (139 в стадии обострения и 39 в стадии ремиссии) (табл. 4). В зависимости от наличия или отсутствия обострения ЯК и тяжести атаки пациенты были распределены на группы: в 1-ю группу вошли 39 пациентов в фазе ремиссии, во 2-ю группу вошли 48 больных ЯК с атакой лёгкой степени тяжести, в 3-ю – 46 пациентов с атакой средней степени тяжести, в 4-ю группу – 45 пациентов с тяжелой атакой ЯК. В контрольную группу были включены 40 здоровых добровольцев. Все группы были сопоставимы по возрасту и полу.

Таблица 4 – Клинико-лабораторные и инструментальные данные пациентов, включенных в проспективное исследование, n=218

Тяжесть атаки ЯК/группы Показатели	Основные группы, n=178				Контрольная группа n=40	Статистическая значимость различий
	1 группа n=39	2 группа n= 48	3 группа n= 46	4 группа n= 45		
Пол м/ж, абс	19/20	22/26	26/20	22/23	20/20	p=0,07
Шкала Мейо, баллы (M±SD)	-	3,4±0,9	6,5±1,1	10,7±1,3	-	p <sup>1,3</sup> =0,001 p <sup>1,2</sup> =0,03
Индекс клинической активности, баллы, (M±SD)	-	2,9±0,9	7,9±1,8	12,8±2,2	-	p <sup>1,3</sup> =0,0001 p <sup>1,2</sup> =0,001
Возраст на момент исследования, лет (M±SD)	39,6±4,8	38,3±6,4	36,7±6,6	32,4±5,1	32,3±3,9	p=0,06
Возраст на момент постановки диагноза, лет (M±SD)	37,6±6,7	28,1±4,1	22,6±5,9	17,6±7,3	-	p <sup>1,4</sup> =0,001
Средняя продолжительность заболевания, лет (Me [25-75])	1,6 (0,7-4,9)	5,5 (3,5-9,7)	7,9 (5,6-10,9)	11,6 (7,5-14,9)	-	p <sup>1,4</sup> =0,001 p <sup>2,4</sup> =0,001 p <sup>3,4</sup> =0,01
Семейный анамнез ВЗК, абс (%)	5 (12,8)	5 (10,4)	11 (23,9)	12 (26,7)	3 (7,5)	p <sup>1,4</sup> =0,01 p <sup>2,3</sup> =0,01 p <sup>к,3</sup> =0,01 p <sup>4,к</sup> =0,001

## Продолжение таблицы №4

Анамнез курения, абс (%):						$p^{1,4}=0,01$ $p^{к,3}=0,01$ $p^{к,2}=0,01$ $p^{к,4}=0,01$ $p^{к,1}=0,01$
- активный курильщик	11 (28,2)	8 (16,6)	7 (15,2)	6 (13,3)	8 (2,0)	
- бывший курильщик	23 (58,9)	1 (39,5)	20 (43,5)	21 (46,7)	13 (32,5)	$p>0,05$
- некурящий	5 (12,8)	21 (43,8)	19 (41,3)	18 (40,0)	19 (47,5)	$p^{1,2}=0,01$ $p^{1,3}=0,01$ $p^{1,4}=0,01$ $p^{к,1}=0,01$
Локализация поражения, абс (%):						
- левосторонний колит	11 (28,2)	18 (37,5)	17 (36,9)	14 (31,1)	-	$p>0,05$
- проктит	22 (56,4)	25 (52,1)	15 (32,6)	13 (28,8)	-	$p^{1,4}=0,003$
- панколит	5 (12,8)	5 (10,4)	14 (30,4)	18 (40,0)	-	$p^{1,4}=0,002$ $p^{1,3}=0,001$ $p^{2,3}=0,001$ $p^{2,4}=0,001$
СРБ, мг/л (Ме [25-75])	2,9 (0,0-5,4)	5,2 (2,1-8,5,5)	10,1 (6,5-16,6)	22,5 (17,3-30,2)	2,1 (0,0-4,1)	$p^{1,3}=0,001$ $p^{1,контр}=0,001$
СОЭ, мм/час (Ме [25-75])	6,2 (4,4-7,8)	12,7 (8,6-15,9)	22,4 (18,6-28,9)	39,6 (28,7-41,1)	5,8 (4,1-7,8)	$p^{1,3}=0,001$ $p^{2,контр}=0,01$ $p^{1,4}=0,0001$
Фибриноген, г/л (Ме [25-75])	3,9 (2,9-4,4)	5,2 (3,9-5,5)	5,1 (4,5-6,6)	6,9 (4,9-7,1)	3,6 (2,1-4,1)	$p>0,05$
Гемоглобин, г/л (Ме [25-75])	127,2 (105,6-156,6)	128,9 (110,5-156,7)	126,7 (109,5-145,6)	123,5 (79,8-145,3)	135,3 (117,4-161,2)	$p^{3,контр}=0,001$

Медикаментозная терапия больных ЯК проводилась согласно стандартным протоколам лечения с использованием 5-аминосалицилатов, преднизолона, будесонида, азатиоприна, меркаптопурина, метотрексата и антибиотиков (табл. 5).

Таблица 5 – Основные группы препаратов, применяемые у пациентов, включенных в исследование на момент госпитализации

Тяжесть атаки ЯК/группы	Основные группы, n=178				Контрольная группа
	1 группа	2 группа	3 группа	4 группа	
Препараты, % / абс	n=39	n= 48	n= 46	n= 45	n=40
Месалазин (ректальные свечи/пена)	2,6/1	0/0	0/0	0/0	0/0
Месалазин пероральные формы	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Месалазин (ректальные свечи/пена)+Месалазин пероральные формы	0/0	27/13	0/0	0/0	0/0
ГКС (ректальные свечи/пена)	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
ГКС (пероральные формы)	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
ГКС в/в	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
АЗА	5,1/2	0/0	0/0	0/0	0/0
АЗА+Месалазин	41,0/16	47,9/23	0/0	0/0	0/0
Месалазин (ректальные свечи/пена)+Месалазин пероральные формы+АЗА	0/0	8,3/4	4,3/2	0/0	0/0
ГКС в/в+Месалазин	0/0	0/0	0/0	80/36	0/0
АЗА+ГКС в/в+Месалазин	0/0	16,7/8	28,3/13	0/0	0/0
АЗА+ГКС в/в+ Сульфасалазин	0/0	0/0	41,3/19	0/0	0/0
ГКС в/в+месалазин+АЗА+ Буденофальк per rectum	0/0	0/0	4,3/2	6,7/3	0/0
ГКС в/в+месалазин+АЗА+ Гидрокартизон per rectum	0/0	0/0	0	13,3/6	0/0
Биологическая терапия	46,1/18	0/0	15,6/7	0/0	0/0
Биологическая терапия+АЗА	5,1/2	0/0	6,5/3	0/0	0/0

Примечание: в/в–внутривенно.

## **2.2. Методы обследования**

При поступлении в стационар до начала лечения и исследований проводилось общеклиническое и специальное обследование в соответствии с современными стандартами для уточнения диагноза и определения критериев включения, невключения. Клинико-anamнестические и лабораторно-инструментальные данные вносились в индивидуальную регистрационную карту, в которой отмечались жалобы, объективные признаки, наблюдаемые при ЯК, сведения о сопутствующих заболеваниях, курении, профессиональных вредностях, употреблении алкоголя, наркотиков, лекарственных препаратов.

### **2.2.1. Общеклинические исследования**

Стандартное общеклиническое исследование включало в себя оценку жалоб, анамнеза заболевания и жизни, сопутствующей патологии, осмотр с использованием методов пальпации, перкуссии, аускультации, измерение антропометрических параметров, заполнение анкет. Особое внимание уделялось частоте и характеру стула, длительности данных симптомов, наличию примеси крови, характеру болей в животе; поездкам в южные страны; приему лекарственных препаратов; курению; семейному анамнезу ВЗК и злокачественных новообразований. Обязательным проводился осмотр перианальной области и пальцевое исследование прямой кишки.

Антропометрическое исследование выполнялось без верхней одежды и обуви в утренние часы натощак. Рост пациентов измеряли с точностью до 0,5 см с помощью ростомера «Диакомс» (Россия), масса тела измерялась с точностью до 0,1 кг на электронных весах. Индекс массы тела рассчитывался по формуле Кетле с последующей классификацией по ВОЗ (2000 г) [7]. Для выявления абдоминального ожирения проводилось измерение окружности талии и бёдер у пациентов, находящихся в положении стоя, с расслабленными

по бокам верхними конечностями, слегка расставив ноги. Измеряли окружность талии параллельно полу посередине между верхней точкой подвздошного гребня и нижним краем последнего ребра (чаще на уровне пупка); окружность бедер измеряли на уровне наибольшего выпячивания ягодиц, параллельном полу. Абдоминальное ожирение определяли при значениях ОТ  $\geq 94$  см у мужчин и  $\geq 80$  см у женщин (критериальных для европейской популяции) или в случаях соотношения ОТ/ОБ  $> 0,9$  у мужчин и  $> 0,85$  у женщин [7].

### **2.2.2. Лабораторные исследования**

Всем пациентам, проводился стандартный комплекс общеклинических и биохимических лабораторных исследований [17]. Кроме того, согласно задачам исследования проведен забор материала для определения сывороточной концентрации TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17. Данные исследования выполняли методом иммуноферментного анализа (ИФА) с применением одноименных наборов реагентов ЗАО «Вектор-Бест» (Россия, Новосибирск) и планшетного фотометра Star-Fax-2100 (Awareness Technology Inc. (США)). Кроме того, исследованы концентрации фекальных маркеров воспаления: фекального лактоферрина (ФЛФ), фекального кальпротектина (ФКП), фекального неоптерина (ФНП). Указанные исследования проводили с помощью набора реагентов для ИФА ЗАО «Вектор-Бест» (Россия, Новосибирск) следующим образом: образцы кала около 0,1 г разводились в чашке Петри 10 мл 0,9 NaCl, далее фекальные экстракты в объеме 100 мкл подвергались заморозке в пробирках.

Изучение особенностей реструктуризации хроматина ядер нейтрофильных гранулоцитов (НГ) по уровню оптической анизотропии хроматина проводилось с использованием модифицированного метода И.В. Нестеровой и соавт. [92]. Для учета интенсивности анизотропного эффекта в ядрах НГ использовали модификацию полуколичественного метода G.Astaldi и L.Verga (1957), адаптированного для изучения ядер [36].

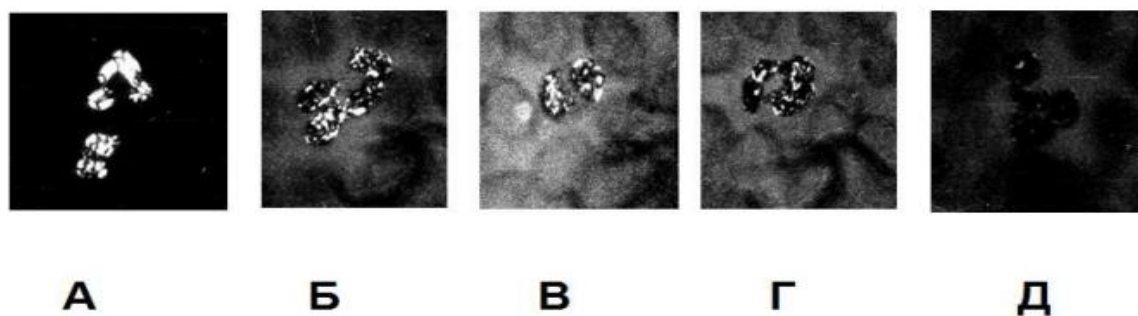


Рис. 2 – Степени анизотропии ядер НГ

Окраска толуидиновым синим при РН 5,0. Увеличение 1000X [9]

Примечание: А – четвертая степень оптической анизотропии; Б – третья степень оптической анизотропии; В – вторая степень оптической анизотропии; Г – первая степень оптической анизотропии; Д – нулевая степень оптической анизотропии.

Все ядра были разделены по уровню оптической анизотропии (ОА) на 5 групп, каждой из которых была присвоена величина ОА (рис. 2):

где 0 – отсутствие анизотропии, значение, соответствующее наибольшей степени активации хроматина ядра; 1-3 (включительно) – значение, соответствующее промежуточным значениям анизотропии ядра; 4 – анизотропно все ядро, значение, соответствующее полному отсутствию активности хроматина [9].

Расчет анизотропии проводился по формуле:

$$\text{СЦИ} = \frac{0xa + 1xb + 2xc + 3xd + 4xe}{a+b+c+d+e},$$

где СЦИ – средний цитохимический индекс или величина ОА,

a, b, c, d, e – количество клеток с разной величиной ОА;

0, 1, 2, 3, 4 – степень ОА.

Учитывая наличие обратной связи между степенью ОА и его биологической активностью, нами был использован показатель активности НГ - ПАН, который равен максимальной степени ОА, выраженной как средний цитохимический индекс (СЦИ) за вычетом уровня оптической анизотропии, полученного при полуколичественном исследовании:

$$\text{ПАН} = 4 - X,$$

где 4 – максимально возможный СЦИ,  
 X – СЦИ, подсчитанный в мазке крови [92].

Таким образом, чем выше ОА хроматина (СЦИ=X), тем ниже активность клеточного ядра [9].

### 2.2.3. Инструментальные исследования

Оценка эндоскопической активности ЯК проводилась фиброколоноскопией Pentax FC-38 LV (Япония), для определения степени эндоскопической активности ЯК применялась шкала Schroeder (табл. 6) [17]. Пациентам с острой атакой язвенного колита выполнялась тотальная колоноскопия или сигмоскопия. Достаточным считался осмотр, проведенный до проксимальных отделов сигмовидной кишки. При обследовании проводилась оценка состояния толстой кишки: наличие и степень гиперемии, кровоточивости при контакте с эндоскопом, особенностей сосудистого рисунка слизистой оболочки. В случаях тяжелой атаки ЯК активность воспаления определялась по данным ректороманоскопии (ректоскоп NOVA100 KARL STORZ (Германия)).

Таблица 6 – Шкала эндоскопической активности Schroeder [17]

Оценка	Описание
0	Норма или следы перенесенного воспаления (перестроенный сосудистый рисунок без признаков активности ЯК)
1	Легкая активность (гиперемия, смазанность сосудистого рисунка, легкая контактная ранимость)
2	Умеренная активность (выраженная гиперемия, отсутствие сосудистого рисунка, контактная ранимость, эрозии)
3	Выраженная активность (спонтанная кровоточивость, изъязвления)

Протяженность поражения толстого кишечника определяли в соответствии с Монреальской классификацией ЯК: проктит, левостороннее и тотальное (распространенное) поражение (табл. 7).

Таблица 7 – Монреальская классификация язвенного колита по протяженности поражения толстой кишки [17]

Протяженность	Описание
Проктит	Поражение ограничено прямой кишкой (проксимальная граница воспаления располагается дистальнее ректосигмоидного перехода)
Левостороннее поражение	Воспаление ограничено левым изгибом ободочной кишки («дистальный колит»)
Распространенное поражение	Воспаление распространяется проксимальнее левого изгиба ободочной кишки (в т.ч. тотальный колит)

В тех случаях не возможно было провести тотальную ФКС, протяженность поражения устанавливалась на основании ирригоскопии и/или ультразвукового исследования (УЗИ) толстого кишечника (аппарат «Toshiba Hario», Япония). Определение протяженности и характера поражения толстого кишечника выполнялось с помощью метода двойного контрастирования на рентгеновском аппарате Siemens - MULTIX Pro, MULTIX top (Германия). Он включал оценку структуры и функции толстого кишечника при его тугом заполнении бариевой взвесью и изучение рельефа слизистой оболочки после ее опорожнения.

Оценка стадии заболевания проводилась на основании клинических рекомендаций Российской ассоциации гастроэнтерологов 2018 [17]:

- обострение (рецидив, атака) ЯК – появление типичных симптомов заболевания (увеличение частоты дефекаций с выделением крови и/или характерные изменения, обнаруживаемые при эндоскопическом исследова-

нии толстой кишки) у больных ЯК в стадии клинической ремиссии, спонтанной или медикаментозно поддерживаемой;

- ремиссия ЯК – исчезновение основных клинических симптомов заболевания и заживление слизистой оболочки толстой кишки («глубокая ремиссия»);

- клиническая ремиссия ЯК – отсутствие примеси крови в стуле, отсутствие императивных/ложных позывов при частоте дефекаций не более 3 раз в сутки;

- эндоскопическая ремиссия ЯК – отсутствие видимых макроскопических признаков воспаления при эндоскопическом исследовании толстой кишки;

- гистологическая ремиссия ЯК – отсутствие микроскопических признаков воспаления.

Для формулировки диагноза и определения тактики дальнейшего лечения проводилась оценка тяжести текущей атаки с помощью простых критериев Truelove-Witts, индекса эндоскопической (индекс Мейо) и клинической активности ЯК (DAI) (табл. 8, 9) [5].

Таблица 8 – Тяжесть атаки ЯК соответственно критериям Truelove-Witts [17]

	Легкая	Среднетяжелая	Тяжелая
Частота дефекаций с кровью	< 4	>= 4, если:	>= 6, если:
Пульс	Нормальные значения	<= 90 уд/мин	> 90 уд/мин или
Температура		<= 37,5 °С	> 37,5 °С или
Гемоглобин		>= 105 г/л	< 105 г/л или
СОЭ		<= 30 мм/ч	> 30 мм/ч
Контактная ранимость слизистой оболочки толстой кишки	Нет	Есть	Есть

На основании вышеперечисленного оценивалась тяжесть атаки ЯК: легкая, среднетяжелая и тяжелая. Тяжесть атаки оценивалась по индексу Мейо [5]. При оценке характера течения использовали классификацию, указанную в Клинических рекомендациях Российской ассоциации гастроэнтерологов 2018:

1. острое течение (< 6 месяцев от дебюта заболевания);
2. хроническое непрерывное течение (длительность ремиссии < 6 мес на фоне адекватной терапии);
3. хроническое рецидивирующее течение (длительность ремиссии > 6 мес).

Тяжесть атаки ЯК устанавливалась по сумме баллов:

0-2 – ремиссия (при оценке параметров ректального кровотечения и эндоскопического состояния слизистой = 0 баллов);

3-5 – легкая атака ЯК;

6-9 – среднетяжелая атака ЯК;

10-12 – тяжелая атака ЯК.

Таблица 9 – Тяжесть атаки согласно индексу Мейо [17]

Значение индекса (баллы)	0	1	2	3
Частота стула	Обычная	на 1-2/день больше обычной	На 3-4/день больше обычной	на 5/день больше обычной
Примесь крови в стуле	Нет	Прожилки	Видимая кровь	Преимущественно кровь
Состояние слизистой оболочки	Норма	Минимальная активность (1 балл по шкале Schroeder)	Умеренная активность (2 балла по шкале Schroeder)	Выраженная активность (3 балла по шкале Schroeder)
Общая оценка состояния врачом	Норма	Удовлетворительное состояние	Состояние средней тяжести	Тяжелое состояние
Среднетяжелая и тяжелая атака констатируются при значении индекса (сумма оценок по 4 параметрам) от 6 и выше				

Согласно медицинской документации, основная часть пациентов, направлялась для верификации диагноза в ГБУЗ НИИ-ККБ №1 им. С.В. Очаповского после исключения инфекционного генеза диареи в лечебных учреждениях по месту жительства. Обязательным исследованием у всех больных являлся анализ кала на содержание токсина *C. Difficile*. А для пациентов с острым течением ЯК либо прибывших из южных регионов и стран дополнительно определяли посев кала для исключения патогенов дизентерийной группы.

### **2.2.3. Статистический анализ**

Материалы исследования статистически обработаны с помощью программы Statistica 10,0. Накопление, корректировка, систематизация исходной информации и визуализация полученных результатов в виде графиков и диаграмм, осуществлялись в электронных таблицах Microsoft Office Excel 2016.

В первую очередь исследуемые совокупности оценивались на предмет их соответствия закону нормального распределения с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. В случае нормального распределения совокупностей использовались методы параметрического анализа. Если распределение отличалось от нормального, значения переменных преобразовывали путем расчета натурального логарифма с последующим анализом параметрическими методами. Изучение качественных и количественных переменных проводили с помощью методов описательной статистики. Для описания параметрических переменных использовали среднюю арифметическую  $M$  и стандартное отклонение  $SD$ , для непараметрических – медиану и межквартильный интервал ( $p_{25}$ - $p_{75}$ ). Доли и относительные частоты выражены в процентах.

С целью оценки статистической значимости различий относительных показателей (частот, долей) использовали критерий  $\chi^2$  Пирсона и точный критерий Фишера. При сравнении двух независимых групп применяли непа-

раметрический критерий Манна-Уитни. Для множественного сравнения в исследуемых группах применяли критерий Стьюдента (при параметрических данных) и критерий Крускала-Уоллиса (при непараметрических данных). Корреляционные связи определяли с помощью рангового метода Спирмена.

Построение прогностических моделей риска рецидива ЯК выполнялось с помощью метода бинарной логистической регрессии. В случае анализа количественных показателей, полученные данные объединялись в вариационные ряды, в которых проводился расчет средних арифметических величин ( $M$ ) и ошибки среднего ( $m$ ), 95%-го доверительного интервала (95 ДИ), минимума ( $\min$ ) и максимума ( $\max$ ). Использовали двусторонние варианты статистических критериев. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Соотношение чувствительности и специфичности получаемых прогностических моделей оценивали с помощью ROC-кривых.

### ГЛАВА 3. РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ АНАЛИЗ ЧАСТОТЫ РЕЦИДИВОВ И ИХ ВЗАИМОСВЯЗЬС КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ У ПАЦИЕНТОВ С ЯЗВЕННЫМ КОЛИТОМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ АТАКИ

В ретроспективный этап включено 315 карт, отобранных соответственно критериям включения: 167 карт стационарного больного и 148 карт амбулаторного больного пациентов, проходивших обследование и лечение по поводу язвенного колита в гастроэнтерологическом отделении и наблюдавшихся в поликлинике ГБУЗ «НИИ-ККБ №1 им. С.В. Очаповского».

