

# МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ И ТЕХНОЛОГИИ

---

УДК 616.344-002-031.84-06:616-018.74+616-002

## ЭНДОТЕЛИАЛЬНАЯ ДИСФУНКЦИЯ И СИСТЕМНОЕ ВОСПАЛЕНИЕ КАК ФАКТОРЫ СТРАТИФИКАЦИИ ТЯЖЕСТИ БОЛЕЗНИ КРОНА

*Е.А. Степина*

*Пермский государственный медицинский университет  
им. академика Е.А. Вагнера, г. Пермь, Россия*

## ENDOTHELIAL DYSFUNCTION AND SYSTEMIC INFLAMMATION AS SEVERITY STRATIFICATION FACTORS OF CROHN'S DISEASE

*E.A. Stepina*

*Perm State Medical University named after E.A. Wagner, Perm, Russian Federation*

---

**Цель.** Определить функциональную активность эндотелия у пациентов с болезнью Крона (БК), а также оценить её зависимость от тяжести атаки заболевания.

**Материалы и методы.** Обследовано 16 пациентов с установленным диагнозом БК в фазе обострения, а также с впервые выявленными формами заболевания. Группу контроля составили 11 практически здоровых лиц. В качестве маркеров эндотелиальной дисфункции исследовали уровень васкулоэндотелиального фактора роста (ВЭФ) в сыворотке крови, количество десквамированных эндотелиоцитов плазмы (ДЭЦ), а также уровень микроальбуминурии (МАУ).

**Результаты.** У больных БК обнаружены повышенные концентрации маркеров эндотелиальной дисфункции по сравнению с контрольной группой. Получена достоверная взаимосвязь между показателями эндотелиальной дисфункции и степенью тяжести заболевания. Выявлена положительная корреляция уровня ВЭФ, ДЭЦ и МАУ с маркерами системного воспаления (скоростью оседания эритроцитов, С-реактивным белком, фибриногеном и альфа-2-глобулином). Разработана математическая модель, позволяющая прогнозировать степень тяжести атаки БК.

**Выводы.** У пациентов с БК обнаружена эндотелиальная дисфункция, которая выражается в повышении уровня ВЭФ, ДЭЦ и МАУ. Показатели эндотелиальной дисфункции находятся в прямой зависимости от сывороточных маркеров системного воспаления. Таким образом, величины ВЭФ, ДЭЦ и МАУ могут выступать в качестве критерия степени тяжести атаки БК.

**Ключевые слова.** Эндотелиальная дисфункция, болезнь Крона, васкулоэндотелиальный фактор роста, десквамированные эндотелиоциты, микроальбуминурия.

**Aim.** The aim of the study was to determine the functional activity of endothelium in patients with Crohn's disease (CD), and to assess its dependence on the severity of disease attack.

**Materials and methods.** Sixteen patients diagnosed CD in the exacerbation phase and those with first diagnosed forms of disease were examined. The control group enclosed 11 practically healthy persons. The

---

© Степина Е.А., 2016

тел. 8 919 705 90 98

e-mail: kati.aleksa@yandex.ru

[Степина Е.А. – аспирант кафедры госпитальной терапии].

blood serum vasculoendothelial growth factor (VEGF) level, plasma desquamated endotheliocytes (DEC) number, as well as microalbuminuria (MAU) level were studied as the markers of endothelial dysfunction (ED).

**Results.** Among CD patients, increased concentrations of ED markers as compared with the control group were revealed. A reliable correlation between the ED indices and the degree of severity of the disease was obtained. Positive correlation between the VEGF, DEC and MAU levels and the systemic inflammation markers (ESR, SRP, fibrinogen and alpha-2-globulin) was found. A mathematical model allowing to predict the degree of severity of CD attack was developed.

**Conclusions.** Endothelial dysfunction, which is expressed by the increased VEGF, DEC and MAU levels, was detected in CD patients. ED indices directly depend on the serum markers of systemic inflammation. Thus, VEGF, DEC and MAU values can serve as a criterion for CD attack severity.

