

ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«СИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

ЯНКИНА ГАЛИНА НИКОЛАЕВНА
КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ИММУНО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ
ЦЕЛИАКИИ У ДЕТЕЙ.
СТРАТЕГИЯ РЕАБИЛИТАЦИИ

14.01.08 - педиатрия

Диссертация на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

Научный консультант:
доктор медицинских наук,
профессор Е. И. Кондратьева

ТОМСК - 2014

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	7
ГЛАВА 1. Современное представление о целиакии (обзор литературы)	19
1.1. Целиакия как классическая модель синдрома мальабсорбции	19
1.2. Целиакия как аутоиммунная модель синдрома мальабсорбции	22
1.2.1. Эпидемиология заболевания	22
1.2.2. Регистры как основа изучения эпидемиологии заболевания	26
1.2.3. Заболевания, ассоциированные с целиакией	27
1.3. Современные аспекты патогенеза целиакии	30
1.4. Вклад генетических факторов в развитие заболевания	33
1.4.1. HLA-система при целиакии	33
1.4.2. Ассоциации генетических маркеров с подверженностью и резистентностью к целиакии (концепция генов-кандидатов модификаторов иммунного ответа)	36
1.5. Гены цитокинов в регуляции воспаления при синдроме мальабсорбции на примере целиакии и муковисцидоза	45
1.5.1. Хроническое воспаление	45
1.5.2. Гены, регулирующие хроническое воспаление и место генов цитокинов	47
1.5.3. Муковисцидоз как модель синдрома мальабсорбции на фоне хронического воспалительного процесса	50
1.6. Спорные вопросы классификации целиакии	54
1.7. Методы диагностики целиакии и их этапность	58
1.7.1. Серологический этап диагностики	60
1.7.2. Морфологический этап диагностики	61
1.8. Возможности реабилитации больных с целиакией	64
ГЛАВА 2. Материалы и методы исследования	68
2.1. Общая структура и стратегия исследования	68
2.2. Материал исследования	69

2.3.	Методы исследования	74
2.3.1.	Клиническое обследование больных целиакией	74
2.3.2.	Лабораторно-инструментальные методы исследования	75
2.3.3.	Иммунологические методы исследования	79
2.3.4.	Молекулярно-генетические методы исследования	81
2.4.	Методы статистического анализа данных	86
2.5.	Объем работы	87
2.6.	Клинико-лабораторная характеристика контрольных групп	94
ГЛАВА 3. Клинико-иммунологическая и генетическая характеристика целиакии		99
3.1.	Регистр и распространенность целиакии в Томской области	99
3.2.	Клинические проявления целиакии	106
	3.2.1. Клинические проявления целиакии в зависимости от формы заболевания	106
	3.2.2. Характеристика диспепсических жалоб больных целиакией	110
	3.2.3. Физическое развитие детей с целиакией	115
	3.2.4. Поражение кожных покровов и слизистых оболочек при целиакии	119
	3.2.5. Состояние верхнего отдела пищеварительного тракта у детей с целиакией	121
	3.2.6. Состояние билиарного тракта, поджелудочной железы, кишечника у детей с целиакией	125
	3.2.7. Клинические проявления нарушений психоэмоциональной сферы у больных целиакией	127
3.3.	Влияние сопутствующей патологии на клинические, иммунологические и морфологические проявления целиакии	128
	3.3.1. Особенности течения целиакии, ассоциированной с хеликобактерной инфекцией	129
	3.3.2. Особенности течения целиакии на фоне паразитарной	

инвазии	136
3.3.3. Особенности течения целиакии в сочетании с атопическим дерматитом	144
3.4. Целиакия у детей, рожденных с задержкой внутриутробного развития, особенности течения	149
3.5. Макро- и микроэлементный состав сыворотки крови у больных целиакией	155
3.6. Ремоделирование костной ткани при целиакии	157
Приложение А	164
Карта регистрации и наблюдения больного целиакией	164
Таблица № 42	167
Таблица № 53	170
Таблица № 54	172
Таблица № 58	173
Таблица № 59	175
Клинический пример: Сочетание целиакии с болезнью Крона и соматотропной недостаточностью	176
ГЛАВА 4. Иммунологические аспекты целиакии, влияние на течение заболевания	180
4.1. Анализ уровня антиглиадиновых антител у больных целиакией	180
4.2. Анализ уровня антиглиадиновых антител по результатам скрининга на целиакию в выборке детей г. Томска	183
4.3. Анализ уровня антиглиадиновых антител в группах риска: родственники 1 степени родства (родители пробанда, сибсы), больные сахарным диабетом 1 типа, аутоиммунным тиреоидитом	186
4.4. Цитокиновый статус у пациентов с целиакией	189
4.5. Иммунологические показатели родственников I степени родства пробандов с целиакией	200
4.6. Структурно-метаболический статус и функциональная активность моноцитов-макрофагов сыворотки крови	

