

На правах рукописи

ПАХНОВА Лия Руслановна

**КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ
СХЗСL1 И IL-22 У ДЕТЕЙ
С АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ И
ПАТОЛОГИЕЙ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

14.01.08 – Педиатрия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Астрахань – 2019

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

Научный руководитель:

БАШКИНА Ольга Александровна, доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты:

РЕВЯКИНА Вера Афанасьевна, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр питания и биотехнологии», отделение аллергологии, заведующая отделением

МАЛЮЖИНСКАЯ Наталья Владимировна, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра детских болезней педиатрического факультета, заведующая кафедрой

Ведущая организация: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Защита состоится «8» ноября 2019 г. в ___ часов на заседании совета Д 208.005.02 по защите диссертаций на соискание учёной степени кандидата наук, на соискание учёной степени доктора наук при ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России (414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, 121).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России <http://astgmu.ru/>.

Автореферат разослан « _____ » _____ 2019г.

Учёный секретарь диссертационного совета, к.м.н.
Севостьянова Ирина Викторовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

Проблема атопического дерматита (АтД) имеет большое медико-социальное значение в связи со значительной распространенностью, неуклонным ростом заболеваемости от 15,0% до 35,0% у взрослого населения и от 20,0% до 50,0% случаев выявления у детей раннего возраста, ранним дебютом и увеличением случаев тяжелого фармакорезистентного непрерывно–рецидивирующего течения, что нередко приводит к инвалидности (до 65,0% случаев), резкому снижению качества жизни, формированию психосоматических расстройств и социальной дезадаптации [Намазова-Баранова Л.С., 2011; Балаболкин И.И., 2013; Ревякина В.А., 2018; Федоскова Т.Г., 2018; Taniuchi S., 2018; Paller A.S., 2019].

Изучению патоморфогенеза и иммуногенеза АтД посвящено большое количество работ. Сложилось представление о том, что одной из возможных причин ранней манифестации и поддержания хронического течения АтД является наличие коморбидной патологии желудочно-кишечного тракта [Малюжинская Н.В., 2014], в частности панкреатита [Ардатова И.Г., 2018].

Все это подчеркивает актуальность и необходимость поиска новых путей решения проблемы, в том числе выявление новых предикторов и промоуторов возникновения АтД и коморбидной патологии поджелудочной железы (ПЖ) у детей на основе комплексной оценки клинико-лабораторных данных, анализа ультразвуковой характеристики ПЖ, изучения полиморфизма гена филагрина (FLG) и уровней фракталкина (CX3CL1), интерлейкина-22 (IL-22) в сыворотке крови, что имеет важную научно-практическую значимость для объективизации диагностики и течения заболевания, и будет способствовать совершенствованию лечения.

Степень разработанности темы исследования

Патогенез АтД является многофакторным с участием иммунной, нервной, эндокринной, пищеварительной систем, где главную роль в развитии заболевания играет наследственная предрасположенность, реализующаяся дисфункцией иммунной системы. В связи с этим изучению патоморфогенеза и иммуногенеза данной патологии было посвящено большое количество работ.

Анализ современной литературы показывает, что систематизированного изучения влияния коморбидной патологии ПЖ в патогенезе АтД у детей ранее не проводилось. Патогенетические механизмы развития коморбидной патологии ПЖ и АтД до сих пор не известны, отсутствуют достоверные лабораторные критерии активности не только самого АтД, диагностика которого в настоящее время преимущественно основана на визуализации кожных покровов, но и сопутствующей патологии, что имеет свои последствия в виде нечеткости рекомендаций по адекватному лечению [Логунов О.В., 2016; Елисютина О.Г., 2018].

В настоящее время сделаны попытки выявить биохимические параметры, позволяющие предсказать развитие АтД и тяжесть его течения у детей с генетической предрасположенностью, но эти лабораторные показатели не нашли широкого практического применения. Генетическая предрасположенность к аллергии считается ведущим фактором развития АтД, при этом до сих пор остается неясным, каким образом взаимодействие факторов окружающей среды и генетических изменений участвует в детерминации АтД, а диагностический поиск чаще сводится к выявлению модификаций генов иммунного воспаления и наличия их ассоциаций с клиническими симптомами АтД [Gittler J.K., 2017; Lee S., 2018].

Цель исследования: Установить клинико-диагностическую роль коморбидной патологии поджелудочной железы у детей с atopическим дерматитом различной степени тяжести на основании совокупности ультразвуковых признаков и значения уровней фракталкина и интерлейкина-22 в сыворотке крови, а также полиморфизма гена филаггрина.

Задачи исследования

1. Установить частоту коморбидной патологии ПЖ у детей с АтД. Определить у детей с atopическим дерматитом совокупность дифференциально-диагностических ультразвуковых признаков для интерпретации патологии ПЖ.
2. Определить клинико-диагностическое значение уровней CX3CL1 и IL-22 в сыворотке крови у детей с АтД различной степени тяжести и коморбидной патологией ПЖ.

3. Оценить роль полиморфизма гена филагтрина у детей в развитии АтД и коморбидной патологией ПЖ.
4. Разработать алгоритм дифференциально-диагностических критериев оценки степени тяжести АтД и сочетанной патологии ПЖ.

Научная новизна исследования

В результате проведенного комплексного УЗИ ПЖ и доплерографии сосудов брюшной полости с применением постпрандиального метода оценки ПЖ установлена совокупность признаков, свидетельствующая о характере поражений ПЖ у детей с АтД. Определены нормальные значения уровней CX3CL1 и IL-22 в сыворотке крови у здоровых детей в возрасте от 1 года до 3 лет. Определена клинико-диагностическая роль параметров уровней цитокинов CX3CL1 и IL-22 в сыворотке крови у детей в оценке степени тяжести АтД и коморбидной патологии ПЖ. Получены данные о частоте встречаемости полиморфных маркеров rs61816761(c.1501C>A) и rs558269137(c.2282_2285del) в гене FLG у детей с АтД различной степени тяжести в Астраханской области. Разработан алгоритм дифференциально-диагностических критериев оценки степени тяжести АтД и сочетанной патологии ПЖ у детей.

