

МАРКЕРЫ ДИСФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ: ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ И ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ПРИ БОЛЕЗНИ КРОНА

Е. Стёпина,

О. Хлынова, доктор медицинских наук, профессор,

А. Туев, доктор медицинских наук, профессор,

И. Булатова, кандидат медицинских наук

Пермский государственный медицинский университет
им. акад. Е.А. Вагнера

E-mail: kati.aleksa@yandex.ru

У пациентов с болезнью Крона (БК) выявлено наличие эндотелиальной дисфункции, которая характеризуется повышением уровня васкулоэндотелиального фактора (ВЭФ) в сыворотке крови и десквамированных эндотелиоцитов (ДЭЦ) в плазме крови. Уровни ВЭФ и ДЭЦ могут выступать как критерии степени тяжести БК и признаки неблагоприятного ее течения.

Ключевые слова: гастроэнтерология, эндотелиальная дисфункция, болезнь Крона, васкулоэндотелиальный фактор роста, десквамированные эндотелиоциты.

Болезнь Крона (БК) – одна из актуальных проблем современной гастроэнтерологии [1] в связи с высокими показателями заболеваемости в развитых странах. Согласно последним данным, распространенность БК в странах Европы и в Северной Америке – 12,7–20,2 на 100 тыс. населения, а в европейской части России – 3,7 на 100 тыс. населения [2, 3]. Поражение лиц молодого возраста, высокая частота развития осложнений и внекишечных проявлений, рецидивирующее течение с длительной и стойкой утратой трудоспособности, а также высокая частота летальных исходов делают данную проблему социально значимой [1].

Интерес к БК объясняется еще и тем, что, несмотря на многолетнюю историю ее изучения, отсутствует единое мнение об этиологии и патогенезе заболевания [2]. В соответствии с современными представлениями, главную роль в патогенезе БК играют иммунные нарушения с дисбалансом цитокиновой регуляции, приводящие к активации Т- и В-клеток, макрофагов и запуску аутоиммунных механизмов [4, 5]. Большинство исследователей придерживаются мнения о влиянии на развитие БК наследственной предрасположенности, экзогенных факторов и кишечной микрофлоры [6, 7]. Сведений о роли сосудистого эндотелия в развитии и прогрессировании БК пока мало.

Отдельными исследованиями установлено, что у пациентов с БК нарушена регуляция функции эндотелия, что непосредственно влияет на развитие заболевания и сердечно-сосудистых событий [8]. По данным В.Г. Румянцева (2004), обострение воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК) ассоциировано с уменьшением капиллярного кровотока и повышением проницаемости сосудов [9].

В ряде работ показана роль ангиогенеза в развитии и прогрессировании ВЗК, в частности БК. Так, повышенные

уровни васкулоэндотелиального фактора (ВЭФ) в сыворотке крови коррелируют с активностью заболевания, наличием осложнений, частотой встречаемости колоректального рака, а также с поздним ответом на консервативную терапию [10].

Таким образом, изучение роли эндотелиальной дисфункции (ЭД) в развитии и становлении БК может стать новым перспективным подходом к стратификации риска прогрессирования и развития осложнений заболевания.

Нашей целью было оценить особенности функциональной активности эндотелия у больных БК в зависимости от клинических проявлений заболевания, тяжести его атаки, распространенности патологического процесса, наличия системных проявлений и осложнений.

В простое открытое исследование были включены 16 пациентов в возрасте от 18 до 60 лет с БК в фазе обострения, а также с впервые выявленными формами заболевания. Группу контроля составили 11 практически здоровых лиц.

В исследование включали пациентов с впервые установленным диагнозом БК и с ранее верифицированным диагнозом, у которых заболевание находилось в фазе обострения. В исследование не включали пациентов с: гипертонической болезнью; распространенным атеросклерозом; инфарктом миокарда; хронической болезнью почек; сахарным диабетом; патологией свертывающей системы крови (болезнь Виллебранда, гемофилия, синдром Бернара—Сулье); тяжелой сопутствующей соматической патологией (печеночная недостаточность, онкологические заболевания, застойная сердечная недостаточность, нестабильная стенокардия, нарушение ритма и проводимости, тяжелая пневмония, сепсис); беременностью; БК в стадии ремиссии.

