

УДК: 616.34-002-078.083.3

DOI: 10.14427/jipai.2020.3.30

Серологический профиль антител у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника

Д.Б. Нижегородова, А.Ю. Адамович, Г.И. Иванчик, О.Г. Дыбов, С.С. Кулинич, В.К. Шадрина, А.В. Воробей, М.М. Зафранская

Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск, Республика Беларусь

Antibody profile in patients with inflammatory bowel diseases

D.B. Nizhegorodova, A.Yu. Adamovich, G.I. Ivanchyk, O.G. Dybov, S.S. Kulinich, V.K. Shadrina, A.V. Vorobei, M.M. Zafranskaya

Belarusian Medical Academy of Post-Graduated Education, Minsk, Republic of Belarus

Аннотация

В настоящее время не сформированы диагностические принципы использования панели антител для прогнозирования течения воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК), развития осложнений и оценки лечения. Серологические биомаркеры в комбинации с клиническими, эндоскопическими, гистологическими, радиологическими, генетическими и микробиологическими показателями могут явиться идеальной основой для персонализированного подхода в диагностике и лечении ВЗК. Целью данной работы явилось определение серологического профиля у пациентов с болезнью Крона (БК) и язвенным колитом (ЯК) для выявления потенциальных биомаркеров болезни. У пациентов с ВЗК выявлены изменения в продукции общих иммуноглобулинов, а также обнаружены антигликановые антитела (ASCA) и аутоантитела к компонентам нейтрофилов (pANCA): серологический профиль ASCA+/pANCA- определен у 67% пациентов с БК, а у пациентов с ЯК серологический профиль в 100% соответствовал ASCA-/pANCA+. Показано, что для дифференциальной диагностики БК и ЯК может использоваться комбинация антител ASCA и pANCA, в то время как для оценки прогрессирования ВЗК диагностически значимым является определение титра pANCA.

Ключевые слова

Воспалительные заболевания кишечника, болезнь Крона, язвенный колит, иммуноглобулины, аутоантитела

Summary

Currently, there is no clear-cut idea about the use of specific antibodies panel for predicting inflammatory bowel disease (IBD) as well as IBD progression and the therapeutic effect. The combination of serologic biomarkers with clinical, endoscopic, histologic, radiologic, genetic and microbiologic parameters may be ideal basis for a personalized approach in IBD diagnosis and treatment. The aim of this work was to determine the serological profile in patients with Crohn's disease (CD) and ulcerative colitis (UC) for potential biomarkers identification. The changes in immunoglobulins' production as well as specific antiglycan antibodies (ASCA) and autoantibodies to neutrophil components (pANCA) were revealed in IBD patients: the serological profile ASCA+/pANCA- was determined in 67% of CD patients, and in 100% ASCA-/pANCA+ corresponded to that of UC patients. The combination of ASCA and pANCA antibodies has been shown to be useful for the differential diagnosis of CD and UC, while the determination of pANCA titer is diagnostically significant when assessing IBD progression.

Keywords

Inflammatory bowel diseases, Crohn's disease, ulcerative colitis, immunoglobulins, autoantibodies

Введение

Воспалительные заболевания кишечника (ВЗК), к которым относятся болезнь Крона (БК) и язвенный колит (ЯК), представляют собой многофакторные хронические рецидивирующие аутоиммунные заболевания, сопровождающиеся развитием иммунного воспаления в слизистых оболочках желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и являются одной из наиболее серьезных и нерешенных проблем в современной гастроэнтерологии [1]. По уровню заболеваемости ВЗК значительно уступают другим заболеваниям органов пищеварения, однако, по тяжести течения, частоте осложнений и летальности данные патологические состояния во всем мире занимают одно из ведущих мест в структуре болезней ЖКТ [2].

Иммунопатогенез ВЗК характеризуется развитием аномального системного и локального мукозального иммунного ответа, который поддерживается микробными факторами и изменением барьерных функций слизистой оболочки у генетически восприимчивых индивидуумов [3]. Нарушение баланса между провоспалительными Т-хелперами (Th) 1-го и 17-го типов и регуляторными Т-лимфоцитами (Treg), активация макрофагов, а также направленная миграция лейкоцитов в ЖКТ играют ключевую роль в патогенезе ВЗК [2, 4]. Изменения в Т-клеточном иммунитете приводят к нарушению гуморального ответа и образованию специфических антител [5].

В настоящее время проблема диагностики ВЗК заключается в отсутствии «золотого стандарта», в связи с чем диагноз БК и ЯК выставляется по совокупности клинических, радиологических, эндоскопических, гистологических и биохимических исследований [8, 9]. Несмотря на существующие диагностические протоколы, часть пациентов с недифференцированным колитом не имеет точного диагноза [7].