пациентов с целиакией	202
ГЛАВА 5. Целиакия – генетическая характеристика заболевания	207
5.1. Влияние наследственности на течение целиакии	207
5.2. Распространенность HLA-генотипов и аллелей в популяции больных целиакией и в их семьях	211
5.2.1. Распространенность HLA-генотипов и аллелей у пробандов с целиакией	211
5.2.2. Распространенность HLA-генотипов и аллелей у родственников 1 степени родства больных целиакией	215
5.2.3. Сравнительный анализ распределения аллелей генов <i>HLA-DQA1</i> , <i>HLA-DQB1</i> и <i>HLA-DRB1</i> при целиакии в популяциях Томской области и Краснодарского края	218
5.2.4. Анализ распределения аллелей генов <i>HLA-DQA1</i> , <i>HLA-DQB1</i> и <i>HLA-DRB1</i> при целиакии и СД 1 типа в популяциях Томской области и Краснодарского края	223
5.2.5. Особенности клинических проявлений целиакии в зависимости от полиморфных маркеров генов <i>HLA-DQA1</i> , <i>HLA-DQB1</i>	227
5.2.6. Связь аллелей HLA II класса DQA1, DQB1 с иммунологическими показателями при целиакии	229
5.3. Характеристика генов-модификаторов иммунного ответа у больных целиакией	234
5.4. Семейный анализ ассоциации изучаемых генетических маркеров с заболеванием и его осложнениями	244
5.5. Внутрисемейный корреляционный анализ и оценка наследуемости количественных признаков	249
ГЛАВА 6. Клинико-иммунологическая и генетическая характеристика муковисцидоза	253
6.1. Клиническая характеристика больных муковисцидозом	253
6.2. Структурно-метаболический статус и функциональная	

активность моноцитов-макрофагов сыворотки крови пациентов с муковисцидозом	258
6.3. Роль генов-модификаторов иммунного ответа при муковисцидозе	261
6.3.1. Характеристика взаимосвязи полиморфизма генов цитокинов с муковисцидозом	262
6.3.2. Анализ количественных признаков у больных муковисцидозом в зависимости от изучаемых генов- модификаторов иммунного ответа	266
6.3.3. Ассоциация изучаемых полиморфных генов с клиническими проявлениями муковисцидоза	268
6.4. Клинико-иммунологические и генетические особенности воспалительного процесса при муковисцидозе и целиакии	273
ГЛАВА 7. Стратегия реабилитации больных целиакией	279
7.1. Создание «Школы управления целиакией», оценка эффективности обучения	279
7.2. Алгоритм коррекции белково-энергетического дефицита и задержки роста при целиакии у детей	285
7.2.1. Опыт применения специализированной смеси для детей с нутритивным дефицитом	285
7.2.2. Тактика ведения детей с сохраняющимся нутритивным дефицитом на фоне стандартной терапии	291
ГЛАВА 8. Обсуждение	293
Выводы	331
Практические рекомендации	333
Список условных сокращений и обозначений	336
Список литературы	338

ВВЕДЕНИЕ

Целиакия (Ц) остается наименее изученным аутоиммунным заболеванием, несмотря на то, что заболевание было описано S.J. Gee еще в 1888 году. Клиническая картина заболевания полиморфна, что создает трудности в диагностике заболевания. На сегодняшний день отношение диагностированных к не диагностированным случаям Ц в Европе находится на уровне от 1:5 до 1:13 [212]. Проведенные исследования показали, что непродолжительное грудное вскармливание приводит к ранней и тяжелой манифестации целиакии, а ротавирусная инфекция существенно увеличивает риск развития ее аутоиммуногенности [186].

Отсутствие четкой классификации Ц объясняется полиморфизмом ее клинических проявлений, высокой частотой атипичных форм, распространенностью дефицитных состояний и осложнений в течение заболевания, а также манифестацией Ц в любом возрасте, с детского и до пожилого. Частоту Ц в популяции можно установить только после масштабных скрининговых исследований [12, 114, 230, 238, 246]. В России эпидемиологические исследования по распространенности Ц не проводились.

Ранняя диагностика заболевания – это профилактика развития дефицитных состояний, злокачественных новообразований кишечника и ассоциированных с Ц аутоиммунных заболеваний, таких как сахарный диабет 1 типа (СД 1 типа), аутоиммунный тиреоидит (АИТ), селективный дефицит IgA и другие [237, 254, 268, 276]. Аутоиммунные заболевания при Ц встречаются в 10 раз чаще, чем в популяции [212, 269]. Особую группу риска составляют родственники больного Ц 1 степени родства. В связи с приведенными данными в научно-практической литературе дискутируется вопрос о возрасте, в котором следует проводить скрининговые исследования родственников больных Ц. Пока этот вопрос остается открытым. Для скрининга групп риска по Ц, диагностики и контроля лечения используются тесты по определению антител к тканевой трансглутаминазе (tTG), антител к эндомизию, антиглиадиновых антител IgA и IgG [301, 310, 333]. С

учетом высокой специфичности тест на определение антител к tTG используется как скрининговый для решения вопроса следующего этапа диагностики: еюноскопии с биопсией [145, 256]. Гистологический метод называют «золотым стандартом» в диагностике Ц. Основным морфологическим проявлением Ц является развитие гиперрегенераторной атрофии слизистой оболочки тонкой кишки. При этом повреждение слизистой оболочки тонкой кишки обратимо, и ее состояние восстанавливается после исключения из питания продуктов, содержащих глютен. Результаты генетических исследований доказали связь Ц с генами II класса главного комплекса гистосовместимости (HLA), в частности с локусом DQ. Генотип *HLA-DQ2* выявляется почти у 95% пациентов с Ц, остальные пациенты имеют генотип *HLA-DQ8*. Маркер DQ2 в Северной Европе обнаружен более, чем у 90% пациентов с Ц [187, 254, 256, 325]. Также у этой категории больных регистрируются гаплотипы DR3, DR7, DQW2. Антигены DR3 и DR7 выявлены у 80 и 50% больных, соответственно, а сочетание этих антигенов - у 34% (среди населения в целом – 26%, 20% и 1%, соответственно). Наличие специфических аллелей в локусе HLA-DQ является необходимым, но недостаточным, для реализации фенотипа заболевания. География изучения распространенности HLA маркеров заболевания в России ограничена (г. Санкт-Петербург, г. Москва) [21; 59, 72, 103, 117], требуется расширение этих исследований.

