

УДК 616.348-002.44-07-053.2

**СЕРОЛОГИЧЕСКИЙ МАРКЕР АКТИВНОСТИ ЗАБОЛЕВАНИЯ
У ДЕТЕЙ С НЕСПЕЦИФИЧЕСКИМ ЯЗВЕННЫМ КОЛИТОМ****И.В. Маянская, П.П. Потехин, Э.Н. Федулова, В.И. Ашкинази, Н.И. Толкачева, Е.Б. Талаева,**
ФГУ «Нижегородский научно-исследовательский институт детской гастроэнтерологии»**Федулова Эльвира Николаевна** – e-mail: fedulova04@mail.ru

Исследование посвящено поиску новых серологических маркеров, косвенно характеризующих состояние слизистой оболочки кишечника, с целью определения активности такого тяжелого заболевания у детей, как неспецифический язвенный колит (НЯК). Обследовано 58 детей, у которых в сыворотке крови определяли содержание коллагена IV типа методом ИФА и параллельно – комплексное морфологическое исследование слизистой оболочки толстой кишки. Установлены различные уровни повышения коллагена IV типа в сыворотке крови, которые отражают на организменном уровне активность заболевания и, таким образом, могут служить маркером тканевого повреждения и степени гистологической активности процесса. Новизна предлагаемого способа подтверждается отсутствием информации об использовании его для определения степени активности неспецифического язвенного колита у детей. Способ определения коллагена IV типа в сыворотке крови является индикатором активности неспецифического язвенного колита, который упрощает диагностику и снижает травматичность у детей.

Ключевые слова: неспецифический язвенный колит, коллаген IV типа, гистологическая активность, серологический маркер.

The research is dedicated to the search of new serologic markers, which by implication characterize the condition of a mucous membrane of intestine, with the purpose of determination of the activity of such severe disease of children as nonspecific ulcerative colitis (NUC). There were examined 58 children, in whose blood serum there were defined the contents of collagen of the IV type by IFA and at the same time – the complex morphological examination of the mucous membrane of large intestine. There were determined different levels of the increase of collagen of the IV type in blood serum which reflect the activity of a disease on the organismic level and may serve as the marker of tissue damage and the degree of histological activity of the process. The newness of the given way is proved by the absence of information about its usage for the determination of the degree of the activity of nonspecific ulcerative colitis of children. The way of determination of collagen of the IV type in blood serum is the indicator of the activity of nonspecific ulcerative colitis which simplifies the diagnostics and decreases the traumas of children.

Key words: nonspecific ulcerative colitis, collagen of the IV type, histological activity, serologic marker.

Введение

Неспецифический язвенный колит (НЯК) – воспалительное заболевание, имеющее рецидивирующее, торпидное течение с тяжелыми структурными изменениями слизистой оболочки кишечника, которые сопровождаются развитием опасных для жизни осложнений. Оно является одной из наиболее серьезных и нерешенных проблем в гастроэнтерологии [1, 2, 3, 4].

Согласно современным представлениям, воспалительные и репаративные процессы – это единая динамическая саморегулирующая система. При этом характер течения воспаления, восстановление поврежденных тканей зависит от функционального состояния клеток входящих в эту систему. Длительное воспаление при заболеваниях кишечника может индуцировать затяжной репаративный процесс, вызывая необратимые изменения в архитектонике и формирование стриктур. Степень и распространение воспалительного клеточного инфильтрата может определять клинический исход

заболевания. Диагностика НЯК основывается, как правило, на данных клинического, эндоскопического и морфологического обследования. Тактика лечения определяется протяженностью поражения кишечника, степенью тяжести и характера течения болезни, наличием и характером осложнений [3]. Определение активности неспецифического язвенного колита проводят с помощью эндоскопии [5], в которой различают 3 степени активности процесса (минимальную, умеренную и выраженную). Однако следует отметить, что дифференцировать степени активности процесса можно только при острой и подострой формах НЯК. При хронической форме это чрезвычайно трудно. Существует способ определения активности НЯК по гистологическим данным, полученным путем морфологического анализа биоптатов ткани кишечника [4]. При данном способе в качестве критериев 3 степеней активности используют признаки воспаления. Определяющей здесь является гистологическая картина слизистой оболочки толстой кишки, т. е. данный

способ сопряжен с проведением процедуры эндоскопического исследования и забора биопсийного материала, что является весьма травматичным.