Теоретическая и практическая значимость работы

Выявленная совокупность ультразвуковых признаков и параметров доплерографии сосудов брюшной полости в сочетании с постпрандиальным сканированием ПЖ у детей с АтД различной степени тяжести может быть рекомендована для дифференциальной диагностики ХП и РП или физиологического состояния ПЖ.

Установленные показатели уровней CX3CL1 и IL-22 в сыворотке крови у здоровых детей в возрасте от 1 года до 3 лет могут быть использованы в качестве контрольных значений при исследовании у детей с различной патологией.

Определены параметры уровней CX3CL1 и IL-22 в сыворотке крови для диагностики степени тяжести АтД у детей. Повышенные уровни CX3CL1 и IL-22 в сыворотке крови определяют активность воспалительных процессов при АтД и патологии ПЖ у детей, что может быть рекомендовано в качестве дифференциально-диагностических критериев для оценки степени тяжести АтД и коморбидной патологии.

Проведенный анализ полиморфных маркеров rs61816761(с.1501C>A) и rs558269137(с.2282_2285del) гена FLG у детей с АтД различной степени тяжести в Астраханской области выявил частоту встречаемости мутаций, которая составила 3,0%.

Методология и методы исследования

В работе использованы методы общеклинического и лабораторного исследования в соответствии со стандартами обследования больных с АтД [приказ МЗ РФ от 28.12.2012 г. № 1613н «Об утверждении стандарта специализированной медицинской помощи при тяжелых формах АтД»]. УЗИ ПЖ проводили в серошкальном «В» режиме, оценивали эхоструктуру и размеры [Пыков М.И., 2014] натощак и после завтрака с определением постпрандиального коэффициента (ППК1) по приросту суммы размеров ПЖ [Римарчук Г.В. патент РФ №2163464 от 27.02.2001 г.]. В режиме импульсной доплерометрии (ИД) натощак и после завтрака оценивали линейную скорость кровотока (ЛСК) с вычислением ППК2 в верхней брыжеечной артерии (ВБА) и в сосудах микроциркуляторного русла тела ПЖ с вычислением ППК3. Также в режиме ИД определяли индекс резистентности (RI) в ВБА и микроциркуляторных сосуда ПЖ.

Методом иммуноферментного анализа определяли содержание CX3CL1 и IL-22 в сыворотке крови. Генотипы полиморфных маркеров rs61816761(с.1501C>A) и rs558269137(с.2282_2285del) экзон 03 гена FLG анализировали методом полимеразной цепной реакции.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Развитие АтД у детей сопровождается коморбидной патологией ПЖ, выявленной по данным УЗИ в виде изменений эхоструктуры и размеров ПЖ. У детей с АтД интерпретация изменений эхоструктуры и размеров ПЖ возможна при определении совокупности признаков комплексного УЗИ, ИД ВБА и сосудов микроциркуляторного русла ПЖ с постпрандиальной оценкой реакции железы.
2. Степень тяжести АтД у детей коррелирует с нарушениями цитокиновой регуляции иммунореактивности, проявляющимися выраженным повышением уровней CX3CL1 и IL-22 в сыворотке крови.

3. У детей с АтД и патологией ПЖ выявлена прямая ассоциативная связь между параметрами уровней СХЗСL1 и IL-22 в сыворотке крови и степени тяжести АтД.
4. Развитие АтД у детей в Астраханской области ассоциировано с мутацией rs558269137(c.2282_2285del) в гене FLG в 3,0 % случаев. Анализ полиморфного маркера – rs61816761(c.1501C>A) гена FLG у детей с АтД различной степени тяжести не показал своей диагностической значимости.

Степень достоверности и апробация диссертации

Степень достоверности результатов исследования определяется включением 342 детей больных АтД, наличием контрольной группы, с равным соотношением по полу и возрасту детей, применением современных инструментальных, лабораторных и генетических методов диагностики. Анализ полученных данных подтвержден современными методами статистической обработки.

Материалы диссертации представлены на IX российской научно-практической конференции «Санкт-Петербургские чтения» (Санкт – Петербург, 2015), IV всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Инновации в здоровье нации» (Москва, 2016), межрегиональном форуме с международным участием «Клиническая иммунология и аллергология – междисциплинарные проблемы» (Казань, 2016); международной медико-биологической научной конференции молодых исследователей "Фундаментальная наука и клиническая медицина. Человек и его здоровье" (Санкт-Петербург, 2017); международном медицинском форуме «Вузовская наука. Инновации», в рамках финала по научно-инновационной платформе «Педиатрия» (ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, 2018), медицинском профессорском форуме «Межотраслевая интеграция и передовые технологии в здравоохранении» (Ярославль, 2018); XII Всемирном конгрессе по астме, ХОБЛ и иммунопатологии, I Международном конгрессе по молекулярной аллергологии, Всемирной школе по аллергии (WATS) в рамках финала молодежной олимпиады по аллергологии и иммунологии (Москва, 2018); конкурсе «Надежда России» РосСНИО в области науки и техники, проводимого в целях содействия инновационному развитию экономики

страны, воспитания и поддержки молодых творчески одаренных и нестандартно мыслящих научных кадров (Москва, 2019).

