

На правах рукописи

ЕМЕЛЬЯНОВА Виктория Александровна

**ЦИТОХИМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ
ЛЕЧЕНИЯ У БОЛЬНЫХ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ
ЗАБОЛЕВАНИЯМИ КИШЕЧНИКА
И РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ**

Специальность 14.01.04 – Внутренние болезни

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Астрахань 2021

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

Научный руководитель:

ДЕМИДОВ Алексей Александрович, доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты:

ЗБОРОВСКАЯ Ирина Александровна, доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра госпитальной терапии, ВПТ, профессор кафедры

ОСАДЧУК Алексей Михайлович, доктор медицинских наук, профессор ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра гастроэнтерологии, профессор кафедры

Ведущая организация: Медицинская академия имени С.И.Георгиевского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского»

Защита состоится «___» _____ 2021 г. в ___ часов на заседании диссертационного совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук при ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России (414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, 121).

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

Автореферат разослан «___» _____ 2021 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

к.м.н.

Севостьянова Ирина Викторовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Исследования последних лет свидетельствуют об очевидной общности иммуновоспалительных механизмов развития воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК), а именно болезни Крона (БК), язвенного колита (ЯК) и ревматоидного артрита (РА) [Кунст М.А., Якупова С.П., Зинкевич О.Д., Абдракипов Р.З., Афанасьева М.А., Сухрокова Е.В., 2014].

В основе развития РА и ВЗК лежит дефект Т- и В-клеточных иммунных реакций с гиперпродукцией провоспалительных цитокинов и недостаточной продукцией противовоспалительных медиаторов, а также синтезом аутоантител, которые стимулируют органоспецифическое воспаление [Гусева И.А., Демидова Н.В., Сорока Н.Е. и др., 2013; Тутина О.А., 2010]. Общность нарушений иммунных механизмов при этих заболеваниях определяют общие подходы к их лечению [Абдулганиева Д.И., Салихов И.Г., 2011].

Ревматоидный фактор (РФ) при РА и антинейтрофильные цитоплазматические антитела (ANCA) при ЯК способны активировать моноциты и в большей степени нейтрофилы, обильно инфильтрирующие стенку кишечника и синовиальную оболочку соответственно, что способствует продукции последними ряда провоспалительных медиаторов, токсических метаболитов кислорода. Именно комплекс нейтрофил-макрофаг запускает развитие воспаления, склероза, регенерации, направленных на восстановление гомеостаза в тканях и организме в целом [Strober W., Fuss I.J., 2011; Новиков А.А., Александрова Е.Н., Диатроптова М.А. и др., 2010].

Для изучения метаболической активности нейтрофилов и моноцитов может быть использован информативный и доступный цитохимический анализ. В литературе нам встретились лишь единичные исследования активности ферментов нейтрофилов, моноцитов, а также исследование цитокинового профиля сыворотки крови у больных ЯК и БК и РА [Заводовский Б.В., 2004; Ключникова О.А., 2006] при многообразии работ, посвященных прогностической и диагностической роли активности

митохондриальных дегидрогеназ лимфоцитов при различных нозологиях [Курбатова О.В., Измайлова Т.Д., Сурков А.Н. и др., 2014; Ли Л.А., Лебедько О.А., Ефименко М.В. и др., 2014; Савченко А.А., Гринштейн Ю.И., Потапова М.В., 2012].

Работ, посвященных изучению метаболической активности нейтрофилов и моноцитов крови при ВЗК и РА, а также рассмотрению комплексного влияния иммуносупрессивной терапии, нестероидных противовоспалительных препаратов и антицитокиновой терапии на активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ) и сукцинатдегидрогеназы (СДГ) вышеуказанного клеточного пула при данных заболеваниях в доступной нам литературе мы не встретили, что определяет актуальность нашей работы.

Степень научной разработанности темы исследования

Исследованием метаболической активности клеток неспецифического иммунитета занимались такие ученые, как Чамияшвили Г.Ш., изучавший цитохимическую активность СДГ, ЛДГ, Г-6-ФДГ, НАД- и НАДФ-диафораз, альфанафтил-ацетатэстеразы, альфанафтилбутиратэстеразы, в нейтрофилах и моноцитах крови больных хроническими гепатитами и циррозами печени; Козакова С.А., чья работа была посвящена изучению субпопуляционного состава и функциональной метаболической активности мононуклеарных клеток периферической крови при хронических вирусных заболеваниях печени; Ключникова О.А., изучавшая активность миелопероксидазы, кислой и щелочной фосфатаз, содержание катионных белков в нейтрофилах периферической крови у больных язвенным колитом, и фагоцитарную активность нейтрофилов в спонтанном и стимулированном НСТ-тесте. В ревматологии подобными исследованиями занимались Цагова М.Х., определявшая состояние функциональной и метаболической активности лейкоцитов при диффузных заболеваниях соединительной ткани, а также Заводовский Б.В., который исследовал активность СДГ, МП, АТФ-азы в лимфоцитах, моноцитах и нейтрофилах периферической крови у больных РА, системной красной волчанкой, системной склеродермией, болезнью Бехтерева и реактивным артритом, а также влияние на фер-

ментный статус вышеозначенных клеток пеницилламина и делагила.

Цель исследования. Улучшить диагностику воспалительных заболеваний кишечника и ревматоидного артрита на основании изучения функциональной активности нейтрофилов и моноцитов крови.

Задачи исследования

1. Провести оценку и сравнение показателей ферментативной активности нейтрофилов и моноцитов периферической крови при язвенном колите, болезни Крона и ревматоидном артрите.