Одним из подходов изучения генетических факторов риска при мультифакториальных заболеваниях, к которым относится и Ц, является концепция молекулярной генетики об ассоциации полиморфных генетических маркеров с предрасположенностью или устойчивостью к развитию патологии [120, 137]. Эти специфичные для конкретной патологии маркеры могут быть выявлены задолго до ее клинической манифестации, что позволит определить группы риска, организовать их мониторинг, а в случае необходимости назначить превентивную терапию. Особый интерес представляет изучение генов-кандидатов, если продукт их экспрессии (фермент, гормон, рецептор) прямо или косвенно участвует в развитии патологического процесса [211, 220, 278].

Роль ряда цитокинов в развитии аутоиммунного процесса при Ц известна [181, 261, 278, 289], однако пока остается малоизученным вопрос о влиянии полиморфизма генов-модификаторов иммунного ответа (*IL1B*, *IL1RN*, *IL4*, *IL4RA*), гена рецептора к витамину D (*VDR*) на развитие заболевания и варианты его течения. В связи с этим изучение вклада кандидатных генов в развитие Ц, ее клинических проявлений и осложнений в ответ на патогенетическую терапию является перспективным.

В сравнительном аспекте особенности регуляции воспаления, аутоиммунного при Ц и хронического воспалительного процесса при муковисцидозе (МВ), заболевании, которое также протекает с синдромом мальабсорбции (СМА), не представлены в литературе, хотя описаны случаи сочетанного течения Ц и МВ [243, 337]. В связи с этим не утрачена актуальность исследования детоксицирующих систем организма у больных Ц и МВ, в частности микро- и макрофагального звеньев иммунитета, так как причины изменения активности фагоцитирующих клеток (макрофаги) остаются изученными недостаточно. Известно, что цитокины поддерживают хронический воспалительный процесс при данных заболеваниях, однако их генетическая регуляция и особенности не уточнены.

Основным патогенетическим лечением Ц остается соблюдение безглютеновой диеты (БГД) [9, 11, 125, 129, 310]. До сих пор мало изучена динамика клинических, иммунологических, морфологических проявлений заболевания на фоне соблюдения безглютеновой диеты. Не отражено влияние сопутствующей патологии, в частности хеликобактерной инфекции у детей, паразитарной инвазии на течение Ц, не разработаны пути нутритивной поддержки, обучение данной категории больных.

Таким образом, дальнейший прогресс лечения больных с Ц невозможен без четкого представления о механизмах длительно протекающего воспалительного (иммунологического) процесса, вызванного действием глютена. Результаты настоящего исследования количественных патогенетически значимых параметров иммунного ответа на популяционном и семейном уровнях послужат основой для

поиска критериев риска Ц и ее осложнений, а также для разработки индивидуальных программ профилактики и реабилитации.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Установить распространенность, клинико-генетические и иммуноморфологические особенности целиакии у детей для разработки критериев диагностики и новых подходов в стратегии реабилитации.

ЗАДАЧИ

1. Изучить распространенность целиакии среди детей, проживающих в Томской области и в Краснодарском крае, и в группах риска по развитию заболевания.

2. Разработать систему комплексного мониторинга состояния здоровья детей с использованием современных информационных технологий «Регистр целиакия» с программным и методическим обеспечением.

3. Описать особенности клинического течения заболевания на основании «Регистра целиакия».

4. Оценить влияние сопутствующей патологии на течение целиакии в детском возрасте.

5. Исследовать состояние гуморального иммунитета, цитокинового статуса (IL-1 β , IL-4, IL-10, TNF- α , IFN- γ , антагониста рецептора IL-1 (IL-1Ra)) и морфометрических показателей слизистой оболочки тонкой кишки у детей с целиакией.

6. Установить частоту аллелей генов *HLA-DQA1*, *-DQB1*, *-DRB1* на примере двух популяций больных целиакией: Томской области и Краснодарского края.

7. Провести поиск ассоциаций полиморфных вариантов генов интерлейкинов (*IL1B*, *IL1RN*, *IL4*, *IL4RA*), гена рецептора к витамину D (*VDR*) с патологическим фенотипом целиакии.

8. Оценить состояние гуморального иммунитета, уровень цитокинов у родственников пробанда с целиакией, их наследуемость и частоту аллелей генов *HLA-DQA1*, *-DQB1*, *-DRB1* для разработки алгоритма диагностики.

9. Провести сравнительный анализ цитокинового статуса, ассоциаций генов-модификаторов иммунного ответа при заболеваниях, сопровождающихся синдромом мальабсорбции: целиакия и муковисцидоз.

10. Разработать новые методы реабилитации больных целиакией и оценить их эффективность.