Внедрение результатов работы

Исследование уровней сывороточного СХЗСL1 и IL-22 для оценки степени тяжести АтД у детей внедрено в практическую работу ГБУЗ АО «Областная детская клиническая больница им. Н.Н. Силищевой». Теоретические положения диссертации применяются в научном и учебном процессах со студентами и клиническими ординаторами на кафедрах педиатрии и неонатологии, госпитальной педиатрии с курсом последиplomного образования, факультетской педиатрии ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России.

Связь с планом научных исследований

Диссертация выполнена в соответствии с планом научно-исследовательской работы ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России в рамках комплексно-целевой программы «Клинико-лабораторные и иммуногенетические предикторы развития atopических заболеваний». Номер государственной регистрации № 114070770018 от 07.07.14.

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации опубликовано 19 научных работ, из них 1 – в международной базе Scopus, 5 – в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ для публикации основных научных результатов диссертации на соискание учёной степени кандидата медицинских наук. Получено 4 патента на изобретение.

Структура и объем работы

Диссертационная работа изложена на 135 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, характеристики групп наблюдения, методов исследования, 3-х глав собственных исследований, заключения, выводов и практических рекомендаций. Текст иллюстрирован 9 таблицами, 17 рисунками, 2 клиническими примерами. Указатель литературы содержит 276 источника, из них 120 – отечественных и 156 – зарубежных.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проведено на кафедре факультетской педиатрии ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России и в аллергологическом отделении ГБУЗ АО «Областная детская клиническая больница им. Н.Н.Силищевой».

Дизайн работы основан на проведении открытого сравнительного проспективного рандомизированного исследования в параллельных группах. После стандартизированного обследования детей при установленном диагнозе АтД, проведено исследование, которое состояло из 3 этапов: анализ совокупности УЗ признаков патологии ПЖ у детей с АтД; определение клинико-диагностической значимости уровней CX3CL1 и IL-22 в сыворотке крови у детей с коморбидной патологией: АтД и РП; определение роли мутации с.2282_2285del и с.1501C>T в гене FLG в патогенезе АтД.

Критериями включения в исследование стали дети с АтД различной степени тяжести в периоде обострения, при наличии информированного добровольного согласия родителей на участие в исследовании. Критериями исключения служили наличие соматических или иных аллергических воспалительных заболеваний (острая и хроническая крапивница, аллергический риноконъюнктивит, бронхиальная астма и др.). В ходе выполнения исследования критерии включения/исключения были сформулированы в соответствии с поставленными на каждом этапе работы задачами.

В работе применяли:

1. Методы общеклинического и лабораторного исследования в соответствии со стандартами обследования больных с АтД;
2. УЗИ ПЖ, ИД ВБА и сосудов микроциркуляторного русла ПЖ на ультразвуковых сканерах: «GE Voluson S8» (США), «Vivid S5» (Корея), «АЛОКА-4000» (Япония) конвексным датчиком с частотой 1,5–6 МГц и линейным датчиком с частотой 4–13 МГц;
3. Иммуноферментный анализ содержания CX3CL1 и IL-22 в сыворотке крови с помощью наборов «RayBio Human Fractalkine» фирмы «RayBiotech, Inc» (США) и «Bender MedSystems Human IL-22 ELISA» фирмы «eBioscience, Bender MedSystems» (США) соответственно;

4. Метод полимеразной цепной реакции для оценки генотипов полиморфных маркеров rs61816761(с.1501C>A) и rs558269137(с.2282_2285del) гена FLG с последующим рестрикционным анализом и секвенированием. ДНК выделяли методом фенол-хлороформной экстракции [Green M.R., Sambrook J., 2012].

5. Методы статистической обработки: с использованием пакетов программ MS Office Excel 2003 (Microsoft), STATISTICA v.7.0 («StatSoft, Inc.», США). Нормальность распределения количественных показателей определяли с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Для описания полученных количественных признаков результаты представляли в виде Me (Q1 (25%) и Q3 (75%)). Для оценки связи между параметрами применялся коэффициент линейной корреляции χ^2 Pearson. Количественную оценку линейной зависимости между двумя случайными величинами определяли с помощью коэффициента ранговой корреляции RS. Для выбора критерия оценки значимости различий проверяли соответствие формы распределения нормальному, использован метод рангового анализа Kruskal-Wallis test. Значимость различий в группах сравнения оценивали при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам стандартизированного УЗИ органов брюшной полости 342 детям с АтД (мальчиков 184 (53,8%), девочек 158 46,2%) в возрасте от 1 года до 16 лет 11 месяцев 29 дней, РП в виде неоднородной, повышенной эхогенности паренхимы, изменения размеров, а также сочетание этих признаков выявлен у 177 детей (51,8%), у 165 детей (48,2%) патологии ПЖ не выявлено. В группе контроля, состоящей из 60 здоровых детей аналогичного возраста, РП обнаружен у 6 (10,0%) детей, $\chi^2=35,88$, $df=1$, $p=0,001$ ($p < 0,05$).