Все пациенты прошли клиническое обследование, предусматривающее опрос и осмотр с подробной детализацией жалоб. Определяли наличие маркеров системного воспаления, оценивая СОЭ, уровень С-реактивного белка (СРБ), фибриногена, белковых фракций крови (α_1 - и α_2 -глобулины). Уровень фактора некроза опухоли- α (ФНО α) устанавливали, применяя набор реагентов Human TNF-alpha Platinum ELISA (Bender MedSistem, Австрия). Для уточнения характера поражения слизистой оболочки кишечника выполняли эндоскопическое исследование (фиброкколоноскопия или ректороманоскопия с биопсией). Для оценки протяженности поражения, а также при подозрении на наличие стриктур, свищи использовали рентгенологические методы исследования — ирригографию и рентгеноскопию желудочно-кишечного тракта с барием. Диагноз БК верифицировали согласно рекомендациям Российской группы

по изучению БК. Тяжесть атаки заболевания оценивали по критериям, предложенным Обществом по изучению ВЗК при Ассоциации колопроктологов России [11].

В качестве маркеров ЭД определяли концентрацию ВЭФ в сыворотке крови иммуноферментным методом с использованием диагностического набора «Вектор Бест» (Новосибирск) и количество десквамированных эпителиоцитов (ДЭЦ) в плазме крови методом Hladovec (метод заключается в изоляции эндотелия с тромбоцитами с дальнейшим осаждением тромбоцитов под воздействием аденозиндифосфата) [12].

Обработка статистических данных осуществлялась на персональном компьютере Intel Pentium с установленной операционной системой Windows XP (Microsoft, США). Применяли пакеты программ Microsoft Excel 2007 и Statistica 6. Количественные данные представляли в виде среднего арифметического (M) и среднеквадратичного отклонения (σ); для проверки значимости различий при данных условиях использовали t-критерий. Корреляционный анализ проводился с применением коэффициента ранговой корреляции Спирмена. При анализе малой выборки (<30 наблюдений) пользовались поправкой Ван дер Вардена. Нулевая гипотеза отвергалась при $p < 0,05$ [13].

Группу пациентов с БК составили 16 человек — 8 (50%) женщин и 8 (50%) мужчин — в возрасте в среднем $35,63 \pm 5,51$ года. По степени тяжести атаки БК пациенты распределились так: легкая — у 6 (38,9%) человек, средняя — у 5 (33,3%), тяжелая — у 5 (33,3%), по локализации патологического процесса — следующим образом: энтерит — у 6 (38,9%), колит — у 6 (38,9%), энтероколит — у 4 (27,8%). Осложненное течение заболевания диагностировано в 66,7% случаев. Среди осложнений БК ведущие позиции занимали: свищи — 4 (27,8%) случая, стриктуры — 4 (27,8%), кишечная непроходимость — 3 (22,2%), парапроктит — 2 (16,7%), кишечное кровотечение — 1 (11,1%). Кроме того, у 1/3 больных отмечены системные проявления основного заболевания, из которых наиболее часто встречались афтозный стоматит — у 3 (22,2%) человек, псориаз — у 2 (16,7%), нефролитиаз — у 1 (11,1%), остеопороз — у 1 (11,1%).

В группу контроля вошли 12 человек — 8 (66,7%) женщин и 4 (33,3%) мужчины — в возрасте в среднем $30,67 \pm 6,53$ года. Группы были сопоставимы по полу (F-критерий; $p = 0,4455$) и возрасту (t-критерий; $p = 0,1554$).

Пациенты с БК характеризовались достоверным увеличением концентрации ВЭФ в сыворотке крови — $528,85 \pm 163,98$ пг/мл, тогда как в контрольной группе данный показатель составил $197,97 \pm 82,88$ пг/мл ($p = 0,0014$).

Кроме того, у пациентов с БК было повышено количество ДЭЦ ($6,63 \pm 3,46 \cdot 10^4$ /л против $2,00 \pm 1,48 \cdot 10^4$ /л в контрольной группе; $p = 0,0001$).

При детальном изучении жалоб установлено, что наиболее часто пациенты отмечали общую слабость (77,8% случаев), снижение массы тела (93,8%), болевой абдоминальный синдром (83,3%), жидкий стул 68,8%). Средняя частота стула составила $5,75 \pm 3,75$ раза в сутки. Корреляционный анализ выявил наличие пря-

Показатель	Степень тяжести атаки БК			p
	легкая (n=6)	средняя (n=5)	тяжелая (n=5)	
ВЭФ, пг/мл	272,95 \pm 132,21	414,12 \pm 80,00	950,66 \pm 229,57	$p_{1-2}=0,0750$ $p_{2-3}=\mathbf{0,0013}$ $p_{1-3}=\mathbf{0,0002}$
ДЭЦ, $\cdot 10^4$ /л	4,33 \pm 1,63	5,00 \pm 2,45	11,00 \pm 14,84	$p_{1-2}=0,6019$ $p_{2-3}=\mathbf{0,0040}$ $p_{1-3}=\mathbf{0,0000}$

Примечание. Здесь и в табл. 2: p – t-критерий; жирным шрифтом выделены статистически значимые результаты ($p < 0,05$).

мой связи средней силы между уровнем ВЭФ в сыворотке крови и частотой стула ($r=0,538$; $p=0,031$).