НАУЧНАЯ НОВИЗНА

Впервые получены данные о распространенности верифицированного диагноза целиакии у детей Томской области и Краснодарского края, а также в группах риска по заболеванию. Проведена оценка частоты серологических маркеров по результатам скрининга на целиакию в выборке детей г. Томска, в группах риска (родственники 1 степени родства, СД 1 типа, АИТ) и случаев заболевания целиакией в этих группах. Впервые установлена частота целиакии у детей с СД 1 типа томской популяции и популяции Краснодарского края. Проведен комплексный анализ клинических, иммуно-морфологических и генетических маркеров заболевания. Установлены клинические особенности течения целиакии в зависимости от возраста, формы заболевания, а также частоты дефицитных состояний и осложнений у детей. Впервые описаны особенности течения заболевания у больных, в анамнезе которых есть указания на задержку внутриутробного развития. Новыми являются данные о влиянии хеликобактерной инфекции, лямблиоза на течение целиакии. Отражена зависимость клинических проявлений и морфологических изменений слизистой оболочки тонкой кишки от генетических маркеров заболевания, соотношения про- и противовоспалительных цитокинов. Получены данные, характеризующие особенности воспаления при целиакии: высокая продукция как провоспалительных цитокинов (IL-1 β , TNF- α), так и их рецепторов (IL-1Ra). В ходе исследования выявлены семейные случаи заболевания (4 случая среди sibсов (17%, или 1:6) больных целиакией из

популяции Томской области). Впервые показано, что изменения иммунитета у всех членов семей пробандов с целиакией являются однотипными. Впервые получены коэффициенты наследуемости в отношении как провоспалительных (TNF- α , INF- γ), так и противовоспалительных цитокинов (IL-10, IL-4).

Впервые проведено комплексное изучение HLA-зависимых и HLA-независимых генетических маркеров (гена интерлейкина 1 (*IL1B* (rs1143634)), антагониста рецептора интерлейкина 1 (*IL1RN* (VNTR)), интерлейкина 4 (*IL4* (rs2243291)), рецептора интерлейкина 4 (*IL4RA* (rs1805010)), рецептора к витамину D (*VDR* (rs2228570, rs144410)) при целиакии и их связь с клиническими фенотипами целиакии, ее течением, характером изменчивости патогенетически значимых количественных показателей метаболизма и иммунитета (антиглиадиновые антитела, цитокины, антагонисты рецепторов цитокинов, показатели гуморального иммунитета).

Впервые получены данные по распространенности аллелей генов *HLA-DQA1*, *-DQB1*, *-DRB1* у больных целиакией Томской области и родственников 1 степени родства (родители, сибсы). Общая частота носителей патологических аллелей у больных Ц составила 77,6%, что ниже европейских показателей. Выявлены новые предрасполагающие *HLA-DRB1*09* (OR=4,48, (p=0,050)), *HLA-DQB1*0303* (OR=2,94, (p=0,004)) и протективные *HLA-DQA1*0201* (OR=0,33, (p=0,004)), *HLA-DQB1*0301* (OR=0,54, (p=0,016)) аллели у больных целиакией в томской популяции.

Впервые показано (метод случай–контроль, TDT–тест), что аллельные варианты генов цитокинов (аллель V полиморфизма rs1805010 гена *IL4RA*, аллель A1 полиморфизма rs1143634 гена *IL1B*, аллель G полиморфизма гена rs1143634 *IL4*) ассоциированы с целиакией и ее клиническим фенотипом.

Впервые проведен анализ иммунологической и генетической характеристики цитокинового воспаления и его регуляции при заболеваниях, сопровождающихся мальабсорбцией (целиакия и муковисцидоз). Получены новые сведения о дисбалансе между про- и противовоспалительными цитокинами, нарушении структурно-функционального статуса моноцитов-

макрофагов у пациентов с целиакией и муковисцидозом. Установлено, что при целиакии и муковисцидозе повышена продукция провоспалительных цитокинов IL-1 β , TNF- α , последний играет большую роль в воспалении при муковисцидозе. Фенотипические проявления Ц и МВ определяются разными полиморфизмами изучаемых генов.

ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Разработано программное обеспечение регистра больных целиакией (Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ «Регистр целиакия», № сертификата 2009615739, выдан 15.10.09.). Создан регистр больных целиакией, который апробирован на территории Томской области (Свидетельство о государственной регистрации базы данных «Регистр целиакия», № сертификата 2009620392, выдан 17.07.09).

Распространенность верифицированного диагноза целиакии в Томской области на 01. 01. 2011 г. составила 49,98 на 100 000 детского населения (1:2000), в Краснодарском крае 7,4 на 100 000 детского населения (1:13500), что значительно ниже данных по распространенности заболевания в мире. Заболевание чаще выявлялось у детей в возрасте от 5 до 9 лет (52,09 на 100 000) и среди подростков (69,32 на 100 000 подростков). Полученные данные отражают необходимость проведения эпидемиологических исследований как в стране, так и в регионах по одному протоколу. Установленное соотношение типичная к атипичной форме заболевания, как 2:1, диктует необходимость расширения диагностического поиска в группах риска по целиакии, а также свидетельствует о сохраняющихся проблемах в диагностике заболевания. Представлены дифференциально–диагностические критерии двух форм целиакии с оценкой каждого признака (чувствительность и специфичность). Предложен алгоритм диагностики целиакии при наличии клинических проявлений заболевания и в группах риска на основе 6-летнего пролонгированного наблюдения.

Определена частота задержки роста и белково-энергетической недостаточности (60% и 64%, соответственно) при целиакии. Разработан

алгоритм обследования и реабилитации детей с данными дефицитными состояниями.

Установлена частота *H. pylori* (55,5%) и лямблиоза (34,3%) при целиакии. Оценен их вклад в течение заболевания (у детей с целиакией и лямблиозом чаще выявлялись задержка физического развития и пролонгированные клинические симптомы болезни на фоне безглютеновой диеты; наличие *H. pylori* инфекции способствовало развитию симптомов моторных нарушений со стороны верхнего отдела пищеварительной трубки). Показана необходимость обследования на данную инфекцию, инвазию

Предложена схема стандартизации клинических проявлений целиакии в детском возрасте [69]. Классификация обсуждалась на XVI и XVII Конгрессах детских гастроэнтерологов России и стран СНГ (2009–2010 гг.), на 12 международном Славяно-Балтийском научном форуме «Санкт-Петербург–Гастро-2010», в журнале «Вопросы детской диетологии» (2010). Данная версия может служить основой для новой классификации целиакии [166].