Для интерпретации выявленных изменений ПЖ детям выполняли постпрандиальное исследование с расчетом коэффициента 1 (ППК1) [Римарчук Г.В. патент РФ №2163464 от 27.02.2001]. У 21 (11,9%) ребенка с АтД через 1,5 часа после еды сумма размеров ПЖ возросла менее чем на 5,0%, медиана 4,3 [3,1; 4,7] vs 4,1

[3,0; 4,6], $p=0,012$ ($p<0,05$); при этом паренхима была неоднородной, повышенной экзогенности, что подтверждает наличие хронического латентного панкреатита. 13 (61,9%) детей предъявляли жалобы на периодически возникающие боли в животе, связанные с приемом пищи; тошноту или рвоту, метеоризм, однако при биохимическом исследовании изменения уровней ферментов не выявлено, в анализе кала отмечены признаки непостоянной стеатореи. У 117 (66,1%) детей суммарные размеры ПЖ увеличились до 10,0%, медиана 3,1 [2,6; 3,7] vs 3,4 [2,8; 4], $p=0,023$ ($p<0,05$); паренхима железы была неоднородной, нормальной экзогенности. Клинически данная патология проявлялась болями в животе у 42 детей (35,9%). У 75 (64,1%) детей изменения ПЖ были ультразвуковой «находкой» при отсутствии клиничко-лабораторного подтверждения панкреатита. У 39 (22,0%) детей диагностирована физиологическая реакция ПЖ на прием пищи с постпрандиальным увеличением ПЖ более 10,0%. Умеренное увеличение размеров ПЖ при нормальной паренхиме свидетельствует о функциональном приросте размеров железы, медиана – 2,5 [1,8; 3,0] vs 2,9 [2,2; 3,5], $p=0,004$ ($p<0,05$). Частота выявления УЗ-признаков хронического латентного панкреатита, достоверно увеличивается при нарастании степени тяжести АтД (рисунок 1).

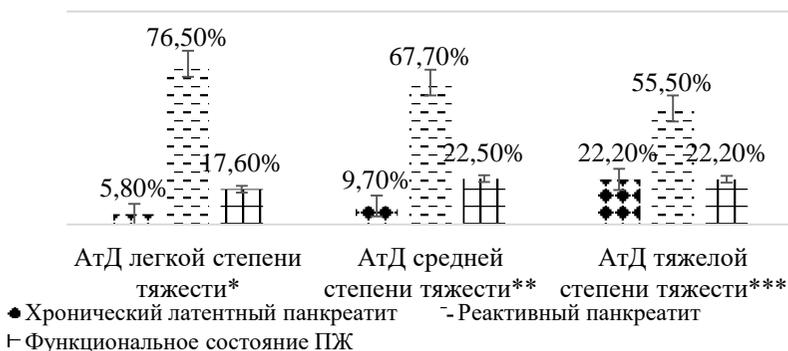


Рисунок 1 – Распределение больных АтД различной степени тяжести по характеру поражений ПЖ, % (n=177) (* – $p>0,05$; ** – $p<0,05$; *** – $p<0,05$).

Для оценки васкуляризации ПЖ определяли ЛСК и RI в ВБА и микроциркуляторном русле ПЖ натошак и через 1,5 часа после еды с помощью ППК2 и ППК3 [Полякова С.И., патент РФ № 2293523 от 20.02.2007]. Данные постпрандиального локального исследования в микроциркуляторном русле ПЖ по сравнению с ВБА отличались большей точностью, в связи с исключением влияния крупных соседних артерий. У 16 (9,0%) детей с АтД выявлено отсутствие рабочей гиперемии, ППК3 в сосудах микроциркуляторного русла ПЖ был ниже 1,1 и ЛСК была снижена до и после еды, медиана – 15 [15; 16,5] vs 13 [12; 15], $p=0,015$ ($p<0,05$), а при ИД – RI снижен до и после еды, медиана составила 0,52 [0,48; 0,54] vs 0,48 [0,45; 0,51], $p=0,02$ ($p<0,05$), что подтверждает хроническое латентное течение панкреатита. Структура железы была диффузно-неоднородной, повышенной эхогенности до и после еды. У 122 (68,9%) ребенка с АтД выявлен РП, ППК3 в сосудах микроциркуляторного русла ПЖ был в диапазоне от 1,1 до 1,5 и ЛСК, медиана составила 19 [18; 20] vs 29 [26; 33] до и после еды, $p=0,021$ ($p<0,05$), а при ИД – RI снижен до и после еды, медиана составила 0,57 [0,53; 0,56] vs 0,55 [0,52; 0,56], $p=0,011$ ($p<0,05$).

Структура ПЖ по данным «серошкального» УЗИ была неоднородной, повышенной эхогенности до и после еды. У 39 (22,0%) ребенка с АтД выявлена физиологическая реакция ПЖ на прием пищи, ППК3 в сосудах микроциркуляторного русла ПЖ – более 1,5; ЛСК медиана 18 [17; 21] vs 37 [33; 40] до и после еды, $p=0,016$ ($p<0,05$), а при ИД – нормальные значения RI до и после еды, медиана 0,65 [0,64; 0,66] vs 0,67 [0,66; 0,68], $p=0,011$ ($p<0,05$), что подтверждает хорошие адаптационные возможности ПЖ.

По данным оценки кровотока в ВБА УЗ-признаки ХП выявлены у 21 ребенка, а при ИД сосудов микроциркуляторного русла ПЖ всего лишь у 16 детей, УЗ патология ПЖ пяти детей была расценена как реактивные изменения, что позволило избежать дальнейших корректирующих шагов в лечении. Таким образом, по данным оценки микроциркуляторного русла признаки хронического латентного панкреатита выявлены у 16 детей, реактивного у 122 детей, функциональное состояние ПЖ установлено у 39 де-

тей. Выявлена зависимость между параметрами постпрандиального изменения размеров ПЖ и ЛСК в ВБА и микроциркуляторных сосудах при РП и функциональном состоянии ПЖ.