Среди потенциальных серологических биомаркеров при ВЗК выделяют 2 основные группы антител: 1) антигликановые антитела, распознающие карбогидратные эпитопы микробиоты бактериальной, грибковой и дрожжевой природы (anti-Saccharomyces cerevisiae (ASCA), anti-laminaribioside (ALCA), anti-chitobioside (ACCA) и др.), и 2) аутоантитела к компонентам нейтрофилов (pANCA, perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibodies), поджелудочной железы (PAB, exocrine pancreas autoantibodies) и бокаловидным клеткам (GAB, intestinal goblet cells autoantibodies) [5, 6]. Классическими серологическими маркерами БК являются антигликановые антитела ASCA, распознающие 200 кДа фосфо-

пептидоманнан клеточной стенки пекарских и пивных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, в то время как при ЯК диагностическую значимость несут pANCA [6, 7]. При этом серопозитивный/серонегативный статус пациентов характеризуется относительной стабильностью на протяжении длительного времени, включая как активные, так и неактивные фазы заболевания, и может изменяться в ответ на терапию и хирургическое вмешательство [7].

Серологические маркеры характеризуются высокой специфичностью и могут играть важную роль в первичной диагностике БК и ЯК, а также в уточнении диагноза неклассифицированных ВЗК до оперативного вмешательства. Однако из-за низкой чувствительности серологические маркеры не подходят для скрининговой диагностики в основной популяции [5–7], тем не менее, специфические антитела могут являться существенным дополнением к диагностике БК и ЯК. Кроме того, способность серологических маркеров предсказывать течение заболевания и ответ на терапию может способствовать стратификации пациентов на группы высокого и низкого риска [7, 10].

На сегодняшний день отсутствует достаточное количество исследований и доказательств в пользу использования серологической панели антител для прогнозирования течения заболевания, развития осложнений и оценки терапевтического эффекта у пациентов с ВЗК. Кроме того, лимитировано количество исследований роли ВЗК-ассоциированных сывороточных антител в патогенезе заболеваний [7, 11].

Учитывая вышесказанное, в данной статье представлен серологический профиль и частота выявления ВЗК-ассоциированных антител у пациентов с ЯК и БК, находившихся на стационарном лечении в Республиканском центре реконструктивной хирургической гастроэнтерологии и колопроктологии, с целью поиска биомаркеров прогноза течения болезни.

Материалы и методы

В исследование включено 25 пациентов с ВЗК (17 мужчин и 8 женщин, возраст – 32,0 (22,0÷47,0) года), которые находились на лечении в хирургическом отделении УЗ «Минская областная клиническая больница» (Республиканский центр реконструктивной хирургической гастроэнтерологии и колопроктологии, Республика Беларусь) в период с 2018-2020 гг. Диагнозы «болезнь Крона» (n=18) и «язвенный колит» (n=7) верифицированы на основании индекса активности БК (Crohn's

disease activity index, CDAI) (0-клиническая ремиссия, 1-низкая активность, 2-умеренная активность, 3-высокая активность) [12], и эндоскопической активности ЯК по балльной шкале Mayo Endoscopic Score (0-ремиссия, 1-минимальная активность, 2-умеренная активность, 3-выраженная активность) [13]. Клинико-демографическая характеристика пациентов с ВЗК представлена в таблице 1. Группу сравнения (ГС) составили 16 здоровых доноров, сопоставимых по возрасту и полу (РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий, г. Минск, Республика Беларусь).

Метод иммуноферментного анализа

Концентрацию общих иммуноглобулинов (Ig) класса M, G, A, E и подкласса G4, антинуклеарных антител (ANA) класса G, а также специфических антигликановых антител ASCA класса A, G и аутоантител к миелопероксидазе (anti-MPO) класса G определяли в сыворотке крови исследуемых групп методом твердофаз-

ного иммуноферментного анализа (ИФА) согласно инструкциям производителей с использованием следующих коммерческих наборов: «Иммуноскрин-G, M, A-ИФА-БЕСТ» (A-8674, Вектор-Бест, РФ), «IgE общий-ИФА-БЕСТ» (A-8660, Вектор-Бест, РФ), «Human IgG4 Platinum ELISA» (BMS2095, eBioscience, Австрия), «ANA Screen ELISA (IgG)» (EA1590-9601-8G, Euroimmune, Германия), «Anti-Saccharomyces cerevisiae ELISA (IgG)» (EV2841-9601G, Euroimmune, Германия), «Anti-Saccharomyces cerevisiae ELISA (IgA)» (EV2841-9601A, Euroimmune, Германия), «Anti-Myeloperoxidase ELISA (IgG)» (EA1211-9601G, Euroimmune, Германия). Результаты регистрировали на спектрофотометре Ф300 («Витязь», Республика Беларусь) при длине волны $\lambda=450$ нм.