2. Изучить уровень активности окислительно-восстановительных ферментов нейтрофилов и моноцитов крови у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника и ревматоидным артритом в зависимости от активности и степени тяжести заболевания.

3. Определить информативность ферментного статуса нейтрофилов и моноцитов крови в оценке эффективности базисной противовоспалительной терапии (метотрексат, препараты 5-аминосалициловой кислоты, лефлунамид), глюкокортикостероидов, антицитокиновой терапии при язвенном колите, болезни Крона и ревматоидном артрите.

4. Оценить информативность определения активности окислительно-восстановительных ферментов нейтрофилов и моноцитов периферической крови, как дополнительный критерий дифференциальной диагностики между язвенным колитом и болезнью Крона, и разработать соответствующий алгоритм.

Научная новизна

Определена значимость цитохимических показателей в оценке эффективности терапии базисными противовоспалительными препаратами, а также генно-инженерными биологическими препаратами.

Выявлены цитохимические маркеры дифференциальной диагностики язвенного колита и болезни Крона, определено кли-

ническое значение цитохимических показателей в диагностике степени тяжести и активности вышеуказанных заболеваний.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные данные позволяют оценить значимость определения метаболической активности нейтрофилов и моноцитов крови в интерпретации активности и степени тяжести ВЗК и РА. Активность окислительно-восстановительных ферментов нейтрофилов и моноцитов периферической крови различна у больных с ЯК и БК, это позволяет использовать данный метод как дополнительный совместно с базовыми клинико-лабораторными показателями для дифференциальной диагностики этих заболеваний. Снижение активности данных ферментов в изучаемых клетках крови коррелирует с клиническим улучшением при ВЗК и РА. Полученные результаты позволяют оценить эффективность проводимой терапии при ЯК, БК и РА. Цитохимический метод исследования нейтрофилов и моноцитов крови может быть включен в практику гастроэнтерологического и ревматологического отделений.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Повышение активности всех окислительно-восстановительных ферментов нейтрофилов и моноцитов крови ассоциировано с высокой клинико-лабораторной активностью ЯК, БК, РА, а также с протяженностью поражения кишечника при ЯК.

2. После курса стационарного лечения при нормализации основных воспалительных показателей крови, таких как скорость оседания эритроцитов, С-реактивный белок, индексов активности ЯК, БК и РА, несмотря на положительную динамику, не происходит полной нормализации метаболической активности нейтрофилов и моноцитов, поэтому цитохимический метод может быть использован как более чувствительный и достоверный метод оценки активности вышеуказанных заболеваний.

3. Систематический прием базисных противовоспалительных препаратов пациентами с ВЗК и РА оказывает стабилизирующее действие на активность СДГ, ЛДГ и Г-6-ФДГ, как в нейтрофилах, так и в моноцитах крови по сравнению с пациентами,

не получающими таковую терапию, что проявляется более высокими показателями метаболической активности клеток неспецифического иммунитета и появлением клеток с высокой степенью реакции (степень «в»).

4. С помощью разработанного алгоритма определение активности СДГ, ЛДГ и Г-6-ФДГ нейтрофилов и моноцитов крови позволит проводить дифференциальную диагностику между БК и ЯК: при БК наблюдается значимое конкордантное повышение активности всех ферментов моноцитов при более умеренной активности нейтрофилов, при ЯК наблюдается противоположный результат.

Степень достоверности и апробация результатов

О достоверности результатов диссертационного исследования свидетельствует достаточная выборка пациентов, применение общепринятых методов исследования (клинико-лабораторные методы, стандартные шкалы оценки активности заболевания, цитохимический метод), корректное применение статистических методов, в частности проверка достоверности полученных результатов осуществлялась с помощью метода «дерево классификаций», а также ROC-анализа.

Материалы диссертации доложены на научной международной конференции «Практикующий врач» (Рим, 2016), V научно-практической конференции (Новосибирск, 2016), Московском Международном Салоне образования (Москва, 2016), XIV Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы современной науки в XXI веке» (Махачкала, 2017), выставке LIBERBARCELONA 2018 (Барселона, 2018), на выставке BUCH WIEN 2019 (Вена, 2019), на Международной книжной выставке BookExpoAmerica (Нью-Йорк, 2019), на межкафедральных заседаниях.

Внедрение в практику

Результаты исследования внедрены в практику работы амбулаторно-поликлинической службы, гастроэнтерологического и ревматологического отделений Государственного бюджетного

учреждения здравоохранения Астраханской области Александро-Мариинской областной клинической больницы.

Выводы и некоторые теоретические положения используются в учебном процессе студентов, клинических ординаторов, аспирантов, слушателей ФПО, включены в лекционный материал кафедры госпитальной терапии ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 11 научных работ, из них 5 статей в журналах, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ для публикации основных научных результатов диссертации на соискание ученой степени кандидата наук.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 168 страницах машинописного текста, проиллюстрирована 85 таблицами, 9 рисунками и 7 клиническими наблюдениями. Работа представлена следующими разделами: введение, обзор литературы, методы исследования и характеристика наблюдаемых групп, 1 глава собственных исследований, обсуждение, выводы и практические рекомендации. Список литературы включает 209 источников, из которых 134 отечественных и 75 иностранных.

Методология и методы исследования

Обследование пациентов проводилось с использованием общеклинических и лабораторно-инструментальных методов в соответствии со стандартами обследования пациентов с ВЗК и РА.