У больных целиакией Томской области определены частоты гаплотипов *HLA-DQ2/DQ8*, а также новые аллели генов *HLA-DQA1*, *HLA-DQB1*, *HLA-DRB1*, предрасполагающие, протективные к целиакии для томской популяции, что может использоваться при консультации больных. Оценка цитокинового статуса у больных целиакией может служить дополнительным показателем компенсации патологического процесса. Выявленные ассоциации генов цитокинов с целиакией и ее осложнениями могут использоваться для прогнозирования течения заболевания и проведения превентивной терапии.

Разработана программа занятий в «Школе управления целиакией», доказана ее медицинская эффективность. Обосновано использование нутритивной поддержки (на примере смеси «Нутризон») при целиакии у детей. Предложена тактика наблюдения за пациентами с задержкой физического развития на фоне заболевания.

ПОЛОЖЕНИЯ, ВЫНОСИМЫЕ НА ЗАЩИТУ

1. Распространенность целиакии по верифицированному диагнозу в Томской области составила 49,98 на 100 000, в Краснодарском крае - 7,4 на 100 000 детского населения. Частота целиакии в группах генетического риска (родственники 1 степени родства) составила 17% (1:6) среди sibсов. Установлена низкая частота Ц в группе пациентов с СД 1 типа (1:142), что связано с высокой частотой протективных аллелей в отношении развития целиакии. Клинические особенности целиакии определяются генетическими маркерами (HLA-маркерами и генами-модификаторами иммунного ответа), возрастом, выраженностью воспаления, сопутствующей патологией (хеликобактерной инфекцией, лямблиозом, наличием задержки внутриутробного развития в анамнезе). Для целиакии характерна высокая частота дефицитных состояний.

2. Воспаление при целиакии характеризуется высоким содержанием как провоспалительных (IL-1 β , TNF- α) цитокинов, так и их рецепторов (IL-1Ra), для которых установлены высокие коэффициенты наследуемости. Воспаление при муковисцидозе характеризуется сниженной продукцией противовоспалительных цитокинов (IL-10) и их рецепторов (IL1-Ra), на фоне избыточной выработки провоспалительных, что определяет тяжесть течения заболевания и подходы к терапии. С развитием муковисцидоза связаны аллель A2 полиморфизма VNTR гена *IL1RN*, аллель С полиморфизма rs2069705 гена *IFN-G*, с целиакией - аллель A1 полиморфизма rs1143634 гена *IL1B* и аллель V полиморфизма rs1805010 гена *IL4RA*, аллель G полиморфизма rs2243291 гена *IL4*.

3. HLA-зависимые и HLA-независимые генетические маркеры (*IL4RA*, *IL1B*, *IL4*, *IL1RN*) ассоциированы с целиакией, определяют форму заболевания, его течение, характер изменчивости патогенетически значимых количественных показателей иммунитета, а также развитие осложнений и дефицитных состояний. Установлены новые предрасполагающие аллели (HLA-DRB1*09 (OR=4,48, (p=0,050)), HLA-DQB1*0303 (OR=2,94, (p=0,004)), характерные для больных целиакией в Томской области. Частота гаплотипов HLA-DQ2 и -DQ8 у больных

целиакией двух изучаемых популяций ниже, чем у пациентов в других европейских популяциях.

4. В основе реабилитации и диспансерного наблюдения за больными целиакией лежит контроль за соблюдением безглютеновой диеты и коррекция дефицитных состояний. Диспансеризация детей с целиакией на фоне белково-энергетического дефицита и задержки роста требует дифференцированного подхода к диагностическим и реабилитационным мероприятиям. Внедрение «Школы управления целиакией» позволяет в течение одного года получить медицинскую эффективность этой формы профилактической деятельности.

ВНЕДРЕНИЕ

Результаты исследования внедрены в работу отделения гастроэнтерологии ОГАУЗ «Детская больница №1» г. Томска, отделения наследственных болезней ФГБУ «НИИ медицинской генетики» СО РАМН, детского отделения ФГБУН «Томский НИИ курортологии и физиотерапии» ФМБА России, ГБУЗ «Детская краевая клиническая больница» Департамента здравоохранения Краснодарского края (заведующая гастроэнтерологическим отделением Долбнева О.В., г. Краснодар). Материалы проведенных исследований используются в учебном процессе на кафедре педиатрии ФПК и ППС ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России, кафедре педиатрии с курсом неонатологии ФПК и ППС ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России.

АПРОБАЦИЯ

Материалы исследования доложены и обсуждены на VII и VIII научных конференциях «Генетика человека и патология» (Томск, 2004, 2007); Всероссийских 14-й, 15-й, 16-й, 17-й, 18-й, 19-й научно-практических конференциях «Достижения современной гастроэнтерологии» (Томск, 2006-2011); Международных Славяно-Балтийских научно-медицинских форумах «Санкт-Петербург – Гастро-2007», «Санкт-Петербург – Гастро-2010», «Санкт-Петербург – Гастро-2012»; XV-XIX Международных конгрессах детских

гастроэнтерологов России и стран СНГ «Актуальные проблемы абдоминальной патологии у детей» (Москва, 2008-2012); XVI Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2009); национальных конгрессах по муковисцидозу «Муковисцидоз у детей и подростков» (Ярославль, 2011, Москва, 2013); XVII Российской гастроэнтерологической неделе (Москва, 2011); Конгрессах педиатров России (Москва, 2007, 2010), IX Российском конгрессе «Инновационные технологии в педиатрии и детской хирургии» (Москва, 2009), при проведении работы Российской школы по муковисцидозу в г. Томске и г. Краснодаре (2011, 2012).