Таким образом, перечисленные способы хотя и дают представления о различных фазах активности воспалительного процесса в слизистой оболочке кишечника, однако являются инвазивными и травматичными. Педиатр, сталкиваясь со столь тяжелым заболеванием, как НЯК, желает облегчить участь больного на определенном этапе инструментального обследования, поскольку проведение подобных манипуляций чревато осложнениями.

В связи с этим поиск серологических маркеров, косвенно характеризующих состояние слизистой оболочки кишечника, является актуальной проблемой детской гастроэнтерологии. Наиболее перспективным маркером, на наш взгляд, представляется коллаген IV типа, входящий в состав структурных компонентов рыхлой соединительной ткани. Она образует собственную пластинку слизистой оболочки (СО), которую расценивают как «плацдарм» воспаления.

Коллаген IV типа является основным компонентом базальных мембран эпителия. Его молекулы не образуют фибрилл, так как полипептидные цепи этого типа отличаются от α -цепей коллагенов, формирующих волокна [6]. Отмечено, что в процессе образования соединительной ткани, биосинтез коллагена сочетается с его разрушением и это является проявлением нормального морфостаза [7]. При этом сбалансированность синтеза и лизиса зависит от участия клеточных и гуморальных регуляторов, качества самих коллагеновых структур и продуктов их деградации, что составляет основу механизма ауторегуляции роста соединительной ткани. Поломка в этом процессе имеет важное клиническое значение, так как приводит к развитию хронического воспаления, патологической регенерации (дисрегенерации), склерозу органов и тканей [8]. При воспалении в зоне мононуклеарной инфильтрации одновременно протекают процессы фиброгенеза и разрушение коллагенсодержащих структур, что может расцениваться в качестве дополнительного показателя активности воспаления в слизистой оболочке.

В литературе встречаются единичные сведения о циркуляции коллагена IV типа в крови взрослого контингента с НЯК, тогда как у детей подобные данные практически отсутствуют. Так, Koutroubakis I.E. и соавторы, 2003 [9], показали, что его концентрация значительно не отличалась в активной и неактивной фазе у пациентов с воспалительными заболеваниями толстой кишки (ВТЗК). При БК в раннюю и позднюю стадии заболевания находили антитела к коллагену IV, а не коллаген, которые коррелировали с антителами к *Klebsiella pneumoniae*. Однако патогенетическая роль феномена не установлена [10].

У больных с хроническими вирусными заболеваниями печени изучены аутоантитела к коллагенам, в том числе IV типа [11]. Показано, что содержание аутоантител в сыворотке взрослых увеличивается пропорционально тяжести цитолитического и интерстициально-воспалительных синдромов, выраженности его гистологических проявлений активности и фиброза печени. Диагностическое значение сывороточного коллагена IV типа изучено в сравнительном аспекте с числом тромбоцитов для предсказания стадии фиброза у больных с хроническим гепатитом С у взрослых [12]. Установлено некоторое превосходство данного показателя по сравнению с числом тромбоцитов, в оценке стадии

фиброза у больных с хроническим гепатитом С. Считают, что при заболеваниях печени повышенный уровень сывороточного коллагена является чувствительным маркером активной стадии фиброза. Увеличение коллагена IV типа служит первичным отражением повышения его синтеза и отложения в печеночной ткани на этой стадии [13].

Цель исследования: установить значение сывороточного коллагена IV типа для оценки активности неспецифического язвенного колита у детей.