На следующем этапе работы определяли клинико-диагностическую роль СХЗСЛ1 у детей с АтД и РП. В результате выявлено повышение уровня СХЗСЛ1 у 90 детей с АтД в возрасте от 1 года до 2 лет 11 месяцев 29 дней, среди них мальчиков – 45 (50,0%), девочек – 45 (50,0%) по сравнению с 20 здоровыми лицами от 1 года до 2 лет 11 месяцев 29 дней, медиана 185,45 [95,65; 294,55] vs 8,85 [4,10; 28,83] пг/мл, Kruskal-Wallis test: $H(1, N=110)=48,65, p=0,00005 (p<0,05)$. Установлена прямая корреляционная зависимость сильной степени выраженности между параметрами СХЗСЛ1 и индекса SCORAD ($RS=0,7019, p=0,0015$ при $p<0,05$). Диапазон нормальных значений СХЗСЛ1 – 3,3-35,3 пг/мл.

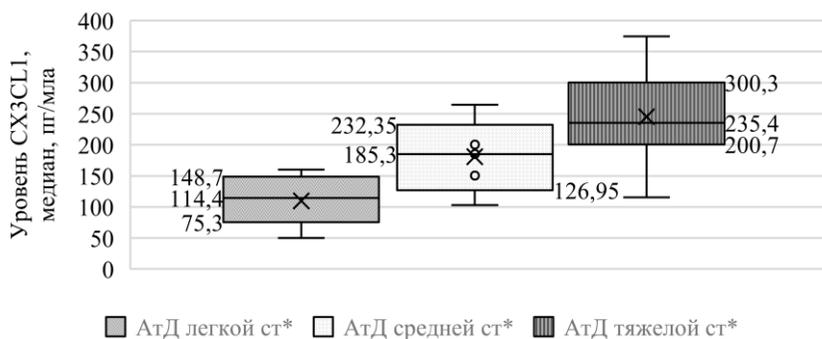


Рисунок 2 – Уровень СХЗСЛ1 в сыворотке крови у больных АтД различной степени тяжести, медиана [25; 75 перцентиль], пг/мл (*–достоверность различий при сравнении между группами $p<0,05$).

По характеру течения АтД выделили несколько групп: с АтД легкого течения (19 (21,1%) детей); средней степени тяжести (41 (45,6%)) и с АтД тяжелого непрерывно-рецидивирующего течения (30 (33,3%)). По мере увеличения степени тяжести АтД уровень СХЗСЛ1 повысился более чем на 20,0% в каждой группе пациентов, Kruskal-Wallis test: $H(2, N=90)=46,03, p=0,00004$

($p < 0,05$) (рисунок 2), что объяснимо активацией клеточного иммунного ответа, приводящей к инфильтрации очага Т-лимфоцитами, диапедезу клеток через эндотелий и миграции в зону воспаления.

У 62 детей с АтД и РП было установлено статистически значимое повышение уровня СХЗСЛ1 по сравнению с группой 28 детей с АтД без РП, медиана 199,65 [178,20; 245,13] vs 118,60 [99,20; 166,20] пг/мл, Kruskal-Wallis test: $H(1, N=90)=25,82, p=0,0000004$ ($p < 0,05$). У больных АтД и РП с увеличением тяжести течения АтД наблюдалось нарастание уровней СХЗСЛ1 (таблица 1). Установлена прямая корреляционная зависимость сильной степени выраженности между параметрами уровня СХЗСЛ1 и ЛСК в микроциркуляторном русле ПЖ при РП, $RS=0,752, p=0,003$ при $p < 0,05$.

Результаты работы показывают, что параметры концентрации СХЗСЛ1 определяют выраженность атопических проявлений на коже при АтД. Доказано, что повышение уровня СХЗСЛ1 имеет связь с наличием сопутствующей патологии ПЖ при АтД.

Таблица 1 – Уровень СХЗСЛ1 в сыворотке крови у больных АтД различной степени тяжести в зависимости от наличия коморбидной патологии ПЖ – медиана [25; 75 перцентиль]

Группы детей	СХЗСЛ1 (пг/мл)	$p < 0,05$
АтД легкой степени тяжести «+» РП (n=10)	150,10 [142,10; 154,80]	* $p=0,0012$ 56
АтД легкой степени тяжести «-» РП (n=9)	80,90 [63,70; 85,50]	
АтД средней степени тяжести «+» РП (n=28)	189,45 [179,00; 201,85]	** $p=0,020$ 329
АтД средней степени тяжести «-» РП (n=13)	136,40 [100,10; 176,30]	
АтД тяжелой степени тяжести «+» РП (n=24)	287,20 [212,25; 307,20]	*** $p=0,00$ 0093
АтД тяжелой степени тяжести «-» РП (n=6)	186,40 [163,70; 196,60]	

Примечание: достоверность различий при сравнении между группами * $p < 0,05$; ** $p < 0,05$; *** $p < 0,05$

Изучение диагностической роли IL-22 в патогенезе АтД проведено у 90 детей, уровень IL-22 был повышен у всех детей с АтД по сравнению с здоровыми детьми, медиана 194,60 [151,70;

270,15] vs 9,80 [3,45; 29,41] пг/мл, Kruskal-Wallis test: $H(1, N=110)=48,65, p=0,00001 (p<0,05)$. Установлена прямая корреляционная зависимость умеренной степени между уровнем IL-22 и индексом SCORAD ($RS=0,674, p=0,005$ при $p<0,05$). Диапазон нормальных значений IL-22 составил 5,0-31,3 пг/мл. Далее проведено изучение уровня IL-22 в сыворотке крови у 90 детей с АД различной степени тяжести (19 детей с АД легкой степени, 41 ребенок с АД средней степени тяжести и 30 детей с тяжелым непрерывно-рецидивирующим течением), Kruskal-Wallis test: $H(2, N=90)=44,99, p=0,00001 (p<0,05)$ (рисунок 3).

