

На правах рукописи

ЮМУКЯН КНАРА АНДРАНИКОВНА

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

3.1.18 – внутренние болезни

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Ставрополь – 2022

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор **Болотова Елена Валентиновна**

Официальные оппоненты:

Хлынова Ольга Витальевна, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент Российской академии наук (РАН), федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра госпитальной терапии и кардиологии, заведующий кафедрой

Шифрин Олег Самуилович, доктор медицинских наук, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет), кафедра пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии, профессор кафедры

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «__» _____ 2022 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета 21.2.070.01 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (355017, г. Ставрополь, ул. Мира, 310).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Ставропольского государственного медицинского университета по адресу: 355017, г. Ставрополь, ул. Мира, 310 и на сайте www.stgmu.ru.

Автореферат разослан «___» _____ 2022 г.

Учёный секретарь
диссертационного совета
доктор медицинских наук,
профессор

Корой Павел Владимирович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Язвенный колит (ЯК) и болезнь Крона классифицируются как воспалительные заболевания кишечника (ВЗК), которые имеют сходные симптомы, приводят к расстройствам пищеварения и характеризуются хронической воспалительной реакцией в пищеварительной системе (Ивашкин В.Т. и др., 2018). 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 (Павленко В.В. и др., 2015; Князев О.В. и др., 2020; Molodecky N.A. et al., 2018). Язвенный колит – 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 (Клярцкая И.Л. и др., 2020; Бакулин И.Г. и др., 2022). Точных данных о распространенности ЯК в России нет, поскольку часто остаются неучтенными легкие случаи ЯК, особенно в начале заболевания (Головенко О.В. и др., 2018; Шифрин О.С. и др., 2018; Mak L. et al., 2018). Самые высокие показатели смертности имеются в течение первого года болезни, что обусловлено крайне тяжелым молниеносным течением заболевания (Халиф И.Л., 2015; Головенко О.В. и др., 2018). В зависимости от степени тяжести, рецидив ЯК может представлять собой потенциально угрожающее жизни состояние с системными проявлениями (Белоусова Е.А. и др., 2020). Около 15% пациентов с ЯК имеют риск тяжелой атаки, а 10% дебютов заболевания изначально протекают в виде фульминантного колита (Халиф И.Л. и др., 2017). Отсроченная диагностика ЯК способствует росту частоты тяжелых форм болезни с осложнениями и необходимостью оперативных вмешательств, а также инвалидизации и длительной нетрудоспособности пациентов молодого возраста (Игнатьева В.И. и др., 2020; Хлынова О.В. и др., 2021). Лечение ЯК является серьезным бременем для федерального и региональных бюджетов: величина годового экономического бремени для ЯК составляет более 2,4 млн. рублей (Журавлева М.В., 2016; Игнатьева В.И. и др., 2020).

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, гистологиче-

ских и лабораторных показателей, используемых для оценки степени тяжести атаки, имеют свои преимущества и недостатки (Павленко В.В. и др., 2016; Ивашкин В.Т. и др., 2018). 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 (Шифрин О.С. и др., 2018; Князев О.В. и др., 2020). 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 (Шифрин О.С. и др., 2018; Головенко О.В. и др., 2020). Применение фекальных тестов в повседневной клинической практике ограничено отсутствием единых референсных интервалов (D'Haens G. et al., 2012; Hart L., 2020). 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. 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.

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 α , 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 позволяет 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 эпиде-

миологические, 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 α) 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 этапа: 167 карт стационарного больного и 148 карт амбулаторного больного; 178 медицинских карт стационарного больного для проспективного этапа, 40 таблиц с данными здоровых добровольцев для контрольной группы); правильное формирование выборки исследования, четкое соблюдение критериев включения и исключения; 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 исключения, дизайн, план и методы исследования. 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 исследова-

ния, внедрены в клиническую деятельность практические рекомендации. Результаты работы обсуждены автором в научных докладах и отражены в публикациях.

Практическое использование полученных результатов

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 научно-исследовательский и учебный процесс на кафедре терапии №1 ФПК и ППС и кафедре факультетской терапии ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» МЗ РФ.