Метод непрямой иммунофлуоресценции

Качественное и полуколичественное определение специфических поверхностных/внутриклеточных антител к компонентам фиксированных

Таблица 1. Клинико-демографическая характеристика пациентов с ВЗК, n (%)

Критерии	Пациенты с БК (n=18)	Пациенты с ЯК (n=7)
Пол, м/ж	13/5	4/3
Возраст, лет	31,0 [21,2 ÷ 47,0]	37,0 [24,5 ÷ 48,0]
Продолжительность заболевания, года	4,0 [2,0 ÷ 5,0]	6,0 [4,0 ÷ 6,0]
Активность заболевания:		
ремиссия	10 (55,6%)	1 (14,3%)
низкая	4 (22,2%)	3 (42,9%)
умеренная	4 (22,2%)	3 (42,9%)
выраженная	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Возраст пациента при диагнозе:		
A ₁ , ≤ 16 лет	0 (0,0%)	–
A ₂ , 17-40 лет	11 (61,1%)	–
A ₃ , ≥ 40 лет	7 (38,9%)	–
Локализация заболевания:		
L ₁ , терминальный илеит	4 (22,2%)	–
L ₂ , колит	4 (22,2%)	–
L ₃ , илеоколит	8 (44,4%)	–
L ₄ , верхние отделы ЖКТ	2 (11,1%)	–
E ₁ , проктит	–	0 (0,0%)
E ₂ , левостороннее поражение	–	4 (57,1%)
E ₃ , тотальное язвенный колит	–	3 (42,9%)
Фенотип заболевания:		
V ₁ , воспалительная	5 (27,8%)	–
V ₂ , стенозирующая/стриктурирующая	8 (44,4%)	–
V ₃ , пенетрирующая/свищевая	5 (27,8%)	–
P, перианальное повреждение	7 (38,9%)	–

этанолом нейтрофилов, фосфопептидоманнану клеточной мембраны дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, панкреатическим антигенам rPAg1 и rPAg2, антигенам бокаловидных клеток кишечника в сыворотке крови пациентов с ВЗК выполняли методом непрямой иммунофлуоресценции (НИФ) с использованием коммерческого набора «СIBD profile 3» (EA1814-9601G, Euroimmune, Германия) согласно инструкции производителя. Визуализацию результатов проводили с использованием инвертированного флуоресцентного микроскопа Axiovert 200 («Carl Zeiss», Германия). Положительные результаты окрашивания оценивали визуально по степени выраженности флуоресценции по системе 3+: “+++” – интенсивная флуоресценция, аналогично свечению реакционных зон положительного контроля, “++” – умеренная флуоресценция, “+” – слабая флуоресценция, “-” – отсутствие специфического свечения в образце (негативный контроль) с последующим определением соответствующего титра антител.

Статистический метод

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ Statistica 8.0. Статистически значимые различия определяли при уровне $p < 0,05$. Для характеристики исследуемых групп использовали показатели медианы, нижнего и верхнего процентилей (25-й процентиль ÷ 75-й процентиль). Сравнение

групп и определение статистической значимости различий осуществляли непараметрическим U-критерием Манна-Уитни для независимых переменных. Корреляционный анализ выполняли по Спирмену с определением рангового коэффициента корреляции (R).

Результаты и обсуждение

Характеристика гуморального звена иммунитета у пациентов с ВЗК

Количество В-лимфоцитов, включая субпопуляцию В1-клеток, и продукция IgM, IgG, IgA, IgE, а также IgG4 у пациентов с ВЗК представлены в таблице 2. У пациентов с БК установлено снижение относительного количества В1-лимфоцитов по сравнению с ГС ($p=0,02$), чего не наблюдалось в группе пациентов с ЯК. Концентрация сывороточных IgM, IgG, IgA и IgE у пациентов с БК статистически значимо превышала аналогичные показатели ГС и группы пациентов с ЯК (для IgG и IgE) (таблица 2). У пациентов с ЯК относительно ГС отмечалось статистически значимое увеличение IgM и IgA. При этом, у пациентов с БК количество IgM коррелировало с IgA ($R=0,51$, $p=0,03$), а у пациентов с ЯК высокая концентрация IgM ассоциировалась с тотальным язвенным колитом ($R=0,86$, $p=0,01$).