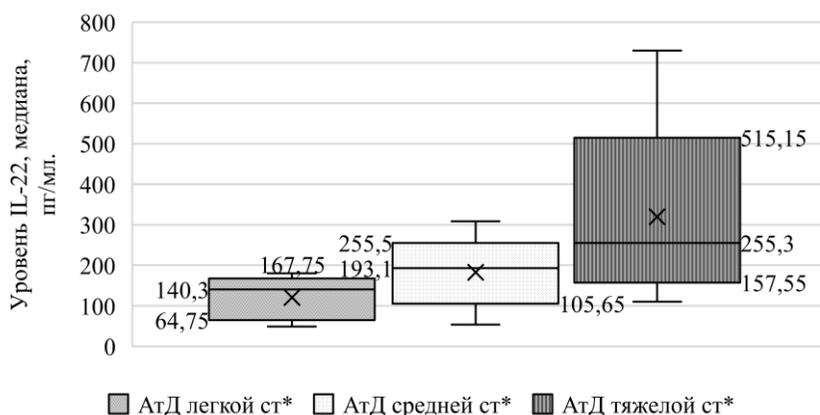


Рисунок 3 – Уровень IL-22 в сыворотке крови у больных АД различной степени тяжести, медиана [25; 75 перцентиль], пг/мл (*–достоверность различий при сравнении между группами $p<0,05$).

Содержание IL-22 повышалось у детей по мере увеличения степени тяжести АД, что обусловлено значительным количеством задействованных в патологическом процессе тучных клеток, которые продуцируют IL-22.

Сравнительный анализ уровня IL-22 у 62 детей с АД и РП показал более высокие значения IL-22 по сравнению с группой 28 детей с АД, Kruskal-Wallis test: $H(1, N=90)=24,59, p=0,0000007 (p<0,05)$ (таблица 2), что говорит о высокой диагностической значимости уровня IL-22 у детей с АД и патологией ПЖ. Установ-

лена прямая корреляционная зависимость сильной степени выраженности между параметрами уровня IL-22 и ЛСК в микроциркуляторном русле ПЖ при РП, $RS=0,737$, $p=0,003$ при $p<0,05$.

Таблица 2 – Уровень IL-22 в сыворотке крови при коморбидной патологии (АтД «+» РП) и монопатологии (АтД) в зависимости от степени тяжести, медиана [25; 75 перцентиль]

Группы детей	IL-22 (пг/мл)	p
АтД легкой степени тяжести «+» РП (n=10)	152,20 [148,80; 160,10]	*p=0,028
АтД легкой степени тяжести «-» РП (n=9)	74,30 [67,20; 80,10]	
АтД средней степени тяжести «+» РП (n=28)	196,35 [189,55; 200,40]	**p=0,031
АтД средней степени тяжести «-» РП (n=13)	155,40 [87,20; 186,30]	
АтД тяжелой степени тяжести «+» РП (n=24)	266,20 [238,15; 306,45]	***p=0,034
АтД тяжелой степени тяжести «-» РП (n=6)	177,75 [143,10; 201,10]	

Примечание: достоверность различий при сравнении между группами * $p<0,05$; ** $p<0,05$; *** $p<0,05$

Задачей следующего этапа работы было изучение наиболее часто встречающихся генотипов полиморфных маркеров: rs61816761(с.1501C>A) и rs558269137(с.2282_2285del) гена FLG у 66 детей (из них мальчиков 46, девочек 22) с АтД различной степени тяжести в возрасте от 1 года до 4 лет 11 месяцев 29 дней и 20 условно здоровых детей, аналогичного возраста. Выявлено двое детей, являющихся гетерозиготными носителями мутации с.2282_2285del в гене FLG, что составило 3,0% от общей группы больных детей; мутация с.1501C>T гена FLG не была найдена. В группе контроля мутаций выявлено не было.

Результаты комплексного клинико-инструментального и лабораторного исследования детей с АтД различной степени тяжести и также в сочетании с коморбидной патологией ПЖ позволили нам сформировать дифференциально-диагностических алгоритм.

АТОПИЧЕСКИЙ ДЕРМАТИТ
(диагноз установлен на основании данных стандартизированного обследования)

УЗИ органов брюшной полости

Реактивные изменения поджелудочной железы «+»

-Постпраксидальное УЗИ ПЖ, расчет суммы размеров ПЖ до и после еды, определение ППК1, (%):
<5 – ХП
5-10 – РП
>10 – нормальная реакция ПЖ
-ИД сосудов микроциркуляторного русла ПЖ, измерение ЛСК (см/с) до и после еды, определение ППК3:
<1,1 – ХП
1,1–1,5 – РП
>1,5 – нормальная реакция ПЖ

Определение уровня цитокинов в сыворотке крови, (пг/мл)

↑CX3CL1

<150 – легкая степень АтД
150–199 – средняя степень АтД
>200 – тяжелая степень АтД

↑IL-22

<155 – легкая степень АтД
155–200 – средняя степень АтД
>201 – тяжелая степень АтД

Реактивные изменения поджелудочной железы «-»

Определение уровней цитокинов в сыворотке крови, (пг/мл)

↑CX3CL1

<80 – легкая степень АтД
81–140 – средняя степень АтД
>141 – тяжелая степень АтД

↑IL-22

<75 – легкая степень АтД
76–155 – средняя степень АтД
>156 – тяжелая степень АтД

ВЫВОДЫ

1. Доказано, что у больных АтД в 51,8% случаев выявляются ультразвуковые признаки реактивных изменений поджелудочной железы, при отсутствии значимых клинико-лабораторных данных экзокринной панкреатической недостаточности. С увеличением степени тяжести заболевания АтД возрастает удельный вес пациентов, у которых при комплексном ультразвуковом исследовании с оценкой кровотока выявляются начальные признаки хронического латентного панкреатита. Выявлена обратная тенденция при усугублении степени тяжести основного заболевания: снижается частота выявления ультразвуковых признаков реактивного панкреатита, что свидетельствует об обратимости выявленных изменений, а также играет важную диагностическую роль в оценке степени тяжести АтД.