**Key words.** Endothelial dysfunction, Crohn's disease, vasculoendothelial growth factor (VEGF), desquamated endotheliocytes, microalbuminuria.

## ВВЕДЕНИЕ

Болезнь Крона (БК) представляет собой актуальную проблему современной гастроэнтерологии [2]. Особенностью данного заболевания является трансмуральный характер поражения, при котором в патологический процесс вовлекается весь пищеварительный тракт – от ротовой полости до анального канала [7]. 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 [2, 7]. Согласно последним эпидемиологическим исследованиям, распространенность БК в странах Европы и в Северной Америки составляет 12,7–20,2 на 100 тысяч населения, а в европейской части России – 3,7 на 100 тысяч населения [7, 9]. Не является исключением и Пермский край. Среди больных, внесенных в формируемый регистр по Пермскому краю, у большинства пациентов с БК имеются тяжелые распространенные формы. Так, тяжелое течение наблюдается у 26,8 % больных, тотальное поражение кишечника – у 14,3 %, при этом частота внекишечных проявлений заболеваний составляет 15,1 %, а осложнений – 24,1 % [1].

В связи с получением новых данных о патогенезе воспалительных заболеваний ки-

шечника за последние десятилетия кардинально изменился взгляд на диагностику и лечение данной патологии. Было установлено, что в основе патогенеза заболевания лежат нарушения в регуляции функции эндотелия с уменьшением капиллярного кровотока и повышением проницаемости сосудов [3, 6].

В отдельных исследованиях было выявлено, что у пациентов с БК происходит патологический рост кровеносных сосудов. Особое значение отводится васкуло-эндотелиальному фактору роста (ВЭФ). Доказано, что повышенные концентрации данного фактора в сыворотке крови коррелируют с активностью заболевания, наличием осложнений, частотой встречаемости колоректального рака, а также поздним ответом на консервативную терапию [11, 12].

Известно, что системная эндотелиальная дисфункция находит свое отражение и в повреждении стенки клубочкового аппарата почек, что в свою очередь приводит к повышенной экскреции альбумина с мочой. Считается, что микроальбуминурия (MAU) является ранним маркером развития эндотелиальной дисфункции [8, 13], что также может быть использовано при обследовании больных с воспалительными заболеваниями кишечника с целью оценки у них состояния сосудистого эндотелия.

Таким образом, изучение роли эндотелиальной дисфункции в развитии БК сегодня может стать новым и перспективным

направлением в стратификации риска прогрессирования заболевания.

*Цель исследования* – определить функциональную активность эндотелия у пациентов с БК, а также оценить их зависимость от тяжести атаки заболевания.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Нами проведено простое открытое исследование, в котором приняли участие 16 пациентов с БК в фазе обострения, а также с впервые выявленными формами заболевания. Среди них было 8 (50 %) женщин и 8 (50 %) мужчин в возрасте от 18 до 60 лет, в среднем –  $35,63 \pm 5,51$  г. По тяжести атаки пациентов с БК распределили следующим образом: легкая атака отмечена у 6 человек (38,9 %), средняя – у 5 (33,3 %), тяжелая – у 5 (33,3 %). Группу контроля составили 11 практически здоровых лиц. Из них 8 (64,3 %) женщин и 4 (35,7 %) мужчин, средний возраст –  $30,67 \pm 6,53$  г. Все пациенты были сопоставимы по полу (*F*-критерий,  $p = 0,446$ ) и возрасту (*t*-критерий,  $p = 0,155$ ).

Критериями *включения* явились: пациенты с впервые установленным диагнозом БК, пациенты с ранее верифицированным диагнозом в период обострения заболевания. Критериями *исключения* из исследования были: гипертоническая болезнь, распространенный атеросклероз, инфаркт миокарда, хроническая болезнь почек, сахарный диабет, патология свертывающей системы крови, тяжелая сопутствующая соматическая патология: печеночная недостаточность, онкологические заболевания, застойная сердечная недостаточность, нестабильная стенокардия, нарушение ритма и проводимости, тяжелая пневмония, сепсис, беременность, а также наличие БК в стадии ремиссии.