Концентрация IgG4 у пациентов с ВЗК не отличалась от ГС. Однако превышение нормативных значений отмечалось в 42,8% случаев у

Таблица 2. Показатели гуморального иммунного ответа в периферической крови пациентов с ВЗК и ГС

Показатель	БК	ЯК	ГС	p
	(n=18)	(n=7)	(n=16)	
	1	2	3	
CD19 ⁺ В-лимфоциты, %	8,02 [6,55÷15,75]	8,76 [6,12÷11,78]	9,96 [7,87÷12,61]	ns
CD19 ⁺ CD5 ⁺ В1-лимфоциты, %	6,62 [3,44÷13,35]	11,90 [11,11÷16,47]	16,16 [13,28÷19,80]	$p_{1-3}=0,02$
IgM, г/л	3,20 [1,66÷4,98]	2,83 [1,22÷4,47]	1,32 [0,67÷2,17]	$p_{1-3}=0,001$ $p_{2-3}=0,001$
IgG, г/л	20,17 [9,38÷37,24]	13,17 [7,34÷19,06]	10,77 [7,66÷13,14]	$p_{1-2}=0,05$ $p_{1-3}=0,001$
IgA, г/л	4,48 [1,37÷7,18]	4,20 [0,74÷5,97]	1,44 [0,58÷2,13]	$p_{1-3}=0,001$ $p_{2-3}=0,008$
IgE, МЕ/л	31,46 [19,53÷67,14]	13,72 [11,68÷39,31]	5,00 [1,37÷17,54]	$p_{1-2}=0,04$ $p_{1-3}=0,001$
IgG ₄ , г/л	0,70 [0,33÷1,09]	0,83 [0,52÷1,43]	0,57 [0,38÷0,93]	ns

Примечание: ns (англ. not significant) – статистически значимые различия отсутствуют.

пациентов с ЯК и в 16,6% у пациентов с БК, в то время как в ГС превышение IgG4 идентифицировалось у 7,1% доноров. При этом у пациентов с БК высокие концентрации IgG4 ассоциировались с илеоколитом и вовлечением в процесс верхних отделов ЖКТ ($R=0,48$; $p=0,04$).

Специфические антитела в сыворотке пациентов с ВЗК

В сыворотке пациентов с ВЗК исследована продукция ASCA и рANCA класса А и G. Дополнительно в группах определена продукция anti-MPO, ANA, PAB (anti-rPAg1 и anti-rPAg2) и GAB антител.

Анализ ASCA

Результаты исследования частоты встречаемости и концентрации ASCA в сыворотке пациентов с БК представлены на рисунке 1. В сыворотке пациентов с БК ASCA IgA и IgG определялись в 67% случаев (рисунок 1, А), уровень которых превышал аналогичные показатели в группах пациентов с ЯК ($p=0,002$ и $p=0,05$, соответственно) и ГС ($p=0,005$ и $p=0,009$, соответственно). При этом, у пациентов с БК во всех серопозитивных образцах выявлялись антитела класса IgA (100%) и реже – антитела класса IgG (45%). Тем не менее отличительной особенностью антител

ASCA класса IgG являлся их высокий титр в сыворотке серопозитивных пациентов с БК: ASCA IgG – 244,72 (148,26÷274,55) RU/мл vs ASCA IgA – 76,51 (53,32÷284,71) RU/мл (рисунок 1, В). Количественные показатели ASCA IgA и IgG в группах пациентов с ЯК и ГС составили <20 RU/мл, что соответствовало серонегативному результату.

Полученные методом ИФА результаты подтверждались методом НИФ с визуализацией антител в виде гомогенного свечения с большей интенсивностью по направлению к периферии дрожжевых клеток (рисунок 1, Б). В сыворотке пациентов с БК ASCA определялись в высоких титрах: в 60% случаев – и 1:100 и в 40% – 1:320. При этом в сыворотке пациентов с БК уровень ASCA IgA коррелировал с концентрацией общего IgA ($R=0,64$; $p=0,007$), IgG4 ($R=0,46$; $p=0,05$) и специфических антител ASCA IgG ($R=0,72$; $p=0,0006$). Однако, количество антигликановых антител не зависело от продолжительности, активности, локализации и фенотипа болезни.

До сих пор физиологическая роль ASCA до конца не выяснена. Известно, что появление антигликановых антител отражают взаимодействие между иммунной системой и микробиотой в норме и при патологии [5]. По данным Joossens S. и соавт. (2002 г.) показано, что серологический