2. Определено у всех исследуемых детей с АтД диагностически значимое повышение уровней CX3CL1 и IL-22 в сыворотке крови по сравнению с группой контроля ($p < 0,05$), что находилось в прямой корреляционной зависимости сильной и умеренной степени выраженности между концентрацией CX3CL1/индексом SCORAD $RS=0,7019$, $p=0,0015$ ($p < 0,05$) и концентрацией IL-22/индексом SCORAD $RS=0,674$ $p=0,005$ ($p < 0,05$) соответственно. Результаты показали увеличение уровней медианы CX3CL1 и IL-22 в сыворотке крови при повышении степени тяжести АтД ($p < 0,05$).

У детей с АтД, сопровождающимся реактивными изменениями ПЖ, определено диагностически значимое повышение уровней CX3CL1 и IL-22 в сыворотке крови по сравнению с группой детей, у которых отмечалось наличие только АтД, ($p < 0,05$).

3. Выявлена гетерозиготная мутация с.2282_2285del в гене FLG у 2 детей (3,0%) с АтД средней степени тяжести, что свидетельствует о генетически детерминированном развитии АтД у данных пациентов, и о преобладании в большинстве случаев других патогенетических механизмов развития заболевания.

4. Разработан алгоритм оценки степени тяжести АтД и наличия коморбидной патологии ПЖ, включающий изучение уровней CX3CL1 и IL-22, совокупность ультразвуковых признаков изменения экоструктуры и размеров ПЖ, кровотока по ВБА и сосудам

микроциркуляторного русла железа, показателей постпрандиального коэффициента, который позволит объективизировать диагностику и прогнозирование дальнейшего течения заболевания.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Внедрить УЗИ ПЖ с применением постпрандиальной методики и ИД паренхиматозных сосудов у детей с АтД различной степени тяжести и коморбидной патологией ПЖ для интерпретации полученных изменений стандартного ультразвукового сканирования, а именно хронического латентного или РП и физиологического состояния ПЖ.
2. Рекомендовать повышенные уровни СХЗСL1 и IL-22 в сыворотке крови у детей с АтД и коморбидной патологией ПЖ использовать в качестве диагностических критериев активности атопического воспалительного процесса кожи и сочетанной патологии ПЖ.
3. Рекомендовать в качестве референсных значений у здоровых детей в возрасте от 1 года до 3 лет принимать уровень СХЗСL1 в сыворотке крови от 3,3 до 35,3 пг/мл, уровень IL-22 – от 5,0 до 31,3 пг/мл.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Пахнова, Л.Р. Роль мутаций гена филаггрина в патогенезе атопического дерматита / Л.Р. Пахнова, О.А. Башкина, Бен Мбарек Макрем, А.В. Кокуев, Д.В. Пахнов, Е.В. Красилова, Л.П. Макухина, Р.А. Такташев, Е.Б. Касымова // Астраханский медицинский журнал. – 2016. – № 1. – С. 30–37.
2. Пахнова, Л.Р. Патология гепатопанкреатобилиарной системы у детей с атопическим дерматитом / Л.Р. Пахнова, О.А. Башкина, М.А. Самотруева, А.В. Кокуев, Д.В. Пахнов // Казанский медицинский журнал. – 2017. – Т. 98, № 6. – С. 932–937.
3. Пахнова, Л.Р. Клинико-диагностическое и прогностическое значение уровня интерлейкина-22 в сыворотке крови у детей с атопическим дерматитом и патологией поджелудочной железы / Л.Р. Пахнова, О.А. Башкина, М.А. Самотруева // Аллергология и иммунология. – 2018. – Т. 19, № 4. – С.190–193.

4. Пахнова, Л.Р. Прогностическая значимость уровня фракталкина у детей с атопическим дерматитом / Л.Р. Пахнова, О.А. Башкина, М.А. Самотруева, Е.Б. Касьмова // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2019. – Т. 14, № 1.1. – С. 91–94. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14058>.
5. Пахнова, Л.Р. Клинико-диагностическое и прогностическое значение уровня интерлейкина-22 в сыворотке крови у детей с атопическим дерматитом / О.А. Башкина, М.А. Самотруева, Л.Р. Пахнова // Российский медицинский журнал. – 2019. – № 3. – С. 15–18.
6. Пахнова, Л.Р. Пат. 2630063 Рос. Федерация, МПК G01N 33/53 Способ прогнозирования степени тяжести атопического дерматита у детей / Бен Мбарек Макрем, О.А. Башкина, Х.М. Галимзянов, Л.В. Сароянц, Л.Р. Пахнова; заявитель и патентообладатель федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Астраханский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России). – № 2016127920; заявл. 11.07.2016; опубл. 05.09.2017. Бюл. № 25.
7. Пахнова, Л.Р. Пат. 2666220 Рос. Федерация, МПК А61К/06 Лечебно-косметическое средство для больных атопическим дерматитом / О.А. Башкина, И.А. Брынцева, М.А. Самотруева, Л.Р. Пахнова, А.А. Цибизова, С.А. Тимошин, Е.С. Авдеева; заявитель и патентообладатель федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Астраханский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России), федеральное бюджетное учреждение Центр реабилитации Фонда социального страхования Российской Федерации «Тинаки» (ФБУ Центр реабилитации Фонда социального страхования РФ «Тинаки»). – № 2017144460; заявл. 18.12.2017; опубл. 06.09.2018. Бюл. № 25.
8. Пахнова, Л.Р. Пат. 2666222 Рос. Федерация, МПК А61К/06 Средство для лечения атопического дерматита. Патент на изобретение / О.А. Башкина, И.А. Брынцева, М.А. Самотруева, Л.Р. Пах-

нова, А.А. Цибизова, С.А. Тимошин, Е.С. Авдеева; заявитель и патентообладатель федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Астраханский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России), федеральное бюджетное учреждение Центр реабилитации Фонда социального страхования Российской Федерации «Тинаки» (ФБУ Центр реабилитации Фонда социального страхования РФ «Тинаки»). – № 2017145010; заявл. 20.12.2017; опубл. 06.09.2018. Бюл. № 25.