Публикации и апробация работы

По материалам диссертации опубликовано 16 научных работ, в том числе, 6 в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России для публикации результатов диссертационных работ, из них 2 статьи в журналах, входящих в базу данных Scopus. Выпущена монография «Роль нейтрофильных маркеров в диагностике язвенного колита». Запатентован «Способ прогнозирования риска развития рецидива язвенного колита», получена приоритетная справка на патент «Способ прогнозирования риска развития осложнений язвенного колита при клиническом обострении».

Основные положения и выводы диссертации изложены 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 (Санкт-Петербург, 2022).

Апробация работы проведена на совместном расширенном заседании кафедр терапии №1 ФПК и ППС, факультетской терапии, хирургии № 3 ФПК и ППС, клинической фармакологии и функциональной диагностики ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» МЗ РФ (Краснодар, 2022).

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 121 странице компьютерного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, 2 глав собственных результатов, заключения, выводов и практических рекомендаций. Работа иллюстрирована 24 таблицами и 17 рисунками. Список литературы включает 150 источников, из которых 24 отечественных и 126 иностранных.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

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

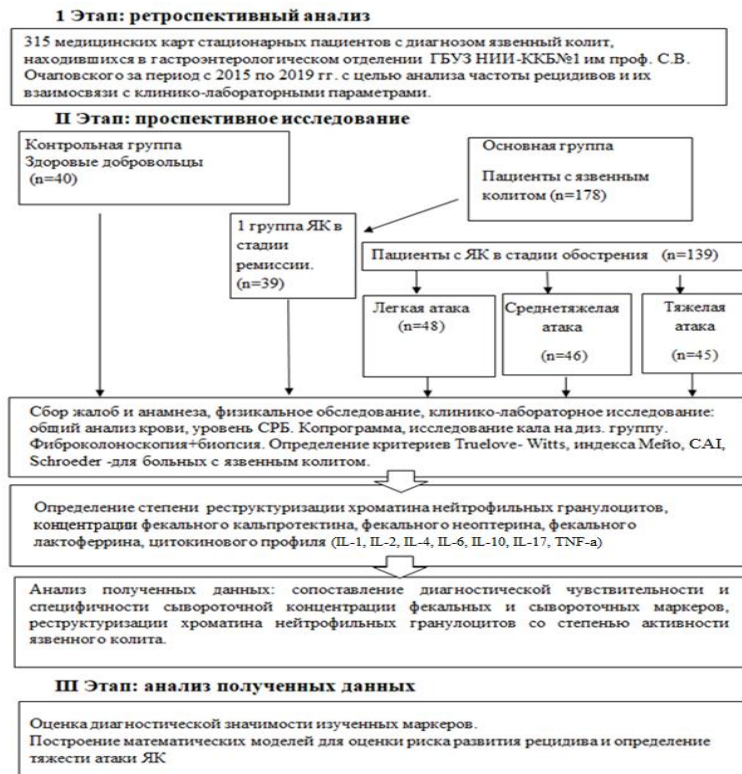


Рис. 1. – Дизайн исследования

Критерии включения: наличие документированного диагноза ЯК; возраст старше 18-ти лет; наличие информированного добровольного согласия. Критерии не включения: положительный тест на антитела к вирусам гепатита В, С; первичный и вторичный иммунодефицит; аутоиммунные заболевания; хронические заболевания в стадии декомпенсации; злокачественные новообразования; колэктомия; острые инфекционные заболевания; психические заболевания.

На первом этапе проведено ретроспективное исследование, включающее 315 медицинских карт пациентов с ЯК (148 карт амбулаторно-большого и 167 карт стационарного большого), проходивших обследова-

дование 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 гг. Из 148-ми амбулаторных пациентов – 107 (72,3%) пациентов оставались в стойкой симптоматической ремиссии в течение 6 месяцев и обратились для планового осмотра, а 41 (27,7%) – обратились с рецидивом ЯК. По характеру течения, 167 больных ЯК, получавших лечение в стационаре, распределились следующим образом: острое течение – 24,5% (41) пациентов, хроническое непрерывное течение – 12,6% (21) пациентов, хроническое рецидивирующее – 62,9% (105) пациентов. Первичный анализ был сосредоточен на оценке факторов риска развития рецидива и тяжелой атаки ЯК, поэтому были проанализированы демографические, клинико-anamnestические и лабораторные показатели.