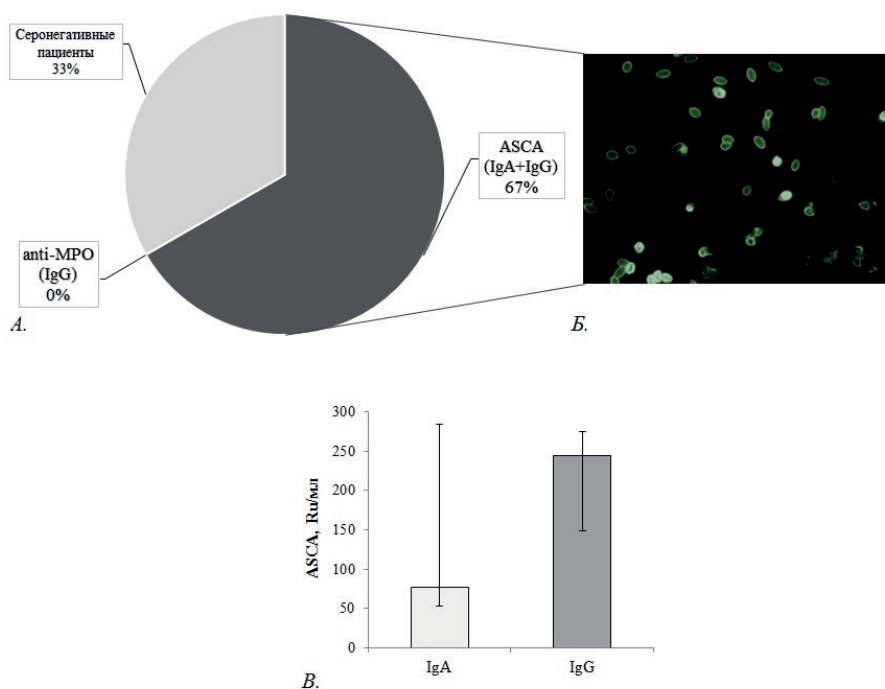


Рис. 1. Специфические антитела ASCA в сыворотке пациентов с БК: А – частота встречаемости ASCA класса А и G у пациентов с БК; Б – визуализация ASCA в титре 1:320 у пациента С. с БК в реакции НИФ, ув. 400х; В – концентрация ASCA (RU/мл) класса А и G у серопозитивных пациентов с БК

статус ASCA+/pANCA- ассоциируется с БК в 80% случаев, а ASCA-/pANCA+ в 64% случаев определяется у пациентов с подтвержденным ЯК [14], что согласуется и с нашими исследованиями, в ходе которых ASCA выявлены у 67% пациентов с БК и отсутствовали у пациентов с ЯК. Вероятно, ASCA скорее отражают генетически детерминированную потерю толерантности к микрофлоре бактериальной и грибковой природы: присутствие сывороточных ASCA не всегда коррелирует с мукозальной ДНК *S.cerevisiae*, а сами ASCA редко определяются в слизистых ЖКТ, предполагая, что наличие данных антител не являются следствием хронической стимуляции компонентами микробиоты [5, 7].

Анализ pANCA

Не менее значимым маркером в иммунодиагностике ВЗК является определение pANCA. Известно, что ANCA представляют собой гетерогенную популяцию аутоантител, реагирующих с различными компонентами нейтрофилов, среди которых выделяют 2 основных типа: цитоплазматические ANCA (cANCA), взаимодействующие с протеиназой 3, и перинуклеарные ANCA (pANCA), специфичные в отношении миелопероксидазы (MPO). Согласно литературным данным, ВЗК-ассоциированные ANCA характеризуются как отличные от классических атипичные pANCA [6, 15].

У пациентов с ЯК pANCA IgG выявлялись в 100% случаев и в 25% случаев – pANCA IgG в совокупности с IgA. Следует отметить, что при БК pANCA IgG определялись в 5% случаев. Для подтверждения атипичности pANCA проведены дополнительные исследования по количественному определению классических pANCA класса G, распознающие миелопероксидазу, в сыворотке пациентов с ВЗК. Показано, что во всех исследуемых группах уровень anti-MPO соответствовал серонегативным показателям (<20 RU/мл) и составил: 3,08 [0,88÷6,19] RU/мл – у пациентов с БК; 0,88 [0,27÷3,08] RU/мл – у пациентов с ЯК; 2,25 [1,55÷4,48] RU/мл – в ГС.

На рисунке 2 представлены оригинальные фотографии флуоресценции специфических антител IgG пациента С. с БК и пациента Н. с ЯК: 1) флуоресценция перинуклеарного типа на этанол-фиксированных гранулоцитах (рисунок 2, А, Б), что свидетельствует о наличии pANCA; 2) нуклеарная флуоресценция лактоферрин-специфических гранулоцитов (рисунок 2, В, Г), подтверждающая специфичность pANCA к ДНК-связанному лактоферрину (anti-LFS) при отсутствии флуоресценции HSS-специфических

гранулоцитов (рисунок 2, Е); 3) нуклеарная флуоресценция HSS-специфических гранулоцитов (рисунок 2, Д), которая с высокой вероятностью демонстрирует наличие антинуклеарных антител (ANA) и исключает специфичность pANCA к ДНК-связанному лактоферрину.

У ряда пациентов с БК регистрировалась флуоресценция HSS-специфических гранулоцитов (рисунок 2, Д), что может свидетельствовать о наличии ANA, например, к дву- (dsDNA) или одноцепочечной ДНК (ssDNA), нуклеосомам (Nucl) или гистонам (Hi), и присоединении внекишечных проявлений ВЗК [16]. В связи с этим, проведены дополнительные исследования концентрации ANA IgG в сыворотке пациентов с ВЗК и показано, что у пациентов с БК ANA выявлялись в 5% случаев и не идентифицировались у пациентов с ЯК.