Всем пациентам проводилось клиническое обследование, включающее опрос и осмотр с подробной детализацией жалоб.

Выполнялось исследование маркеров системного воспаления: определение скорости оседания эритроцитов (СОЭ), уровня С-реактивного белка (СРБ), фибриногена, белковых фракций крови (альфа-1- и альфа-2-глобулинов). С целью определения протяженности поражения кишечника, а также при подозрении на наличие стриктур, свищей применялись рентгенологические методы исследования, а именно ирригография и *R*-скопия желудочно-кишечного тракта с барием. Диагноз БК был верифицирован согласно рекомендациям российской группы по изучению БК. Для определения тяжести атаки заболевания использовались критерии, предложенные обществом по изучению воспалительных заболеваний кишечника при Ассоциации колопроктологов России [4].

В качестве маркеров эндотелиальной дисфункции определяли концентрацию ВЭФ в сыворотке иммуноферментным методом с использованием диагностического набора «Вектор БЕСТ», г. Новосибирск. Кроме того, рассчитывали количество десквамированных эпителиоцитов (ДЭЦ) в плазме крови по методу Hladovec. Метод заключается в изоляции эндотелия с тромбоцитами с дальнейшим осаждением тромбоцитов под воздействием аденозиндифосфата (АДФ) [10]. Для определения уровня МАУ использовали тест-полоски Micral-Test (Roche Diagnostics, Германия), результат считался положительным, если в двух из трех анализах мочи окрашивание тест-полоски соответствовало 20 мг/л и более.

Обработка статистических данных осуществлялась на персональном компьютере Intel Pentium с применением программных пакетов Microsoft Excel 2007 и Statistica 6. Описание количественных данных представлялось в виде среднего арифметического (*M*) и среднего квадратичного отклонения ( $\sigma$ ). Для проверки значимости различий при данных условиях применялся *t*-критерий. Сила связи признаков измерялась коэффи-

циентом сопряженности Пирсона ( $Ki$ ). Корреляционный анализ проводился при помощи коэффициента линейной корреляции Пирсона ( $r$ ). При анализе малой выборки (менее 30 наблюдений) применяли поправку Ван дер Вардена. Нулевая гипотеза отвергалась при значении  $p < 0,05$  [5].

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У больных БК уровень ВЭФ превышал аналогичный показатель в контрольной группе –  $528,85 \pm 163,98$  против  $197,97 \pm 82,88$  пг/мл ( $p = 0,0014$ ). При дифференциальном анализе данного показателя в зависимости от тяжести атаки заболевания выявлено достоверное увеличение его концентрации при тяжелых формах БК. Так, концентрация ВЭФ в группе пациентов с тяжелым течением была  $950,66 \pm 229,57$  пг/мл по сравнению с  $414,12 \pm 80,00$  пг/мл у пациентов со среднетяжелым течением ( $p = 0,0013$ ) и  $272,95 \pm 132,21$  пг/мл при легком течении заболевания ( $p = 0,0002$ ).

Уровень ДЭЦ у пациентов с БК составил  $(6,63 \pm 3,46)10^4$ /л, тогда как в контрольной группе данный показатель составил  $(2,00 \pm 1,48)10^4$ /л ( $p = 0,0001$ ). Уровень ДЭЦ у пациентов с тяжелыми формами также значительно превышал референсные значения и составил  $(11,00 \pm 14,84)10^4$ /л по сравнению с  $(5,00 \pm 2,45)10^4$ /л при средних ( $p = 0,0040$ ) и с  $(4,33 \pm 1,63)10^4$ /л ( $p = 0,0000$ ) при легких формах БК.