На втором этапе в проспективное исследование было включено 218 пациентов. В основную группу вошли 178 пациентов с ЯК (139 в стадии обострения и 39 в стадии ремиссии). В зависимости от наличия или отсутствия обострения ЯК и тяжести атаки пациенты были распределены следующим образом: 1-я группа – 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. ЯК у пациентов основной группы был подтвержден эндоскопически и гистологически. Всем больным было проведено комплексное обследование, включавшее проведение эндоскопического обследования, а при необходимости ультразвуковое и рентгенологическое исследования. В качестве эндоскопических критериев атаки ЯК использовались критерии Truelove-Witts, степень тяжести атаки определяли по шкале Мейо. Помимо стандартных общеклинических обследований, всем пациентам определяли уровни TNF- α , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17 в сыворотке крови и содержание фекальных маркеров: фекального лактоферрина (ФЛФ), кальпротектина (ФКП), неоптерина (ФНП). Все группы были сопоставимы по возрасту и полу. Обязательным исследованием у всех пациентов являлся анализ кала на содержание токсина Clostridium difficile. Медикаментозная терапия больных ЯК проводилась согласно стандартным протоколам лечения.

Материалы исследования статистически обработаны с помощью программы Statistica 10,0. Для сравнения 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. Соотношение чувствительности и специфичности получаемых прогностических моделей оценивали с помощью ROC-кривых. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Ретроспективный этап

Согласно полученным данным, из 148 амбулаторных пациентов – 107 (72,3%) пациентов оставались в стойкой симптоматической ремиссии в течение 12 месяцев и обратились для планового осмотра, а 41 (27,7%) – 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 обращают 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 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%; $\chi^2=9,78$, $p=0,001$), частота 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 у 15 (23,4%) 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.

Для минимизации потенциальной предвзятости отбора пациентов и разницы 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 проведена повторная эндоскопия ($n=49$). Достоверных различий в ключевых клинических и анамнестических характеристиках, включая возраст на момент активного ЯК, возраст на момент постановки диагноза ЯК, частоту обострений и длительность заболевания выявлено не было. 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 неподтвер-

жденной ремиссией частота рецидивов (25,6% vs 12,2%; $\chi^2=7,65$, $p=0,01$), госпитализаций (7 пациентов) (16,3% vs 4,1%; $\chi^2=7,37$, $p=0,01$) и проведения колэктомии (3 пациента) (7,4% vs 2,8%; $\chi^2=4,13$, $p=0,01$) оказалась статистически значимо выше.

При дальнейшем анализе выявлено, что пациенты, у которых произошёл рецидив, потребовавший госпитализации, по сравнению с пациентами в ремиссии, имели статистически значимо большую 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±1,6 мес. vs 12,2±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%; $\chi^2=12,03$, $p=0,001$, соответственно), присоединение оппортунистической инфекции при предыдущей атаке ЯК в анамнезе (48,7% vs 21,1%; $\chi^2=7,13$, $p=0,01$). Построение прогностической модели риска рецидива выполнялось с помощью метода бинарной логистической регрессии с пошаговым отбором переменных (табл. 1).

Таблица 1 – 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:

$p = -0,412 + 3,192 * X_{ОИ} - 1,662 * X_{ДА}$, где p – вероятность возникновения рецидива, $X_{ОИ}$ – оппортунистическая инфекция при последней атаке (наличие – 1, отсутствие – 0), $X_{ДА}$ – длительность анамнеза заболевания, лет.

Полученная регрессионная модель является статистически значимой ($p=0,001$). Диагностическая эффективность составила 83,6%. Для оценки диагностической значимости прогностической модели, применялся метод анализа ROC-кривых (рис. 2).