Ассоциация ANCA с ВЗК впервые выявлена у пациентов с ЯК в 1990 г. [17]. Ряд исследований показывают, что pANCA обнаруживаются у 60-70% пациентов с ЯК, до 15% пациентов с БК, менее 5% – у пациентов с не ассоциированным с ВЗК колитом и до 1% – у здоровых доноров [5]. При этом pANCA характеризуются атипичным перинуклеарным свечением, являются ДНазачувствительными и распознают компоненты нейтрофильных гранул, что подтверждается неспособностью атипичных pANCA к активации респираторного взрыва нейтрофилов [7, 18]. Потенциальными антигенами для атипичных pANCA являются ДНК-связанный лактоферрин, гранулоцит-специфическая эластаза, лизозим, сериновые протеазы катепсин G и эластаза, гидролаза β-глюкуронидаза, натуральный антибиотик BPI (bactericidal permeability increasing protein), цитоплазматические протеины (α-энолаза и каталаза), хромосомные протеины HMG-1 и -2 (high-mobility group of non-histone chromosomal proteins) и гистон H1 [5, 6].

Количественная оценка pANCA у пациентов с ВЗК представлена в таблице 3. У пациентов с ЯК титры pANCA IgA и IgG варьировали от 1:10 до 1:100 и характеризовались специфичностью к ДНК-связанному лактоферрину (anti-LFS). Высокий титр pANCA IgG (1:100) идентифицировался у 25% пациентов с ЯК и ассоциировался с преимущественным тотальным поражением ($R=0,94$, $p=0,0004$), в то время как pANCA класса IgA определялись только у 25% пациентов в умеренном титре (1:32) и также характеризовались специфичностью к ДНК-связанному лактоферрину (таблица 3).

У пациентов с БК выявляемые в 5% случаях pANCA IgG также характеризовались высоким

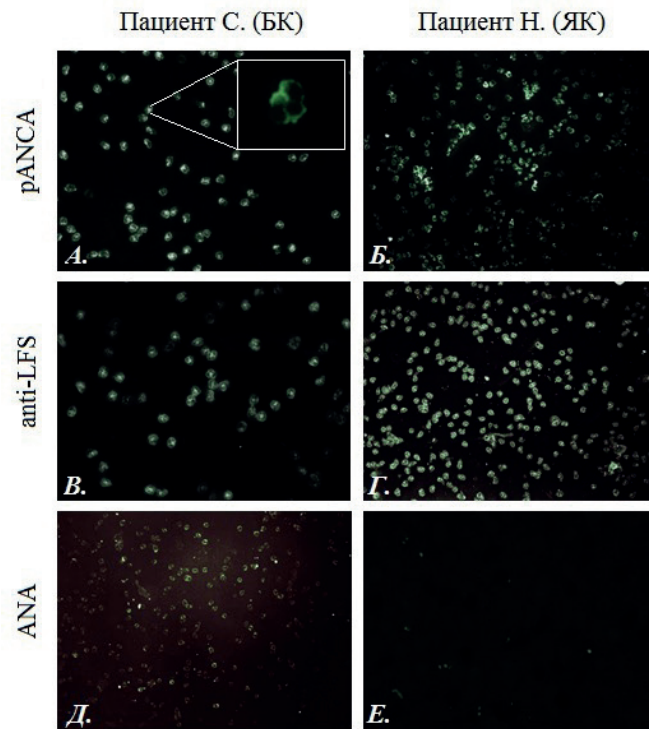


Рис. 2. Визуализация специфических антител в реакции НИФ у пациентов с ВЗК: А, Б – рАНСА к гранулам фиксированных этанолом нейтрофилов; В, Г – рАНСА к лактоферрину, Д, Е – ANA

Таблица 3. Титр специфических антител в реакции непрямой иммунофлуоресценции у пациентов с ВЗК

Аутоантитела	Класс Ig	Пациенты с БК	Пациенты с ЯК
pANCA	IgA	– (0%)	1:32 (25%)
	IgG	1:100 (5%)	1:10 (50%)
			1:32 (25%)
			1:100 (25%)
Anti-LFS	IgA	– (0%)	1:10 (25%)
	IgG	1:10 (5%)	1:10 (50%)
			1:32 (25%)
			1:100 (25%)
ANA	IgA	1:10 (40%)	– (0%)
	IgG	1:10 (20%)	– (0%)

Таблица 4. Коэффициенты корреляции аутоантител с клинико-морфологическими показателями у пациентов с БК