Работа выполнена в рамках государственных программ и грантов:

1. Программы Томской области «Здоровый ребенок»—«Внедрение новых технологий ранней диагностики и реабилитации детей с синдромом мальабсорбции» (2005-2006).
2. Гранта РФФИ № 09-04-00732-а «Генетические и иммунологические механизмы воспалительного процесса при целиакии. Роль HLA и не HLA-зависимых генетических маркеров» (2009-2010).
3. Гранта РФФИ № 10-04-10126-к «Организация и проведение экспедиционных работ в Краснодарском крае» (2010).
4. Гранта ФЦП №16.740.11.0482 от 13.05.2011 г. «Изучение эффектов генов-модификаторов иммунного ответа на различных моделях воспаления в детском возрасте» по конкурсу 16.740.11.0482 1.2.1 Проведение научных исследований научными группами под руководством докторов наук в следующих областях: - общая биология и генетика; - физико-химическая молекулярная и клеточная биология; - фундаментальная медицина и физиология (2011-2012).

По теме диссертации опубликовано 71 печатная работа, включая 17 в изданиях, рекомендованных ВАК РФ. Соавтор 2 монографий, 4 учебных пособий, 2 из которых рекомендованы УМО по медицинскому и фармацевтическому образованию вузов России.

Разработана программа «Регистр целиакия», получено свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ «Регистр целиакия»,

сертификат № 2009615739, выдан 15.10.09; свидетельство о государственной регистрации базы данных «Регистр целиакия», сертификат № 2009620392, выдан 17.07.09.

ОБЪЕМ И СТРУКТУРА ДИССЕРТАЦИИ

Работа изложена на 372 страницах машинописного текста. Работа содержит следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, 5 глав собственных наблюдений, заключение, выводы, практические рекомендации; иллюстрирована 18 рисунками и 147 таблицами. Список источников цитируемой литературы включает 342 работы, из которых 181 отечественных и 161 зарубежных публикаций.

ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЕ О ЦЕЛИАКИИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Целиакия как классическая модель синдрома мальабсорбции

Среди многих заболеваний, проявляющихся синдромом мальабсорбции, целиакия занимает одно из ведущих мест, как по сложности патогенеза, многообразию и тяжести клинических проявлений, так и по трудности в диагностике [12, 45, 114, 189, 202, 210, 230]. Генетически обусловленные заболевания, протекающие с СМА, вызывают тяжелые нарушения обмена веществ и изменения функций всей системы пищеварения. Наиболее часто в этой группе заболеваний встречается целиакия (coeliacia; греч: koilikos - кишечный, страдающий расстройством кишечника; син.: глютенная болезнь, глютенная энтеропатия, нетропическая спру, болезнь Ги-Гертера-Гейбнера, англ.- coeliac disease; шифр по МКБ 10 - К 90.0). В настоящее время Ц рассматривается как хроническая генетически детерминированная аутоиммунная Т-клеточно-опосредованная энтеропатия, характеризующаяся стойкой непереносимостью специфических белков эндосперма зерна некоторых злаковых культур с развитием гиперрегенераторной атрофии слизистой оболочки тонкой кишки и связанного с ней синдрома мальабсорбции [11, 112, 213, 256]. Традиционно белки семени подразделяются на 2 группы: глютеины и проламины. Все токсичные для больных целиакией белки злаковых обозначают термином «глютен». Пшеница - самая употребляемая в пищу злаковая культура, соответственно глиадин, как фактор агрессии по отношению к слизистой оболочке тонкой кишки у больных с целиакией, изучен наиболее полно. При Ц синдром мальабсорбции носит универсальный характер, так как нарушается кишечное всасывание всех пищевых составляющих, включая белки, жиры, углеводы, витамины и минералы [49, 75, 91, 94, 96, 111, 151, 236, 273].

На Всемирном конгрессе гастроэнтерологов в 1977 г. было дано определение нарушенного кишечного всасывания (мальабсорбции) как синдрома,

объединяющего все виды патологии, обусловленной расстройством пищеварения и всасывания, и приводящего к нарушению метаболизма. Причины и патофизиологические механизмы нарушенного кишечного всасывания весьма разнообразны. Предложено различать 3 типа мальабсорбции: внутриполостная, энтероцеллюлярная, постцеллюлярная [75, 139, 243, 273].

Традиционно к СМА относят состояния, проявляющиеся диспепсическими расстройствами: диареей, нарушениями консистенции и объема стула, рвотой, метеоризмом, нарушением аппетита; с развитием в последующем истощения. Совершенствование методов лабораторной диагностики расширило представление о проявлениях СМА, подтвердило многообразие его клинических форм [35, 161, 166, 168, 170]. В ряде случаев мальабсорбция может быть неявной, проявляться патологией других органов (легких, печени) и систем (анемией, задержкой в росте, например, при атипичной форме целиакии). Заболевания, протекающие с СМА, приводят к формированию тяжелых расстройств обмена веществ, нарушению функций системы пищеварения, развитию дефицитных состояний, остеопороза, ранней инвалидизации [49, 67, 77, 85, 91, 92, 93, 126, 237]. Синдром мальабсорбции может наблюдаться при иммунодефицитных состояниях. К ним относятся синдром переменного неклассифицируемого иммунодефицита и селективный дефицит IgA, при которых в результате иммунологических дефектов прогрессирует атрофия ворсинок слизистой оболочки тонкой кишки с последующими нарушениями процессов всасывания [2, 49, 111]. При длительном и тяжелом течении СМА прогрессирует кахексия, присоединяются симптомы полигландулярной недостаточности (надпочечников, половых желез), мышечная атрофия, психические нарушения [111, 273]. В период развернутых клинических проявлений СМА, в частности при Ц, может иметь место транзиторный, нередко субклинический гипотиреоз и синдром гипотиреоза. В основе их лежит пластический и энергетический дефицит, ведущий к снижению синтеза гормонов щитовидной железы. Компенсаторно при этом повышается уровень тиреотропного гормона (ТТГ). Тиреоидная дисфункция выявляется у больных целиакией [148, 288].