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 равнялось 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%.

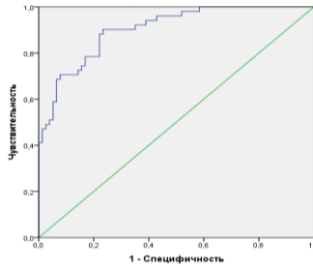


Рис. 2. – Чувствительность и специфичность математической модели прогнозирования риска рецидива ЯК в ближайшие 6 месяцев

Проведен ретроспективный анализ данных пациентов, получавших лечение в стационаре. По характеру течения ЯК они распределились следующим образом: острое течение – 24,6% (41) пациентов, хроническое непрерывное течение – 12,6% (21) пациентов, хроническое рецидивирующее – 62,8% (105) пациентов. У 63 (37,7%) больных диагностировано левостороннее поражение, у 37 (22,2%) – тотальное поражение кишечника, у 67 (46,8 %) – дистальное поражение кишечника. Тотальное поражение встречалось достоверно чаще в группе с тяжелой атакой ЯК ($p=0,001$), а проктит – в группе с легкой атакой ЯК ($p=0,01$).

По данным лабораторных исследований, с тяжелой атакой ЯК были ассоциированы уровень гемоглобина ($r=-0,516$, $p=0,03$), альбумина ($r=-0,578$, $p=0,01$) и концентрация СРБ ($r=0,787$, $p=0,001$).

По данным эндоскопического исследования, параметрами, ассоциированными с тяжестью течения атаки ЯК, стали протяженность поражения ($r=0,578$, $p=0,002$) и наличие глубоких язвенных дефектов слизистой оболочки толстой кишки ($r=0,791$, $p=0,001$).

Предикторами тяжести атаки ЯК явились: молодой возраст на момент дебюта ЯК, частота применения биологической терапии в анамнезе, снижение уровня альбумина и ИМТ, повышение СОЭ, СРБ, наличие глубоких язвенных дефектов слизистой оболочки и протяженность поражения толстой кишки, слизистой толстой кишки.

Построение прогностической модели риска тяжелой атаки ЯК выполнялось при помощи метода бинарной логистической регрессии с пошаговым отбором переменных (табл. 2).

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 (кг/м²).

Таблица 2 – 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

Полученная регрессионная модель является статистически значимой ($p=0,001$). Диагностическая эффективность составила 89,0%. Для оценки диагностической значимости прогностической модели применялся метод анализа ROC-кривых (рис. 3).

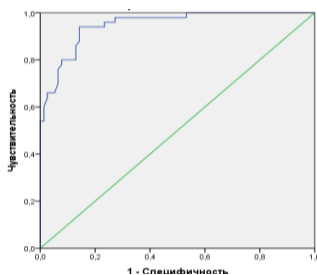


Рис. 3. – ROC-кривая оценки прогностической значимости полученной математической модели

Площадь под ROC-кривой, соответствующей 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 $\geq 36,3$ соответствуют прогнозу развития рецидива в ближайшие 6 месяцев с чувствительностью 86,0% и специфичностью 90,9%.

Перспективный этап

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

Согласно полученным данным, гендерный и возрастной состав групп был сопоставим. Достоверно более высокие средние значения индекса САI, баллов по шкале Мейо и длительности заболевания выявлены в группе с тяжелой атакой ЯК ($p < 0,05$). Наиболее молодой средний возраст дебюта ЯК зарегистрирован в группе больных с тяже-

лой 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 ($p<0,05$).

Помимо стандартных показателей острофазового ответа нами дополнительно были изучены перспективные сывороточные и фекальные биомаркеры. Наибольшие средние значения концентрации фекальных биомаркеров воспаления: кальпротектина (ФКП), лактоферрина (ФЛФ) и неоптерина (ФНП) выявлены в группах пациентов с тяжелой атакой и атакой средней тяжести. Получены статистически значимые различия между средними значениями ФНП 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-я и 3-я группа), в группах пациентов с тяжелой атакой и средней тяжести ($p=0,01$). Для ФЛФ 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 значимые различия между всеми группами, оказался ФКП.