Аутоантитела	Тяжесть БК (индекс Беста)	Продолжительность БК	A (возраст)	L (локализация)	B (фенотип)	P (перианальное повреждение)
ASCA	IgA	–	–	–	–	–
	IgG	–	–	–	–	–
pANCA	IgA	R=0,81**	–	–	R=-0,81**	R=0,81**
	IgG	–	–	–	–	–
Anti-LFS	IgA	–	–	–	R=0,94***	–
	IgG	–	R=0,77*	–	–	–
ANA	IgA	–	R=0,77*	–	–	–
	IgG	–	R=0,77**	–	–	–

Примечание: * – статистически значимые различия с уровнем $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

титром (1:100) и специфичностью в том числе и к ДНК-связанному лактоферрину. Учитывая низкие титры anti-LFS (1:10) и отсутствие anti-MPO на фоне высоких титров pANCA и повышенной концентрации общего IgG, у пациентов с БК присутствуют, предположительно, pANCA и иной специфичности. При этом титры pANCA и ANA коррелировали с продолжительностью, активностью, локализацией и фенотипом БК (таблица 4).

Показано, что повышение титра pANCA IgA в сыворотке пациентов с БК ассоциировалось с увеличением тяжести заболевания и наличием перианального повреждения, в то время как обратно пропорционально коррелировало с локализацией воспалительного процесса (высокие уровни pANCA преимущественно характерны для терминального илеита). Выявление высокого титра антител к ДНК-связанному лактоферрину anti-LFS IgA сопровождалось усугублением фенотипа заболевания, а с увеличением продолжительности выявлялись anti-LFS IgG и ANA IgA и IgG.

Следует отметить, что специфические аутоантитела PAB (anti-rPAg1 и anti-rPAg2) и GAB не выявлялись ни у пациентов с БК, ни у пациентов с ЯК.

Заключение

У пациентов с БК выявлена гипериммуноглобулинемия и корреляция уровня общего IgA с концентрацией IgM и специфическими антигликановыми антителами ASCA IgA и IgG. Серологический профиль ASCA+/pANCA- определен у 67% пациентов с БК, у 5% пациентов – ASCA+/pANCA+ профиль, а у остальных 27,5% пациентов – ASCA-/pANCA- профиль. При этом количество антигликановых антител не зависело от продолжительности, активности, локализации и фенотипа болезни, в связи с чем данные серологические маркеры могут использоваться только для дифференциальной диагностики, но не для

прогнозирования развития заболевания. У пациентов с БК выявляемые pANCA характеризовались широкой специфичностью, коррелировали с тяжестью ($R=0,81$, $p=0,01$), продолжительностью ($R=0,77$, $p=0,05$), локализацией ($R=-0,88$, $p=0,04$), фенотипом заболевания ($R=0,94$, $p=0,0001$), а также являлись серологическими биомаркерами перианального повреждения ($R=0,81$, $p=0,001$). Кроме того, наличие ANA в сыворотке пациентов с БК определялось продолжительностью заболевания ($R=0,72$, $p=0,01$).

У пациентов с ЯК установлено увеличение сывороточных IgM и IgA, а также превышение нормативных значений IgG4 в 42,8% случаев. При этом высокий уровень IgM ассоциировался с тотальным язвенным колитом ($R=0,86$, $p=0,01$), в то время как высокие концентрации IgG4 характерны для пациентов с илеоколитом и вовлечением в процесс верхних отделов ЖКТ ($R=0,48$, $p=0,04$). Серологический профиль ASCA-/pANCA+ выявлен у 100% пациентов с ЯК. Титры pANCA IgA и IgG в сыворотке пациентов с ЯК варьировали от 1:10 до 1:100 и характеризовались специфичностью к ДНК-связанному лактоферрину, при этом высокий титр pANCA IgG (1:100), идентифицируемый у 25% пациентов, ассоциировался с преимущественным тотальным поражением ($R=0,94$, $p=0,0004$).

Таким образом, для дифференциальной диагностики БК и ЯК может использоваться комбинация антител ASCA и pANCA, в то время как для оценки прогрессирования ВЗК диагностически значимым является определение титра pANCA. Использование интегративного подхода серологической диагностики с клиническими, эндоскопическими, гистологическими, радиологическими, генетическими и микробиологическими показателями может представлять идеальный персонализированный подход для ведения пациентов с ВЗК.