9. Пахнова, Л.Р. Пат. 2677481 Рос. Федерация, МПК А61К/06 Способ прогнозирования степени тяжести атопического дерматита у детей / О.А. Башкина, Л.Р. Пахнова, Х.М. Галимзянов, М.А. Самотруева, С.А. Голубкина, Е.Б. Касымова, Бен Мбарек Макрем; заявитель и патентообладатель федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Астраханский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России). – № 2017144737; заявл. 19.12.2017; опубл. 17.01.2019. Бюл. № 25.

10. Pakhnova, L.R. Prognostic significance of fractalkin level in children with atopic dermatitis / L.R. Pakhnova // Int Journal on Immunorehabilitation. – 2019. – Vol. 21, № 1. – P. 25.

11. Пахнова, Л.Р. Особенности эпидемиологического течения атопического дерматита у детей Астраханской области / Бен Мбарек Макрем, О.А. Башкина, Л.Р. Пахнова, Е.Ю. Янчевская, О.В. Логунов // Санкт-Петербургские дерматологические чтения IX Российская научно-практическая конференция. – 2015. – С. 33–35.

12. Пахнова, Л.Р. Ультразвуковые маркеры панкреатопатии у детей с атопическим дерматитом / А.В. Кокуев, Л.Р. Пахнова, Бен Мбарек Макрем, Е.В. Красилова // Российский аллергологический журнал. – 2016. – Т. 2, № 3. – С. 27–28.

13. Пахнова, Л.Р. Патология гепатопанкреатобилиарной системы у детей с атопическим дерматитом / Л.Р. Пахнова, А.В. Кокуев, М.А. Самотруева, И.А. Брынцева, Д.В. Пахнов, Бен Мбарек Макрем, В.Ю. Лещинский, Е.С. Авдеева // Сборник материалов IV

- Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Инновации в здоровье нации», Санкт-Петербург, 9-10 ноября 2016 г. – СПб.: Изд-во СПХФА. – 2016. – С. 151–154.
14. Пахнова, Л.Р. Сонография поджелудочной железы при atopическом дерматите у детей / О.А. Башкина, Л.Р. Пахнова, О.П. Каменева, Бен МбарекМакрем, Д.В. Пахнов // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2016. – Т. 26, № 5. – С. 77.
15. Пахнова, Л.Р. Фракталкин - диагностический маркер воспалительных процессов / Л.Р. Пахнова // Материалы XX международной медико-биологической научной конференция молодых исследователей "Фундаментальная наука и клиническая медицина. Человек и его здоровье" СПб. – 2017. – С. 422.
16. Пахнова, Л.Р. Исследование уровня фракталкина при коморбидной патологии у детей / Л.Р. Пахнова, М.А. Самотруева, О.А. Башкина, А.В. Пасека, Е.В. Красилова // Всероссийская итоговая 77-я студенческая научная конференция им. Н.И. Пирогова (Томск, 24–26 апреля 2018 г.): сборник материалов / под ред. Г.Э. Черногорюка. – Томск: Изд-во СибГМУ. – 2018. – С. 505–506.
17. Пахнова, Л.Р. Исследование уровня интерлейкина-22 у детей с панкреатитом и atopическим дерматитом / Л.Р. Пахнова, О.А. Башкина, М.А. Самотруева, А.М. Симонян, А.В. Кокуев, Л.В. Петрухина // Сборник тезисов Международной научно-практической конференции «Гармонизация подходов к фармацевтической разработке. Москва, РУДН, 28 ноября. – 2018. – С. 149–151.
18. Пахнова, Л.Р. Фракталкин и его роль в регуляции воспалительной реакции / Л.Р. Пахнова, О.А. Башкина, М.А. Самотруева, Л.В. Петрухина // Сборник тезисов Медицинского профессорского форума «Межотраслевая интеграция и передовые технологии в здравоохранении», Ярославль, 5–6 декабря. – 2018. – С. 42–43.
19. Пахнова, Л.Р. Прогностическая значимость уровня фракталкина у детей с atopическим дерматитом / Л.Р. Пахнова // Аллергология и иммунология. – 2018. – Т. 19, № 3. – С.168.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АтД – Атопический дерматит

ВБА – Верхняя брыжеечная артерия

ИД – Импульсная доплерометрия

ЛСК – Линейная скорость кровотока

ПЖ – Поджелудочная железа

ППК – Постпрандиальный коэффициент

РП – Реактивный панкреатит

УЗИ – Ультразвуковое исследование

ХП – Хронический панкреатит

СХЗСL1 – Fractalkine (фракталкин)

СХЗСR1 – Рецептор фракталкина

FLG – Filaggrin (филаггрин)

IL-22 – Интерлейкин-22

RI – Индекс резистентности

Th – Т хелперы

ПАХНОВА Лия Руслановна

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ
СХЗСЛ1 И IL-22 У ДЕТЕЙ
С АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ И
ПАТОЛОГИЕЙ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

14.01.08 – Педиатрия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Подписано в печать

Тираж 100 экз. Заказ №

Издательство ФГБОУ ВО Астраханский государственный
медицинский университет Минздрава России
414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, 121