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 ($p=0,001$). Статистически значимые различия между пациентами в ремиссии (1-я группа) и пациентов тяжелого и среднетяжелого течения (3-4-я 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 ($p=0,01$). Средний уровень TNF α 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 с атакой средней тяжести значения оказались сопоставимыми ($p=0,07$).

Статистически значимых различий по уровням IL-2 и IL-4, IL-10, IL-1 не выявлено ($p=0,07$, $p=0,06$, $p=0,08$ соответственно).

В исследуемой 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 α , ($r=0,701$, $p=0,001$), 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: с концентрацией IL-6 в сыворотке крови ($r = 0,25$, $p=0,001$), IL-17 ($r = 0,587$, $p=0,005$), TNF α ($r=0,624$, $p=0,001$) и концентрацией ФКП ($r=0,831$, $p=0,001$), ФЛФ ($r=0,672$, $p=0,005$), ФНП ($r=0,765$, $p=0,002$). 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 фекальных биомаркеров по сравнению с сывороточными показателями воспаления, а также преимущества ФКП по чувствительности и специфичности среди всех изученных нами лабораторных показателей.

В рамках исследования нами была изучена степень оптической анизотропии (ОА) НГ в зависимости от степени тяжести атаки ЯК (табл. 3).

Таблица 3 – Степень оптической анизотропии ядер НГ в зависимости от степени тяжести атаки ЯК ($n=179$)

Группы Параметры	Основные группы, $n=178$				Контрольная группа $n=40$	Статистическая значимость различий
	1 $n=39$	2 $n=48$	3 $n=46$	4 $n=45$		
Степень оптической анизотропии	2,0 \pm 0,06	1,9 \pm 0,09	1,67 \pm 0,03	0,79 \pm 0,05	2,21 \pm 0,08	$p^{1, \text{контр.}}=0,002$ $p^{1,2}=0,003$ $p^{2,3}=0,001$ $p^{3,4}=0,002$
*ПАН	1,18 \pm 0,09	1,8 \pm 0,006	2,03 \pm 0,008	3,97 \pm 0,005	1,25 \pm 0,11	$p^{1,3}=0,03$ $p^{1, \text{контр.}}=0,05$ $p^{2,3}=0,02$ $p^{1,2}=0,06$
**CV,%	12,4	15,5	16,3	14,9	13,2	-

Примечание: ПАН – показатель активации нейтрофильных гранулоцитов; CV – коэффициент вариации.

Коэффициент вариации в исследовании особенностей реструктуризации хроматина НГ находился в пределах от 10 до 30%, что свидетельствует об однородности совокупности. Анализ ОА НГ показал, что среднее значение данного показателя в контрольной группе ($2,21 \pm 0,08$) было на 38,9% выше, чем у пациентов с ЯК ($1,59 \pm 0,05$), но эти различия не были статистически значимы ($p=0,06$). 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 ($p=0,002$).

Выявлено статистически значимое уменьшение степени ОА с увеличением тяжести атаки ЯК и протяженности поражения, что подтверждается полученными сильными отрицательными корреляциями ($r=-0,877$, $p=0,001$ и $r=-0,918$, $p=0,001$ соответственно).

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 ОА НГ 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 ($p=0,001$).

Таким образом, у пациентов с ЯК выявлена достоверная корреляция баллов по шкале Мейо со степенью ОА НГ ($r=-0,896$, $p=0,001$), уровнем сывороточных интерлейкинов: IL-6 ($r=0,598$, $p=0,001$), IL-17 ($r=0,587$, $p=0,005$), TNF α ($r=0,701$, $p=0,001$), а также концентрацией фекальных маркеров: ФКП ($r=0,881$, $p=0,001$), ФЛФ ($r=0,799$, $p=0,001$), ФНП ($r=0,791$, $p=0,001$).

Таблица 4 – Средние значения и вариабельность степени оптической анизотропии ядра в зависимости от тяжести атаки ЯК

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

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 ЯК. Анализ изменчивости степени ОА в зависимости от тяжести атаки свидетельствует о том, что с возрастанием тяжести атаки степень ОА снижается. Выявлены статистически значимые различия между всеми группами ($p < 0,005$) (табл. 4).