При оценке связи уровня маркеров ЭД с тяжестью атак заболевания выявлено достоверное повышение уровней ВЭФ и ДЭЦ при тяжелых формах БК. Так, концентрация ВЭФ в группе пациентов с тяжелым течением заболевания составила $950,66 \pm 229,57$ против $414,12 \pm 80,00$ пг/мл при его среднетяжелом течении ($p=0,0013$) и $272,95 \pm 132,21$ пг/мл – при легком ($p=0,0002$). Уровень ДЭЦ у пациентов с тяжелыми формами БК также значительно превышал референсные значения и составил $11,00 \pm 14,84 \cdot 10^4$ /л против $5,00 \pm 2,45 \cdot 10^4$ /л при БК средней тяжести ($p=0,0040$) и $4,33 \pm 1,63 \cdot 10^4$ /л ($p=0,0000$) – при БК легкого течения (табл. 1).

Корреляционный анализ обнаружил наличие прямой достоверной связи показателей ЭД со степенью тяжести атаки БК. Установлена прямая положительная сильная связь тяжести атаки с концентрацией ВЭФ в сыворотке крови ($r=0,850$; $p=0,000$) и уровнем ДЭЦ ($r=0,803$; $p=0,0002$).

Несомненный интерес представляют результаты сравнительного анализа показателей ЭД в зависимости от локализации патологического процесса. Так, выявлено достоверное повышение концентрации ВЭФ в сыворотке крови у пациентов с сочетанным поражением тонкого и толстого кишечника (энтероколит) – $831,45 \pm 388,11$ против $370,72 \pm 175,26$ пг/мл при изолированном поражении тонкого кишечника. Полученные данные подтверждены корреляционным анализом, выявившим достоверную прямую связь ВЭФ с локализацией патологического процесса ($r=0,534$; $p=0,0333$). При оценке количества ДЭЦ определена тенденция к его увеличению при распространенных формах БК – $8,50 \pm 4,36 \cdot 10^4$ /л против $6,17 \pm 3,43 \cdot 10^4$ /л при энтероколите и $5,83 \pm 2,99 \cdot 10^4$ /л при колите ($p < 0,05$).

Обнаружены особенности функции эндотелия у пациентов с осложненным течением заболевания. Так, уровень ВЭФ был достоверно выше при осложнениях БК ($671,53 \pm 335,02$ против $320,78 \pm 158,37$ пг/мл у больных без осложнений). Количество ДЭЦ в группе с осложненным течением заболевания также значительно превышало референсные значения ($7,80 \pm 3,77 \cdot 10^4$ /л), тогда как в группе пациентов без осложнений данный показатель был значительно ниже – $4,60 \pm 1,95 \cdot 10^4$ /л ($p=0,1014$). Кроме того, выявлены положительные корреляции средней силы между уровнем ВЭФ и наличием парапроктита ($r=0,652$; $p=0,0062$). Полученные данные свидетельствуют о том, что осложненное течение заболевания усугубляет ЭД, изначально имеющуюся у пациентов с БК.

Исследование выявило тенденцию к повышению концентрации ВЭФ и количества ДЭЦ у пациентов с системными проявлениями БК. Установлено, что уровень ВЭФ у них составил $591,30 \pm 376,99$ пг/мл, а количество ДЭЦ – $8,20 \pm 4,44 \cdot 10^4$ /л, тогда как у лиц без системных проявлений БК эти показатели составили соответственно $434,01 \pm 257,61$ пг/мл и $5,50 \pm 2,68 \cdot 10^4$ /л.

Изучение маркеров системного воспаления у пациентов с БК выявило достоверное увеличение их уровней в зависи-

Корреляционный анализ показателей ЭД и маркеров системного воспаления

Таблица 2

Показатель	ВЭФ, пг/мл		ДЭЦ, $\cdot 10^4$ /л	
	r	p	r	p
СОЭ, мм/ч	0,756	0,0007	0,728	0,0014
СРБ, мг/л	0,708	0,0021	0,689	0,0032
ФНО α , пг/мл	0,738	0,0011	0,544	0,0293
α_1 -Глобулин, %	0,199	0,4604	0,285	0,2849
α_2 -Глобулин, %	0,337	0,2017	0,673	0,0043
Фибриноген, г/л	0,573	0,0202	0,520	0,0388

мости от степени тяжести атаки заболевания. Так, СОЭ при тяжелом течении БК составила $39,60 \pm 3,36$ против $22,40 \pm 9,79$ мм/ч ($p=0,0141$) при среднетяжелом и $13,17 \pm 4,40$ мм/ч ($p=0,0000$) – при легком. Подобная тенденция прослеживается и в отношении концентрации СРБ в сыворотке крови. При тяжелом течении БК уровень СРБ составил $38,51 \pm 26,96$ мг/л, тогда как при БК средней тяжести – $5,04 \pm 3,52$ мг/л ($p=0,0494$), а при БК легкого течения – $0,66 \pm 0,79$ мг/л ($p=0,0349$). Следует отметить, что достоверной связи уровней ФНО α , фибриногена, α_1 - и α_2 -глобулинов при БК со степенью тяжести заболевания не выявлено. Корреляционный анализ установил наличие достоверной связи между маркерами системного воспаления и показателями ЭД (табл. 2).