Определение активности окислительно-восстановительных ферментов нейтрофилов и моноцитов крови по методу Нарциссова Р.П. у пациентов с ВЗК и РА.

Для обработки полученных результатов применялись методы статистического анализа: Шапиро-Уилка, Манна-Уитни, Вилкоксона, тест Спирмена, критерий χ^2 , метод «дерево классификаций» и ROC- анализ.

Связь работы с планом научных исследований

Диссертация выполнена по плану научно-исследовательских работ ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Министерства здравоохранения России, номер государственной регистрации темы 115030310046 – ЦМТИС г. Москва.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на базе ГБУЗ АО «Александро-Мариинская областная клиническая больница» г. Астрахани в условиях ревматологического и гастроэнтерологического отделений за период с 2014 по 2016 гг.

Общее количество лиц, включенных в исследование, составило 203 человека, из них 168 пациентов (основная группа): 69 пациентов имели диагноз ВЗК и 99 пациентов – диагноз РА (62 чел. с серопозитивным и 37 чел. с серонегативным РА); и 35 соматически здоровых лиц г. Астрахань (контрольная группа).

Все пациенты были разделены на две группы. Группа 1 (БПВП-) – пациенты с ВЗК и РА, не получавшие базисную противовоспалительную терапию (БПВП) по основному заболеванию при поступлении в стационар (ЯК- 23 чел.; серопозитивный РА- 20 чел, серонегативный РА- 12 чел.). Группа 2 (БПВП+) – пациенты, находившиеся на БПВП при поступлении в стационар (ЯК- 26 чел., БК- 20 чел.; серопозитивный РА- 38 чел, серонегативный РА 25 чел.), 4 пациента с РА получали терапию генно-инженерными биологическими препаратами (ГИБП).

У всех пациентов в нейтрофилах и моноцитах периферической крови определялась активность окислительно-восстановительных ферментов: СДГ, ЛДГ, Г-6-ФДГ до и после курса лечения (при поступлении в стационар и при выписке).

Полученные показатели соответствовали уже установленным границам допустимой активности вышеуказанных ферментов в нейтрофилах и моноцитах, с которыми мы сравнивали полученные в 1 и 2 группах результаты (Шпотин В.П., Вишневецкая И.Ф., Галимзянов Х.М., Проскурин А.И., 2011).

Все пациенты дали согласие на обследование и проведение анализа крови на активность СДГ, ЛДГ, Г-6-ФДГ. Отбор

пациентов проводился методом простой рандомизации.

Диагнозы ЯК, БК и РА устанавливались на основании требований клинических рекомендаций Российской гастроэнтерологической ассоциации и ассоциации колопроктологов России, а также рекомендаций общероссийской общественной организации «Ассоциация ревматологов России» от 2013 г. Формулировка диагноза соответствовала требованиям МКБ-10.

Тяжесть атаки ЯК определялась согласно критериям Truelove-Witts. Тяжесть атаки болезни Крона определялась по результатам расчета индекса Беста. Активность РА оценивалась на основании подсчета индекса DAS-28.

Критериями включения в исследование являлись: наличие диагноза «язвенный колит» и «болезнь Крона», возраст от 20 до 65 лет и «ревматоидный артрит», возраст от 20 до 65 лет.

Критериями исключения служили: острые и хронические воспалительные заболевания в стадии обострения, заболевания системы крови, острые бактериальные и вирусные инфекции, злокачественные новообразования, тяжелые почечная и печеночная недостаточности, сахарный диабет, возраст моложе 20 лет и старше 65 лет.

На каждого больного заполнялась анкета, в которую вошли: пол, возраст, клинические данные, результаты лабораторных и инструментальных исследований, лечение.

При проведении цитохимических исследований выделение моноцитов проводили по методике И.С. Фрейдлин и соавт. (1978). Определение дегидрогеназной активности проводили по методу Р.П. Нарциссова, но с применением нитросинего-тетразолия 4-Nitroblautetrazoliumchlorid (Nitro BT) фирмы «Serva» (Германия).

Для обработки полученного материала и проведения статистического анализа в исследованных группах использовался пакет программ Statistika 8,0 (Statsoft).

Проводилось исследование нормальности распределения признаков в группах по методу Шапиро-Уилка. Использовались непараметрические методы описания (Me [LQ; UQ]), сравнения (тест Манна-Уитни, Вилкоксона), установления связи (тест Спирмана) данных. Для определения корреляционной связи бы-

ли применены следующие критерии: $|rs| < 0,20$ — очень слабая корреляция; $0,2 < |rs| < 0,5$ слабая корреляция; $0,5 < |rs| < 0,7$ средняя (умеренная) корреляция; $0,7 < |rs| < 0,9$ — сильная корреляция; $0,9 < |rs| < 1,0$ — очень сильная корреляция.

Сравнение достоверности распределения признаков в группах проводилось с помощью критерия χ^2 . Достоверными считали различия при $p < 0,05$.

Результаты исследований и их обсуждение

Большинство пациентов с ЯК (56,5%) имели в диагнозе левосторонний колит, 14,5% — тотальный колит, пациентов с проктитом и поражением верхних отделов пищеварительного тракта не было. Среди пациентов с болезнью Крона чаще всего обнаруживался терминальный илеит — 15,9%, илеоколит был выставлен у 13,1%.

У 59,2% пациентов с ЯК диагностирована средняя степень тяжести атаки заболевания, легкая и тяжелая — у 20,4% пациентов соответственно. У 11 пациентов с БК (55%) тяжесть атаки была расценена как легкая, что соответствовало индексу Беста в диапазоне 150-300 баллов, у 9 пациентов (45%) выставлена среднетяжелая атака с индексом Беста в пределах 301-450 баллов.