Диагноз ЯК был установлен врачом-гастроэнтерологом на основе стандартных клинических, эндоскопических и гистологических критериев; пациенты наблюдались в ГБУЗ НИИ-ККБ №1 не менее 12-ти месяцев в период с 2017 по 2019 годы. В исследуемой когорте выявлена следующая структура поражения кишечника: проктит – 38,7% (122) пациента, левосторонний колит – 34,6% (109), тотальный колит – 26,6% (84) пациента. Гендерные особенности протяженности колита, по данным ретроспективного исследования, представлены на рисунке 3.

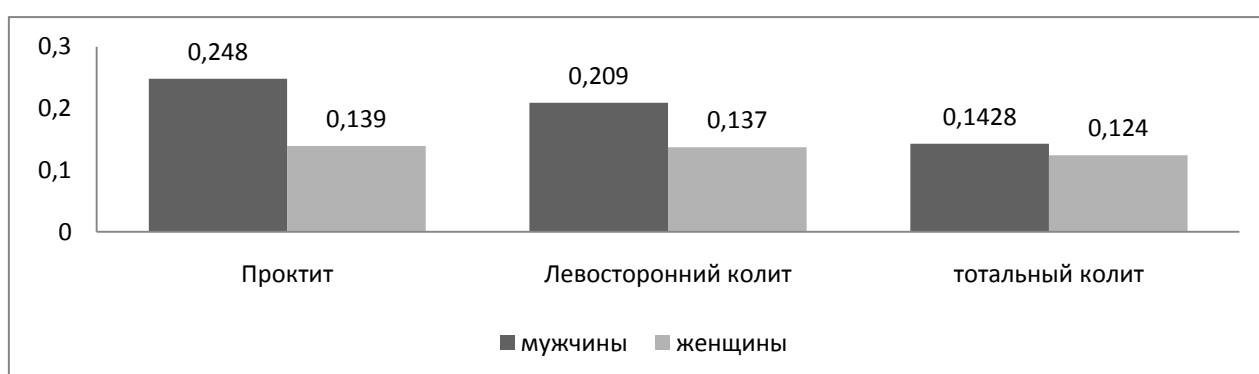


Рис. 3 – Протяженность поражения кишечника в зависимости от пола пациентов

Первичный анализ был сосредоточен на оценке факторов риска развития рецидива ЯК, в связи с чем были проанализированы демографические,

клинико-anamнестические и лабораторные показатели. Обращает на себя внимание численное превосходство мужчин по частоте левостороннего и тотального колита, однако различия оказались недостоверными ( $p=0,07$ ).

### **3.1. Факторы риска рецидива язвенного колита, по данным амбулаторных карт**

В соответствии с поставленной целью, первичный анализ был сосредоточен на оценке факторов риска развития рецидива ЯК у амбулаторных пациентов и факторов риска тяжести атаки ЯК, в связи с чем была проведена оценка клинико-anamнестических и лабораторных показателей (табл. 10).

Согласно полученным данным, из 148 амбулаторных пациентов – 107 (72%) пациентов оставались в стойкой симптоматической ремиссии в течение 12 месяцев и обратились для планового осмотра, а 41 (38,3) – обратились с рецидивом ЯК. В свою очередь, 43 (40,2%) из 107 пациентов с ремиссией не подвергались повторной эндоскопии, поэтому было невозможно определить, находились ли эти пациенты в стойкой эндоскопической ремиссии.

При анализе полученных данных, обращает на себя внимание достоверно более высокая частота курения на момент обследования (50,5% vs 21,9%,  $\chi^2=11,37$ ,  $p=0,01$ ) и в анамнезе (34,6% vs 4=17,1%,  $\chi^2=9,15$ ,  $p=0,01$ ), а также возраст на момент постановки диагноза (36,4 (27,9-40,1) лет vs 18,6 (10,5-26,9) лет,  $p=0,001$ ) у пациентов с симптоматической ремиссией ЯК. Частота тотального поражения кишечника (15,8% vs 53,7%,  $\chi^2=13,37$ ,  $p=0,01$ ), применения биологической терапии (21,5% vs 53,7%;  $\chi^2=9,78$ ,  $p=0,001$ ), внекишечных проявлений ЯК (10,2% vs 56,1%,  $\chi^2 = 8,68$   $p=0,0001$ ) в этой группе пациентов оказались статистически значимо ниже.

Из оставшихся 64 (59,8%) пациентов в стойкой симптоматической ремиссии, которым была проведена повторная эндоскопия, 44 (68,8%) прошли второе обследование для подтверждения эндоскопического заживления, 20 (31,3%) пациентов прошли второе обследование для наблюдения за участками дисплазии. Во время повторной эндоскопии у 15 (23,4%) пациентов было

обнаружено эндоскопически активное заболевание. Остальные 49 (76,6%) пациентов продемонстрировали стойкую симптоматическую и эндоскопическую ремиссию в течение последующих  $12,5 \pm 4,5$  месяцев.

Таблица 10 – Сравнение клинико-демографических характеристик пациентов с ЯК, с эндоскопически подтвержденной и неподтвержденной ремиссией

Стадия Показатели	Ремиссия без эн- доскопического контроля n=43	Ремиссия с эндо- скопическим контролем n=49	p- значение
Средний возраст, лет (M±SD)	46,4±9,2	45,7±7,2	0,3
Женский пол/мужской пол	23/20	20/29	0,2
Возраст на момент постановки диагноза, лет (Me [25-75])	32,3 (25,7-42,1)	28,6 (22,7-33,4)	0,3
Продолжительность заболевания, лет (Me [25-75])	7,7 (5,8-9,5)	9,6 (7,5-12,3)	0,3
Панколит, абс (%)	5 (11,6)	7 (14,3)	0,07
Левосторонний колит, абс (%)	29 (67,4)	27 (55,1)	0,06
Проктит, абс (%)	9 (20,9)	15 (30,6)	0,05
Анамнез применения биологических препаратов или иммуномодуляторов, абс (%)	3 (7,0)	22 (10,2)	0,03
Максимальная продолжительность ремиссии, месяцев (Me [25-75])	12,4 (9,6-15,7)	10,7 (5,5-14,1)	0,04
Анамнез курения, абс (%):			
- Активный курильщик	54 (50,5)	9 (21,9)	<b>0,001</b>
- Бывший курильщик	37 (34,6)	7 (17,1)	<b>0,001</b>
- Некурящий	16 (15,0)	25 (60,9)	0,05
Присоединение оппортунистической инфекции при предыдущей атаке ЯК в анамнезе, абс (%)	23 (21,1)	20 (48,7)	<b>0,001</b>

Чтобы минимизировать потенциальную предвзятость отбора пациентов и разницу в численности групп, мы сравнили исходные характеристики пациентов в стойкой симптоматической ремиссии без последующих эндоскопий (n=43) с пациентами в стойкой симптоматической ремиссии, у которых была повторная эндоскопия, демонстрирующая стойкую эндоскопическую ремиссию (n=49).

Статистически значимых различий в ключевых клинических и анамнестических характеристиках, включая возраст на момент активного ЯК, возраст на момент постановки диагноза ЯК, частоты обострений и длительности заболевания выявлено не выявлено (табл. 10).

В течение последующих 12-ти месяцев наблюдения у 6 (12,2%) пациентов с эндоскопически подтвержденной ремиссией (n=49) произошел рецидив ЯК, потребовавший госпитализации у 2 (4,1%) человек, из них хирургическое лечение потребовалось 1 (2,8%) пациенту. Среди пациентов с эндоскопически неподтвержденной ремиссией частота рецидивов (25,6% vs 12,2%,  $\chi^2=7,65$ ,  $p=0,01$ ), частота госпитализаций (7 пациентов) (16,3% vs 4,1%,  $\chi^2=7,37$ ,  $p=0,01$ ) и проведения колэктомии (3 больным) (7,4% vs %, 2,8,  $\chi^2=4,13$ ,  $p=0,01$ ) оказалась статистически значимо выше.

При проведении дальнейшего анализа выявлено, что пациенты амбулаторного звена, у которых развился рецидив с необходимостью госпитализации, по сравнению с пациентами, находящимися в ремиссии, имели статистически значимо бóльшую длительность заболевания ( $9,9\pm 2,4$  года vs  $4,1\pm 1,7$  лет,  $\chi^2=7,514$ ;  $p=0,01$ ), частоту обострений ЯК ( $5,9\pm 1,1$  vs  $1,9\pm 0,5$ ,  $p=0,001$ ), частоту применения биологических препаратов (71,4% vs 28,6%,  $p=0,001$ ), более молодой возраст на момент дебюта ЯК ( $21,1\pm 2,3$  лет vs  $43,6\pm 7,9$  лет,  $p=0,001$ ), более высокую частоту обострений ( $5,5\pm 1,6$  мес. vs  $12,2\pm 2,4$  мес.,  $p=0,01$ ), низкий статус текущего курения и курения в анамнезе (50,5% vs 21,9%,  $\chi^2=8,13$ ,  $p=0,01$  и 34,6% vs 17,1%,  $\chi^2=12,03$ ,  $p=0,001$ , соот-

ветственно), присоединение оппортунистической инфекции при предыдущей атаке ЯК в анамнезе (49,7,5% vs 21,1%,  $\chi^2=7,13$ ,  $p=0,01$ ).

### 3.2. Математическая модель для оценки риска рецидива язвенного колита

Отбор независимых переменных для оценки рецидива ЯК производился методом пошаговой прямой селекции с использованием в качестве критерия исключения статистики Вальдовского. Показатель Наделькеркеса являлся мерой определенности, указывающей на ту часть дисперсии, которая может быть объяснена с помощью логистической регрессии. Результаты отражены в таблице 11.

Таблица 11 – Прогностически значимые факторы, связанные с возникновением рецидива в ближайшие 6 месяцев

Факторы риска	B	Стандартная ошибка	Вальд	p
Константа	- 0,412	0,181	5,207	0,022
Длительность анамнеза ЯК	- 1,662	0,449	13,717	0,000
Оппортунистическая инфекция при последнем обострении	3,192	0,523	37,247	0,000

Наблюдаемая зависимость описывается уравнением:

$$p = -0,412 + 3,192 * X_{\text{Ои}} - 1,662 * X_{\text{ДА}}$$

где **p** – вероятность возникновения рецидива,

**X<sub>Ои</sub>** – оппортунистическая инфекция при последней атаке (наличие -1, отсутствие - 0),

**X<sub>ДА</sub>** – длительность анамнеза заболевания, лет;

Исходя из значений регрессионных коэффициентов, учитываемые в уравнении факторы имеют прямую связь с вероятностью возникновения рецидива.

Полученная нами регрессионная модель является статистически достоверной ( $p=0,001$ ). Согласно значению коэффициента детерминации Найджелкерка, модель учитывает 57,4 % факторов, которые определяют вероятность развития раннего рецидива в ближайшие 6 месяцев. Диагностическая эффективность составила 83,6%: соответствует проценту верных прогнозов как о наличии, так и об отсутствии рецидива ЯК в ближайшие 6 месяцев. Чувствительность составила 76,6%, специфичность составила 92,2%.

Для оценки диагностической значимости составленного уравнения для прогнозирования возникновения рецидива, рассчитанного на основе регрессионной модели, нами использован метод ROC-анализа.

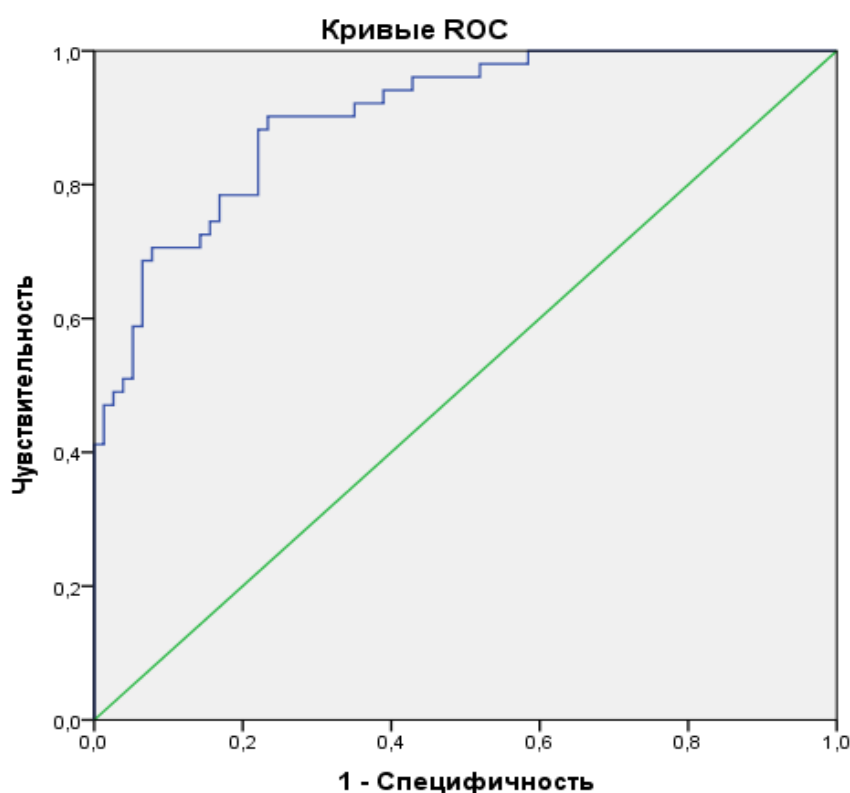


Рис. 4 – Чувствительность и специфичность математической модели прогнозирования риска раннего рецидива ЯК в ближайшие 6 месяцев

С помощью него определялось оптимальное разделяющее значение факторной переменной, которое позволило классифицировать пациентов по степени риска возникновения рецидива в ближайшие 6 месяцев с оптимальным сочетанием чувствительности и специфичности. Качество прогностической модели, полученной данным методом, оценивалось исходя из значений площади под ROC-кривой со стандартной ошибкой и 95% доверительным интервалом (ДИ) (рис. 4).

Площадь под ROC-кривой, соответствующей взаимосвязи прогноза рецидива ЯК и значения регрессионной функции, составила  $0,903 \pm 0,026$  с 95% ДИ: 0,852-0,954. Пороговое значение функции (1) в точке cut-off составляло 22,1. Таким образом, значения функции  $\geq 22,1$  соответствуют прогнозу развития рецидива в ближайшие 6 месяцев с чувствительностью 92,2% и специфичностью 76,6%.

### **3.3. Факторы риска тяжелой атаки язвенного колита, по данным карт стационарного больного**

Проведен ретроспективный анализ данных пациентов, получавших лечение в стационаре (табл. 12).

Больные ЯК, получавшие лечение в стационаре, по характеру течения ЯК, были распределены следующим образом: первая атака (острое течение) – 24,5% (41) пациентов, хроническое непрерывное течение – 12,6% (21) пациентов, хроническое рецидивирующее – 62,8% (105) пациентов.

При поступлении на стационарное лечение все больные ЯК предъявляли жалобы на учащенную дефекацию: от 6 до 10 раз в сутки – 68 (40,7%) пациентов, от 11 до 15 раз в сутки – 60 (35,9%) пациентов,  $\geq 16$  раз в сутки 39 (23,3%) пациентов. Наличие прожилок крови со стулом отмечалось у 18 (10,7%) больных, видимая примесь крови – у 91 (54,5%) пациентов, дефекация с обильной примесью крови либо преимущественно кровью – у 50 (29,9%), у 8 (4,8%) признаков примеси крови в кале выявлено не было.

Таблица 12 – Характеристика больных, получавших лечение в стационаре (по ретроспективным данным) (n=167)

Тяжесть атаки ЯК	Легкая атака (1 группа)	Атака средней тяжести (2 группа)	Тяжелая атака (3 группа)	Статистическая значимость различий
Показатели	n= 63	n= 61	n= 43	нд
Пол м/ж, абс	32/31	34/27	19/24	нд
Шкала Мейо, баллы (M±SD)	3,4±0,9	6,6±1,1	10,8±1,4	p <sup>1,3</sup> =0,001 p <sup>1,2</sup> =0,03
Индекс клинической активности, баллы, (M±SD)	2,9±0,9	7,9±1,8	12,8±2,2	p <sup>1,3</sup> =0,0001 p <sup>1,2</sup> =0,001
Возраст на момент дебюта заболевания, лет (Me [25-75])	36,5 (32,3-45,7)	38,7 (35,3-49,7)	23,5 (20,3-39,7)	нд
Возраст на момент госпитализации, лет (M±SD)	40,3±2,4	45,7±3,6	36,4±2,1	нд
ИМТ, кг/м <sup>2</sup> , (M±SD)	30,4±5,6	27,4±6,1	22,5±3,9	нд
Средняя продолжительность заболевания, лет (Me [25-75])	1,5 (0,5-5,7)	2,3 (0,6-5,9)	3,8 (1,5-7,1)	p <sup>1,3</sup> =0,002
Семейный анамнез ВЗК, абс (%)	7 (10,4)	7 (11,4)	10 (23,2)	p <sup>1,3</sup> =0,001 p <sup>1,2</sup> =0,001
Анамнез курения, абс (%):				
- активный курильщик	11 (17,5)	13 (21,3)	6 (13,9)	нд
- бывший курильщик	31 (49,2)	28 (45,9)	25 (60,9)	нд
- некурящий	21 (33,3)	20 (32,3)	10 (16,4)	p=0,04
Локализация поражения, абс(%):				
- левосторонний колит(n=67), абс (%)	33 (52,4)	26 (42,6)	8 (19,5)	нд
- проктосигмоидит (n=67), абс (%)	23 (36,5)	25 (40,9)	15 (36,6)	p <sup>1,3</sup> =0,001 p <sup>2,3</sup> =0,002
- панколит (n=37), абс(%)	7 (11,1)	10 (16,4)	20 (46,5)	p <sup>1,3</sup> =0,001 p <sup>2,3</sup> =0,001,
СРБ, мг/л (Me [25-75])	5,9 (4,0-7,8)	7,5 (3,3-15,5)	12,1 (8,5-17,6)	p <sup>1,3</sup> =0,001

Примечание: нд – недостоверно.

По данным ФКС, у 63 (37,7%) больных диагностировано левостороннее поражение, у 37 (22,2%) – тотальное поражение кишечника (панколит), у 67 (46,8 %) – дистальное (проктосигмоидит) поражение кишечника. Тотальное поражение встречалось достоверно чаще в группе с тяжелой атакой ЯК ( $p=0,001$ ), а проктит – в группе с легкой атакой ЯК ( $p=0,01$ ).

При анализе протоколов эндоскопического исследования выявлено преобладание выраженной активности ЯК (рис. 5).

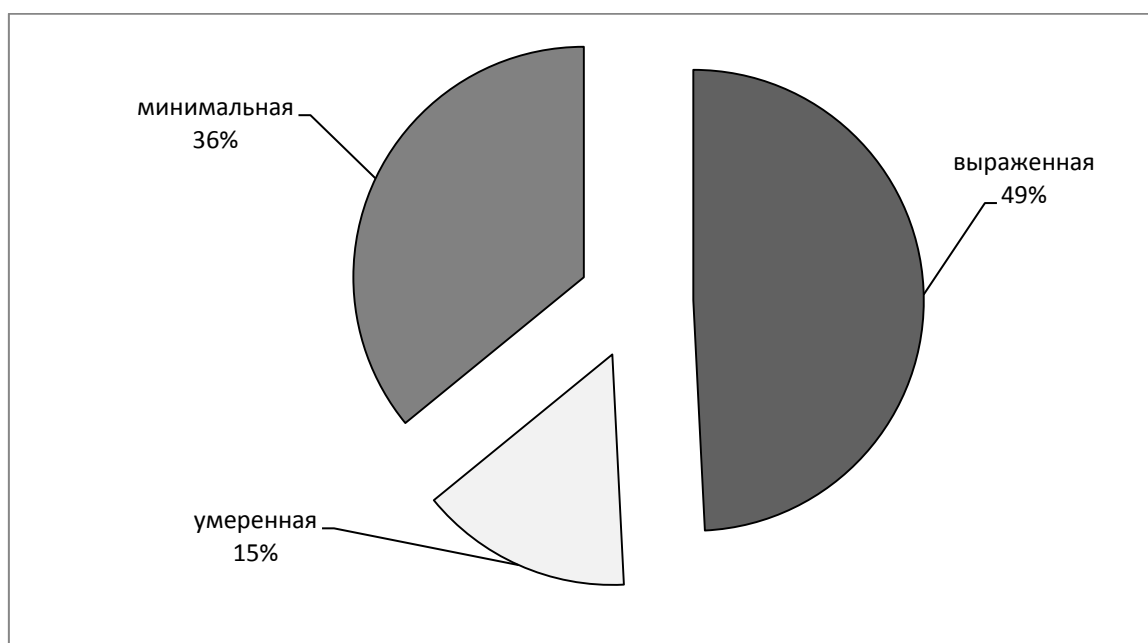


Рис. 5 – Распределение пациентов с ЯК в зависимости от эндоскопической активности воспаления

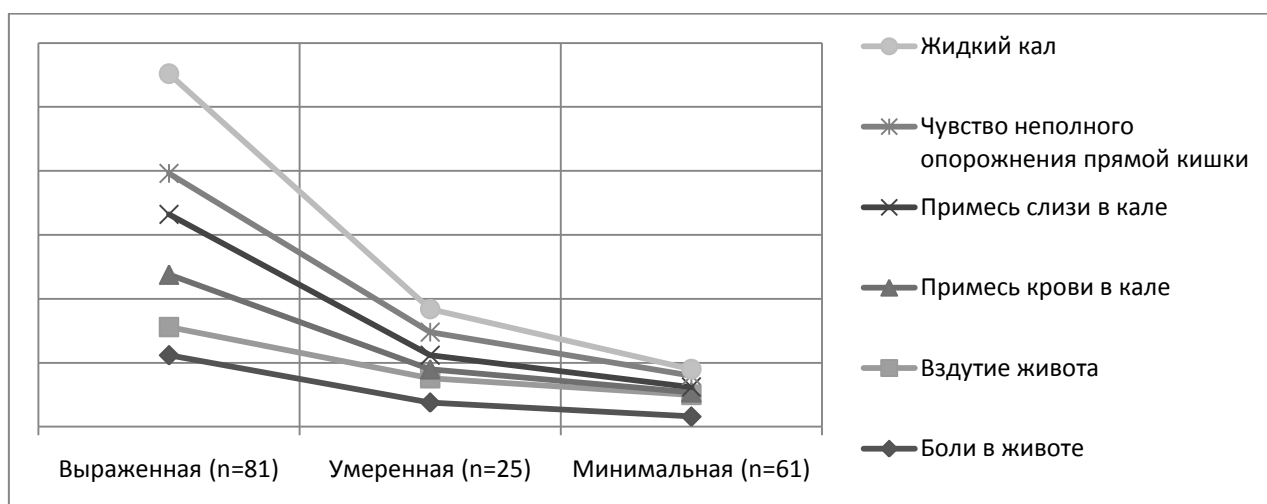


Рис. 6 – Структура жалоб в зависимости от активности воспаления (n=167)

Проведен анализ жалоб пациентов в зависимости от активности воспаления (рис. 6).