При анализе уровня МАУ в группе больных БК наблюдали сходную картину – средние значения МАУ при этой патологии превышали показатели здоровых пациентов и составляли  $15,94 \pm 13,81$  мг/л ( $p < 0,05$ ). При этом максимальные значения МАУ были отмечены у пациентов с тяжелыми формами заболевания –  $32,00 \pm 10,95$  мг/л, против  $12,00 \pm 3,92$  мг/л ( $p = 0,001$ ) при средней тяжести атаки и  $5,83 \pm 8,01$  мг/л ( $p = 0,005$ ) при легкой.

Полученные данные подтверждены корреляционным анализом, при котором выявлено наличие связи между тяжестью атаки БК и показателями эндотелиальной дисфункции. Так, установлена достоверная прямая положительная сильная связь степени тяжести атаки с концентрацией ВЭФ сыворотки ( $r = 0,850$ ,  $p = 0,000$ ), с уровнем ДЭЦ ( $r = 0,803$ ,  $p = 0,0002$ ) и МАУ ( $r = 0,797$ ,  $p = 0,0002$ ).

На следующем этапе нашего исследования проведена оценка показателей сывороточных маркеров системного воспаления, а именно СОЭ, СРБ, фибриногена, альфа-1- и альфа-2-глобулинов. При этом было отмечено достоверное повышение уровня СОЭ и СРБ в зависимости от тяжести атаки заболевания. Так, уровень СОЭ при тяжелых формах составил  $39,6 \pm 3,33$  мм/ч, против  $13,17 \pm 4,40$  мм/ч ( $p = 0,00001$ ) при легкой и  $22,40 \pm 9,79$  мм/ч ( $p = 0,0141$ ) при средней степени тяжести. Похожая тенденция отмечена и при анализе концентрации СРБ сыворотки крови. При тяжелых атаках заболевания данный показатель составил  $38,51 \pm 26,96$  мг/л, тогда как при легких и средних формах его величины были равны –  $0,66 \pm 0,79$  ( $p = 0,0349$ ) и  $5,04 \pm 3,52$  мг/л ( $p = 0,0494$ ) соответственно. Достоверного отличия уровня фибриногена, альфа-1- и альфа-2 глобулинов при БК в зависимости от степени тяжести выявлено не было.

Корреляционный анализ показал, что зависимость параметров эндотелиальной дисфункции и сывороточных маркеров системного воспаления достигла уровня достоверности (таблица).

Таким образом, в ходе нашей работы выявлено, что у пациентов с БК уровни ВЭФ, ДЭЦ и МАУ достоверно коррелируют с тяжестью атаки заболевания, а также с некоторыми сывороточными маркерами системного воспаления. Поэтому целью следующего этапа исследования было построение математической модели, учитывающей совокупность факторов

и позволяющей прогнозировать степень тяжести атаки БК. При этом принимали во внимание уровень СОЭ, концентрацию СРБ и ВЭФ в сыворотке, количество ДЭЦ в плазме крови, а также уровень МАУ. Тяжесть атаки болезни Крона ТА рассчитывали по формуле

$$TA = -0,2421 + 0,0016ВЭФ + 0,0602ДЭЦ + 0,0442МАУ + 0,0047СОЭ - 0,0104СРБ,$$

где  $-0,2421$  – константа;  $0,0016$ ,  $0,0602$ ,  $0,0442$  – коэффициенты; ВЭФ – васкулоэндотелиальный фактор роста сыворотки, пг/мл; ДЭЦ – количество десквамированных эндотелиоцитов,  $10^4$ /л; МАУ – микроальбуминурия, мг/л; СОЭ – скорость оседания эритроцитов, мм/ч; СРБ – уровень С-реактивного белка, мг/л.