Литература

1. Guan Q. A Comprehensive Review and Update on the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease. *Journal of Immunology Research*. 2019; article ID 7247238. DOI: 10.1155/2019/7247238.
2. Ahluwalia B., Moraes L., Magnusson M. et al. Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease and mechanisms of biological therapies. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. 2018; 53(4): 379-389. DOI: 10.1080/00365521.2018.1447597.
3. Silva F., Rodrigues B., Ayriso M. et al. The Immunological Basis of Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology Research and Practice*. 2016; 2016: article ID 2097274. DOI: 10.1155/2016/2097274.
4. Kim D.W. and Cheon J.H. Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease and Recent Advances in Biologic Therapies. *Immune Network*. 2017; 17(1): 25-40. DOI: 10.4110/in.2017.17.1.25.
5. Mitsuyama K., Niwa M., Takedatsu H. et al. Antibody markers in the diagnosis of inflammatory bowel disease. *World J. Gastroenterol*. 2016; 22(3): 1304-1310. DOI: 10.3748/wjg.v22.i3.1304.
6. Kuna A. Serological markers of inflammatory bowel disease. *Biochemia Medica*. 2013; 23(1): 28-42. DOI: 10.11613/BM.2013.006.
7. Prideaux L., De Cruz P., Ng S. et al. Serological Antibodies in Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Review. *Inflamm. Bowel Dis*. 2012; 18: 1340-1355. DOI: 10.1002/ibd.21903.

8. Lin R., Chen H., Shu W. et al. Clinical significance of soluble immunoglobulins A and G and their coated bacteria in feces of patients with inflammatory bowel disease. *J. Transl. Med.* 2018; 16: 359. DOI: 10.1186/s12967-018-1723-0.
9. Hendrickson B., Gokhale R., Cho J. Clinical Aspects and Pathophysiology of Inflammatory Bowel Disease. *Clinical Microbiology Reviews.* 2002; 15(1): 79–94. DOI: 10.1128/CMR.15.1.79–94.2002.
10. Norouzinia M., Chaleshi V., Mohammad Alizadeh A.H., et al. Biomarkers in inflammatory bowel diseases: insight into diagnosis, prognosis and treatment. *Gastroenterol. Hepatol. Bed Bench.* 2017; 10(3): 155-167. DOI: 10.22037 / ghfb.v0i0.1163.
11. Hevia A., Lopez P., Suarez A. et al. Association of Levels of Antibodies from Patients with Inflammatory Bowel Disease with Extracellular Proteins of Food and Probiotic Bacteria. *BioMed. Research International.* 2014: article ID 351204. DOI: 10.1155/2014/351204.
12. Best W.R. Predicting the Crohn's disease activity index from the Harvey-Bradshaw Index. *Inflamm. Bowel Dis.* 2006; 12(4): 304-310. DOI: 10.1097/01.MIB.0000215091.77492.2a.
13. D'Haens G., Sandborn W.J., Feagan B.G. et al. A review of activity indices and efficacy end points for clinical trials of medical therapy in adults with ulcerative colitis. *Gastroenterology.* 2007; 132: 763-786. DOI: 10.1053/j.gastro.2006.12.038.
14. Joossens S., Reinisch W., Vermeire S. et al. The value of serologic markers in indeterminate colitis: a prospective follow-up study. *Gastroenterology.* 2002; 122: 1242-1247. DOI: 10.1007/s11894-004-0070-x.
15. Roozendaal C., Kallenberg C. Are anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) clinically useful in inflammatory bowel disease (IBD)? *Clin. Exp. Immunol.* 1999; 116: 206-213. DOI: 10.1046 / j.1365-2249.1999.00905.x.
16. Folwaczny C., Noehl N., Endres S.P. et al. Antinuclear Autoantibodies in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Digestive Diseases and Sciences.* 1997; 42(8): 1593-1597. DOI: 10.1023/A:1018832608899.
17. Rump J.A., Scholmerich J., Gross V. et al. A new type of perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibody (p-ANCA) in active ulcerative colitis but not in Crohn's disease. *Immunobiology.* 1990; 181: 406–413. DOI: 10.1016/S0171-2985(11)80509-7.
18. Reese G.E., Constantinides V.A., Simillis C. et al. Diagnostic precision of anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies and perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies in inflammatory bowel disease. *Am. J. Gastroenterol.* 2006; 101: 2410-2422. DOI: 10.1111/j.1572-0241.2006.00840.x.

Сведения об авторах

Нижегородова Дарья Борисовна – в.н.с. ОИБТ НИЛ БелМАПО, к.б.н., доцент. Тел. 8 029 6089994 (моб.), 8 017 2653356 (раб.), e-mail: nzh@tut.by

Адамович А.Ю. – м.н.с. ОИБТ НИЛ БелМАПО

Иванчик Г.И. – с.н.с. ОИБТ НИЛ БелМАПО

Дыбов О.Г. – аспирант кафедры хирургии БелМАПО

Кулинич С.С. – н.с. ОИБТ НИЛ БелМАПО

Шадрин В.К. – м.н.с. ОИБТ НИЛ БелМАПО

Воробей А.В. – зав. каф. хирургии БелМАПО, гл.н.с. ОИБТ НИЛ БелМАПО, д.м.н., профессор, член-корр. НАН РБ

Зафранская М.М. – гл.н.с. ОИБТ НИЛ БелМАПО, д.м.н., доцент

Поступила 31.08.2020 г.