Материалы и методы

Обследовано 58 детей с неспецифическим язвенным колитом в возрасте $13,22 \pm 0,37$ лет, а также 15 детей референтной группы (без воспалительных заболеваний кишечника и печени). Диагноз заболевания ставили на основании комплексного обследования: клинико-лабораторных данных, «золотого стандарта» диагностики – эндоскопического исследования с морфологическим анализом биоптатов слизистой оболочки кишечника. Основными клиническими симптомами являлись: ректальное кровотечение, боли в животе, расстройства стула. Частота стула, в зависимости от тяжести заболевания, составляла от 3 до 20 и более раз в сутки. Абдоминальный болевой синдром чаще носил схваткообразный характер и локализовался в левой подвздошной области. Порфологическое исследование было комплексным и включало: гистологическое и гистохимическое исследование, при необходимости – проведение морфометрического исследования гистологических срезов. В слизистой оболочке толстой кишки определялся диффузный колит с инфильтрацией собственной пластинки различной выраженности в зависимости от степени активности заболевания. Инфильтрат локализовался в пределах собственной пластинки слизистой оболочки толстой кишки, редко проникая вглубь.

Протокол обследования больных был одобрен этическим комитетом института.

Содержание коллагена IV типа в сыворотке крови определяли методом ИФА с помощью тест-систем фирмы BCM Diagnostics LLC σ (США). Параллельно у этих же детей в гистологических срезах, полученных из колонобиоптатов, проводили оценку степени активности НЯК [4].

Статистический анализ осуществляли с использованием прикладных программ Statistica 6.0, Excel [14]. Для описательной статистики использовали среднее значение (M), среднее квадратичное отклонение (σ). Для сравнения показателей между группами больных использовали t -критерий Стьюдента, непараметрические методы. Коэффициенты корреляции рассчитывали по Спирмену (R). Достоверными считали различия при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Установлено, что уровень коллагена IV типа в сыворотке у детей НЯК достоверно значимо отличался от значений референтной группы: $186 \pm 24,9$ мкг/мл против $48,3 \pm 16,2$ мкг/мл ($p = 0,001$). В связи с этим представляло интерес выяснить, отражает ли содержание коллагена в сыворотке больных активность заболевания, для чего одновременно была изучена степень гистологической активности слизистой оболочки толстой кишки. В результате мы установили, что степень активности НЯК совпадала с различным уровнем содержания коллагена IV типа, в связи с чем были выделены 3 группы больных. В первой группе – 28 детей (48,3%) имели 1-ю степень гистологической активности, при которой имелись

нарушения архитектоники слизистой оболочки и слабо выраженный лимфоплазмочитарный инфильтрат в собственной пластинке (рис. 1). Средний показатель коллагена IV в сыворотке составлял $80,0 \pm 14,9$ мкг/мл (таблица).

ТАБЛИЦА.

Показатели коллагена IV типа в сыворотке крови детей ($M \pm \sigma$) с неспецифическим язвенным колитом в зависимости от степени активности заболевания (гистологическая картина)

Степень гистологической активности	Кол-во детей	Показатели коллагена IV (мкг/мл)	P
I	28	$80,0 \pm 14,9$	1-2 0,0001
II	20	$135,3 \pm 20,8$	2-3 0,001
III	10	$343,0 \pm 39,2$	1-3 0,0001

Вторая группа – 20 (34,5%) больных имели 2-ю степень гистологической активности. У них отмечалось повышенное содержание интраэпителиальных эозинофильных гранулоцитов (ЭГ), умеренная лимфоплазмочитарная инфильтрация собственной пластинки с присутствием многочисленных ЭГ, в том числе в виде фокусов, лейкодиapedез (рис. 2). Содержание коллагена – $135,3 \pm 20,8$ мкг/мл.

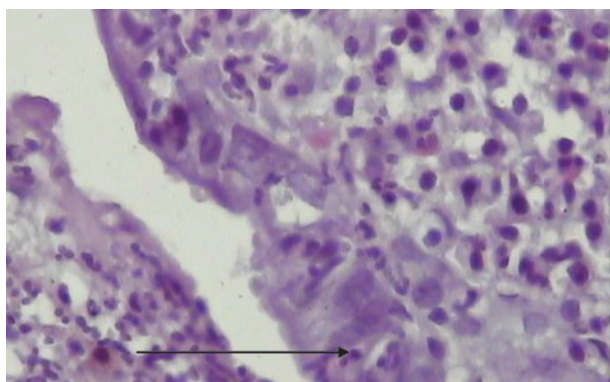


РИС. 1.