По типу БПВП пациенты с ВЗК распределились следующим образом: 38,3% пациентов с ЯК на момент поступления в стационар получали препараты 5-аминосалициловой кислоты (5-АСК), 5% пациентов получали комбинированную терапию 5-АСК + глюкокортикостериды (ГКС). Все пациенты с БК получали на момент исследования базисную терапию: 20,3% были на терапии препаратами 5-АСК, 8,7% — на терапии азатиоприном (Aza).

Около 50% пациентов 1 и 2 группы с РА имели позднюю стадию заболевания, 43,3% 2 группы и 28,1% 1 группы — развернутую стадию, 21,9% 1 группы — раннюю стадию.

По рентгенологической стадии распределение было следующим: III стадия (40,3%), IV стадия (32,8%), II стадия (23,9%), I стадия (1,5% пациентов).

По степени активности РА пациенты распределились так: высокая степень активности у 70,1% 2 группы и 96,9% 1 группы (индекс DAS-28 >5,1), 2 степень у 26,9% 2 группы и 3,1% 1 группы (DAS-28 3,2-5,1), 1 степень у 3% 2 группы.

76,1% пациентов с РА 2 группы и 65,6% 1 группы имели функциональный класс III, 23,9% 2 группы и 34,4% 1 группы – функциональный класс II.

У 41,8% пациентов 2 группы и у 65,6% 1 группы наблюдалось сочетание двух и более системных проявлений, у 16,4% 2 группы и 15,6% 1 группы – анемия, у 7,5% 2 группы – изолированный тромбоцитоз, у 7,5% 2 группы и 3,1% 1 группы – ревматоидные узлы, у 1 пациента 2 группы – васкулит, 25,4% 2 группы и 15,6% 1 группы – не имели системных проявлений.

По типу применяемых БПВП: метотрексат – у 31,2%, лефлунамид – у 21,0%, сульфосалазин – у 11,1% пациентов, ГИБП (ритуксимаб и инфликсимаб) – у 4% пациентов с РА.

У больных обеих групп анализировалась активность ферментов нейтрофилов и моноцитов: СДГ, отражающей цикл Кребса, ЛДГ и Г-6-ФДГ, отражающих анаэробный гликолиз и активность пентозофосфатного шунта соответственно.

Для оценки результатов применялся полуколичественный метод Карлов (1955). Суть метода заключается в разделении всех клеточных элементов по группам в зависимости от интенсивности окраски и количества выявляемого в клетке цитохимически активного вещества. Если в клетках не было гранул, то их относили к нулевой группе. Если в клетках насчитывались единичные гранулы или площадь их окраски составляла 25% цитоплазмы, то их относили к первой группе, или низкой степени активности (степень «а»). Вторая группа представлена клетками, заполненными гранулами на 30-70%, это клетки средней степени активности (степень «б»). Клетки, выполненные гранулами на 70-100%, относились к третьей группе, или высокой степени активности (степень «в»). Средний цитохимический показатель (СЦП) определялся путем подсчета в мазке 100 клеток (нейтрофилов или моноцитов, в зависимости от вида мазка). Число клеток каждой из степеней умножали на номер степени, то есть СЦП определяли по формуле: $СЦП = a + 2b + 3v$ (усл. ед).

В отношении пациентов с язвенным колитом обнаружена следующая закономерность: при тотальном колите активность ферментов нейтрофилов и моноцитов выше, чем при левостороннем колите; чем выше активность заболевания, тем выше активность окислительно-восстановительных ферментов как нейтрофилов, так и моноцитов периферической крови. По полу и возрасту статистически значимых различий в активности ферментов не выявлено.

Активность ферментов нейтрофилов и моноцитов крови определялась до начала стационарного лечения и после двухнедельного курса лечения, который включал в себя ГКС, препараты 5-АСК (табл. 1).

Таблица 1 – Активность окислительно-восстановительных ферментов нейтрофилов и моноцитов крови у пациентов с ЯК в зависимости от БПВП до и после курса стационарного лечения

Ферменты пациентов ЯК 2 группы (n=26)		До стационарного лечения	После стационарного лечения	P (до/после)
Нейтрофилы	СДГ	105,5 [101,0; 108,0]*	93,5 [90,0; 96,0]	0,00001
	ЛДГ	113,5 [110,0; 117,0]*	92,0 [88,0; 94,0]	0,00001
	Г-6-ФДГ	150,0 [146,0; 152,0]*	89,0 [86,0; 92,0]	0,00001
Моноциты	СДГ	74,0 [68,0; 76,0]*	30,0 [26,0; 34,0]	0,00001
	ЛДГ	54,0 [48,0; 57,0]*	38,0 [34,0; 44,0]	0,00001
	Г-6-ФДГ	65,5 [60,0; 68,0]*	29,5 [25,0; 33,0]	0,00001
Ферменты пациентов ЯК 1 группы (n=23)				
Нейтрофилы	СДГ	111,0 [108,0; 115,0]*	100,0 [96,0; 103,0]	0,0001
	ЛДГ	119,0 [116,0; 123,0]*	96,0 [94,0; 100,0]	0,00001
	Г-6-ФДГ	155,0 [152,0; 159,0]*	95,0 [92,0; 99,0]	0,00001
Моноциты	СДГ	79,0 [76,0; 83,0]*	36,0 [31,0; 40,0]	0,00001
	ЛДГ	58,0 [56,0; 63,0]*	45,0 [41,0; 48,0]	0,0002
	Г-6-ФДГ	69,0 [66,0; 74,0]*	34,0 [30,0; 38,0]	0,00001

Примечание:* $p < 0,05$ - при сравнении между активностью ферментов нейтрофилов и моноцитов обеих групп до и после курса стационарного лечения.