У пациентов с БК достоверно повышены показатели ЭД по сравнению с таковыми в контрольной группе. Максимальные значения ВЭФ и ДЭЦ отмечены при тяжелых распространенных формах заболевания, что подтверждено корреляционным анализом, который выявил зависимость между степенью тяжести атаки БК и маркерами ЭД. У пациентов с осложненными формами заболевания, а также с наличием его системных проявлений диагностировано значимое повышение уровня ВЭФ и количества ДЭЦ. Кроме того, обнаружена достоверная положительная взаимосвязь ВЭФ и ДЭЦ с показателями системного воспаления – СОЭ, уровнями СРБ, ФНО α , фибриногена, α_2 -глобулина.

Таким образом, исследование показало, что ЭД является облигатным условием БК, что характеризуется повышением уровня ВЭФ в сыворотке крови и количества ДЭЦ в плазме. Кроме того, нами доказано, что величины ВЭФ и ДЭЦ могут выступать в качестве критериев степени тяжести БК и служить признаками ее неблагоприятного течения.

Литература

1. Белоусова Е.А. Рекомендации по диагностике и лечению болезни Крона // Фарматека. – 2009; 13: 38–44.
2. Халиф И.Л., Лоранская И.Д. Воспалительные заболевания кишечника (неспецифический язвенный колит и болезнь Крона): клиника, диагностика и лечение / М.: Миклош, 2004; с. 88.
3. Baumgart D., Sandborn W. Crohn's disease // Lancet. – 2012; 380 (9853): 1590–605.
4. Бойко Т.И., Стойкевич М.В., Колбасина Е.В. и др. Состояние функции сосудистого эндотелия у больных с хроническими воспалительными заболеваниями кишечника // Сучасна гастроентерологія. – 2010; 1 (51): 5–10.
5. Kaser A., Nieuwenhuis E., Glimcher L. et al. Innate immunity in inflammatory bowel disease. Falk symposium, 2006; p. 23–4.
6. Jacques C. Smoking, physical activity, nutrition and lifestyle: environmental factors and they impact on IBD. Falk Symposium 17, 2010; p. 411–7.

7. Satsangi J., Morecroft N.B. Genetics of inflammatory bowel disease: scientific and clinical implications // Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol. – 2003; 17: 3–18.

8. Siddharth S. et al. Risk of cerebrovascular accidents and ischemic heart disease in patients with inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis // Clin. Gastroenterol. Hepatol. – 2014; 12 (3): 382–93.

9. Румянцев В.Г., Фомин С.А., Киркин Б.В. Ишемия в патогенезе язвенного колита у пожилых. Тезисы VI Европейского конгресса геронтологов. М., 2002.

10. Ferrante M., Pierik M., Henckaerts L. et al. The role of vascular endothelial growth factor (VEGF) in inflammatory bowel disease // Inflamm. Bowel Dis. – 2006; 12 (9): 870–8.

11. Ивашкин В.Т. и др. Рекомендации по диагностике и лечению взрослых пациентов с болезнью Крона. Рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации, ООО «Ассоциация колопроктологов России» и Общества по изучению воспалительных заболеваний кишечника при Ассоциации колопроктологов России / М., 2013; 23 с.

12. Hladovec J. Circulating endothelial cells as a sign of vessel wall lesions // Physiol. Bohemoslov. – 1978; 27: 140–4.

13. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение прикладных программ Statistica / М.: МедиаСфера, 2003; 312 с.

MARKERS OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION: DIAGNOSTIC AND PROGNOSTIC VALUE IN CROHN'S DISEASE

*E. Stepina; Professor O. Khlynova, MD; Professor A. Tuev, MD; Professor I. Bulatova, Candidate of Medical Sciences
Acad. E.A. Vagner Perm State Medical University*

Patients with Crohn's disease (CD) have been found to have endothelial dysfunction that is characterized by increases in the level of serum vascular endothelial factor (VEF) and in that of plasma desquamated endotheliocytes (DEC). The levels of VEF and DEC may act as criteria for the severity of CD and as signs of its poor course.

Key words: gastroenterology, endothelial dysfunction, Crohn's disease, vascular endothelial growth factor, desquamated endotheliocytes.