### Корреляционный анализ показателей эндотелиальной дисфункции и сывороточных маркеров системного воспаления пациентов с болезнью Крона

Показатель	ВЭФ, пг/мл		ДЭЦ, $10^4$ /л		МАУ, мг/л	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
СОЭ, мм/ч	0,756*	0,0007*	0,728*	0,0014*	0,802*	0,0021*
СРБ, мг/л	0,708*	0,0021*	0,689*	0,0032*	0,773*	0,0004*
$\alpha$ -1-глобулин, %	0,199	0,4604	0,285	0,2849	0,227	0,3968
$\alpha$ -2-глобулин, %	0,337	0,2017	0,673*	0,0043*	0,534*	0,0298*
Фибриноген, г/л	0,573*	0,0202*	0,520*	0,0388*	0,647*	0,0067*

Примечание: *p* – критерий и коэффициент корреляции Пирсона; \* – статистически значимые результаты ( $p < 0,05$ ).

Чувствительность методики составила 87,5 %, а специфичность 91,7 %. Значение ТА менее 0,4 свидетельствует об отсутствии атаки, т.е. о ремиссии, при уровне ТА в интервале от 0,4 до 1,4 следует говорить о легкой степени тяжести атаки при болезни Крона, значение в диапазоне от 1,5 до 2,4 свидетельствует об атаке средней степени тяжести, а при ТА 2,5 и более степень атаки будет соответствовать тяжелой.

### Выводы

1. У больных с БК наблюдается эндотелиальная дисфункция в виде повышенного уровня ВЭФ, ДЭЦ и МАУ. При этом их максимальные значения отмечены при тяжелых формах заболевания.

2. Проведенное нами исследование выявило, что показатели эндотелиальной дисфункции находятся в прямой зависимости от сывороточных маркеров системного воспаления.

3. Величины ВЭФ, ДЭЦ и МАУ могут выступать в качестве критерия степени тяжести атаки БК.

### Библиографический список

1. Алексеева Е.А., Копосова К.А., Хлынова О.В. «Пермский вариант» воспалительных заболеваний кишечника. Дневник Казанской медицинской школы 2013; 1: 82.
2. Белоусова Е.А. Рекомендации по диагностике и лечению болезни Крона. Фарматека 2009; 13: 38–44.
3. Бойко Т.И., Стойкевич М.В., Колбасина Е.В., Сорочан Е.В. Состояние функции сосудистого эндотелия у больных с хроническими воспалительными заболеваниями кишечника. Сучасна гастроентерологія. 2010; 1(51): 5–10.
4. Ивашкин В.Т. и соавт. Рекомендации по диагностике и лечению взрослых пациентов с болезнью Крона. М. 2013; 23.
5. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение прикладных программ STATISTICA. М.: Медиасфера 2003; 312.
6. Румянцев В.Г., Фомин С.А., Киркин Б.В. Ишемия в патогенезе язвенного колита у

пожилых. Тезисы VI Европейского конгресса геронтологов. М. 2002.

7. Халиф И.Л., Лоранская И.Д. Воспалительные заболевания кишечника (неспецифический язвенный колит и болезнь Крона): клиника, диагностика и лечение. М.: Миклош 2004; 88.

8. Шишкин А.Н., Лындина М.Л. Эндотелиальная дисфункция и артериальная гипертензия. Артериальная гипертензия 2008; 4: 315–319.

9. Baumgart D.C., Sandborn W.J. Crohn's disease. Lancet 2012; 380 (9853): 1590–1605.

10. Hladovec J. Circulating endothelial cells as a sign of vessel wall lesion. Physiol Bohemoslov 1978; 27: 140–144.

11. Ferrante M., Pierik M., Henckaerts L., Joossens M. The role of vascular endothelial growth factor (VEGF) in inflammatory bowel disease. Inflamm. Bowel. Dis. 2006; 12 (9): 870–878.

12. Kopanakis N., Saiti A., D'Avgerinos E., Masselou K. Serum VEGF and bFGF in patients with inflammatory bowel diseases. Ann. Ital. Chir. 2014; 85 (3): 203–206.

13. Stehouwer C.D., Fischer H.R., Van K.A. Endothelial dysfunction precedes development of microalbuminuria in IDDM. Diabete 1995; 44 (5): 561–564.

Материал поступил в редакцию 27.12.2015