У пациентов 2 группы до стационарного лечения СЦП ферментов нейтрофилов представлен клетками степени «б», моноцитов – клетками степени «а» и «б» в равной степени. У паци-

ентов 1 группы – клетками степени «б». После курса стационарного лечения в обеих группах – клетками степени «а». Более выраженная активность наблюдалась со стороны ферментов крови пациентов 1 группы.

Проведен корреляционный анализ между активностью ферментов нейтрофилов и моноцитов и гематологическими показателями пациентов с ЯК. Обнаружены следующие корреляционные связи у пациентов с ЯК 1 группы:

- сильная отрицательная связь между активностью ферментов нейтрофилов, моноцитов и уровнем гемоглобина ($p = -0,70$);

- сильная отрицательная корреляция между активностью ферментов нейтрофилов и моноцитов и уровнем эритроцитов ($p = -0,70$);

- сильная отрицательная связь между активностью всех ферментов и уровнем общего белка ($p = -0,70$);

- положительная корреляция средней силы между активностью окислительно-восстановительных ферментов нейтрофилов и моноцитов и уровнем тромбоцитов ($p = 0,61$);

- сильная положительная корреляционная связь зафиксирована между активностью окислительно-восстановительных ферментов нейтрофилов и моноцитов крови и уровнем СОЭ и СРБ ($p = 0,70$).

Выявлены корреляции между основными показателями критерия Truelove-Witts и функциональной активностью нейтрофилов и моноцитов крови у пациентов с ЯК:

- сильная положительная связь между частотой стула и всеми исследуемыми ферментами нейтрофилов и моноцитов ($p = 0,80$);

- сильная положительная корреляция между активностью всех ферментов нейтрофилов и моноцитов и температурой тела ($p = 0,70$);

- отрицательная сильная корреляция между уровнем гемоглобина и ферментами ($p = -0,70$);

- сильная положительная корреляция между активностью ферментов нейтрофилов и моноцитов и уровнем СОЭ ($p = 0,70$).

Все пациенты с БК на момент госпитализации в стационар получали базисную терапию препаратами 5-АСК, Аза, ГКС и их

комбинацию. Определялась активность окислительно-восстановительных ферментов до и после курса стационарного лечения (табл. 2).

После стационарного лечения наблюдалось снижение активности всех ферментов, а в большей степени моноцитов крови.

СЦП всех ферментов нейтрофилов до и после курса стационарного лечения сформированы клетками степени «а», моноцитов – до курса лечения клетками степени «в», после курса лечения – клетками степени «б».

Таблица 2 – Динамика активности окислительно-восстановительных ферментов нейтрофилов и моноцитов крови у пациентов с БК до и после курса стационарного лечения

БК (n=20)	Нейтрофилы			Моноциты		
	СДГ	ЛДГ	Г-6-ФДГ	СДГ	ЛДГ	Г-6-ФДГ
До стационарного лечения	95,0 [92,0; 99,0]* **	70,0 [65,0; 74,0]* **	73,0 [71,0; 78,0]* **	282,0 [277,0; 285,0]* **	279,0 [276,0; 285,0]* **	269,0 [266,0; 274,0]* **
Степень реакции	а			в		
После стационарного лечения	87,0 [85,0; 91,0]**	58,0 [56,0; 65,0]**	69,0 [67,0; 74,0]**	118,0 [114,0; 123,0]**	130,0 [128,0; 135,0]**	215,0 [213,0; 220,0]**
Степень реакции	а			б		
Контроль	15,07± 0,35	20,25± 0,80	34,97± 0,33	20,27± 0,51	14,98± 0,38	15,15± 0,51

Примечание: * $p < 0,05$ - при сравнении до и после курса стационарного лечения.

** $p < 0,05$ - достоверность различий между активностью ферментов нейтрофилов и моноцитов крови до и после курса стационарного лечения и активностью ферментов в группе контроля.

Корреляционный анализ между активностью ферментов нейтрофилов и моноцитов и гематологическими показателями пациентов с БК выявил следующие связи:

– положительная сильная связь между ферментами нейтрофилов, моноцитов и СОЭ ($p = 0,70$);

- положительная сильная связь между всеми ферментами нейтрофилов и моноцитов и уровнем лейкоцитов ($p=0,76$);
- положительная сильная связь между ферментами моноцитов и Г-6-ФДГ нейтрофилов и СРБ ($p=0,81$);
- положительная связь средней силы между СДГ, ЛДГ нейтрофилов и СРБ ($p=0,68$);
- отрицательная сильная связь между активностью ферментов нейтрофилов, СДГ, ЛДГ моноцитов и уровнем общего белка ($p= -0,71$).

Сильная положительная корреляция наблюдалась также между активностью всех ферментов и индексом Беста ($p=0,71$).

Определялась активность окислительно-восстановительных ферментов крови в зависимости от типа базисной терапии у пациентов с РА до и после стационарного лечения, включающего в себя нестероидные противовоспалительные препараты, ГКС, БПВП (табл. 3).