НЯК, гистологическая активность 1-й степени: многочисленные интраэпителиальные эозинофильные гранулоциты (стрелка), диффузная инфильтрация собственной пластинки слизистой оболочки толстой кишки. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 400$.

В третьей группе – у 10 (17,2%) детей наблюдалась 3-я степень гистологической активности. Она характеризовалась микроабсцессами в поверхностном эпителии, многочисленными крипт-абсцессами, высокой плотностью клеточного инфильтрата с тканевой эозинофилией (рис. 3). Именно у этих больных определялись самые высокие значения изучаемого показателя – $343,0 \pm 39,2$ мкг/мл.

Следовательно, содержание коллагена IV типа в сыворотках обследованных детей отражало степень гистологической активности. Подтверждением этого явилась тесная положительная взаимосвязь установленных фактов ($R=+0,906$, $p=0,0001$). Подобного технического решения в литературе мы не встретили.

Известен факт обнаружения сниженного уровня сывороточного коллагена IV типа при НЯК, но у взрослых пациентов [9], что противоречит нашим данным. Однако, это заболевание у данного контингента и детей протекает по-разному:

у взрослых наблюдается локальное воспаление в виде проктосигмоидита, а у детей воспалительно-деструктивный процесс определяется диффузно по всем отделам слизистой оболочки поперечно-ободочной кишки (рис. 1, 2, 3).

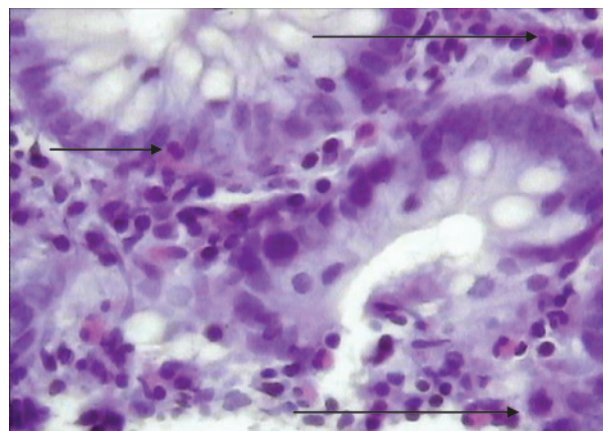


РИС. 2.

НЯК, гистологическая активность 2-й степени: тканевая эозинофилия слизистой оболочки толстой кишки. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 100$.

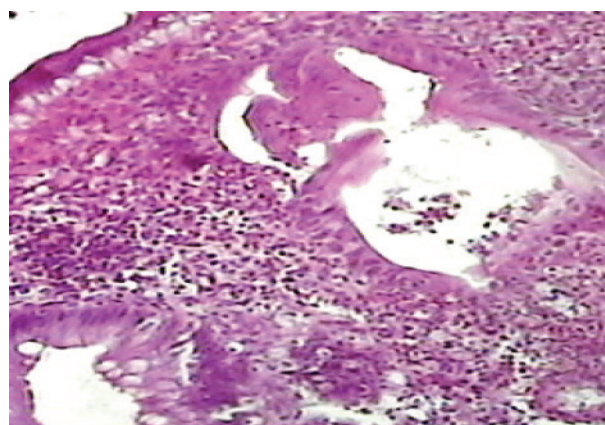


РИС. 3.

НЯК, гистологическая активность 3-й степени: «Крипт-абсцесс» в слизистой оболочке толстой кишки. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 100$.