Целиакия однозначно ассоциируется с СМА, для других заболеваний синдром нарушенного кишечного всасывания является лишь одним из возможных проявлений, например, при гистиоцитозе, амилоидозе [49]. Атрофия СОТК при Ц сопровождается снижением активности ферментов щеточной каймы энтероцитов, играющих ключевую роль в процессе переваривания и всасывания многих нутриентов. В активный период заболевания у всех детей выявляется снижение всасывания ксилозы, у 90% пациентов нарушение расщепления лактозы [166]. При Ц повышается экскреция аминокислот с калом, нарушается всасывание липидов, в первую очередь жирных кислот и холестерина, и, как следствие этих процессов, происходит повышение экскреции с калом свободных жирных кислот, холестерина и его метаболитов, фосфолипидов. Изменение соотношения свободных жирных кислот и триглицеридов в стуле больных Ц однозначно указывает на преобладание мальабсорбции жирных кислот над нарушением расщепления триглицеридов ($7,8 \pm 2,34$, при норме $1,67 \pm 0,2$) [91, 166].

При Ц значительно возрастает митотическая активность в криптах СОТК. Увеличение Д-клеток является отражением этих процессов и имеет регуляторный характер, так как соматостатин тормозит пролиферативные процессы. Соматостатин подавляет продукцию гастрина, регуляторного пептида, который не только стимулирует секрецию желудка, но также стимулирует пролиферативные процессы в желудке, кишечнике, печени и поджелудочной железе. Кроме того, соматостатин тормозит процессы всасывания, что может усугублять мальабсорбцию. На фоне восстановления СОТК число Д-клеток возвращается к норме, но нарастает уровень гастрина, который стимулирует восстановительные процессы. Таким образом, атрофия СОТК при Ц сопровождается изменениями паракринной регуляции, что важно учитывать для правильного понимания всего комплекса патогенетических механизмов при этом заболевании [10].

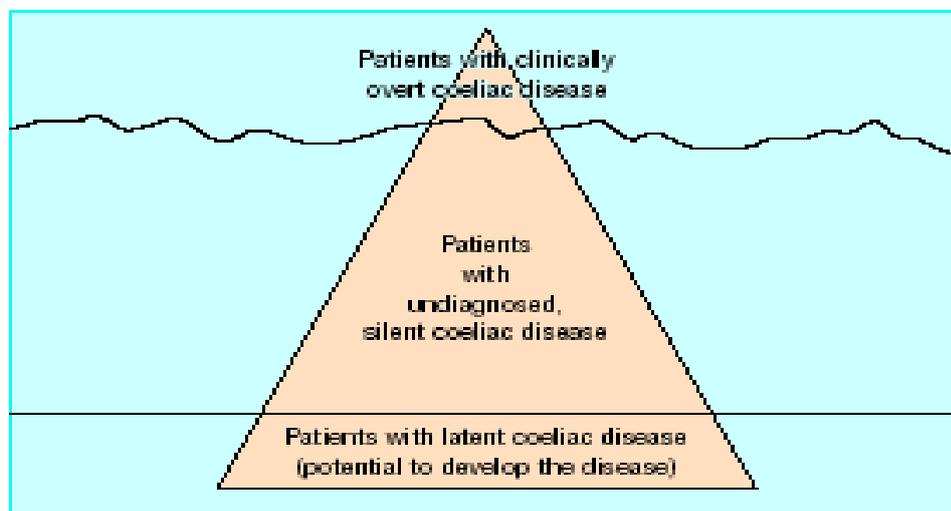
В последние годы благодаря расширению представлений о физиологии процессов пищеварения и всасывания пищевых веществ, внедрению современных морфологических, аллерго-иммунологических, биохимических и генетических тестов значительно углубились знания о патологической сущности заболеваний с

СМА. В то же время приходится признать, что многие стороны неблагоприятного воздействия нарушенного кишечного всасывания на организм ребенка до настоящего времени окончательно не изучены [204].

1.2. Целиакия как аутоиммунная модель синдрома мальабсорбции

1.2.1. Эпидемиология заболевания

Ранее Ц считалась редким заболеванием детского возраста и составляла приблизительно 1 случай на 3000–10000 человек. Проведенные скрининговые исследования в Европе изменили существовавшее представление о Ц как о редком заболевании. Ричард Логан в 1991 г. впервые представил Ц в виде модели айсберга. В данной модели вся распространенность заболевания отражалась общим размером айсберга (рисунок 1), а меньшая видимая его часть (надводная) обозначала хорошо диагностируемую классическую Ц [329].