Средняя продолжительность парентерального лечения ГКС (внутривенно) составила 8,6 (6-22) суток. Удовлетворительный клинический ответ на в/в введение ГКС был получен у 107 (64,1%) пациентов, после этого их переводили на прием ГКС внутрь с последующим снижением дозировки по стандартной схеме и добавлением соответствующей поддерживающей терапии (азатиоприн, 6-меркаптопурин или препараты 5-аминосалициловой кислоты). У 60-ти (35,9%) больных выявлена стероидорезистентность, в связи с чем, 34 (56,7%) из них была начата биологическая терапия. 26 (43,3%) больным проведена колэктомия, что обусловлено клинически и лабораторно нарастающей тяжестью заболевания: у 5 (19,2%) больных на 4-5-е сутки госпитализации произошло кишечное кровотечение, у 5 (19,2%) пациентов на 2-4-е сутки обнаружена токсическая дилатация толстой кишки, у 8 (30,8%) пациентов на 5-7-е и 12-е сутки появились перитонеальные симптомы и подозрение на перфорацию ободочной кишки. У 1 (3,8%) пациента была получена положительная проба с туберкулином. Это послужило противопоказанием к проведению биологической терапии. 1 (3,8%) пациент от предложенной ему биологической терапии отказался, у 6 (23,1%) пациентов оперативное вмешательство без проведения биологической терапии было определено имеющимися сопутствующими заболеваниями (1 пациент – декомпенсация сахарного диабета, 2 пациента – декомпенсация ИБС, 3 пациента – декомпенсация артериальной гипертензии).

При анализе демографических показателей установлено, что средний возраст больных на момент госпитализации не был ассоциирован с тяжелым течением ЯК ( $39,1 \pm 3,4$  лет vs  $34,9 \pm 3,2$  лет,  $p=0,7$ ). Также не выявлено статистически значимой взаимосвязи со степенью тяжести атаки ЯК и возрастом на момент первого применения биологической терапии ( $p=0,8$ ). Среди демографических параметров диагностическую значимость имел только молодой возраст на момент дебюта ЯК, выявлена отрицательная корреляция между

возрастом на момент постановки диагноза и тяжестью атаки ( $r=-0,518$ ,  $p=0,002$ ) (рис. 7).

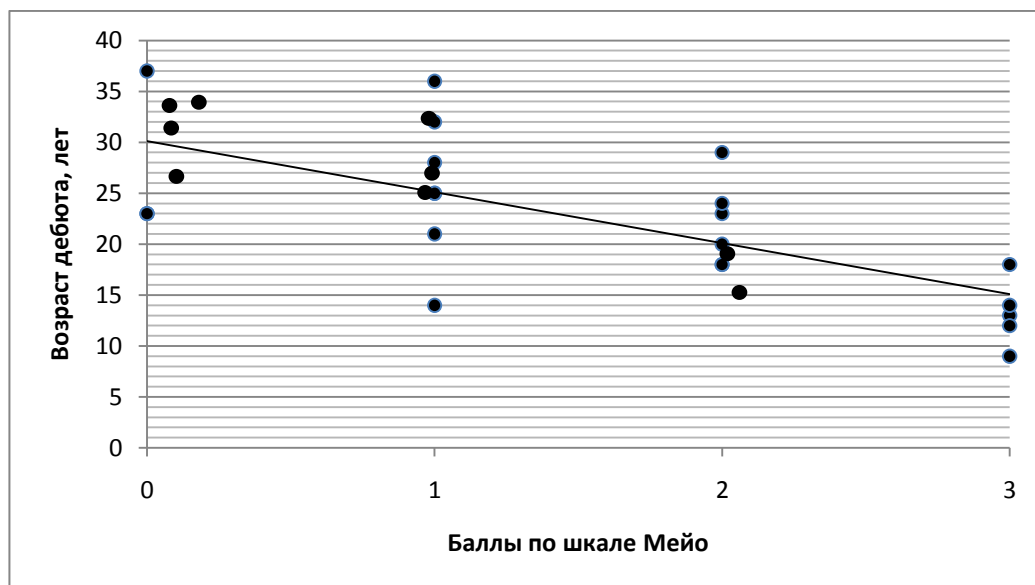


Рис. 7 – Взаимосвязь между тяжестью ЯК и возрастом на момент дебюта

Выявлена статистически значимая корреляционная взаимосвязь между тяжестью атаки (баллы по шкале Мейо) и следующими параметрами: величиной индекса массы тела (ИМТ) ( $r=-0,567$ ,  $p=0,001$ ), частотой применения биологической терапии в анамнезе ( $r=0,567$ ,  $p=0,002$ ) (рис. 8, 9).

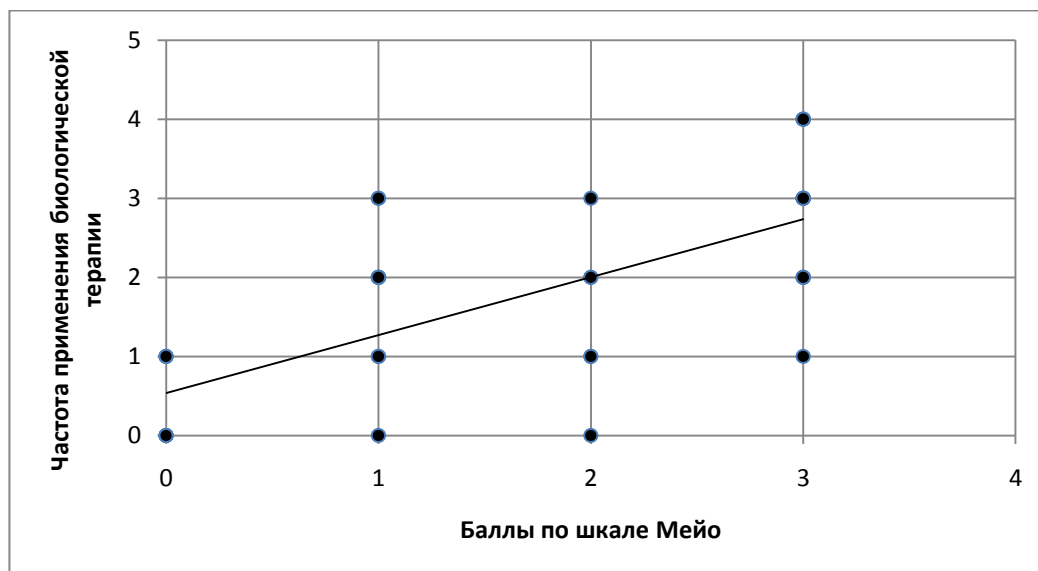


Рис. 8 – Взаимосвязь между частотой применения биологической терапии в анамнезе и активностью атаки ЯК

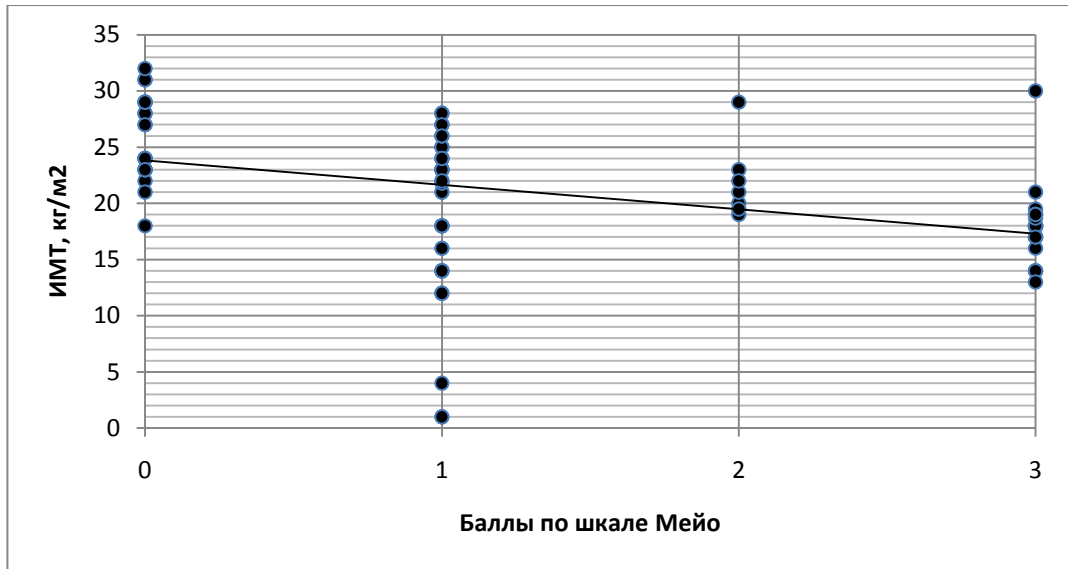


Рис. 9 – Взаимосвязь между ИМТ и активностью атаки ЯК

Проанализированы следующие лабораторные показатели: уровень гемоглобина, альбумина, общего белка сыворотки, скорость оседания эритроцитов (СОЭ), число лейкоцитов, уровень фибриногена и их взаимосвязь с тяжестью атаки ЯК. С тяжелой атакой ЯК были ассоциированы уровень гемоглобина ( $r=-0,516$ ,  $p=0,03$ ), альбумина ( $r=-0,578$ ,  $p=0,01$ ) и концентрация СРБ ( $r=0,787$ ,  $p=0,001$ ) (рис. 10-12). Другие лабораторные маркеры не показали значимой взаимосвязи с тяжелым течением ЯК.

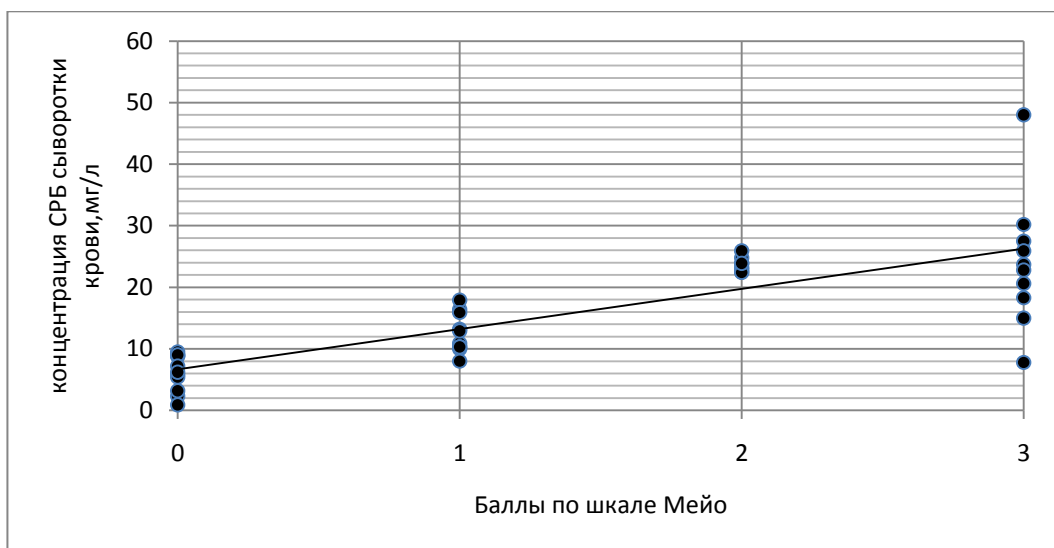


Рис. 10 – Взаимосвязь между концентрацией СРБ и активностью атаки ЯК

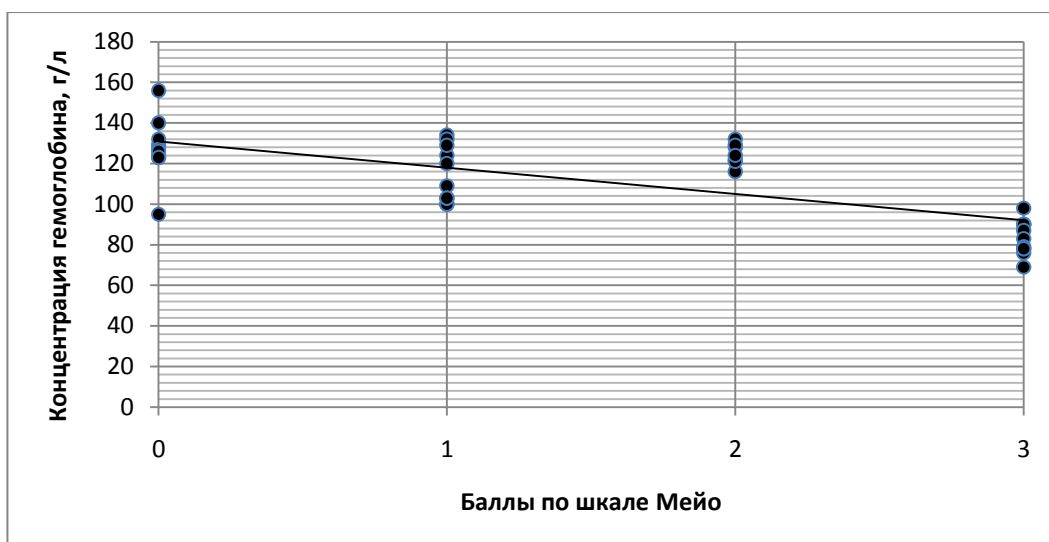


Рис. 11 – Взаимосвязь между концентрацией сывороточного гемоглобина и активностью атаки ЯК

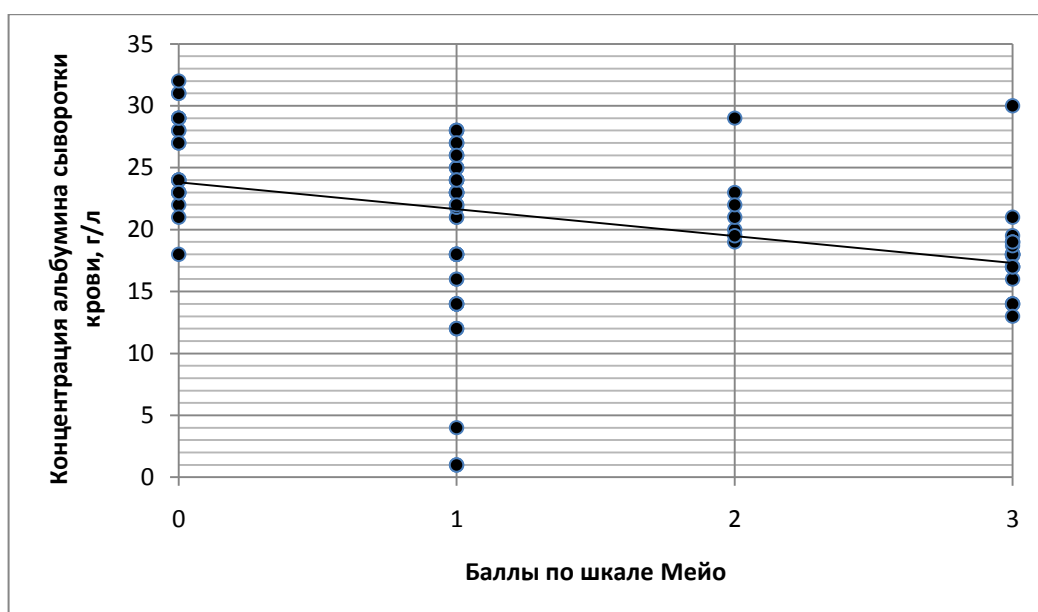


Рис. 12 – Взаимосвязь между концентрацией сывороточного альбумина и активностью атаки ЯК

Нами были проанализированы следующие параметры эндоскопического исследования: индекс эндоскопической активности язвенного колита, протяженность поражения и наличие глубоких язвенных дефектов слизистой оболочки толстой кишки. Статистически значимыми эндоскопическими параметрами, ассоциированными с тяжестью течения атаки ЯК, стали протя-

женность поражения ( $r=0,578$ ,  $p=0,002$ ) и наличие глубоких язвенных дефектов слизистой оболочки толстой кишки ( $r=0,791$ ,  $p=0,001$ ).

Таким образом, по данным амбулаторных карт пациентов с ЯК, факторами риска, ассоциированными с рецидивом ЯК, были длительность заболевания, анамнез применения биологических препаратов, молодой возраст на момент дебюта ЯК, низкий статус курения, наличие внекишечных проявлений. Предикторами тяжести атаки ЯК по данным карт стационарного больного явились молодой возраст на момент дебюта ЯК, частота применения биологической терапии в анамнезе, снижение уровня альбумина, повышение СОЭ, СРБ, снижение ИМТ, наличие глубоких язвенных дефектов слизистой оболочки толстой кишки, протяженность поражения слизистой толстой кишки.

### **3.4. Математическая модель прогнозирования тяжелой атаки язвенного колита**

Отбор независимых переменных для прогнозирования тяжелой атаки ЯК проводился методом пошагового прямого отбора с использованием статистики Вальдовского в качестве критерия исключения. Результаты отражены в таблице 13.

Таблица 13 – Прогностически значимые факторы, связанные с возникновением тяжелой атаки

Факторы риска	B	Стандартная ошибка	Вальд	p
Константа	-0,432	0,185	5,652	0,017
ИМТ	17,810	4,429	16,168	0,000
Частота рецидивов в анамнезе	2,771	1,035	7,168	0,007

Наблюдаемая зависимость описывается уравнением:

$$p = -0,432 + 2,8 * X_{\text{ЧРА}} + 17,8 * X_{\text{ИМТ}}$$

где  $p$  – вероятность возникновения рецидива,

$X_{\text{ЧРА}}$  (частота рецидивов в анамнезе);

$X_{\text{ИМТ}}$  – индекс массы тела ( $\text{кг}/\text{м}^2$ ).

Полученная регрессионная модель является статистически значимой ( $p=0,001$ ). Значения регрессионных коэффициентов, учитываемые в уравнении факторы имеют прямую связь с вероятностью тяжелой атаки. Построенная модель учитывает 81,1 % факторов, определяющих вероятность развития тяжелой атаки ЯК согласно значениям коэффициента детерминации Найджелкерка. Диагностическая эффективность составила 89,0%, что соответствует проценту верных прогнозов как о наличии, так и об отсутствии тяжелой атаки ЯК. Чувствительность составила 86,0%, специфичность – 90,9%. Оценка диагностической значимости составленного уравнения проведена методом ROC-анализа. Качество полученной прогностической модели, оценивалось согласно значениям площади под ROC-кривой со стандартной ошибкой и 95% доверительным интервалом (ДИ) (рис. 13).

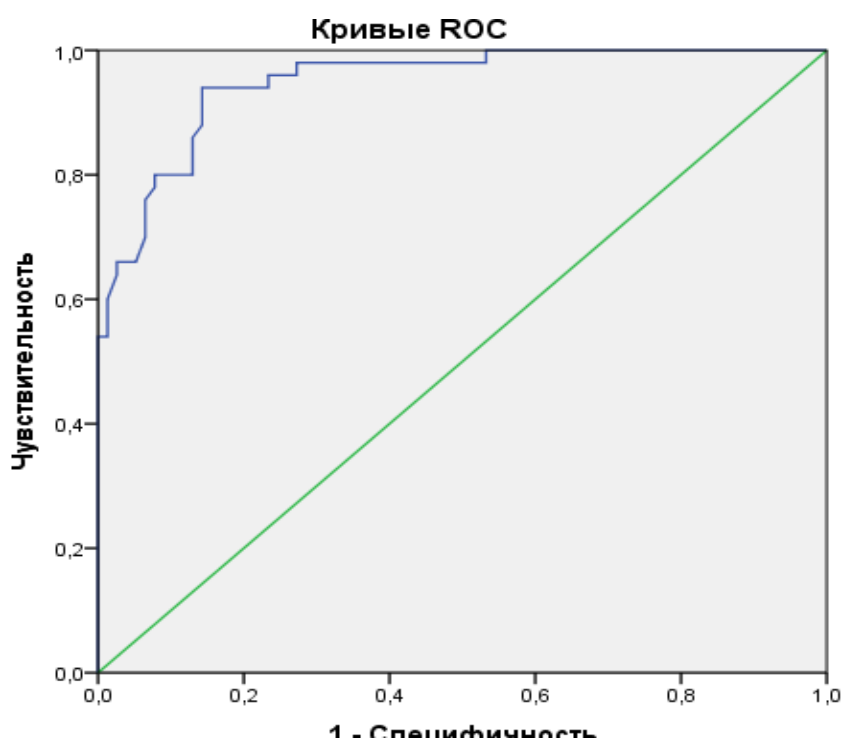


Рис. 13 – ROC-кривая оценки прогностической значимости полученной математической модели

Площадь под ROC-кривой, которая соответствует взаимосвязи прогноза тяжелой атаки и значения регрессионной функции составила  $0,949 \pm 0,018$  с 95% ДИ: 0,914-0,984. Пороговое значение функции (1) в точке cut-off составляло 36,3, таким образом, значения функции, равные или превышающие 36,3, соответствовали прогнозу тяжелой атаки.

## ГЛАВА 4. ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ОТДЕЛЬНЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ МАРКЕРОВ В ОЦЕНКЕ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ АТАКИ ЯЗВЕННОГО КОЛИТА

### 4.1. Информативность сывороточных и фекальных маркеров в оценке степени тяжести атаки язвенного колита

В проспективную часть исследования было включено 218 больных ЯК, получавших только стандартную терапию – 5-аминосалицилаты, преднизолон, будесонид, азатиоприн, меркаптопурин, метотрексат.

Спектр применяемых препаратов представлен на рисунках 14 и 15.