Обнаружение различного уровня содержания коллагена IV типа в сыворотке при НЯК у детей можно обосновать следующими причинами. Коллаген IV является основным компонентом базальных мембран эпителия, которые находятся у большинства больных в состоянии деструкции, т. к. при воспалении происходит разрушение коллагенсодержащих структур. Чем более выражена деструкция, тем больше гистологическая активность. Избыточное накопление коллагена в составе воспалительного экссудата обуславливает его выход в кровь через стенки микроциркуляторного русла и лимфатические капилляры. В связи с этим появление коллагена IV типа в сыворотке крови будет свидетельствовать об активном процессе при НЯК, т. к. это сопряжено с различной степенью гистологической активности в слизистой оболочке толстой кишки.

Заключение

Повышение содержания коллагена IV типа в сыворотке крови детей с неспецифическим язвенным колитом отражает на организменном уровне активность заболевания и

может служить маркером тканевого повреждения и степени гистологической активности процесса.

Предлагаемый способ упрощает диагностику и снижает травматичность проведения обследования у детей с НЯК.

ЛИТЕРАТУРА

1. Комаров Ф.И., Осадчук А.М., Осадчук М.А., Кветной И.М. Неспецифический язвенный колит. М.: МИА, 2008. 256 с.
2. Михайлова Т.Л., Халиф И.Л. Язвенный колит. В кн.: Неспецифические заболевания кишечника. Под редакцией Г.И. Воробьева, И.Л. Халифа. М.: Миклош, 2008. С. 136-139.
3. Халиф И.Л., Михайлова Т.Л., Белоусова Е.А. Консервативное лечение язвенного колита и болезни Крона. В кн.: Неспецифические заболевания кишечника. Под редакцией Г.И. Воробьева, И.Л. Халифа. М.: Миклош, 2008. С. 247-248.
4. Румянцев В.Г., Щиголева Н.Е. Неспецифический язвенный колит. В кн.: Детская гастроэнтерология (избранные главы). Под ред. А.А. Баранова, Е.В. Климанской, Г.В. Римарчук. М. 2002. С. 531-537.
5. Далецкий С.Я., Стрекаловский В.П., Климанская Е.В., Сурикова О.А. Эндоскопия органов пищеварительного тракта у детей. М.: Медицина, 1984. С. 153-155.
6. Шехтер А.Б. Фибробласты. В кн.: Воспаление. /Под редакцией В.В. Серова, В.С. Паукова. М.: Медицина, 1995. С. 164-176.

7. Бобро Л.П. Фибробласты и их значение в тканевых реакциях. Архив патологии. 1990. № 52 (12). С. 65-68.
8. Шехтер А.Б., Серов В.В. Воспаление и регенерация. В кн.: Воспаление. Под редакцией В.В.Серова, В.С. Паукова. М.: Медицина, 1995. С. 200-218.
9. Koutroubakis I.E., Petinaki E., Dimoulis P. et al. Serum laminin and collagen IV in inflammatory bowel disease. J. Clin. Pathol. 2003. № 56 (11). P. 817-820.
10. Tiwana H., Natt R.S., Benitez-Brito R. et al. Correlation between the immune response to collagen type I, III, IV, V and Klebsiella pneumoniae in patients with Crohn's Disease and ankylosing spondylitis. Rheumatology (Oxford). 2001. № 40 (1). P. 15-23.
11. Корой П.В., Ягода А.В. Клиническое значение аутоантител к коллагенам при хронических вирусных заболеваниях печени. Иммунология. 2006. № 6. С. 348-351.
12. Murawaki Y., Koda M., Okamoto K. et al. Diagnostic value of serum type IV collagen test in comparison with platelet count for predicting the fibrotic stage in patients with chronic hepatitis C. J.Gastroenterol. Hepatol. 2001. № 16 (7). P. 777- 781.
13. Ueno T., Inuzuka S., Oohira H. et al. Significance of serum type-IV collagen levels in various liver diseases. Measurement with a one-step sandwich enzyme immunoassay using monoclonal antibodies with specificity for pepsin – solubilized type –IV collagen. Scand. J. Gastroenterology. 1992. № 27 (6). P. 513-520.
14. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. М.: МедиаСфера, 2006. С. 85-117.