Таблица 3 – Динамика активности окислительно-восстановительных ферментов нейтрофилов и моноцитов крови у пациентов с РА до и после курса стационарного лечения

Ферменты пациентов 2 группы (n=63)		До стационарного лечения	После стационарного лечения
Нейтрофилы	СДГ	48,0 [44,0; 50,0]	48,0 [44,0; 50,0]
	ЛДГ	53,0 [46,0; 54,0]	52,0 [48,0; 53,0]
	Г-6-ФДГ	65,0 [58,0; 66,0]	57,0 [50,0; 59,0]*
Моноциты	СДГ	47,0 [41,0; 50,0]	26,0 [22,0; 29,0]*
	ЛДГ	45,0 [39,0; 47,0]	24,0 [21,0; 26,0]*
	Г-6-ФДГ	39,0 [32,0; 40,0]	37,0 [33,0; 40,0]
Ферменты пациентов 1 группы (n=32)			
Нейтрофилы	СДГ	98,0 [96,5; 99,0]	94,0 [91,0; 96,0]*
	ЛДГ	130,5 [127,0; 133,0]	95,5 [91,5; 97,5]*
	Г-6-ФДГ	156,0 [154,0; 158,0]	84,5 [81,0; 86,5]*
Моноциты	СДГ	91,5 [89,0; 95,0]	51,0 [49,5; 52,0]*
	ЛДГ	103,0 [101,0; 105,0]	43,0 [40,5; 44,0]*
	Г-6-ФДГ	122,0 [120,0; 124,0]	38,5 [36,0; 41,0]*

Примечание: * $p<0,05$ - при сравнении до и после курса стационарного лечения.

До и после стационарного лечения СЦП ферментов нейтрофилов пациентов с РА 2 группы сформирован клетками степени «б», моноцитов – клетками степени «а».

До стационарного лечения СЦП ферментов нейтрофилов пациентов с РА 1 группы сформирован клетками степени «в», моноцитов – клетками степени «б». После стационарного лечения – клетками степени «а» и «б» соответственно.

В качестве БПВП пациенты с РА получали лефлуномид (20 мг/сут.), метотрексат (15 мг/нед.) и сульфосалазин (1000 мг/сут.). На фоне терапии активность всех ферментов изменялась однонаправленно вне зависимости от типа получаемого препарата.

В отношении тех пациентов, которые получали терапию ГИБП (ритуксимаб и инфликсимаб) получены следующие результаты.

Активность всех ферментов нейтрофилов и СДГ, ЛДГ моноцитов значительно снизилась уже через сутки после введения препарата. СЦП ферментов нейтрофилов до инфузии ГИБП был представлен клетками средней степени активности, а уже через сутки – низкой степени активности. СЦП всех ферментов моноцитов как до, так и после инфузии ГИБП был сформирован клетками степени «а».

Далее проводился корреляционный анализ между активностью ферментов нейтрофилов и моноцитов, гематологическими показателями и DAS-28 у пациентов с РА 1 группы. Обнаружены следующие связи:

– положительная сильная связь между СДГ нейтрофилов и СОЭ ($p=0,75$);

– положительная сильная связь между СДГ нейтрофилов и DAS-28 ($p=0,79$);

– положительная связь средней силы между ферментами нейтрофилов, кроме СДГ, моноцитов и СОЭ ($p=0,53$); между ферментами нейтрофилов и СРБ ($p=0,54$); между ферментами нейтрофилов, кроме СДГ, моноцитов и DAS-28 ($p=0,58$).

Выявленные корреляции указывают на связь активности заболевания и ферментов нейтрофилов и моноцитов крови.

При сравнении активности ферментов нейтрофилов и моноцитов крови у пациентов с РА и ЯК до начала курса стацио-

нарного лечения (Рис.1, 2) установлено, что функциональная активность нейтрофилов более выражена, СЦП ферментов нейтрофилов при ЯК превосходит таковые значения при РА. И в том, и в другом случае активнее всего реагировала Г-6-ФДГ.

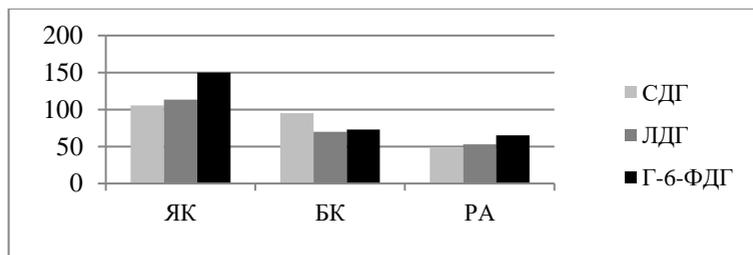


Рисунок 1 – Активность окислительно-восстановительных ферментов нейтрофилов крови больных ВЗК и РА 2 группы до стационарного лечения.

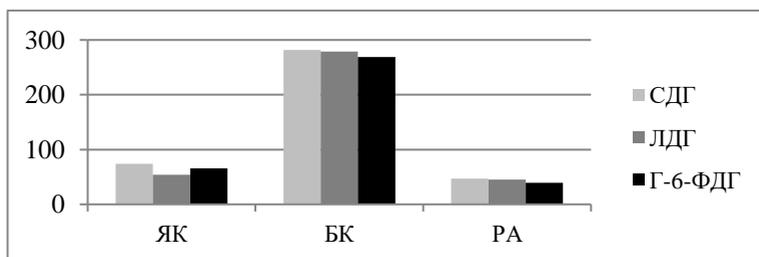


Рисунок 2 – Активность окислительно-восстановительных ферментов моноцитов крови больных с ВЗК и РА 2 группы до стационарного лечения.