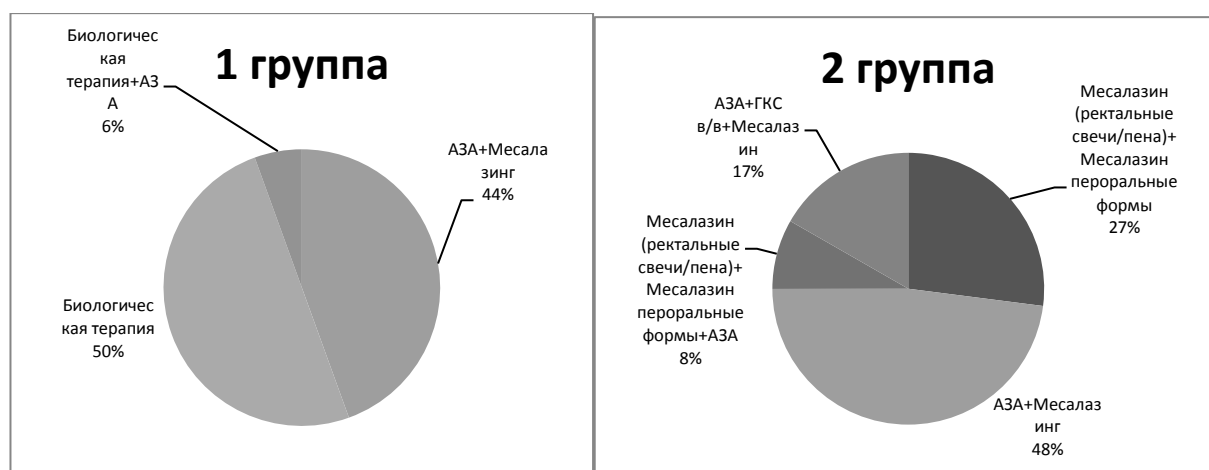


Рис. 14 – Основные группы препаратов, применяемые пациентами групп 1 и 2

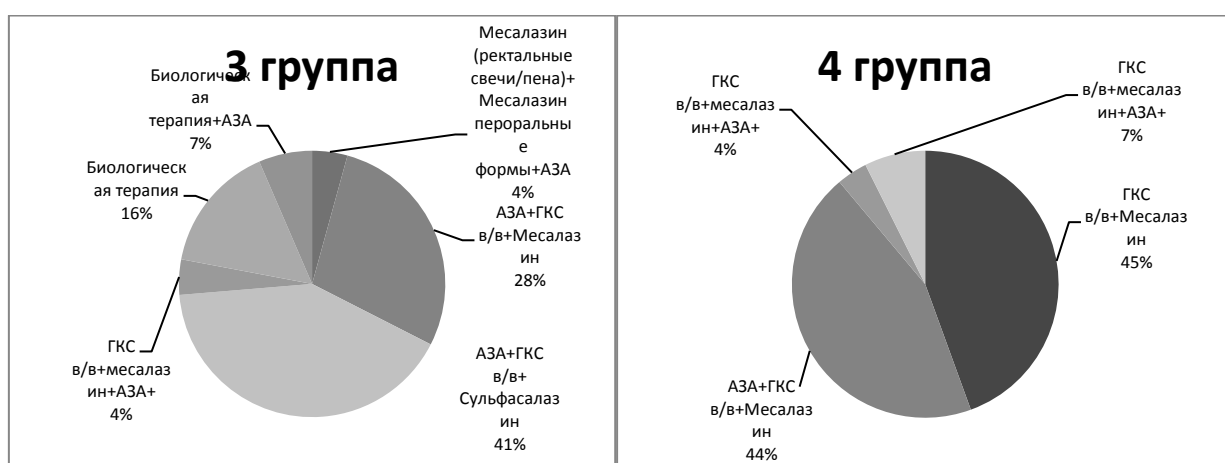


Рис. 15 – Основные группы препаратов, применяемые пациентами групп 3 и 4

Таблица 15 – Клинико-лабораторные и инструментальные данные пациентов, включенных в проспективное исследование, n=218

Тяжесть атаки ЯК/группы	Основные группы, n=178				Кон- трольная группа	Статистиче- ская значи- мость разли- чий
	1 группа	2 группа	3 группа	4 группа		
Показатели	n=39	n= 48	n= 46	n= 45	n=40	
Пол м/ж, абс	19/20	22/26	26/20	22/23	20/20	p=0,07
Шкала Мейо, баллы (M±SD)	-	3,4±0,9	6,5±1,1	10,7±1,3	-	p <sup>1,3</sup> =0,001 p <sup>1,2</sup> =0,03
Индекс клини- ческой активност и, баллы, (M±SD)	-	2,9±0,9	7,9±1,8	12,8±2,2	-	p <sup>1,3</sup> =0,0001 p <sup>1,2</sup> =0,001
Возраст на мо- мент исследова- ния, лет (M±SD)	39,6±4,8	38,3±6,4	36,7±6,6	32,4±5,1	32,3±3,9	p=0,06
Возраст на мо- мент постанов- ки диагноза, лет (M±SD)	37,6±6,7	28,1±4,1	22,6±5,9	17,6±7,3	-	p <sup>1,4</sup> =0,001
Средняя про- должительность заболевания, лет (Me [25-75])	1,6 (0,7- 4,9) лет	5,5 (3,5- 9,7)	7,9 (5,6- 10,9)	11,6 (7,5- 14,9)	-	p <sup>1,4</sup> =0,001 p <sup>2,4</sup> =0,001 p <sup>3,4</sup> =0,01
Семейный анамнез ВЗК, абс (%)	5 (12,8)	5 (10,4)	11 (23,9)	12 (26,7)	3 (7,5)	p <sup>1,4</sup> =0,01 p <sup>2,3</sup> =0,01 p <sup>к,3</sup> =0,01 p <sup>4,к</sup> =0,001
Анамнез куре- ния, абс (%):						p <sup>1,4</sup> =0,01 p <sup>к,3</sup> =0,01 p <sup>к,2</sup> =0,01 p <sup>к,4</sup> =0,01 p <sup>к,1</sup> =0,01
- активный курильщик	11 (28,2)	8 (16,6)	7 (15,2)	6 (13,3)	8 (2,0)	
- бывший ку- рильщик	23 (58,9)	19 (39,5)	20 (43,5)	21 (46,7)	13 (32,5)	p>0,05
- некурящий	5 (12,8)	21(43,8)	19 (41,3)	18 (40,0)	19 (47,5)	p <sup>1,2</sup> =0,01 p <sup>1,3</sup> =0,01 p <sup>1,4</sup> =0,01 p <sup>к,1</sup> =0,01

Локализация поражения, абс (%):						
- левосторонний колит	11 (28,2)	18 (37,5)	17 (36,9)	14 (31,1)	-	$p > 0,05$
- проктит	22 (56,4)	25 (52,1%)	15 (32,6)	13 (28,8)	-	$p^{1,4} = 0,003$
- панколит	5 (12,8)	5 (10,4)	14 (30,4)	18 (40,0)	-	$p^{1,4} = 0,002$ $p^{1,3} = 0,001$ $p^{2,3} = 0,001$ $p^{2,4} = 0,001$
СРБ, мг/л (Ме [25-75])	2,9 (0,0-5,4)	5,2 (2,1-8,5,5)	10,1 (6,5-16,6)	22,5 (17,3-30,2)	2,1 (0,0-4,1)	$p^{1,3} = 0,001$ $p^{1, \text{контр}} = 0,001$
СОЭ, мм/час (Ме [25-75])	6,2 (4,4-7,8)	12,7 (8,6-15,9)	22,4 (18,6-28,9)	39,6 (28,7-41,1)	5,8 (4,1-7,8)	$p^{1,3} = 0,001$ $p^{2, \text{контр}} = 0,01$ $p^{1,4} = 0,0001$
Фибриноген, г/л (Ме [25-75])	3,9 (2,9-4,4)	5,2 (3,9-5,5)	5,1 (4,5-6,6)	6,9 (4,9-7,1)	3,6 (2,1-4,1)	$p > 0,05$
Гемоглобин, г/л (Ме [25-75])	127,2 (105,6-156,6)	128,9 (110,5-156,7)		123,5 (79,8-145,3)	135,3 (117,4-161,2)	$p^{3, \text{контр}} = 0,001$

Основные клиничко-лабораторные и инструментальные данные пациентов, включенных в проспективное исследование представлены в таблице 15.

Согласно полученным данным, гендерный и возрастной состав групп был сопоставим. Достоверно более высокие средние значения индекса САИ, баллов по шкале Мейо и длительности заболевания выявлены в группе с тяжелой атакой ЯК ( $p > 0,05$ ). Наиболее молодой средний возраст дебюта ЯК выявлен в группе больных с тяжелой атакой, наибольший возраст – в группе пациентов с ремиссией ЯК ( $p = 0,001$ ).

Семейный анамнез ВЗК составил 16,5% (36 человек) из исследуемой когорты. Пациенты с семейным анамнезом ВЗК достоверно чаще встречались в группах с атакой средней и тяжелой степени ( $p < 0,05$ ). Доля активных курильщиков в изучаемой когорте составила 18,3% (40 человек), что статистически значимо ниже, чем доля бывших курильщиков, составившая 44,0%

(96 человек) ( $\chi^2=5,67$ ,  $p=0,001$ ) и доля некурящих – 37,6% (82 человека), ( $\chi^2=4,59$ ,  $p=0,001$ ). Наименьшая доля бывших курильщиков зарегистрирована в группе контроля ( $p < 0,05$ ).

Наиболее частой локализацией поражения толстой кишки в исследуемой когорте пациентов был проктит – 42,1% (75), достоверно чаще встречавшийся в группе пациентов с легким течением и ремиссией ЯК. Выявлены достоверные различия между 1-й и 4-й группой (56,4% vs 28,8%,  $\chi^2=4,59$ ,  $p=0,04$ ). Второе место по частоте занимал левосторонний колит 33,7%. Доля пациентов с панколитом была наименьшей (23,6%); получены достоверные различия между группами с легкой атакой и ремиссией ЯК и группами со среднетяжелой и тяжелой атакой ( $p < 0,05$ ).

Анализ лабораторных показателей продемонстрировал достоверно более высокие средние уровни острофазовых маркеров – СРБ и СОЭ в группах больных ЯК с тяжелой и среднетяжелой атакой. Выявлены достоверные различия между группами пациентов с легкой атакой и ремиссией и группами с тяжелой и среднетяжелой атакой ЯК ( $p < 0,5$ ).

Помимо стандартных показателей острофазового ответа нами дополнительно были изучены перспективные сывороточные и фекальные биомаркеры (табл. 16).

Наибольшие средние значения концентрации фекальных биомаркеров кальпротектина, лактоферрина и неоптерина выявлены в группах пациентов с тяжелой атакой и атакой средней тяжести. Получены статистически значимые различия между средними значениями фекального неоптерина в группе пациентов с ремиссией и контрольной группе ( $p=0,002$ ), а также между значениями в группе пациентов с легкой атакой и средней тяжести (2 и 3 группа), в группах пациентов с тяжелой атакой и средней тяжести ( $p=0,01$ ). Для фекального лактоферрина получены достоверные различия между группой пациентов в ремиссии и пациентами с легкой атакой ( $p=0,02$ ), между пациентами с легкой атакой и средней тяжести ( $p=0,002$ ), а также между пациентами с легкой и тяжелой атакой ( $p=0,0001$ ). Единственным маркером, имеющим

статистически значимо различия между всеми группами, оказался фекальный кальпротектин.

Таблица 16 – Значения фекальных и сывороточных маркеров у пациентов, включенных в исследование в зависимости от тяжести атаки (n=218)

Группы Показатели (Me [25-75])	Основные группы, n=178				Контроль- ная группа n=40	Статистическая значимость различий
	1 груп- па n=39	2 группа n= 48	3 группа n= 46	4 группа n= 45		
Фекальный неоптерин, нг/г	46,5 (38,2- 99,6)	56,9 (50,5- 78,9)	105,3 (56,1- 248,6)	215,7 (75,6- 302,6)	22,7 (7,4- 61,3)	$p^{1,3}=0,002$ $p^{1,контр.}=0,02$ $p^{2,3}=0,002$ $p^{3,4}=0,01$
Фекальный кальпротектин, мкг/г	66,9 (25,8- 109,9)	208,5 (107,2- 313,2)	631,2 (219,2- 1237,1)	1431,4 (834,6- 2013,5)	31,5 (20,3-82,5)	$p^{1,3}=0,001$ $p^{1,к.}=0,001$ $p^{2,3}=0,001$ $p^{1,2}=0,001$ $p^{3,4}=0,001$
Фекальный лактоферрин, мг/г	53,2 (18,4- 91,6)	124,6 (11,2- 197,3)	533,1 (79- 919,2)	903,2 (263,1- 1890,5)	62,5 (13,5- 86,7)	$p^{1,3}=0,002$ $p^{2,3}=0,001$ $p^{1,2}=0,002$ $p^{к,2}=0,001$ $p^{1,4}=0,0001$
TNF $\alpha$ , пг/мл	3,9 (0,5- 7,7)	15,2 (5,3- 19,7)	25,4 (6,6-41,3)	31,7 (19,1- 58,4)	4,0 (0,00-7,6)	$p^{1,3}=0,001$ $p^{1,4}=0,001$ $p^{2,к.}=0,002$
IL-1, пг\мл	2,5 (2,1- 2,7)	3,4 (3,1- 3,7)	3,9 (3,5- 4,7)	4,9 (3,1- 7,7)	2,3 (1,1-1,7)	$p>0,05$
IL-2, пг/мл	5,1 (2,3- 6,1)	6,3 (3,9- 7,9)	7,5 (0,0- 12,3)	6,5 (0,0- 12,3)	5,2 (0,0-7,8)	$p>0,05$
IL-4, пг/мл	0,7 (0,0- 0,9)	1,2 (0,0- 2,1)	1,1 (0,0-1,9)	0,8 (0,1-1,0)	0,5 (0,0-1,0)	$p>0,05$
IL-6, пг/мл	11,3 (8,9- 14,4)	14,8 (6,2- 27,3)	21,3 (6,1- 33,2)	29,3 (17,8- 54,8)	9,0 (0,0-17,5)	$p^{1,4}=0,001$ $p^{2,4.}=0,002$ $p^{1,3}=0,01$ $p^{2,контр.}=0,01$
IL-10, пг/мл	4,5 (3,3- 5,8)	5,8 (0,0- 25,8)	6,4 (0,0- 9,6)	8,1 (0,0- 11,3)	3,5 (0,0- 13,9)	$p>0,05$
IL-17, пг/мл	5,8 (3,3- 7,9)	14,3 (5,8- 21,8)	17,3 (5,9- 27,7)	28,1 (8,1- 62,6)	4,9 (0,0- 13,2)	$p^{1,3}=0,001$ $p^{1,4.}=0,01$ $p^{2,контр.}=0,01$

Средний уровень TNF $\alpha$  при тяжелой атаке ЯК составил 31,7 (19,1-58,4) пг/мл, что было статистически значимо выше, чем в группе пациентов с ремиссией ( $p=0,001$ ), в группе пациентов с легкой атакой ( $p=0,001$ ) и контрольной группе ( $p=0,0001$ ), тогда как при сравнении с группой пациентов со средней тяжести, значения оказались сопоставимыми ( $p=0,07$ ).

Сравнительный анализ концентрации интерлейкинов в зависимости от тяжести атаки ЯК продемонстрировал их достоверно более высокие значения в группах пациентов с тяжелой и средне-тяжелой атакой ЯК ( $p=0,001$ ). Статистически значимые различия между пациентами в ремиссии (1 группа) и пациентами тяжелого и среднетяжелого течения (3-4 группа), а также между контрольной и основными группами были получены для IL-17, IL-6 ( $p=0,001$ ). При ремиссии, ЯК легкой степени тяжести и в контрольной группе концентрация данных показателей была статистически значимо ниже ( $p=0,01$ ). Статистически значимых различий по уровням IL2 и IL4, IL10, IL-1 не выявлено ( $p=0,001$ ).

В исследуемой нами когорте пациентов с ЯК выявлена статистически значимая корреляция баллов по шкале Мейо с индексом САИ ( $r=0,815$ ,  $p=0,001$ ), концентрациями сывороточных интерлейкинов IL-6 ( $r=0,598$ ,  $p=0,001$ ), IL-17 ( $r=0,587$ ,  $p=0,005$ ), TNF $\alpha$ , ( $r=0,701$ ,  $p=0,001$ ), концентрацией фекальных маркеров: ФКП ( $r=0,881$ ,  $p=0,001$ ), ФЛФ ( $r=0,799$ ,  $p=0,001$ ), ФНП ( $r=0,791$ ,  $p=0,001$ ). Корреляции между САИ и вышеуказанными параметрами были сопоставимыми, а именно: концентрации IL-6 в сыворотке крови ( $r = 0,25$ ,  $p=0,001$ ), IL-17 ( $r = 0,587$ ,  $p=0,005$ ), TNF $\alpha$  ( $r=0,624$ ,  $p=0,001$ ) и концентрации ФКП ( $r=0,831$ ,  $p=0,001$ ), ФЛФ ( $r=0,672$ ,  $p=0,005$ ), ФНП ( $r=0,765$ ,  $p=0,002$ ). Напротив, статистически значимой корреляции между баллами по шкале Мейо и такими маркерами, как сывороточная концентрация СРБ ( $r=0,213$ ,  $p=0,06$ ), IL-2 ( $r=0,227$ ,  $p=0,07$ ), IL-10 ( $r=0,144$ ,  $p=0,07$ ), IL-4 ( $r=0,164$ ,  $p=0,07$ ) получено не было.

Таким образом, полученные нами результаты демонстрируют более высокую диагностическую значимость применения фекальных биомаркеров

по сравнению с сывороточными показателями воспаления, а также преимуществ фекального кальпротектина по чувствительности и специфичности среди всех изученных нами лабораторных показателей.

#### **4.2. Особенности реструктуризации нейтрофильных гранулоцитов в зависимости от степени тяжести атаки язвенного колита**

Нейтрофильная инфильтрация является отличительной чертой гистопатологии ЯК и важнейшим компонентом оценки тяжести ЯК, отражающей центральную роль нейтрофилов как эффекторных клеток в повреждении слизистой оболочки. В настоящее время широко обсуждается диагностическая значимость соотношения нейтрофилов и лимфоцитов периферической крови, биомаркеров нейтрофильного происхождения (лактоферрина, кальпротектина и др.) при ЯК [6, 9]. Отдельного внимания заслуживает методика оценки реструктуризации хроматина ядер НГ по степени их оптической анизотропии (ОА) И.В. Нестеровой и соавт., на основе которой были изучены особенности реструктуризации хроматина у пациентов с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки, больных колоректальным раком [18, 19].

Вместе с тем, в проанализированной доступной литературе работ, посвященных оценке роли реструктуризации хроматина ядер НГ у пациентов с ЯК, нами не обнаружено. Поэтому в рамках нашего исследования была проведена оценка особенностей реструктуризации хроматина НГ у больных ЯК в зависимости от наличия и степени тяжести атаки.

Нами изучена степень ОА ядер НГ в зависимости от степени тяжести атаки ЯК (табл. 17). Коэффициент вариации в исследовании особенностей реструктуризации хроматина НГ находился в пределах от 10 до 30%, что свидетельствует об однородности совокупности.

Таблица 17 – Степень оптической анизотропии ядер НГ в зависимости от степени тяжести атаки ЯК (n=179)

Группы Показа-теди	Основные группы, n=178				Контроль- ная группа	Статистиче- ская значи- мость разли- чий
	1 группа ремис- сия  n=39	2 группа (легкая степень тяжести атаки)  n= 48	3 группа (средняя степень тяжести атаки)  n= 46	4 группа (тяжелая степень атаки)  n= 45		
Степень опти- ческой анизо- тропии	2,0±0,06	1,92±0,09	1,67±0,03	0,79±0,05	2,21±0,08	$p^{1,4}=0,001$ $p^{3,контр.}=0,03$ $p^{2,4}=0,03$ $p^{3,4}=0,002$ $p^{1,2}=0,06$
Показатель активации нейтрофиль- ных грануло- цитов (ПАН)	1,18±0,09	1,87±0,006	2,03±0,008	3,97 ± 0,005	1,25±0,11	$p^{1,3}=0,03$ $p^{1,контр.}=0,05$ $p^{2,3}=0,02$ $p^{1,2}=0,06$
Коэффициент вариации (CV),%	12,4	15,5	16,3	14,9	13,2	-
TNF $\alpha$ , пг/мл	3,9(0,5- 7,7)	15,2 (5,3-19,7)	25,4 (6,6-41,3)	31,7 (19,1- 58,4)	4,0 (0,00-7,6)	$p^{1,3}=0,001$ $p^{1,4}=0,001$ $p^{2,к.}=0,002$
IL-1, пг\мл	2,5(2,1- 2,7)	3,4(3,1- 3,7)	3,9(3,5- 4,7)	4,9(3,1- 7,7)	1,8 (1,1-2,7)	$p>0,05$
IL-2, пг/мл	5,1(2,3- 6,1)	6,3(3,9- 7,9)	7,5(0,0- 12,3)	6,5(0,0- 12,3)	5,2 (0,0-7,8)	$p>0,05$
IL-4, пг/мл	0,7(0,0- 0,9)	1,2(0,0- 2,1)	1,1(0,0- 1,9)	0,8(0,1- 1,0)	0,6(0,0-1,0)	$p>0,05$
IL-6, пг/мл	11,3(8,9- 14,4)	14,8(6,2- 27,3)	21,3(6,1- 33,2)	29,3(17,8 -54,8)	8,9 (0,0-17,5)	$p^{1,4}=0,001$ $p^{2,4}=0,002$ $p^{1,3}=0,01$ $p^{2,контр.}=0,01$
IL-10, пг/мл	4,5(3,3- 5,8)	5,8(0,0- 25,8)	6,4(0,0- 9,6)	8,1(0,0- 11,3)	3,5(0,0- 13,9)	$p>0,05$
IL-17, пг/мл	5,8(3,3- 7,9)	14,3(5,8- 21,8)	17,3(5,9- 27,7)	28,1(8,1- 62,6)	4,9(0,0- 13,2)	$p^{1,3}=0,001$ $p^{1,4}=0,01$ $p^{2,контр.}=0,01$

Анализ ОА хроматина НГ показал, что среднее значение данного показателя в контрольных группах ( $2,21 \pm 0,08$ ) было на 38,9% выше, чем у пациентов с ЯК ( $1,59 \pm 0,05$ ). Выявлено статистически значимое уменьшение степени ОА с увеличением тяжести атаки ЯК и протяженностью поражения, что подтверждается полученными сильными отрицательными корреляциями ( $r = -0,877$ ,  $p = 0,001$  и  $r = -0,918$ ,  $p = -0,001$  соответственно). Выявлено статистически значимое уменьшение степени ОА с увеличением тяжести атаки ЯК и протяженностью поражения, что подтверждается полученными сильными отрицательными корреляциями ( $r = -0,877$ ,  $p = 0,001$  и  $r = -0,918$ ,  $p = -0,001$  соответственно). Выявлены статистически значимые различия между пациентами группы контроля и пациентами в ремиссии ( $p = 0,002$ ), между группой больных ЯК в ремиссии и пациентами с легким течением ЯК ( $p = 0,003$ ), между группой пациентов с атакой легкой и средней степени тяжести ( $p = 0,001$ ), а также между группами со средней степенью тяжести и тяжелой атакой ( $p = 0,002$ ). Показатель активации нейтрофилов (ПАН) в контрольной группе составил  $1,35 \pm 0,11$  при общей реструктуризации хроматина  $0,38 \pm 0,02$ . У больных ЯК средняя величина анизотропии ядер сегментоядерных нейтрофильных гранулоцитов равнялась  $1,6 \pm 0,007$ , что на 52,9% ниже, чем в ядрах аналогичных клеток лиц контрольной группы, различия статистически значимы ( $p = 0,001$ ). Средняя величина ПАН в основных группах составила  $2,6 \pm 0,007$ , что достоверно выше, чем в группе контроля ( $p = 0,001$ ). Выявлено статистически значимое уменьшение степени анизотропии с увеличением тяжести атаки ЯК и протяженности поражения, что подтверждается полученными сильными отрицательными корреляциями ( $r = -0,877$ ,  $p = 0,001$  и  $r = -0,918$ ,  $p = -0,001$ ).