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.

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).

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 α =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 статистически значимое влияние тяжести атаки на уровни изученных нами лабораторных показателей. Степень ОА НГ оказалась сопоставима по диагностической значимости с ФКП, составив 94,5% от общей дисперсии.

На основании полученных нами данных, был разработан алгоритм обследования пациентов с целью повышения эффективности диагностики атаки ЯК (рис. 4).

На первом этапе проводится определение риска рецидива ЯК в ближайшие 6 месяцев с помощью электронного калькулятора¹, основанного на рассчитанной в нашем исследовании прогностической модели. При низком риске обострения (значение функции прогностической модели $< 22,1$) – пациент получает стандартное диспансерное наблюдение. При высоком риске обострения (значение функции прогностической модели $\geq 22,1$) рекомендовано определение уровня острофазовых маркеров и ФКП; при их повышении – определение ОА НГ. При выявлении активности ЯК на основании уровня маркеров, в соответствии с определенными в нашем исследовании точками отсечения (соот-

¹ Доступно по ссылке: <https://disk.yandex.ru/i/UThilCVHNdWhQw>

ветствующими 1 и более баллов по шкале Мейо), пациент направляется к гастроэнтерологу, где проводится оценка риска тяжелой атаки. При выявлении высокого риска тяжелой атаки (значение функции прогностической модели $\geq 36,3$) – пациенту необходимо проведение коррекции лечения в условиях стационара. При низком риске тяжелой атаки (значение функции прогностической модели $< 36,3$) амбулаторно проводится коррекция терапии.

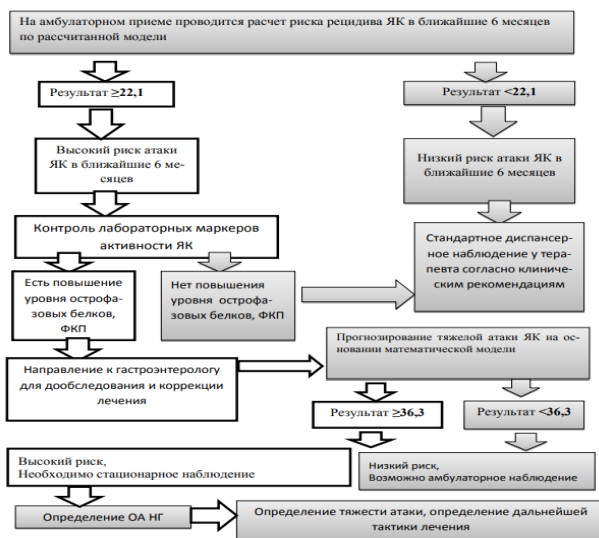


Рис. 4. – Алгоритм ранней диагностики рецидива и тяжелой атаки ЯК

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 α – 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 α ($r=0,701$) 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 РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Яковенко, М. С. Современное состояние проблемы воспалительных заболеваний кишечника / М. С. Яковенко, К. А. Юму-

кян // Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия: Естественные и технические науки. – 2019. – № 11. – С. 217-221.

2. Болотова, Е. В. Информативность уровня С-реактивного белка у пациентов с язвенным колитом в зависимости от степени тяжести заболевания и проводимой терапии / Е. В. Болотова, К. А. Юмулян // Доказательная гастроэнтерология. – 2020. – Т. 9, № 1-2. – С. 44-45.

3. Болотова, Е. В. Дифференциально-диагностическая значимость определения уровня фекального кальпротектина для пациентов с синдромом раздраженного кишечника с диареей / Е. В. Болотова, К. А. Юмулян // Доказательная гастроэнтерология. – 2020. – Т. 9, № 1-2. – С. 42.

4. Космачева, Е. Д. Клинический случай течения язвенного колита у пациента с вирусным гепатитом С / Е. Д. Космачева, М. С. Яковенко, К. А. Юмулян // Южно-Российский журнал терапевтической практики. – 2020. – Т. 1, № 3. – С. 95-102.