Функциональная активность моноцитов была менее выражена.

СЦП ферментов моноцитов крови пациентов с БК был в несколько раз выше, чем у пациентов с РА и ЯК.

После курса стационарного лечения у всех пациентов активность ферментов не нормализовалась, хотя наблюдалась тенденция к нормализации, более характерно для Г-6-ФДГ нейтрофилов у пациентов с ЯК и РА.

Метаболическая активность нейтрофилов и моноцитов крови у пациентов с ЯК и РА 1 группы значительно превосходит таковую активность у пациентов 2 группы (Рис.3, 4).

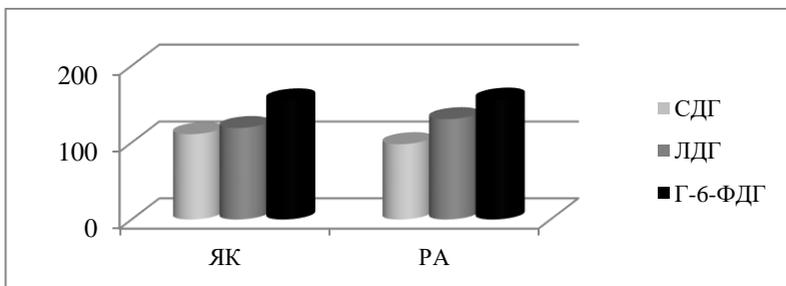


Рисунок 3 – Метаболическая активность нейтрофилов пациентов с ЯК и РА 1 группы до курса стационарного лечения.

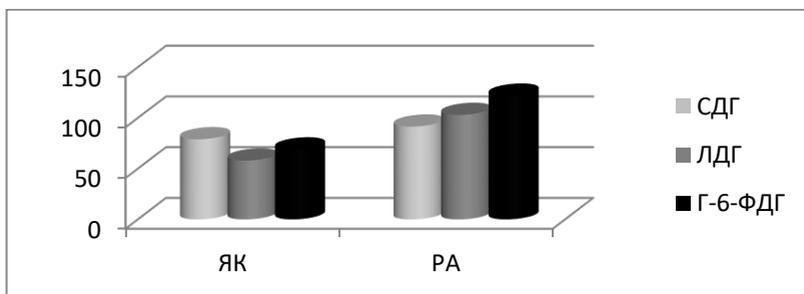


Рисунок 4 – Метаболическая активность моноцитов пациентов с ЯК и РА 1 группы до курса стационарного лечения.

В нейтрофилах и моноцитах крови пациентов 1 группы выявлено снижение активности ферментов после курса лечения.

При построении «дерева классификации» были определены границы, в пределах которых активность соответствующих ферментов расценивалась в пользу развития ЯК или БК. Если активность окислительно-восстановительных ферментов нейтрофилов попадала в границы $СДГ \geq 99$ у.е., $ЛДГ \geq 90$ у.е., $Г-6-ФДГ \geq 120$ у.е., а моноцитов – в границы $50 < СДГ < 100$ у.е., $40 < ЛДГ < 100$ у.е., $50 < Г-6-ФДГ < 100$ у.е., можно с вероятностью 97,9% утверждать, что у пациента язвенный колит. Если активность окислительно-восстановительных ферментов нейтрофилов попадала в границы $88 < СДГ < 99$ у.е., $60 < ЛДГ < 90$ у.е., $50 < Г-6-ФДГ < 120$ у.е., моноцитов – в границы $СДГ \geq 250$ у.е., $ЛДГ \geq 250$ у.е., $Г-6-ФДГ \geq 250$ у.е., можно с вероятно-

стью 95% утверждать, что у пациента болезнь Крона. Эти данные легли в основу разработанного нами алгоритма.

Согласно проведенному ROC-анализу, предложенная модель получилась достаточно удачной: AuROC=0,98, эффективность=97% (чувствительность 95,7%, специфичность 98,3%), это означает, что более 95% всех случаев идентифицированы верно.

Алгоритм прогнозирования вероятности развития язвенного колита и болезни Крона



Выводы

1. В нейтрофилах и моноцитах крови больных воспалительными заболеваниями кишечника и ревматоидным артритом установлено конкордантное статистически значимое повышение активности метаболических ферментов сукцинатдегидрогеназы, лактатдегидрогеназы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы до

начала курса стационарного лечения. После курса терапии выявлено статистически значимое снижение функциональной активности фагоцитов, не достигающее, однако, физиологических норм.

2. Доказана прямая высокая корреляционная взаимосвязь ($r=0,70$) между степенью активности метаболических ферментов нейтрофилов и моноцитов крови и активностью заболевания у пациентов с ревматоидным артритом и болезнью Крона, а также активностью заболевания, протяженностью поражения кишечника и тяжестью атаки у пациентов с язвенным колитом.

3. Установлено, что прием базисной терапии метотрексатом, лефлуномидом и сульфосалазином при ревматоидном артрите и препаратами 5-аминосалициловой кислоты при язвенном колите и болезни Крона оказывает сдерживающее влияние на активность сукцинатдегидрогеназы, лактатдегидрогеназы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы нейтрофилов и моноцитов, что проявляется более низким средним цитохимическим показателем соответствующих ферментов в сравнении с пациентами, не получающими подобную терапию, и отсутствием клеток высшей степени активности как нейтрофилов, так моноцитов.