Сравнительный анализ концентрации интерлейкинов в зависимости от тяжести атаки ЯК продемонстрировал их достоверно более высокие значения в группах пациентов с тяжелой и среднетяжелой атакой ЯК по сравнению с пациентами в ремиссии ЯК, с легкой атакой ЯК и пациентами контрольной группы (табл. 17). Статистически значимые различия между концентрациями

интерлейкинов у пациентов в ремиссии (1 группа) и пациентов тяжелого – среднетяжелого течения (3-4 группа), а так же между контрольной и основными группами были получены для IL-17, IL-6 ( $p < 0,05$ ). Средний уровень TNF $\alpha$  при тяжелой атаке ЖК составил 31,7 (19,1-58,4) пг/мл, что было достоверно выше, чем в группе пациентов с ремиссией ( $p = 0,001$ ), в группе пациентов с легкой атакой ( $p = 0,001$ ) и контрольной группе ( $p = 0,0001$ ), тогда как при сравнении с группой пациентов со атакой средней тяжести, значения оказались сопоставимыми ( $p = 0,07$ ).

Достоверных различий в уровне IL2 и IL4, IL10, IL-1 получено не было ( $p > 0,05$ ). Получены сильные отрицательные корреляции между степенью оптической анизотропии и уровнем TNF $\alpha$  ( $r = -0,896$ ,  $p = 0,0001$ ), IL 17 ( $r = 0,806$ ,  $p = 0,0001$ ), а также IL 6 ( $r = 0,8367$ ,  $p = 0,0001$ ).

Таким образом, у пациентов с ЖК выявлена достоверная корреляция баллов по шкале Мейо со степенью ОА НГ ( $r = -0,896$ ,  $p = 0,001$ ) и с уровнем сывороточных интерлейкинов IL-6 ( $r = 0,598$ ,  $p = 0,001$ ), IL-17 ( $r = 0,587$ ,  $p = 0,005$ ), TNF $\alpha$  ( $r = 0,701$ ,  $p = 0,001$ ), а также обнаружены достоверные корреляции между САИ и степенью оптической анизотропии НГ ( $r = -0,773$ ,  $p = 0,002$ ), концентрациями сывороточных интерлейкинов IL-6 ( $r = 0,525$ ,  $p = 0,001$ ), IL-17 ( $r = 0,587$ ,  $p = 0,005$ ), TNF $\alpha$  ( $r = 0,624$ ,  $p = 0,001$ ).

#### **4.3. Сравнительная оценка диагностической значимости фекальных и сывороточных маркеров и степени реструктуризации ядра нейтрофильных гранулоцитов в определении тяжести атаки язвенного колита**

С целью сравнения лабораторных показателей по их диагностической значимости был проведен однофакторный дисперсионный анализ, в котором в качестве фактора выступало значение балла по шкале Мейо, отражающее тяжесть атаки ЖК. Дисперсионный анализ позволяет разделить всю наблюдаемую изменчивость признака на части, обусловленные каждым из факто-

ров. Вклад исследуемого фактора в изменчивость признака характеризует, таким образом, степень влияния значения балла Мейо на вариабельность лабораторных показателей. Чем выше такой вклад, тем, соответственно, больше диагностическая значимость конкретного лабораторного показателя.

Таблица 18 – Средние значения и вариабельность степени анизотропии ядра (ОА) в зависимости от тяжести атаки ЯК

Группа	Балл по Мейо	95 ДИ	Min-max	M±m	Тест Дункана*
1	0	85,8-95,3	81,0-100,0	90,6±2,11	*
2	1	64,7-75,9	58,0-80,0	70,3±2,49	*
3	2	45,3-56,5	42,0-60,0	50,9±2,36	*
4	3	8,2-24,0	2,0-40,0	16,0±3,57	*
Вклад балла Мейо в общую изменчивость степени анизотропии ядра составил 94,5% от общей дисперсии, F – 141,1*, p = 0,00001					

Примечание: \* - тест Дункана производится с целью выявления статистически значимых различий средних значений признака между вариантами опыта. Здесь и в таблицах 19-24.

Таблица 19 – Средние значения и вариабельность ФКП в зависимости от тяжести атаки ЯК (значения балла по Мейо)

Группа	Балл по Мейо	95 ДИ	Min-max	M±m	Тест Дункана
4	3	1740,2-1988,5	1540,0-2199,0	1864,4±55,71	*
3	2	158,9-172,5	154,1-179,7	165,7±2,87	*
2	1	131,7-156,8	112,0-160,1	144,3±5,54	*
1	0	30,5-46,3	22,1-57,0	38,4±3,55	*
Вклад балла Мейо в общую изменчивость ФКП составил 95,3% от общей дисперсии, F – 790,3*, p = 0,00001					

Анализ изменчивости степени анизотропии ядра в зависимости от тяжести атаки свидетельствует о том, что с возрастанием тяжести атаки степень анизотропии снижается. Выявлены статистически значимые различия между всеми группами ( $p < 0,005$ ) (табл. 18).

Зависимость средних значений ФКП от тяжести атаки была положительной, при этом средние значения в группе 3 статистически значимо превышали значения в группах 2 и 1, а у пациентов в ремиссии значение ФКП было достоверно ниже, чем в остальных (табл. 19).

Результаты дисперсионного анализа изменчивости уровня ФЛФ в зависимости от тяжести атаки (величины балла Мейо) показали, что значения этого признака увеличиваются с увеличением тяжести атаки (табл. 20). Статистически значимые различия средних значений выявлены между группами с тяжелой атакой (группа 4) и пациентами в ремиссии (группа 1), между пациентами с тяжелой атакой (3 группа) и легкой (1 группа), а также с между пациентами 2 группы и пациентами в ремиссии 0. Средние значения в группе 1 при этом достоверно не отличались от группы 2.

Таблица 20 – Средние значения и вариабельность ФЛФ в зависимости от тяжести атаки (величины балла по Мейо)

Группа	Балл по Мейо	95 ДИ	Min-max	M±m	Тест Дункана
4	3	450,4-790,5	280,0-903,0	620,4±76,32	*
3	2	155,1-232,2	122,0-234,0	193,6±16,29	*
2	1	89,9-109,5	80,9-118,0	99,7±4,32	*
1	0	17,0-21,1	13,1-23,9	19,0±0,91	*
Вклад балла Мейо в общую изменчивость ФЛФ составил 80,7% от общей дисперсии, F – 42,8*, p = 0,0001					

Значения ФНП увеличивались со степенью тяжести атаки ЯК (баллам по Мейо) (табл. 21). Однако, между группами 3 и 4 не обнаружено статистически значимых различий по значению этого признака. Вместе с тем, средние значения ФНП в группах с тяжелым и среднетяжелым течением (3 и 4) достоверно отличались от групп с легким течением и ремиссией (1 и 2).

Таблица 21 – Средние значения и вариабельность ФНП  
в зависимости от балла Мейо

Группа	Балл по Мейо	95 ДИ	Min-max	M±m	Тест Дункана
4	3	218,7-301,8	200,0-378,0	260,3±18,65	*
3	2	135,1-208,6	64,2-197,0	171,8±15,54	*
2	1	83,6-102,0	70,5-107,8	92,8±4,06	*
1	0	21,6-102,5	30,9-189,0	62,0±18,15	*
Вклад балла Мейо в общую изменчивость FNP составил 73,4% от общей дисперсии, F – 19,2*, p = 0,0001					

Анализ изменчивости TNF $\alpha$  показал ту же тенденцию, что и ФНП: значения этого признака и баллы по Мейо обнаруживали прямую зависимость (табл. 22). Группы 3 и 4 достоверно не отличались между собой, значимые различия были между группами с тяжелым и среднетяжелым течением (группы 3 и 4) и группами с легким течением и ремиссией (1 и 2).

Таблица 22 – Средние значения и вариабельность TNF $\alpha$   
в зависимости от балла Мейо

Группа	Балл по Мейо	95 ДИ	Min-max	M±m	Тест Дункана
4	3	34,8-41,2	30,9-45,6	38,0±1,44	*
3	2	18,8-24,4	16,9-25,8	21,6±1,18	*
2	1	12,8-15,4	10,9-16,2	14,1±0,59	*
1	0	4,3-23,5	0,5-30,9	13,9±4,31	*
Вклад балла Мейо в общую изменчивость TNF составил 76,8% от общей дисперсии, F – 21,0*, p = 0,0001					

Значения IL6 возрастали пропорционально тяжести атаки ЯК. Средние значения в группе 4 статистически значимо отличался от 2, а тот, в свою очередь, от вариантов 1 и 0, между которыми не выявлено достоверных отличий (табл. 23).

Таблица 23 – Средние значения и вариабельность IL6  
в зависимости от тяжести атаки ЯК.

Группы	Балл по Мейо	95 ДИ	Min-max	M±m	Тест Дункана
4	3	18,1-27,5	7,8-30,2	22,8±2,10	*
3	2	22,7-24,7	22,4-25,9	23,7±0,43	*
2	1	12,8-17,7	10,3-20,0	15,3±1,08	*
1	0	6,4-9,2	3,2-9,9	7,8±0,63	*
Вклад балла Мейо в общую изменчивость IL6 составил 75,2% от общей дисперсии, F – 31,2*, p = 0,0001					

Однофакторный дисперсионный анализ изменчивости IL-17 в зависимости от величины балла Мейо показал статистически достоверное влияние исследуемого фактора, при этом значения IL-17 были тем больше, чем выше был балл Мейо (таблица 24). Получены статистически значимые различия между всеми группами.

Таблица 24 – Средние значения и вариабельность IL17  
в зависимости от балла Мейо

Группы	Балл по Мейо	95 ДИ	Min-max	M±m	Тест Дункана
4	3	42,5-47,2	40,3-50,9	44,9±1,05	*
3	2	29,5-36,8	23,9-37,8	33,2±1,53	*
2	1	21,3-23,7	18,5-24,3	22,5±0,53	*
1	0	12,8-22,2	10,9-32,0	17,5±2,11	*
Вклад тяжести атаки (баллов Мейо) в общую изменчивость IL17 составил 88,1% от общей дисперсии, F – 75,0*, p = 0,0001					

Диагностическая ценность исследуемых лабораторных показателей графически отражена на рисунке 16. Изменчивость исследуемых фекальных биомаркеров варьировала от 73,4% (для ФНП) до 95,3% от общей дисперсии (для ФКП). Изменчивость сывороточных маркеров варьировала от 75,2% (для IL-6) до 88,1% для (IL-17) от общей дисперсии. Наибольшая диагностическая значимость из исследуемых маркеров определена для ФКП (95,3% от общей дисперсии), наименьшая – ФНП (73,4% от общей дисперсии).

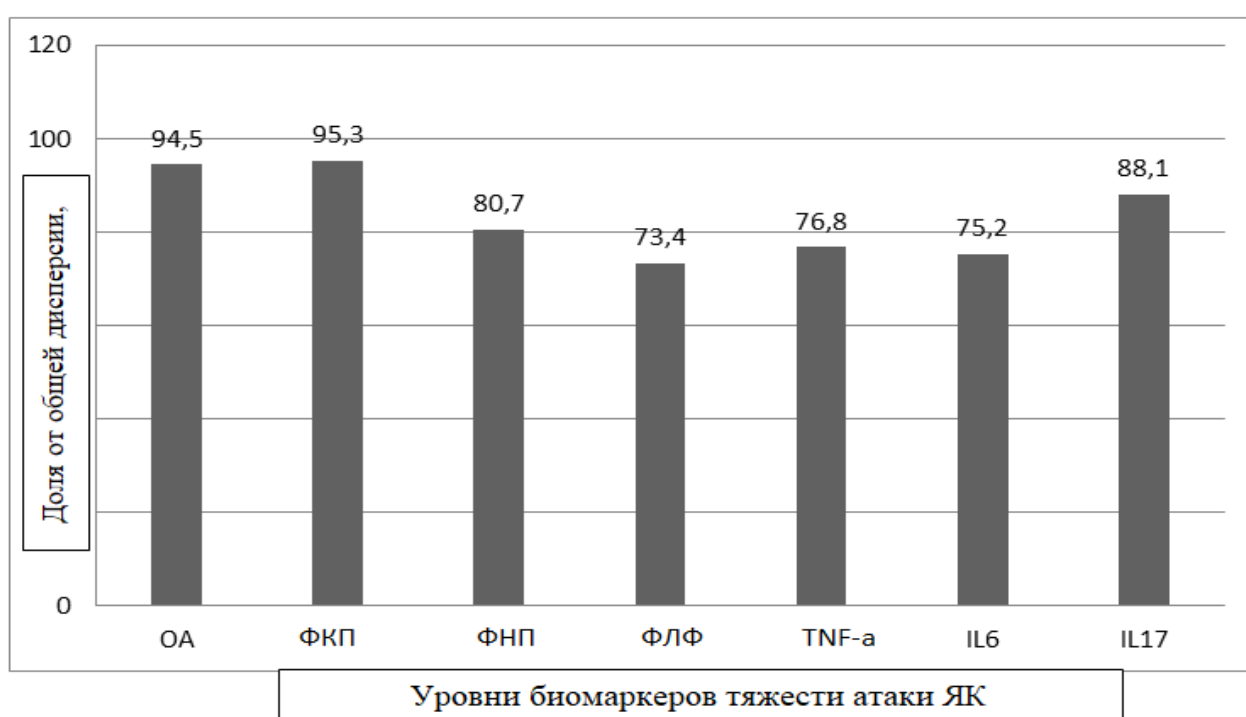


Рис. 16 – Результаты дисперсионного анализа изменчивости лабораторных показателей в зависимости от тяжести атаки ЯК

Значения точки отсечения для сывороточных маркеров при прогнозировании эндоскопически активного заболевания ( $> 1$  балла по шкале Мейо), согласно данным дисперсионного анализа, составили: IL-6=10,3 пг/мл, IL-17=18,5 пг/мл, TNF $\alpha$ =10,9 пг/мл; значения точки отсечения для фекальных маркеров при прогнозировании эндоскопически активного заболевания ( $> 1$  балла по шкале Мейо): ФКП =112,0 мкг/г; ФЛФ=80,9 мкг/г; ФНП = 92,8 мкг/г. Показано высокое достоверное влияние тяжести атаки на уровни изученных

нами лабораторных показателей. Степень оптической анизотропии нейтрофильных гранулоцитов оказалась сопоставима по диагностической значимости с ФКП, составив 94, 5% от общей дисперсии.

#### **4.4. Алгоритм ранней диагностики рецидива и тяжелой атаки язвенного колита**

На основании полученных нами данных, был разработан алгоритм обследования пациентов с целью повышения эффективности диагностики атаки ЯК (рис. 17).

Пациенту на первом этапе (амбулаторном приеме) проводится определение риска рецидива ЯК в ближайшие 6 месяцев с помощью созданного для удобства вычислений электронного калькулятора на основе рассчитанной в нашем исследовании прогностической модели.

При низком риске ( $<22,1$ ) – пациент продолжает динамическое наблюдение у терапевта согласно клиническим рекомендациям.

При высоком риске ( $\geq 22,1$ ) – пациенту проводится исследование уровня острофазовых маркеров, ФКП при выявлении повышения – определение степени ОА НГ. При выявлении активности ЯК на основании уровня маркеров, в соответствии с точками отсечения, соответствующими Мейо 1 и более, пациент направляется к гастроэнтерологу, где проводится оценка риска тяжелой атаки.

При выявлении высокого риска тяжелой атаки – пациенту необходимо проведение коррекции лечения в условиях стационара. При низком риске тяжелой атаки ( $<36,3$ ) амбулаторно проводится коррекция терапии.

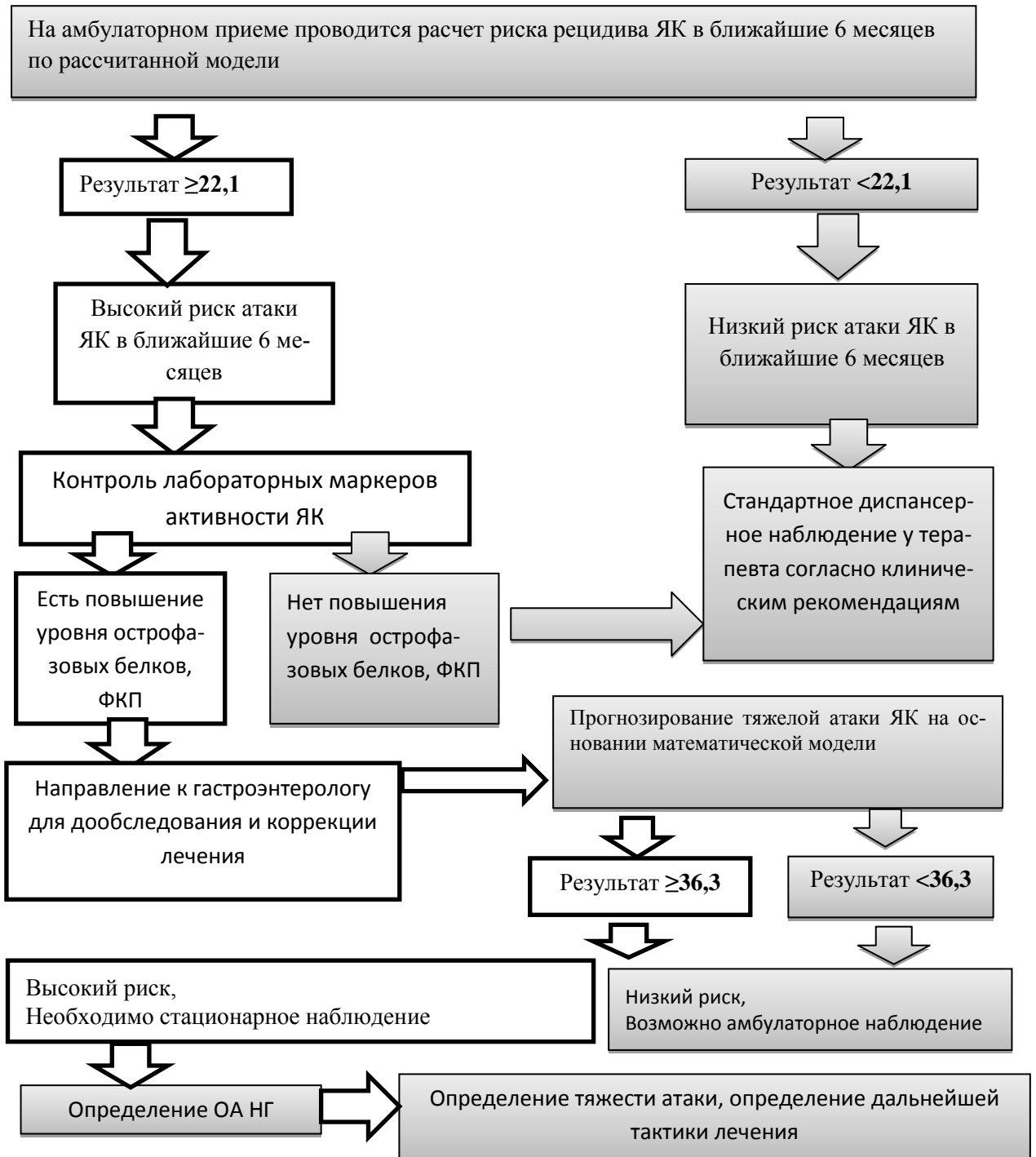


Рис. 17 – Алгоритм ранней диагностики рецидива и тяжелой атаки ЯК

## Клинический пример №1

Пациент Ц., 29 лет, с установленным диагнозом ЯК, обратился к гастроэнтерологу амбулаторно-поликлинического отделения с жалобами на боли в животе, спастического характера не связанные с актом дефекации, возникающие вне зависимости от времени суток, ложные позывы к дефекации до 5-6-ти раз в сутки, учащение дефекаций до 7-ми раз в сутки, стул с примесью крови, повышение температуры тела максимально до 39° С, боли в суставах, высыпания на коже туловища, снижение массы тела на 7 кг за 4 месяца, резкое ухудшение состояние. Вышеуказанные жалобы появились около 7-ми дней назад, усилились накануне. В анамнезе ЯК, левостороннее поражение, хроническое течение по поводу чего наблюдается у гастроэнтеролога около 10-ти лет. С момента постановки диагноза в течение 5-ти лет получал месалазин 4 г в сутки (3 г/сутки перорально и 1 г ректально). Отмечалась стойкая ремиссия, эндоскопический контроль не проводился. Впервые рецидив в возрасте 24 лет, в связи с чем пациент обследован согласно стандартам оказания медицинской помощи. С целью индукция терапии начата пульс-терапия: 125 мг преднизолона с последующим снижением до полной отмены, начата терапия азатиоприном 150 мг в сутки. В последующем периодически наблюдалась примесь крови в стуле. Стойкая клинической ремиссии достигнуто не было. Отмечался низкий комплаенс, пациент рекомендации соблюдал не в полной мере.