5. **Патент № 2755492 С1 Российская Федерация, МПК G01N 33/53. Способ прогнозирования риска развития рецидива язвенного колита : № 2021107594 : заявл. 22.03.2021 : опубл. 16.09.2021 / К. А. Юмулян, Е. В. Болотова.**

6. Болотова, Е. В. Качество жизни у пациентов с язвенным колитом / Е. В. Болотова, К. А. Юмулян // XVI Национальный конгресс терапевтов с международным участием : Сборник тезисов XVI Национального конгресса терапевтов. Москва, 17–19 ноября 2021 года. – С. 9-10.

7. **Особенности реструктуризации нейтрофильных гранулоцитов при язвенном колите / Е. В. Болотова, К. А. Юмулян, А. В. Дудникова, А. А. Евглевский // Крымский терапевтический журнал. – 2022. – № 1. – С. 40-46.**

8. Болотова, Е. В. Современные представления о механизмах развития и предикторах тяжести язвенного колита / Е. В. Болотова, К. А. Юмулян, А. В. Дудникова // Доктор.Ру. – 2022. – Т. 21, № 2. – С. 34-39.

9. Болотова, Е. В. Сравнение диагностических возможностей фекальных и сывороточных маркеров в определении тяжести атаки язвенного колита / Е. В. Болотова, К. А. Юмулян, А. В. Дудникова // Казанский мед. ж. – 2022. – Т. 103, №3. – С. 409-417.

10. Сравнительная информативность лабораторных методов оценки тяжести язвенного колита: проспективное сравнительно исследование / Е. В. Болотова, К. А. Юмулян, А. В. Дудникова, И.

В. Гилевич // Кубанский научный медицинский вестник. – 2022. – Т. 29. – № 3. – С. 14-29.

11. Болотова, Е.В. Новые диагностические возможности определения активности язвенного колита: роль нейтрофилов / Е. В. Болотова, К. А. Юмусян, А. В. Дудникова // Архив внутренней медицины. – 2022. –Т. 12, №4. – С. 285-292.

12. Болотова, Е.В. Факторы риска рецидива и тяжести атаки язвенного колита / Е. В. Болотова, К. А. Юмусян, А. В. Дудникова, М.С. Яковенко // Врач. – 2022. –Т. 33, №5. – С. 40-46.

13. Болотова, Е. В. Роль нейтрофильных маркеров в диагностике язвенного колита: монография / Е.В. Болотова, К.А. Юмусян, А.В.Дудникова – Краснодар: Экоинвест, 2022. – 122 с.

14. Болотова Е.В. Роль оценки анизотропии ядер нейтрофильных гранулоцитов в диагностике язвенного колита / Е.В. Болотова, К.А. Юмусян, А.В. Дудникова // Сборник тезисов Всероссийской конференции молодых терапевтов. г. Санкт-Петербург. – 2022. – С. 86.

15. Юмусян К.А. Сравнительная оценка качества жизни и психологического состояния у больных язвенным колитом / К.А. Юмусян // Сборник тезисов Всероссийской конференции молодых терапевтов. г. Санкт-Петербург. – 2022. – С. 103.

16. Болотова, Е. В. Ранний дебют язвенного колита как предиктор тяжести течения / Е. В. Болотова, К. А. Юмусян, А. В. Дудникова // Терапевтический архив. – 2022. – Т. 94, № S2. – С. 315.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВЗК – воспалительные заболевания кишечника

ДА – длительность анамнеза

ДИ – доверительный интервал

ИМТ – индекс массы тела

НГ – нейтрофильные гранулоциты

ОА – оптическая анизотропия

ОИ – оппортунистическая инфекция

ПАН - показатель активации нейтрофилов

СОЭ – скорость оседания эритроцитов

СРБ – С-реактивный белок

ФКП – фекальный кальпротектин

ФЛФ – фекальный лактоферрин

ФНП – фекальный неоптерин

ЯК – язвенный колит

IL – интерлейкин

TNF α – фактор некроза опухоли альфа