4. Разработан алгоритм прогнозирования вероятности развития язвенного колита и болезни Крона у пациентов с подозрением на воспалительные заболевания кишечника ($AuROC=0,98$, эффективность=97% (чувствительность 95,7%, специфичность 98,3%), основанный на определении активности окислительно-восстановительных ферментов нейтрофилов и моноцитов крови, что позволяет использовать его в качестве дополнительного дифференциально-диагностического критерия между этими нозологиями.

Практические рекомендации

1. Рекомендовано использовать ферментативную активность фагоцитов крови как дополнительный лабораторный критерий активности и тяжести ревматоидного артрита и воспалительных заболеваний кишечника.

2. Рекомендовано наряду с базовыми клинико-лабораторными показателями проводить определение метаболи-

ческой активности нейтрофилов и моноцитов периферической крови для оценки эффективности проводимой патогенетической терапии у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника и ревматоидным артритом.

3. Рекомендовано использовать разработанный алгоритм, основанный на определении функциональной активности нейтрофилов и моноцитов периферической крови, для прогнозирования вероятности развития язвенного колита и болезни Крона, что позволяет сократить время постановки диагноза и начать специфическую терапию.

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. Емельянова, В. А. Воспалительные заболевания кишечника и ревматоидный артрит: современные вопросы патогенеза / Емельянова В. А., Демидов А. А. // **Современные проблемы науки и образования.** – 2015. – № 6; URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=23850>.
2. Емельянова, В. А. Воспалительные заболевания кишечника: роль цитохимической активности внутриклеточных ферментов нейтрофилов и моноцитов периферической крови в диагностике / Емельянова В.А., Демидов А. А., Костенко Н. В., Чернышева Е. Н. // **Кубанский научный медицинский вестник.** – 2017. – № 3. – Т. 24. – С. 137-141.
3. Емельянова, В. А. Значение определения активности окислительно-восстановительных ферментов нейтрофилов и моноцитов крови у пациентов с язвенным колитом / Емельянова В. А., Демидов А. А., Костенко Н. В., Чернышева Е. Н., Гребнева О. С. // **Крымский терапевтический журнал.** – 2018. – № 1. – С. 45-48.
4. Емельянова, В. А. Влияние базисных противовоспалительных препаратов в составе комплексной терапии на ферментативную активность нейтрофилов и моноцитов крови у пациентов с ревматоидным артритом / Емельянова В. А., Демидов А. А., Огнева Е. А., Браташ В. И., Матющенко С. В., Расевич Т. Г., Агапова Н. П. // **Современные проблемы науки и образования.** – 2018. – № 2; URL: <http://www.science-education.ru/article/view?id=27509>.
5. Емельянова В. А. Оценка влияния метаболической активности нейтрофилов и моноцитов крови на риск развития язвенного колита и болезни Крона / Емельянова В. А., Демидов А. А. // **Современные проблемы науки и образования.** – 2020. – № 2; URL: <http://www.science-education.ru/article/view?id=29745>.
6. Емельянова, В. А. Цитохимическая активность моноцитов крови у больных с серопозитивным ревматоидным артритом / Емельянова В. А., Де-

- мидов А. А. // Молодой ученый. – 2016. – № 14 (118). – С. 218-221.
7. Емельянова, В. А. Цитохимическая активность нейтрофилов крови у больных с серопозитивным ревматоидным артритом / Емельянова В. А., Демидов А. А. // Апробация. – 2016. – №6 (45). – С. 187-188.
 8. Емельянова, В. А. Динамика метаболической активности нейтрофилов крови у больных с серонегативным ревматоидным артритом / Емельянова В. А., Демидов А. А. // Международный журнал экспериментального образования. – 2016. – № 9-2. – С. 314-316; URL: <http://www.expeducation.ru/ru/article/view?id=10504>.
 9. Емельянова, В. А. Особенности метаболической активности моноцитов крови при серонегативном ревматоидном артрите / Емельянова В. А., Демидов А. А. // Журнал V Международной научно-практической конференции «Содружество». – г. Новороссийск, 2016. – С.4-7.
 10. Емельянова В. А. Динамика цитохимической активности нейтрофилов и моноцитов крови, как новый диагностический маркер активности воспаления при болезни Крона / Емельянова В. А., Демидов А. А., Чернышева Е. Н. // Материалы XIV Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы современной науки в XXI веке». – г. Махачкала, 2017. – С. 24-27.
 11. Емельянова В. А. Ферментативная активность нейтрофилов и моноцитов крови как маркер дифференциальной диагностики язвенного колита и болезни Крона / Емельянова В. А., Демидов А. А., Шварц Р. Н. // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2019. – № 12-2. – С. 197-200; URL: <https://applied-research.ru/ru/article/view?id=12979>.

Список сокращений

БК	болезнь Крона
БПВП	базисные противовоспалительные препараты
ВЗК	воспалительные заболевания кишечника
Г-6-ФДГ	глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа
ГИБП	генно-инженерные биологические препараты
ГКС	глюкокортикостероиды
ЛДГ	лактатдегидрогеназа
РА	ревматоидный артрит
РФ	ревматоидный фактор
СДГ	сукцинатдегидрогеназа
СОЭ	скорость оседания эритроцитов
СРБ	С-реактивный белок
СЦП	средний цитохимический показатель
ЯК	язвенный колит
5-АСК	препараты 5-аминосалициловой кислоты
Аза	азатиоприн

ЕМЕЛЬЯНОВА Виктория Александровна

ЦИТОХИМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ
ЛЕЧЕНИЯ У БОЛЬНЫХ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ
ЗАБОЛЕВАНИЯМИ КИШЕЧНИКА
И РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

14.01.04 – Внутренние болезни

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