Данные объективного осмотра: состояние средней степени тяжести, сознание ясное. Положение тела пассивное. Конституциональный тип – астенический. Гипотрофия мышц верхнего плечевого пояса. Кожные покровы бледные, физиологической влажности. На коже туловища и конечностей отмечаются высыпания по типу узловатой эритемы болезненные при пальпации. Тургор кожи снижен. ИМТ – 19,8 кг/м<sup>2</sup>. Отеки стоп. Пальпируются единичные подчелюстные и паховые лимфоузлы диаметром не более 1 см, меж-

ду собой не спаянные, безболезненные, кожа над ними не изменена. Над легкими выслушивается везикулярное дыхание, хрипов нет. Сердечные тоны ясные, ЧСС – 98 в мин. АД – 100/70 мм рт ст. Живот вздут, участвует в акте дыхания. При пальпации болезненный в левой подвздошной области и околопупочной области. Пульсация брюшного отдела аорты определяется. Перистальтика кишечника выслушивается. Печень пальпируется у края реберной дуги, край ровный. Размеры печени по Курлову 10x9x7см. Селезенка не пальпируется. Дизурических явлений нет.

Проведен расчет риска развития тяжелой атаки ЯК, согласно разработанной нами прогностической модели. Значение переменной составило 36,8 (более 36,3), что говорит о высоком риске развития тяжелой атаки.

Лабораторно-диагностические исследования:

Общий анализ крови: эритроциты -  $2,9 \times 10^{12}/л$ , гемоглобин - 73 г/л, гематокрит - 42,3%, лейкоциты -  $16,5 \times 10^9/л$ , нейтрофилы - 33,3%, лимфоциты - 47,9%, эозинофилы - 1,3%, тромбоциты -  $517 \times 10^9/л$ , СОЭ - 22 мм/ч.

Биохимический анализ крови: СРБ - 114 мг/л, альбумин 27,1 г/л, АЛТ - 12,6 Ед/л, АСТ - 31 Ед/л, белок - 57,3 г/л, ЩФ - 181 Ед/л, амилаза - 249 Ед/л, креатинин - 49,9 мкмоль/л, мочевины - 3,04 ммоль/л,

Исследование электролитов крови: калий - 2,3 ммоль/л, хлор - 94 ммоль/л, натрий - 125 ммоль/л.

Общий анализ мочи: удельный вес - 1010, лейкоциты - единичные, белок - 0,5 г/л, билирубин - отрицательно, глюкоза - отрицательно.

Биохимическое исследование мочи: альфа-амилаза - 530 Ед/л.

Копрограмма: форма - жидкий, мышечные волокна (переваренные +, непереваренные +), лейкоциты - 3-5 в п/зрения, эритроциты - 3-5 в п/зрения, слизь ++.

Соскоб на яйца глистов: отрицательный.

Исследование стула на фекальные маркеры воспаления: ФНП - 110,16 мкг/г, ФЛФ - 93,3 мкг/г ФКП - 732,3 мкг/г.

Инструментальные исследования:

Ультразвуковое исследование органов брюшной полости: визуализация затруднена (аэроколия). Наличие свободной жидкости не лоцируется. Стенки поперечной ободочной, нисходящего отдела толстого кишечника до 6 мм толщиной, гаустрация сглажена, дифференциация на слои снижена.

Фиброгастродуоденоскопия: пищевод свободно проходим, слизистая розовая. Кардия смыкается не плотно. Желудок обычной формы, средних размеров, содержит среднее количество ослизненной жидкости. Складки слизистой желудка средней высоты, извитые, расположены продольно, воздухом расправляются. Слизистая всех отделов желудка гиперемирована. Привратник смыкается. Луковица двенадцатиперстной кишки обычной формы, слизистая гиперемирована, рыхлая, отечная, очагово разрыхлена, биопсия. Постбульбарные отделы двенадцатиперстной кишки: слизистая рыхлая розовая, зона большого дуоденального сосочка без особенностей. Осмотрена двенадцатиперстная кишка до  $n/3$  вертикальной ветви, просвет ее свободный, диаметр обычный, слизистая бледно-розовая, складки циркулярные, в просвете слизь, желчь.

Электрокардиография: синусовый ритм с ЧСС 81 в мин. Нормальное положение электрической оси сердца. Диффузные изменения миокарда.

Фиброколоноскопия: аппарат проведен в купол слепой кишки: илеоцекальный клапан: сосочковой формы, перестальтирует, эластичный, тонус в норме. Слепая кишка: слизистая слепой кишки розовая, гладкая, сосудистый рисунок четкий. Ободочная кишка: правые и левые отделы проходимы тонус в норме, складки местами сглажены, кишечная стенка эластична, слизистая на всем протяжении гиперемирована, отечная, определяются множественные эрозии под налетом гематина. Сосудистый рисунок местами смазан, не визуализируется. Прямая кишка: слизистая гиперемирована, отечная, эрозирована. Сосудистый рисунок смазан. Выполнена биопсия. Микроскопическое описание: фрагменты слизистой оболочки кишки с густой диффузной лимфогистиоцитарной инфильтрацией собственно слизистой с примесью боль-

шого количества эозинофилов и нейтрофильный лейкоцитов, с острыми эрозиями на поверхности и с крипт-абсцессами.

Исследование степени анизотропии ядер НГ: площадь ядра, занимаемая анизотропным материалом, соответствовало уровню ПАН 1,40 усл. ед. Это свидетельствует об умеренной биологической активности системы нейтрофильных гранулоцитов.

Пациент был госпитализирован в стационар для индукции ремиссии ЯК пульс-терапии ГКС. Период стационарного лечения составил 14 дней, в последующем пациент продолжил лечение амбулаторно. Учитывая отсутствие эффекта от цитостатической терапии, начата биологическая терапия ведолизумабом по стандартной схеме. Достигнута стойкая клиническая ремиссия в течение 3-х месяцев.

## **Клинический пример №2**

Пациент О., 60 лет, с установленным диагнозом ЯК, обратился к гастроэнтерологу для планового осмотра перед переосвидетельствованием для медико-социальной экспертизы. Из анамнеза известно, что ЯК установлен в возрасте 57 лет. За весь период болезни был 1 эпизод рецидива ЯК с присоединением оппортунистической инфекции (*Clostridium difficile*). После проведенного лечения инфекционной патологии (метронидазол 500 мг 3 р/день) проведен контроль ИФА определения токсина А и В *Clostridium difficile* – результат отрицательный. В последующем получал 4 г сульфасалазина в сутки. В целях профилактики пациент получал рифаксимин 800 мг в сутки в течение 7-ми дней ежеквартально.

Данные объективного осмотра: состояние удовлетворительное, сознание ясное. Кожные покровы физиологической окраски, чистые. Подкожно-жировая клетчатка развита умеренно, распределена равномерно. ИМТ – 28 кг/м<sup>2</sup>. Язык чистый, слегка обложен беловатым налетом. В ротовой полости без патологических изменений. Лимфоузлы не пальпируются. Над легкими

выслушивается везикулярное дыхание, хрипов нет. Сердечные тоны ясные, ритмичные с ЧСС – 72 в минуту. АД – 130/90 мм рт. ст. Живот мягкий, безболезненный во всех отделах. Печень выступает на 2-3 см из-под края реберной дуги на вдохе. Селезенка не увеличена. Стул оформленный 1 раз в сутки. Дизурических явлений со слов пациента нет.

Проведен расчет индивидуального риска развития раннего рецидива ЯК, согласно разработанной нами прогностической модели. Значение переменной составило 19,3 (менее 22,1), что говорит о низком риске развития раннего рецидива ЯК.

Проведено исследование степени анизотропии ядер НГ: средняя площадь, занимаемая анизотропным материалом в ядрах НГ, соответствовала 2,25 условным единицам. Это свидетельствует об очень высоком уровне активности системы НГ и высоких резервных возможностях организма в целом.

Продолжена терапия в прежнем объеме. При наблюдении в течение 1 года рецидивов не было.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Современные исследования в области диагностики и лечения ЯК, в основном, сосредоточены на возможности достижения биохимической, эндоскопической и/или гистологической ремиссии. Принципиальным отличием нашего исследования является проведение ретроспективного и проспективного этапов, с целью уточнения предикторов рецидива и тяжести атаки ЯК.

Статистически значимо бóльшая частота курения у пациентов со стойкой ремиссией на момент обследования и в анамнезе, выявленная в нашем исследовании, согласуется с зарубежными данными. Так, в мета-анализе A.D. Frolkis и соавт, курение при ЯК продемонстрировало протективные свойства (ОР 0,7; 95% ДИ, 0,6–0,9) [59]. Авторы указали на кумулятивный риск хирургического вмешательства у взрослых с ЯК в 4,4%, 10,1% и 14,6%, соответственно через 1, 5 и 10 лет после постановки диагноза ЯК, что согласуется с нашими данными о взаимосвязи тяжести заболевания и длительности течения ЯК от момента постановки диагноза [59]. Кроме того, в вышеуказанном мета-анализе в качестве факторов риска был обозначен молодой возраст в дебюте заболевания (ОР 1,3; 95% ДИ, 1,0–1,6), что сопоставимо с нашими данными как для оценки риска рецидива, так и для прогнозирования тяжести атаки. Однако, в отличие от наших результатов, в вышеуказанном метаанализе были выявлены гендерные особенности в виде взаимосвязи женского пола (ОР 1,4; 95% ДИ, 1,1–1,7) с рецидивом заболевания [53].

Полученные нами данные об относительно высокой частоте левостороннего колита по сравнению с другими локализациями, как по данным амбулаторных карт (46,2%), так и по данным карт стационарного больного (40,1), сопоставимы с результатами многочисленных исследований, однако в числовом значении находятся в промежуточном положении между европейскими и азиатскими данными. Так, согласно работам европейских коллег, во Франции (панколит: 19,1%; левосторонний колит: 52,3%; проктит: 28,7%), в Португалии (панколит: 28%; левосторонний колит: 52%; проктит: 21%) [113].

По данным мета-анализа, проведенного М. Fumery и соавт. в 2018 году, левосторонний колит является наиболее частой локализацией, наблюдается у 10–30% и имеет легкое или среднетяжелое течение [89]. Как показали S. Voranna и соавт., в Азии большинство пациентов имеют воспалительные процессы, ограниченные слизистой оболочкой прямой кишки: панколит встречается у 31%; левосторонний колит у 32%; проктит у 37% [115]. В исследовании, проведенном на юго-востоке Бразилии, результаты были аналогичны азиатской популяции: панколит: 28,3% случаев, тогда как частота левостороннего колита и проктосигмоидита составили 29,7% и 32,4% соответственно [36].

Эндоскопическая активность в современной литературе является одним из наиболее изученных факторов, взаимосвязанных с рецидивом [77]. Возможно поэтому, частота развития рецидива, связанной с ним госпитализации и оперативного лечения в нашем исследовании были достоверно выше среди пациентов с неуточненной эндоскопической активностью. В настоящее время исследования сосредоточены на достижении гистологической ремиссии как более строгой конечной точки, достижение которой может быть связано с более низким риском рецидива. Однако, в ретроспективном когортном исследовании ежегодный риск рецидива у пациентов, достигших гистологической ремиссии, составил 18,9%, что свидетельствует об отсутствии универсального прогностического маркера [76, 77]. В проведенном нами исследовании фактором риска рецидива и более тяжелой атаки стали протяженность поражения кишечника и наличие глубоких язвенных дефектов слизистой оболочки толстой кишки. Степень и протяженность ЯК безусловно влияют на клиническое течение и прогноз заболевания. Так, согласно современным данным пациенты с обширным колитом чаще подвергаются более интенсивной терапии и колэктомии [76, 77]. В ретроспективном исследовании J. O. Shin и соавт. продемонстрировано, что степень заболевания является фактором, независимо связанным с резистентностью к терапии аminosалицилатами (ОР=1:46; 95% ДИ:1,01-2,10; p=0,04) [98]. Канадское исследование показало, что левосторонний колит (ОШ = 8,67; 95% ДИ: 1,79-41,87; p < 0,001) и

панколит (ОШ = 14,08; 95% ДИ: 3,12-63,60;  $p < 0,001$ ) связаны с более частым применением иммуносупрессивных препаратов у пациентов с ЯК, чем проктит [99, 102].

Клинические и лабораторные характеристики, согласующиеся с большей активностью заболевания при постановке диагноза, безусловно, являются важными прогностическими факторами у пациентов с ЯК. В нашем исследовании маркерами тяжести атаки явились низкий ИМТ (отрицательная корреляция между баллами по шкале Мейо и ИМТ), частота применения биологической терапии в анамнезе, наличие примеси крови в кале на момент госпитализации ( $p=0,001$ ), молодой возраст на момент дебюта, низкий уровень гемоглобина, альбумина, а также более высокий уровень острофазовых белков (СОЭ и СРБ). В этой связи примечательно исследование М. Такака, в котором среди лабораторных показателей уровень сывороточного альбумина был значимым независимым предиктором колэктомии с точкой отсечения 2,45 г/дл (ОШ: 6,097, 95% ДИ: 1,8310–20,3047) [81].

Стратификация активности заболевания, безусловно, необходима как при выборе методов лечения, так и при оценке прогноза. Недавний мета-анализ популяционных исследований определил кумулятивный риск хирургического вмешательства у взрослых в 4,4%, 10,1% и 14,6%, соответственно через 1, 5 и 10 лет после постановки диагноза ЯК [81]. С увеличением тяжести заболевания увеличивается риск колэктомии (ОШ 2,2; 95% ДИ, 1,1–4,3). Кроме того, он зависит от локализации и протяженности поражения слизистой кишечника: у пациентов с панколитом 10-летний кумулятивный риск – 19%, с левосторонним колитом – 8% и язвенным проктитом – 5% [81]. Молодой возраст (возраст <40 лет: ОШ, 2,8; 95% ДИ, 1,3–5,9), мужской пол (ОР, 2,1; 95% ДИ, 1,3–3,5) и повышение острофазовых маркеров (СРБ $\geq$ 30 мг/л или СОЭ $\geq$ 30 мм/ч: ОШ, 3,3, 95% ДИ 1,7–6,5) при постановке диагноза были связаны с увеличением риска колэктомии [103]. Семилетнее наблюдательное исследование, проведенное в Дании показало, что у 33% пациентов с ограниченным ЯК, наблюдалось увеличение степени поражения слизистой кишеч-

ника с течением времени, при этом, основным клиническим предиктором стала исходная тяжесть течения ЯК [103]. Риск колэктомии был повышен у бывших курильщиков и пациентов, имеющих прогрессирующее течение [103]. Это подчеркивает необходимость предотвращения прогрессирования заболевания у пациентов с ограниченным ЯК и выявления новых гистологических или молекулярных маркеров, которые могут помочь стратифицировать риски прогрессирования заболевания.

Таким образом, растущее понимание иммунопатофизиологических механизмов, лежащих в основе развития ЯК, в совокупности с оценкой факторов риска развития рецидива и предикторов тяжести атаки ЯК способствует значительному прогрессу в его терапии. Чрезвычайно важно уметь оптимизировать раннюю диагностику риска рецидива ЯК и стероидорезистентности.

В ряде исследований последних лет доказана роль цитокинов, хемокинов и факторов роста ангиогенеза как медиаторов иммуновоспалительных реакций у пациентов с ЯК [99, 106, 107, 127]. В нескольких клинических исследованиях изучалась информативность ФКП и ФЛФ в дифференциальной диагностике ВЗК и синдрома раздраженного кишечника (СРК), для прогнозирования рецидива и в качестве биомаркера активности заболевания при ЯК [150]. Недавно проведенное многоцентровое поперечное исследование ACERTIVE, включавшее 371 пациента показало, что уровни ФКП были статистически выше у пациентов с эндоскопической и гистологической активностью, были предложены уровни отсечения 150-250 мкг/г [100]. В крупном исследовании, проведенном в 2013-2017 г. с участием 185 пациентов показано, что уровни ФКП  $\geq 170$  мкг/г предсказывают эндоскопическую активность, а ФК  $\geq 135$  мкг/г – гистологическую активность [114]. Поэтому в клинической практике для оптимизации идентификации пациентов с постоянной эндоскопической и гистологической активностью заболевания могут быть выбраны более низкие пороговые значения ФКП.

Полученные нами данные демонстрируют преимущества ФКП как наиболее чувствительно маркера, отражающего активность ЯК. Вместе с тем,

дисперсионный анализ показал, что наилучшая точка отсечения для концентрации ФКП, прогнозирующая эндоскопически активное заболевание, составляет 112,0 мкг/г, что более чем в два раза выше, чем в исследовании G. D'Haens, где точка отсечения соответствовала 50 мкг/г и значения аналогичного показателя (100 мкг/г), полученного P.F. van Rheenen и соавт. [53]. Согласно данным недавно проведенного мета-анализа, чувствительность ФКП составляет 93% (95% ДИ: 0,85-0,97), а специфичность – 96% (95% ДИ: 0,79-0,99) [138]. Значение уровня лактоферрина 80,9 мкг/г соответствовало чувствительности 97%, специфичности 80%, с положительным прогностическим значением 95% и отрицательным 60% при прогнозировании эндоскопически активного заболевания [137]. В другом метаанализе сообщалось, что чувствительность ФЛФ составляет 80% (95% ДИ: 78%-83%), а специфичность – 82% (95% ДИ: 79%-84%) [55].

В исследовании N. Husain и соавт. предельное значение концентрации неоптерина в кале было несколько выше, чем в нашей работе, составив 92,8 нг/г (чувствительность 87,5% для прогнозирования активного ЯК при специфичности 81,8%) [69]. Отмечена незначительная тенденция к увеличению концентрации неоптерина в кале у пациентов с клинически активным панколитом по сравнению с пациентами с левосторонним колитом [69]. Синтез неоптерина происходит почти исключительно в активированных макрофагах, главным образом, под влиянием интерферона, в связи с этим, ФНП может повышаться при любой активации врожденного иммунитета с вовлечением кишечника [58, 69]. Об этом свидетельствуют и работы, посвященные изучению данного фекального маркера при COVID-19, обусловленному высвобождением множества цитокинов и хемокинов энтероцитами [72].

Среди сывороточных маркеров, только IL-6, IL-17, TNF $\alpha$  достоверно коррелировали с величиной баллов по шкале Мейо. Корреляция между этими показателями и САИ также была достоверной, хотя и более слабой. IL-6 является мощным плейотропным цитокином, который, как известно, регулирует Т-клеточную дифференцировку, активацию и устойчивость к апоптозу. В ча-

стности, IL-6 способствует накоплению мононуклеарных клеток в местах повреждения, главным образом, за счет продукции MCP-1, ангиопролиферации и антиапоптотической функции [79, 88, 137]. Повышенные концентрации IL-6 в сыворотке крови были обнаружены у пациентов с активным ЯК, однако корреляция между концентрацией цитокинов и тяжестью заболевания остается спорной [147, 148]. Передача сигналов IL-6 в Т-клетках имеет решающее значение для дифференцировки Th17, которые характеризуются экспрессией рецептора, связанного с секрецией IL-17, – цитокина, обнаруженного повышенным при ЯК [126-128]. Он является основным эффектором клеток Th17, но также продуцируется другими типами клеток, включая CD8<sup>+</sup>Т-клетки, нейтрофилы и, возможно, тучные клетки [128]. Точное место IL-17 в патогенезе ЯК остается неясным, поскольку его защитная роль в воспалении кишечника предполагалась на основе Т-клеточно-зависимых и Т-клеточно-независимых моделей колита. Вместе с тем, несмотря на неясную роль IL-17 в патогенезе ЯК, его концентрации в сыворотке крови тесно коррелируют с тяжестью заболевания [127-133]. Таким образом, полученные нами результаты демонстрируют более высокую диагностическую значимость использования фекальных биомаркеров по сравнению с сывороточными показателями воспаления, а также преимущества фекального кальпротектина по чувствительности и специфичности в сравнении с другими изученными нами показателями.

Полученные в нашем исследовании достоверные корреляции между тяжестью атаки ЯК и концентрацией цитокинов TNF $\alpha$ , IL-6, IL-17 согласуются с данными других исследований. TNF $\alpha$  принадлежит основная роль в каскаде провоспалительных цитокинов: повышение экспрессии клеточных и сосудистых молекул адгезии-1, участвующих в миграции лимфоцитов в зону воспаления, активация синтеза простагландинов, лейкотриенов, оксида азота, матриксных металлопротеиназ (ММП), пролиферация фибробластов. IL-6 как известно, обладает провоспалительной активностью, которой предшествует активация генов-мишеней, участвующих в дифференцировке, выживаемо-

сти, апоптозе и пролиферации [140, 148]. Суммарно это приводят к интенсивному синтезу цитокинов, а также ММП, способствуя таким образом, хроническому воспалению и разрушению тканей, что является одной из клинических особенностей ЯК и ВЗК, в целом [148-150]. В ряде недавних исследований была изучена роль IL-17 [148-150]. В них показано, что экспрессия IL-17A и IL-17F значимо увеличена в воспаленной слизистой оболочке кишечника при ВЗК [148-150]. Интересным представляется тот факт, что тесные взаимосвязи между уровнями IL-17 и эндоскопической и клинической активностью заболевания были выявлены при ЯК, а при ВЗК уровень IL-17 коррелировал только с клиническими проявлениями [148-150].

Полученные в нашей работе данные об особенностях реструктуризации НГ и взаимосвязи степени ОА с концентрацией цитокинов объясняются общностью этих явлений на клеточно-молекулярном уровне. Традиционно сложилось, что НГ рассматривались преимущественно как короткоживущая иммунная клетка с коротким циркулирующим периодом полувыведения 6–8 ч и базальной нормой производства  $5-10 \times 10^{10}$  нейтрофилов в сутки [6, 8-12]. Однако, данные современной литературы показывают, что продолжительность жизни НГ гораздо выше и составляет 4-5 дней, а во время воспаления мере их активации, продолжительность жизни нейтрофилов увеличивается еще в несколько раз [12]. Активация НГ происходит через различные цитокины и факторы роста и/или бактериальные продукты [1, 141]. Согласно данным современной литературы, НГ признаны антигенпрезентирующими клетками, которые способны к дифференцировке и активации ядра – реструктуризации хроматина, а также экспрессии генов, синтезу и секреции цитокинов, хемокинов, ростовых факторов и различных пептидов [9]. Возможно, с этим связано полученная в нашем исследовании сильная корреляционная взаимосвязь между уровнями цитокинов и степенью анизотропии НГ.

В нашем исследовании продемонстрировано заметное снижение величины анизотропного эффекта в ядрах НГ с увеличением степени тяжести атаки ЯК. Вероятно, это связано с тем, что величина анизотропии отражает

структурно-молекулярную упорядоченность хроматина, который является основным носителем генетической информации в клетке [142]. Снижение уровня ОА может объясняться как явление, свидетельствующее о деспирализации хроматина и диссоциации комплекса ДНК-гистон в ядрах НГ [18, 19]. Подобные изменения указывают на реструктуризацию хроматина и повышение матричной активности ДНК, а, следовательно, и на увеличение биосинтетической активности этих клеток. Показатель ПАН, который является величиной, обратной уровню анизотропного эффекта, наглядно демонстрирует это явление [8-12]. Повышенное значение ПАН у больных ЯК, имеющих легкое течение атаки по сравнению с контрольными группами, начиная с 1-й группы, отражает активационную готовность хроматина ядер НГ и указывает на наличие патологического процесса.

Таким образом, выявленная нами высокая диагностическая значимость степени оптической анизотропии НГ, сопоставимая с клинико-лабораторными маркерами, делает возможным использование данного неинвазивного исследования в клинической практике с целью диагностики рецидива и степени тяжести атаки ЯК.

## ВЫВОДЫ

1. Независимыми предикторами рецидива язвенного колита в ближайшие 6 месяцев, согласно модели бинарной логистической регрессии, являются длительность анамнеза заболевания, присоединение оппортунистической инфекции при последнем обострении; независимыми предикторами развития тяжелой атаки язвенного колита – величина индекса массы тела, частота рецидивов в анамнезе.
2. При прогнозировании эндоскопически активного заболевания (более 1 балла по шкале Мейо) значения точек отсечения составляют для IL-6 – 10,3 пг/мл, IL-17 – 18,5 пг/мл, TNF $\alpha$  – 10,9 пг/мл; значения точек отсечения фекальных маркеров равны для фекального кальпротектина – 112,0 мкг/г; фекального лактоферрина – 80,9 мкг/г; фекального неоптерина – 92,8 мкг/г.
3. Снижение степени оптической анизотропии нейтрофильных гранулоцитов является чувствительным и специфичным маркером раннего рецидива и степени тяжести атаки язвенного колита.
4. Выявлена прямая корреляционная взаимосвязь тяжести атаки язвенного колита с сывороточными IL-6 ( $r=0,598$ ), IL-17 ( $r=0,587$ ), TNF $\alpha$  ( $r=0,701$ ) и уровнями в кале фекального кальпротектина ( $r=0,881$ ), фекального лактоферрина ( $r=0,799$ ), фекального неоптерина ( $r=0,791$ ).
5. Включение в алгоритм обследования пациентов с язвенным колитом прогностических шкал, разработанных для оценки риска рецидива и тяжелой атаки болезни, в сочетании с определением степени анизотропии ядер нейтрофильных гранулоцитов, повышает эффективность ранней диагностики рецидива язвенного колита.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Врачам первичного звена рекомендуется использовать алгоритм, позволяющий на основе сочетания прогностических шкал определить группы пациентов высокого риска развития рецидива и тяжелой атаки язвенного колита.

2. С целью неинвазивного определения степени тяжести атаки в алгоритм обследования больных язвенным колитом рекомендуется включать определение степени реструктуризации ядер нейтрофильных гранулоцитов.

3. При высоком риске раннего (<6 месяцев) рецидива язвенного колита (значении прогностического индекса  $\geq 22,1$ ) необходимо проведение комплексного исследования лабораторных маркеров воспаления с целью уточнения диагноза.

4. При высоком риске развития тяжелой атаки язвенного колита (значение прогностического индекса  $\geq 36,3$ ) рекомендовано направление пациента на стационарное лечение.

## **ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ**

Проведенное диссертационное исследование не исчерпывает всей глубины проблемы диагностики рецидива и тяжести язвенного колита. В связи с этим, возможно дальнейшее продолжение работы по изучению медикаментозного лечения на степень реструктуризации хроматина ядра, а также на оценку данного показателя в зависимости от тяжести атаки.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

АЗА – азатиоприн

БК – болезнь Крона

ВЗК – воспалительные заболевания кишечника

ГКС – глюкокортикостероиды

ДИ – доверительный интервал

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

ИМТ – индекс массы тела

ММП – матриксные металлопротеиназы

НГ – нейтрофильные гранулоциты

ОА – оптическая анизотропия

ОР – отношение рисков

ОШ – отношение шансов

ПАН – показатель активации нейтрофилов

СОЭ – скорость оседания эритроцитов

СРБ – С-реактивный белок

ФКП – фекальный кальпротектин

ФКС – фиброколоноскопия

ФЛФ – фекальный лактоферрин

ФНП – фекальный неоптерин

ЯК – язвенный колит

$\alpha$ 1-АТ – альфа-1-антитрипсин

ANCA – антинейтрофильные антитела

ASCA – антитела к сахаромицетам

AUC – площадь под кривой ошибок

CAI – индекс клинической активности

Cat-G – катепсин G

DAI – клинический индекс активности

HNE – нейтрофильная эластаза семейства сериновых протеаз

IL – интерлейкин

NGAL – липокалин, ассоциированный с желатиназой нейтрофилов

PAR 4 – протеазоактивируемый рецептор млекопитающих-4

SLPI – ингибитор секреторной лейкопротеазы

TNF $\alpha$  – фактор некроза опухоли альфа

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алешина, Г.М. Особенности дегрануляции нейтрофильных гранулоцитов под действием различных стимуляторов [Электронный ресурс] / Г. М. Алешина, И. А. Янкелевич, В. Н. Кокряков // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 2. – Режим доступа: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=12479>.
2. Атлас. Воспалительные заболевания кишечника: диагностика и лечение / под ред. И.Л. Халифа, Ю.А. Шелыгина. – СПб: Гиппократ, 2017. – 116 с.
3. Белоусова, Е.А. Лечение язвенного колита легкого и среднетяжелого течения / Е.А. Белоусова, Н.В. Никитина, О.М. Цодикова // Фарматека. – 2013. – № 2 (255). – С. 42-46.
4. Воспалительные заболевания кишечника. Клинические, эндоскопические, морфологические аспекты диагностики. Принципы современной терапии / О.В. Головенко, С.Г. Хомерики, Е.В. Иванова [и др.]. – М.: Прима Принт, 2017. – 180 с.
5. Григорьев, Г.А. О проблеме системных проявлений воспалительных заболеваний кишечника / Г.А. Григорьева, Н.Ю. Мешалкина // Фарматека. – 2011. – № 15. – С. 44-49.
6. Методы комплексной оценки функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов в норме и патологии : метод. рекомендации / И.В. Нестерова, Г.А. Чудилова, С.В. Ковалёва [и др.]. – Краснодар: КубГМУ, 2017. – 51 с.
7. Морбидное ожирение / И. И. Дедов, Г. А. Мельниченко, Е. А. Трошина [и др.] ; под ред. И.И. Дедова. – М. : Медицинское информационное агентство, 2014. – 605 с.
8. Нейтрофильные гранулоциты: новый взгляд на «старых игроков» на иммунологическом поле / И.В. Нестерова, Н.В. Колесникова, Г.А. Чудилова [и др.] // Иммунология. – 2015. – Т. 36, № 4. – С. 257-265.

9. Нестерова, И. В. Особенности трансформации фенотипа субпопуляций нейтрофильных гранулоцитов CD64(-)CD32(+)CD16(+)CD11b(+) и CD64(+)CD32(+)CD16(+)CD11b(+) пациентов с колоректальным раком под влиянием Г-КСФ, ИФН $\alpha$  и ИФН $\gamma$  в системе *in vitro* / И.В. Нестерова, С.В. Ковалева, Г.А. Чудилова // Аллергология и иммунология. - 2011. –Т. 12, № 3. – С. 265 - 268.

10. Нестерова, И.В. Комплексное трехуровневое исследование системы нейтрофильных гранулоцитов с возможной диагностикой ИДС при различной патологии : метод. рекомендации / И.В. Нестерова, Н.В. Колесникова, Г.А. Чудилова. – Краснодар: КубГМУ, 1996. – 22 с.

11. Нестерова, И.В. Нейтрофильные экстрацеллюлярные сети: протекция и защита/ И. В. Нестерова // Международный журнал по иммунореабилитации. – 2009. – Т. 11, № 1. – С. 25 – 26.

12. Новый взгляд на нейтрофильные гранулоциты: переосмысление старых догм. Часть 1 / И.В. Нестерова, Н.В. Колесникова, Г.А. Чудилова [и др.] // Инфекция и иммунитет. – 2017. – Т. 7, № 3. – С. 219-230.

13. Оценка распространенности клинических проявлений и вариантов лечения язвенного колита в Республике Крым / Е.И. Стилиди, И.Л. Кляритская, Е.В. Максимова, И.А. Иськова // Боткинские чтения : всероссийский терапевтический конгресс с международным участием, –СПб.: Изд-во «Человек и его здоровье», 2019. – С. 252-253.

14. Патоморфоз воспалительных заболеваний кишечника / И.В. Маев, Ю.А. Шельгин, М.И. Скалинская [и др.] // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2020. – Т. 75, № 1. – С. 27-35.

15. Прецизионная медицина и воспалительные заболевания кишечника: концепция, стратегии, будущее / Г.Р. Бикбавова, М.А. Ливзан, Д. Г. Новиков, Е.А. Бамбульская // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2021. – № 6 (190). – С. 121-129.

16. Проблемы диагностики гистологической ремиссии у больных с воспалительными заболеваниями кишечника / А.С. Тертычный, Х.М. Ахриева, И.В. Маев [и др.] // Архив патологии. – 2017. – Т. 79, № 3. – С. 3-9.
17. Проект клинических рекомендаций по диагностике и лечению язвенного колита / В.Т. Ивашкин, Ю.А. Шельгин, Е.А. Белоусова [и др.] // Колопроктология. – 2019. – Т. 18, № 4 (70). – С. 7-36.
18. Профили активности цитотоксических и цитолитических механизмов нейтрофильных гранулоцитов при неопластических заболеваниях пищеварительной системы / И.В. Нестерова, С.В. Ковалёва, Е.В. Фомичева [и др.] // Российский иммунологический журнал. - 2010. – Т. 4 (13), № 3. - С. 267 – 275.
19. Спонтанная и индуцированная активность хроматина ядра и цитотоксических механизмов нейтрофильных гранулоцитов при колоректальном раке / А.А. Евглевский, Е.В. Фомичева, Г.А. Чудилова [и др.] // Медицинская иммунология. – 2011. – Т. 13, № 4-5. – С. 452.
20. Сравнительная оценка результатов эндоскопического и морфологического методов исследования у больных с воспалительными заболеваниями кишечника / А.С. Тертычный, Х.М. Ахриева, Л.С. Селиванова [и др.] // Врач скорой помощи. – 2018. – № 8. – С. 27-36.
21. Течение хронических воспалительных заболеваний кишечника и методы их лечения, применяемые в Российской Федерации (Результаты многоцентрового популяционного одномоментного наблюдательного исследования) / И.Л. Халиф, М.В. Шапина, А.О. Головенко [и др.] // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2018. – Т. 28, № 3. – С. 54-62.
22. Эпидемиология воспалительных заболеваний кишечника. Современное состояние проблемы (обзор литературы) / О.В. Князев, Т.В. Шкурко, А.В. Каграманова [и др.] // Доказательная гастроэнтерология. – 2020. – Т. 9, № 2. – С. 66-73.

23. Язвенный колит: клинические рекомендации по диагностике и консервативному лечению (адаптированный вариант в схемах и алгоритмах) / Д.И. Абдулганиева, Р.А. Абдулхаков, О.П. Алексеева [и др.]; под ред. Е.А. Белоусовой, Ю.А. Шельгина. – М. : ООО Типографии «Пи Квадрат», 2021. – 48 с.
24. Язвенный колит: сравнительный обзор 3го и 2го Европейского консенсуса / И.Л. Кляритская, Е.И. Стилиди, И.А. Иськова [и др.] // Крымский терапевтический журнал. – 2018. – № 1 (36). – С. 16-26.
25. A comprehensive review and update on ulcerative colitis. / M. Gajendran, P. Loganathan, G. Jimenez [et al.] // Dis Mon. – 2019. – Vol. 65, № 12. – P. 100851.
26. A Disease-Associated Microbial and Metabolomics State in Relatives of Pediatric Inflammatory Bowel Disease Patients / J.P. Jacobs, M. Goudarzi, N. Singh [et al.] // Cell Mol Gastroenterol Hepatol. – 2016. – Vol. 2, № 6. – P. 750-766.
27. Accuracies of fecal calprotectin, lactoferrin, M2-pyruvate kinase, neopterin and zonulin to predict the response to infliximab in ulcerative colitis / A.C. Frin, J. Filippi, G. Boschetti [et al.] // Dig Liver Dis. – 2017. – Vol. 49, № 1. – P. 11-16.
28. Achievement of deep remission during scheduled maintenance therapy with TNF $\alpha$ -blocking agents in IBD / P. Molander, T. Sipponen, H. Kemppainen [et al.] // J Crohn's Colitis. – 2013. – Vol. 7, № 9. – P. 730-5.
29. Annese, V. Genetics and epigenetics of IBD / V. Annese // Pharmacol Res. – 2020. – Vol. 159, № 4. – P. 104892.
30. Anti-Saccharomyces cerevisiae Antibody in Pediatric Crohn's Disease Patients without Mucosal Healing Is a Useful Marker of Mucosal Damage / M.J. Kim, E. Kim, B. Kang [et al.] // Gut Liver. – 2021. – Vol. 15, № 5. – P.763-770.
31. Appendectomy does not decrease the risk of future colectomy in UC: results from a large cohort and meta-analysis / A. Parian, B. Limketkai, J. Koh [et al.] // Gut. – 2017. – Vol. 66, № 8. – P. 1390-1397.

32. Astaldi, G. The glycogen content of the cells of lymphatic leukaemia / G. Astaldi, L. Verga // *Acta haematol (Basel)*. – 1957. – Vol. 17, № 3. – P.129-135.
33. Ayling, R.M. Fecal Calprotectin / R.M. Ayling, K. Kok // *Adv Clin Chem*. – 2018. – Vol. 87. – P.161-190.
34. Blockade of CXCR2 suppresses proinflammatory activities of neutrophils in ulcerative colitis / F. Zhu, H. He, L.Fan [et al.] // *Am J Transl Res*. – 2020. – Vol. 15, №6. – P. 5237-5251
35. British Society of Gastroenterology consensus guidelines on the management of inflammatory bowel disease in adults / C.A. Lamb, N.A. Kennedy, T. Raine [et al.] // *Gut*. – 2021. – Vol. 70. – P. s1-s106.
36. Chemokine and cytokine levels in inflammatory bowel disease patients / U.P. Singh, N.P. Singh, E.A. Murphy [et al.] // *Cytokine*. 2016; Vol. 77. – P. 44-49.
37. Clinical features of ulcerative colitis and Crohn's disease in Turkey / Y. Ozin, Kilic MZ, Nadir I. [et al.] // *J Gastrointestin Liver Dis*. – 2009. – Vol. 18, №2. – P. 157-62.
38. Comparison of non-invasive biomarkers faecal BAFF, calprotectin and FOBT in discriminating IBS from IBD and evaluation of intestinal inflammation / Y Fu, L Wang, C Xie [et al.] // *Sci Rep*. – 2017. – Vol.7, №1. – P.2669
39. Concordance in Anti-OmpC and Anti-I2 Indicate the Influence of Genetic Predisposition: Results of a European Study of Twins with Crohn's Disease / K. Amcoff, M. Joossens, M.J. Pierik [et al.] // *J Crohns Colitis*. – 2016. – Vol.10, №6. – P.695-702.
40. D'Haens, G. Fecal calprotectin is a surrogate marker for endoscopic lesions in inflammatory bowel disease / G. D'Haens, M. Ferrante, S. Vermeire // *Inflammatory Bowel Disease*. - 2012. – Vol. 18. – P. 2218-24.
41. Diagnostic accuracy of fecal lactoferrin for inflammatory bowel disease: a meta-analysis / Y. Wang, F. Pei, X. Wang [et al.] // *Int J Clin Exp Pathol*. – 2015. – Vol. 8, №10. – P. 12319-32

42. Diagnostic accuracy of serum proteinase 3 antineutrophil cytoplasmic antibodies in children with ulcerative colitis / T. Mizuochi, K. Arai, T. Kudo [et al.] // *J Gastroenterol Hepatol.* – 2021. – Vol.36, №6. – P. 1538-1544.
43. Du L. Epidemiology and Pathogenesis of Ulcerative Colitis / L. Du, C. Ha // *Gastroenterol Clin North Am.* - 2020. – Vol. 49, №4. – P. 643-654.
44. Emerging Biomarkers in Inflammatory Bowel Disease (EMBARCK) study identifies fecal calprotectin, serum MMP9, and serum IL-22 as a novel combination of biomarkers for Crohn's disease activity: role of cross-sectional imaging / W.A. J. Faubion, J.G. Fletcher, S. O'Byrne [et al.] // *Am J Gastroenterol.* – 2018. – Vol.108, №12. – P. 1891-900.
45. Epidemiology, burden of disease, and unmet needs in the treatment of ulcerative colitis in Asia. *Expert Rev Gastroenterol* / S.C. Wei, J. Sollano, Y.T. Hui [et al.] // *Hepatol.* – 2021. – Vol. 15, №3. – P. 275-289.
46. European Crohn's and Colitis Organisation. The first European evidence-based consensus on extra-intestinal manifestations in inflammatory bowel disease / M. Harbord, V. Annese, S.R. Vavricka [et al.] // *J Crohns Colitis.* -2016. – Vol. 10. - №3. – P. 239–254.
47. Expression and Clinical Significance of Elafin in Inflammatory Bowel Disease / W. Zhang, G. Teng, T. Wu [et al.] // *Inflamm Bowel Dis.* – 2017. – Vol. 23, №12. P. 2134-2141.
48. Extent of disease affects the usefulness of fecal biomarkers in ulcerative colitis / A. Sakuraba , N. Nemoto , N. Hibi [et al.] // *BMC Gastroenterol.* – 2021. – Vol. 21, № 1. - P.197.
49. Extent of disease affects the usefulness of fecal biomarkers in ulcerative colitis / A. Sakuraba, N. Nemoto, N. Hibi [et al.] // *BMC Gastroenterol.* – 2021. – Vol. 21, №1. – P.197.
50. Factors associated with exacerbation of newly diagnosed mild ulcerative colitis based on a nationwide registry in Japan / E.Kuwahara, Y.Murakami, T.Nakamura [et al.] // *J Gastroenterol.* – 2017. - Vol.52, №2. – P. 185-193.

51. Faecal Calprotectin Predicts Endoscopic and Histological Activity in Clinically Quiescent Ulcerative Colitis / L Hart, M Chavannes, O Kherad [et al.] // J Crohns Colitis. - 2020. – Vol.14, №1. – P. 46-52.

52. Faecal calprotectin, lactoferrin, M2-pyruvate kinase and S100A12 in severe ulcerative colitis: a prospective multicentre comparison of predicting outcomes and monitoring response / D Turner, ST Leach, D Mack [et al.] // Gut. – 2010. – Vol. 59, №9. – P. 1207-12.

53. Fecal calprotectin is a surrogate marker for endoscopic lesions in inflammatory bowel disease / G. D'Haens, M. Ferrante, S. Vermeire [et al.] // Inflammatory Bowel Disease. – 2012. – Vol. 18. – P. 2218-24.

54. Faecal Lactoferrin, Calprotectin, PMN-elastase, CRP, and White Blood Cell Count as Indicators for Mucosal Healing and Clinical Course of Disease in Patients with Mild to Moderate Ulcerative Colitis: Post Hoc Analysis of a Prospective Clinical / J Langhorst, J Boone, R Lauche [et al.] // Gut. – 2020. – Vol. 79, №7. – P. 17-22.

55. Faecal Lactoferrin, Calprotectin, PMN-elastase, CRP, and White Blood Cell Count as Indicators for Mucosal Healing and Clinical Course of Disease in Patients with Mild to Moderate Ulcerative Colitis: Post Hoc Analysis of a Prospective Clinical Trial / J. Langhorst, J Boone, R Lauche [et al.] // Journal of Crohn's and Colitis. – 2016. – Vol.10, №7. – P. 786–794.

56. Faecal neutrophil elastase-antiprotease balance reflects colitis severity / R. Barry, D Ruano-Gallego, ST Radhakrishnan [et al.] // Mucosal Immunol. – 2020. – Vol.13, №2. – P. 322-333.

57. Fecal neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker for inflammatory bowel disease // S. Thorsvik, JK Damas, A.V. Granlund [et al.] // J Gastroenterol Hepatol. - 2017. – Vol.32, №1. - P. 128-135.

58. Frin, AC. Accuracies of fecal calprotectin, lactoferrin, M2-pyruvate kinase, neopterin and zonulin to predict the response to infliximab in ulcerative colitis / A.C. Frin, J. Filippi, G.Boschetti // Dig Liver Dis.- 2017. – Vol. 49. – P. 11-16.

59. Frolkis, AD. Risk of surgery for inflammatory bowel diseases has decreased over time: a systematic review and meta-analysis of population-based studies / A.D. Frolkis, J. Dykeman, M.E. Negrón [et al.] // *Gastroenterology*. - 2013. - Vol.145. - P. 996-1006.
60. Genetic and shared environmental risk factors do not lead to eosinophil activation in healthy twins of IBD patients / J. Halfvarson, M. Ling Lundström, M. Lampinen [et al.] // *Scand J Gastroenterol*. - 2020. - Vol. 55, № 10. - P. 1163-1170.
61. Genetic Factors Interact With Tobacco Smoke to Modify Risk for Inflammatory Bowel Disease in Humans and Mice / P.Yadav, D.Ellinghaus, G.Rémy [et al.] // *Gastroenterology*. - 2017. - Vol. 153, №2. - P. 550-565.
62. Genetic Markers Predict Primary Nonresponse and Durable Response to Anti-Tumor Necrosis Factor Therapy in Ulcerative Colitis / KE Burke, H Khali-li, JJ Garber [et al.] // *Inflamm Bowel Dis*. - 2018. - Vol. 24, №8. - P. 1840-1848.
63. Grabherr, F. Increased Fecal Neopterin Parallels Gastrointestinal Symptoms in COVID-19 / F. Grabherr, M. Effenberger, A. Pedrini [et al.] // *Clin Transl Gastroenterol*. - 2021. - Vol. 12. - P. e00293.
64. Hart, L. C-Reactive Protein, Fecal Calprotectin, and Stool Lactoferrin for Detection of Endoscopic Activity in Symptomatic Inflammatory Bowel Disease Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. / L. Hart, M. Chavannes, O. Kherad [et al] // *Am J Gastroenterol*. - 2015. - Vol. 110. - P. 802- 820.
65. Helicobacter pylori infection and inflammatory bowel disease in Asians: a meta-analysis / X.W. Wu, H.Z. Ji, M.F. Yang [et al] // *World J Gastroenterol*. - 2015. - Vol. 21. - P. 4750-6.
66. High circulating elafin levels are associated with Crohn's disease-associated intestinal strictures / J Wang, C Ortiz, L Fontenot [et al.] // *PLoS One*. - 2020. - Vol. 15, №4. - P. e0231796.
67. Histologic scoring indices for evaluation of disease activity in ulcerative colitis / MH Mosli, CE Parker, SA Nelson [et al.] // *Cochrane Database Syst Rev*. - 2017. - Vol.5, №5. - P. CD011256.

68. Hohenberger, M. Interleukin-17 inhibition: role in psoriasis and inflammatory bowel disease / M. Hohenberger, L.A. Cardwell, E. Oussedik et al. // *J Dermatolog Treat.* – 2018. – Vol. 29. – P.13-18.
69. Husain, N. Neopterin concentration as an index of disease activity in Crohn's disease and ulcerative colitis / N. Husain, K Tokoro, J.M. Popov // *J Clin Gastroenterol.* - 2013. – Vol. 47. - P.246-51.
70. IBD prevalence in Lothian, Scotland, derived by capture-recapture methodology / G.R. Jones, M. Lyons, N. Plevris [et al.] // *Gut.* – 2019. – Vol. 68, №11. – P. 1953-1960.
71. IBSEN Study Group. Are there any differences in phenotype or disease course between familial and sporadic cases of inflammatory bowel disease? Results of a population-based follow-up study / M. Henriksen, J. Jahnsen, I. Lygren [et al.] // *Am J Gastroenterol.* – 2007. – Vol. 102, №9. – P. 1955-63.
72. Increased Fecal Neopterin Parallels Gastrointestinal Symptoms in COVID-19. / F Grabherr, M Effenberger, A Pedrini, [et al.] // *Clin Transl Gastroenterol.* – 2021. –Vol.12, №1. – P. e00293.
73. Increasing rate of a positive family history of inflammatory bowel disease (IBD) in pediatric IBD patients / M. Ruban, A.Slavick, A.Z. Amir [et al.] // *European Journal of Pediatrics.* – 2021 - V.1. – P. 7-10.
74. Inflammatory Bowel Disease and Neutrophil-Lymphocyte Ratio: A Systematic Scoping Review / Langley BO, Guedry SE, Goldenberg JZ [et al.] // *J Clin Med.* – 2021. – Vol. 10. P. 4219.
75. Interaction Between Commensal Bacteria, Immune Response and the Intestinal Barrier in Inflammatory Bowel Disease / Y. Chen, W.Cui, X. Li [et al.] // *Front Immunol.* - 2021. – Vol. 12. – P. 761981.
76. Kato, J. Prediction of treatment outcome and relapse in inflammatory bowel disease / J. Kato, T. Yoshida, S. Hiraoka // *Expert Rev Clin Immunol.* - 2019. – Vol.15. – P. 667-677.

77. Kimmel, J. The Complex Interplay Between Inflammatory Bowel Disease and Malignancy / J. Kimmel, J. Axelrad // *Curr Gastroenterol Rep.* – 2020. – 22. – Vol. 3. P. 13.
78. Kucharzik, T. Ulcerative Colitis-Diagnostic and Therapeutic Algorithms // T. Kucharzik, S. Koletzko, K. Kannengiesser / *Dtsch Arztebl Int.* – 2020. - Vol. 117, № 33-34. – P. 564-574.
79. Lau, A. Predictive factors associated with immunosuppressive agent use in ulcerative colitis: a case-control study / A. Lau, N. Chande, T. Ponich // *Aliment Pharmacol Ther.* - 2018. –Vol. 28. – P. 606-13.
80. Lessons Learned From Trials Targeting Cytokine Pathways in Patients With Inflammatory Bowel Diseases / C. Abraham, P.S. Dulai, S. Vermeire, W.J. Sandborn // *Gastroenterology.* - 2017. – Vol. 152, № 2 – P. 374-388.
81. Liew, PX. The Neutrophil's Role During Health and Disease / P.X. Liew, P. Kubes // *Physiol Rev.* – 2019. – Vol. 99. P. 223-1248.
82. Low serum albumin at admission is a predictor of early colectomy in patients with moderate to severe ulcerative colitis / M. Tanaka, T. Takagi, Y. Naito [et al.] // *JGH Open.* – 2021. – Vol.5. - P. 377-381.
83. Malech, HL. The Role of Neutrophils in the Immune System: An Overview / H.L. Malech, F.R. DeLeo, M.T. Quinn // *Methods Mol Biol.* – 2020. – Vol. 2087. - P. 3-10.
84. Matrix metalloproteinases in inflammatory bowel disease: an update / S. O'Sullivan, J.F. Gilmer, C. Medina [et al.] // *Mediators Inflamm.* – 2015. - Vol.11. – P. 964131.
85. McGovern, D.P. Genetics of Inflammatory Bowel Diseases / D.P. McGovern, S. Kugathasan, J.H.Cho // *Gastroenterology.* - 2015. – Vol. 149, №5. – P. 1163-1176.e2.
86. Mesalamine dose escalation reduces fecal calprotectin in patients with quiescent ulcerative colitis / M.T. Osterman, F.N. Aberra, R. Cross [et al.] // *Clinical Gastroenterology and Hepatology.* – 2014. – Vol.12, №11. – P.1887-1893.e3.

87. MicroRNAs expression influence in ulcerative colitis and Crohn's disease: A pilot study for the identification of diagnostic biomarkers / A.E.V. Quaglio, F.J. Santaella, M. A. M. Rodrigues [et al.] // *World J Gastroenterol.* – 2021. – Vol.27, №45. – P. 7801-7812.
88. Molecular pathogenesis of inflammatory bowel disease genotypes, phenotypes and personalized medicine. / P. Goyette, C. Labbé, T.T. Trinh [et al.] // *Ann Med.* – 2007. – 39. – Vol.3. – P.177-99.
89. Natural History of Adult Ulcerative Colitis in Population-based Cohorts: A Systematic Review / M. Fumery, S. Singh, P.S. Dulai, [et al.] // *Clinical gastroenterology and hepatology: the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association.* – 2018. – Vol. 16, №3. P. 343-356.e3
90. Nemaikayala, DR. Excluding inflammatory bowel disease in the irritable bowel syndrome patient: how far to go? / D.R. Nemaikayala, B.D. Cash // *Curr Opin Gastroenterol.* – 2019. – Vol. 35, №1. - P.58-62
91. Neutrophil Elastase Proteolytic Activity in Ulcerative Colitis Favors the Loss of Function of Therapeutic Monoclonal Antibodies / R. Curciarello, T. Sobande, S. Jones, [et al.] // *J Inflamm Res.* – 2020. – Vol.13. – P. 233-243.
92. Neutrophil Extracellular Traps in Inflammatory Bowel Disease: Pathogenic Mechanisms and Clinical Translation / B. Drury, G. Hardisty, R.D. Gray [et al.] // *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.* – 2021. – Vol.12, №1. – P. 321-333.
93. Neutrophil Extracellular Traps Sustain Inflammatory Signals in Ulcerative Colitis / V. Dinallo, I. Marafini, D. Di Fusco. [et al.] // *J Crohns Colitis.* - 2019. – Vol.13, №6. – P. 772-784.
94. Neutrophils in ulcerative colitis: a review of selected biomarkers and their potential therapeutic implications / D. Muthas, A. Reznichenko, C.A. Balendran [et al.] // *Scand J Gastroenterol.* – 2017. – Vol.52, №2. – P. 125-135.
95. Neutrophils: Their Role in Innate and Adaptive Immunity / C. Rosales, N. Demarex, C.A. Lowell [et al.] // *Journal of immunology research.* - 2016. – Vol. 2016. – P. 1469780.

96. Ng, SC. Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies / S.C. Ng, H.Y. Shi, N. Hamidi // *Lancet*. – 2018. – Vol. 390. – P. 2769–2778.
97. Nguyen, HTT. New insights into the interplay between autophagy, gut microbiota and inflammatory responses in IBD / H.T.T. Nguyen, A. Larabi, N. Barnich, // *Autophagy*. - 2020. – Vol.16. – P. 38-51.
98. Oh, SJ. Long-term outcomes of infliximab in a real-world multicenter cohort of patients with acute severe ulcerative colitis / S.J. Oh, G.Y. Shin, H. Soh // *Intest Res*. — 2021. — Vol. 19. — P. 323-331. .
99. P028 open-label infliximab therapy in ulcerative colitis: a multicenter survey of results and predictors of response / Y. González-Lama, I. Fernández-Blanco, A. López-Sanromán [et al.] // *Journal of Crohn's and Colitis Supplements*. – 2007. – Vol.1, №1. – P. 11.
100. Portuguese IBD Study Group [GEDII]. Accuracy of Faecal Calprotectin and Neutrophil Gelatinase B-associated Lipocalin in Evaluating Subclinical Inflammation in Ulcerative Colitis-the ACERTIVE study / F. Magro, S. Lopes, R. Coelho [et al.] // *J Crohns Colitis*. – 2017. – Vol.11, №4. – P. 435-444.
101. Predictors of early response to infliximab in patients with ulcerative colitis / M. Ferrante, S. Vermeire, K.H. Katsanos [et al.] // *Inflamm Bowel Dis*. – 2007. – Vol.13, №2. – P. 123-8.
102. Proteolytic Cleavage of Bioactive Peptides and Protease-Activated Receptors in Acute and Post-Colitis / M. De Bruyn, H. Ceuleers, N. Hanning [et al.] // *Int J Mol Sci*.- 2021. – Vol. 22, №19. – P. 10711.
103. Quality of Life in Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Review and Meta-analyses-Part I / S.R. Knowles, L.A. Graff, H. Wilding [et al.] // *Inflamm Bowel Dis*. - 2018. – Vol. 24. – P. 742-751.
104. Questions and answers on the role of fecal lactoferrin as a biological marker in inflammatory bowel disease / J.P. Gisbert, A.G. McNicholl, F. Gomollon // *Inflammatory Bowel Disease*. - 2009. – Vol. 15. – P. 1746-54.

105. Ramos, G.P. Mechanisms of Disease: Inflammatory Bowel Diseases / G.P. Ramos, K.A. Papadakis // *Mayo Clin Proc.* – 2019. – Vol.94, №1. – P. 155-165.
106. Randomised clinical trial: a phase 1, dose-ranging study of the anti-matrix metalloproteinase-9 monoclonal antibody GS-5745 versus placebo for ulcerative colitis / WJ Sandborn, BR Bhandari, R. Fogel [et al.] // *Aliment Pharmacol Ther.* - 2016. – Vol.44, №2. – P. 157-69.
107. Rare Case of Adult Autoimmune Neutropenia Successfully Treated with Prednisolone / M. Fujita, H. Kawabata, T. Oka [et al.] // *Intern Med.* – 2017. – Vol.56, №11. – P. 1415-1419.
108. Rath, T. Is histological healing a feasible endpoint in ulcerative colitis? / T. Rath, R. Atreya, M.F. Neurath // *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* - 2021. – Vol. 15, №6. – P. 665-674.
109. Real-life evaluation of histologic scores for Ulcerative Colitis in remission / C.B. Arkteg, S. Wergeland Sørbye, L. Buhl Riis [et al.] // *PLoS One.* – 2021. – Vol.16, №3. - P.e0248224.
110. Rediscovering histology: what is new in endoscopy for inflammatory bowel disease? / V. Solitano, F. D'Amico, M. Allocca [et al.] // *Therap Adv Gastroenterol.* - 2021. – Vol.14. - P. 17562848211005692.
111. Regulation of intestinal permeability: Tappenrole of proteases / H.V. Spaendonk, H. Ceuleers, L. Witters, [et al.] // *World J Gastroenterol.* – 2017. – Vol.23, №12. – P. 2106-23.
112. Relationship between Mayo endoscopic score and histological scores in ulcerative colitis: A prospective study / J. Shah, U. Dutta, A. Das [et al.] // *JGH Open.* – 2019. - Vol.4, №3. – P. 382-386.
113. Review of the epidemiology and burden of ulcerative colitis in Latin America/ Kotze PG, Steinwurz F, Francisconi C [et al.] // *Therap Adv Gastroenterol.* – 2020. – Vol. 13. – P. 1756284820931739.

114. Review with systematic meta-analysis: microbiology intake in adults with inflammatory bowel disease / K. Lambert, D. Pappas, C. Miglioretto [et al.] // *Aliment Pharmacol Ther.* – 2021. – Vol. 54. – P. 742-754.
115. Risk of colorectal cancer in Asian patients with ulcerative colitis: a systematic review and meta-analysis / S. Bopanna, A.N. Ananthakrishnan, S. Kedia [et al.] // *Lancet Gastroenterol Hepatol.* - 2017. – Vol. 2. – P. 269-276.
116. Risk of Relapse in Patients With Ulcerative Colitis With Persistent Endoscopic Healing: A Durable Treatment Endpoint. *J Crohns Colitis* / S. Jangi, A.K. Holmer, P.S. Dulai [et al.] // 2021. – Vol.15, №4. – P. 567-574.
117. Role of Adipose Tissue in Inflammatory Bowel Disease / E. Karaskova, M. Velganova-Veghova, M.Geryk [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2021. – 19. – Vol.22, №8. – P.4226.
118. Role of Biomarkers in the Diagnosis and Treatment of Inflammatory Bowel Disease / Wagatsuma K, Yokoyama Y, Nakase H. // *Life (Basel).* – 2021. – Vol.11. – P.1375.
119. Role of Obesity, Mesenteric Adipose Tissue, and Adipokines in Inflammatory Bowel Diseases / J Bilski, A Mazur-Bialy, D.Wojcik [et al.] // *Biomolecules.* – 2019. – V.9, №12. – P. 780.
120. Role of the CXCL8-CXCR1/2 Axis in Cancer and Inflammatory Diseases / Ha. H, Debnath B, Neamati N. // *Theranostics.* – 2017. – Vol.7, №76. – P. 1543-1588.
121. Serum Neutrophil Gelatinase B-associated Lipocalin and Matrix Metalloproteinase-9 Complex as a Surrogate Marker for Mucosal Healing in Patients with Crohn's Disease / M. de Bruyn, I. Arijs, G. De Hertogh [et al.] // *J Crohns Colitis.* – 2015. – Vol. 9, №12. – P. 1079-87.
122. Serum PR3-ANCA Is a Predictor of Primary Nonresponse to Anti-TNF- $\alpha$  Agents in Patients with Ulcerative Colitis / A. Yoshida, K. Matsuoka, F. Ueno [et al.] // *Inflamm Intest Dis.* - 2021. – Vol.6, №2. - P. 117-122.

123. Sharara AI. Epidemiology, disease burden, and treatment challenges of ulcerative colitis in Africa and the Middle East / A.I. Sharara, S. Awadhi, O. Alharbi // *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* – 2018. – Vol. 12. - №9. – P. 883-897.

124. Sollberger, G. Neutrophil Extracellular Traps: The Biology of Chromatin Externalization / G. Sollberger, D.O. Tilley, A. Zychlinsky // *Dev Cell.* – 2018. – Vol.12. – P. 542-553.

125. Systematic review with meta-analysis: environmental and dietary differences of inflammatory bowel disease in Eastern and Western populations / M. Zhao, R. Feng, S. Ben-Horin, [et al.] // *Aliment Pharmacol Ther.* – 2022. – Vol.55. – P. 266-276.

126. Systemic interleukin-9 in inflammatory bowel disease: Association with mucosal healing in ulcerative colitis / M. Matusiewicz, K. Neubauer, I. Bednarz-Misa // *World J Gastroenterol.* – 2017. – Vol. 23, №22. – P. 4039-4046.

127. The balance of interleukin (IL)-6, IL-6-soluble IL-6 receptor (sIL-6R), and IL-6-sIL-6-sgp130 complexes allows simultaneous classic and trans-signaling / P. Baran, S. Hansen, G.H. Waetzig [et al.] // *J Biol Chem.* - 2018. – Vol. 293, № 18. – P. 6762–75.

128. The diagnostic role and clinical association of serum proteinase 3 anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in Chinese patients with inflammatory bowel disease / Y. Xu, F. Xu, W. Li [et al.] *Scand J Gastroenterol.* – 2020. – Vol. 55, №7. – P. 806-813.

129. The effect of appendectomy on the course of ulcerative colitis: a systematic review / T.J. Gardenbroek, E.J. Eshuis, C.I.Ponsioen [et al.] *Colorectal Dis.* – 2012. – Vol.14, №5. – P. 545-53.

130. The global, regional, and national burden of inflammatory bowel disease in 195 countries and territories, 1990–2017: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study / S. Alatab, S.G. Sepanlou, K. Ikuta [et al.] // *Lancet Gastroenterol. Hepatol.* – 2019. – Vol. 5, № 1 P. 17–30.

131. The impact of inflammatory bowel disease in Canada / G.G. Kaplan, C.N. Bernstein, S. Coward [et al.] // *J Can Assoc Gastroenterol.* – 2019. – Vol. 2, №1. – P. 6-16.
132. The LUCID study: living with ulcerative colitis; identifying the socioeconomic burden in Europe / L. Ruiz-Casas, J. Evans, A. Rose [et al.] // *BMC Gastroenterol.* – 2021. – V. 21, №1. – P. 456.
133. The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6 / J. Scheller, A. Chalaris, D. Schmidt-Arras [et al.] // *Biochim Biophys Acta.* – 2011. – Vol. 18135. – P. 878–88.
134. The risk of developing Crohn's disease after an appendectomy: a meta-analysis / G.G. Kaplan, T. Jackson, B.E. Sands [et al.] // *Am J Gastroenterol.* – 2008. – Vol.103, №11. – P. 2925-31.
135. The role of defective complement control in hemolytic uremic syndrome. / P.F. Zipfel, J. Misselwitz, C. Licht [et al.] // *Semin Thromb Hemost.* – 2006. – Vol.32, №2. – P. 146-54.
136. Troelsen, F.S. Antibiotic Use in Childhood and Adolescence and Risk of Inflammatory Bowel Disease: A Case-Control Study in the UK Clinical Practice Research Datalink / F.S. Troelsen, S. Jick // *Inflamm Bowel Dis.* – 2020. – Vol. 11, №26. – P. 440-447.
137. Usefulness of Transcriptional Blood Biomarkers as a Non-invasive Surrogate Marker of Mucosal Healing and Endoscopic Response in Ulcerative Colitis / N. Planell, M.C. Masamunt, R.F. Leal [et al.] // *J Crohns Colitis.* – 2017. – Vol. 11. – P.1335-1346.
138. van Rheenen, PF. Faecal calprotectin for screening of patients with suspected inflammatory bowel disease: diagnostic meta-analysis / P.F. van Rheenen, E. Van de Vijver, V. Fidler [et al.] // *BMJ.* – 2020. – Vol. 341. – P. 3369.
139. Visceral hypersensitivity is together with psychological distress and female gender associated with severity of IBS-like symptoms in quiescent ulcerative colitis / G. Mavroudis, H. Strid, B. Jonefjäll [et al.] // *Neurogastroenterol Motil.* 2021. – V. 33, №3. – P. e13998.

140. Wethington, S.L. Key role of topoisomerase I inhibitors in the treatment of recurrent and refractory epithelial ovarian carcinoma / S.L. Wethington, J.D. Wright, T.J. Herzog // *Exp. Rev. Anticancer Ther.* – 2008. – Vol. 8, № 5. – P. 819-31.
141. Wo, P.B. Association between PTGER4 polymorphisms and inflammatory bowel disease risk in Caucasian: A meta-analysis / P.B. Wo, R. Qian, C. Hong // *Medicine (Baltimore)*. – 2020. – Vol. 99, №34. – P. e19756
142. Wolffe, F. Chromatin: structure and function. - N.Y. : Acad. Press, 1998. - V. 1. - P. 8-10. 462.
143. Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies / S.C. Ng, H.Y. Shi, N. Hamidi [et al.] // *Lancet*. – 2017. – Vol. 390, №10114. – P. 2769-2778.
144. Zhang, D. Neutrophil ageing is regulated by the microbiome / D. elaf [et al.] // *Nature*. - 2015. - Vol. 525, №7570. - P. 528-532.
145. Zhang, X. Gene expression in mature neutrophils: early responses to inflammatory stimuli / X. Zhang [et. al.] // *J. Leukoc. Biol.* - 2004. – Vol. 75, № 2. – P. 358-372.
146. Zhao, J. Domain-wide displacement of histones by activated heat shock factor occurs independently of Swi/Snf and is not correlated with RNA polymerase II density / J. Zhao, J. Herrera-Diaz, D. S. Gross // *Mol. Cell Biol.* - 2005. - Vol. 25. - P. 8985-8999.
147. Zhao, L. Quantification of proteins using Peptide immunoaffinity enrichment coupled with mass spectrometry / L. Zhao // *Vis. Exp.* - 2011- Vol. 53. – P. 2812 474.
148. Zheng Y. Histone H1 phosphorylation is associated with transcription by RNA polymerases I and II. / Y. Zheng // *J. Cell Biol.* - 2010. – Vol. 189. - P. 407-415.

149. Zhou, G.X. Potential roles of neutrophils in regulating intestinal mucosal inflammation of inflammatory bowel disease / G.X. Zhou, Z.J. Liu // *J Dig. Dis.* – 2017. – Vol. 18. – P. 495–503.

150. Zou, G. C-Reactive Protein, Fecal Calprotectin, and Stool Lactoferrin for Detection of Endoscopic Activity in Symptomatic Inflammatory Bowel Disease Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis / G. Zou, SK Garg // *Am J Gastroenterol.* – 2015. – Vol.110, №6. - P. 802-19.