Iceberg model depicting prevalence of coeliac disease

Рисунок 1. Модель целиакии в виде айсберга

Установлено, что соотношение диагностированных к не диагностированным случаям Ц составляет 1:5–1:13 [212]. Информация о географическом распределении Ц в основном касалась Европы и других развитых

стран, таких, как США, Канада и Австралия [319]. Новые эпидемиологические исследования показали, что Ц встречается и в других частях мира, в том числе на азиатском континенте. Распространенность ее, по данным эпидемиологических исследований, варьировала от 1:6000 до 1:1000 детского населения [212]. Появление специальных диагностических тестов позволило оценить распространенность заболевания по-иному. Улучшилась диагностика бессимптомных и малосимптомных форм Ц, которые проявляются селективными нарушениями всасывания железа, кальция, витаминов, а также развитием ассоциированных с ней аутоиммунных заболеваний [110, 230, 239, 240]. Возможность выявления атипичных случаев может совершенно изменить данные наблюдаемой эпидемиологии в каждом регионе [257, 258, 284].

Прогресс в иммунологической диагностике привел к увеличению частоты выявления Ц в 10-20 раз у пациентов с бессимптомным или атипичным течением, а в группах риска—в сотни раз чаще, чем в общей популяции [108, 218, 228].

Активный поиск Ц в группах риска показал, что частота ее колеблется от 1:200 до 1:100, а среди ближайших родственников достигает 1:10 [114, 212, 236, 244, 269, 284]. Риск Ц особенно высок у родственников 1 степени родства 1:10, 2 степени—1:39; у лиц с так называемой «ассоциированной» патологией 1:56 (например, различными аутоиммунными заболеваниями: СД 1 типа, АИТ и др.) [212, 240, 315].

Проведенные популяционные исследования во многих странах показали высокую частоту Ц (таблица 1). В среднем в Европе ее частота достигает 1:200—1:300 [12, 211, 250]. Распространенность Ц существенно отличается в разных странах мира, в среднем составляя 0,5-1% от общего числа населения планеты. Разброс показателей объясняется высокой частотой скрытых и атипичных форм заболевания [203, 210, 257].

В некоторых этнических группах, таких как население Сахары, Ц была обнаружена у 5% населения. Ц считается крайне редким, практически не встречающимся заболеванием среди африканцев, японцев, китайцев. В Китае и других азиатских странах эпидемиология Ц в настоящее время неизвестна.

Однако в этом регионе отмечено четкое уменьшение потребление населением риса и параллельный рост потребления продуктов из пшеницы. Повышение доходов и урбанизация являются основными движущими силами в увеличении потребления пшеницы. Из-за этих пищевых тенденций можно ожидать в ближайшем будущем рост числа больных Ц в Восточных странах [12, 202, 303].

Таблица 1

Частота целиакии в различных странах / регионах до и после проведения скрининга

Страна / регион	Частота	
	при клиническом исследовании	по серологическим и гистологическим данным
Дания [Weile D. et. al., 1992; 1996]	1: 10 000	1:500 (взрослые)
Финляндия [Maki M. et. al., 1988; Kolho K.L. et. al., 1998]	1: 1000	1:130 (взрослые)
Венгрия [Korponay-Szabo I.R. et. al., 1999]	1:3941	1:184 (дети)
Испания [Riestra S. et. al., 2000]	1:1420	1:389
Швеция [Carlsson A.K. et. al., 2001]	1: 330 (дети)	1:190 (взрослые) 1:177 (дети)
Ирландия [Johnston S.D. et. al., 1997]	1: 300	1:112 (взрослые)
США [Berti I. et. al., 2000]	1: 10 000	1:111 (взрослые) 1:167 (дети)
Италия [Auricchio S., 1992; Catassi C., 1996]	1: 1000-4500	1:184 (дети)
Сахара [Catassi C. et al., 2000]	-	1:18 (дети)
Бразилия [Gandolfi L. et al., 2000]	-	1:50 (дети, прошедшие через стационар)
Новая Зеландия [Cook H.V. et al., 2000]	-	1:90 (взрослые)

До недавних пор считалось, что Ц также редко встречается и в Индии. Тем не менее, отмечено увеличение частоты встречаемости заболевания в Северной Индии. Проведенное исследование в штате Пенджаб, в котором приняло участие 4347 детей в возрасте от 3 до 17 лет, показало, что, несмотря на низкие показатели

распространенности Ц, ее частота значительно выросла в районах Северной Индии, где в пищу употребляется пшеница [320]. Сведения о распространенности Ц в регионах России и странах ближнего зарубежья представлены в таблице 2. Данные по России весьма разноречивы.

Таблица 2

Распространенность целиакии по данным сероэпидемиологических исследований в регионах России и странах ближнего зарубежья

Страна / регион	Распространенность
Казахстан [Шарипова М.Н., 2008]	1:268 (дети); соотношение ЦТ: ЦА = 1:5
Узбекистан, Ташкентский регион [Камилова А.Т., 2006]	1:366 (дети)
Украина [Волошина Л.Г., Солодовниченко И.Г., 2006]	нет данных; соотношение ЦТ: ЦА=1:7
Россия, г. Рязань [Стройкова М.В., 2007]	1:85 дети (1,56%) 1:39 взрослые (2,6%)
Россия, Нижегородская область [Репин А.А. и др., 2008]	1:133 (0,75%) 1:7,6 (взрослые группа риска)
Россия, г. Челябинск [Турчина В.Н., Табак Т.А., 2004]	1:6000
Россия, Свердловская область [Климин В.Г., Малямова Л.Н., Чередниченко А.М. и др., 2009]	3:1000
Россия, Архангельская область [Смирнова Г.П., 2005]	1:5000

На необычную частоту встречаемости Ц у пациентов с муковисцидозом указывают ряд исследований. Среди 97 больных с МВ у 3 детей был заподозрен и в дальнейшем подтвержден в условиях стационара диагноз Ц [14]. МВ среди больных с Ц выявлен в 12,5% [136]. Сочетание Ц и МВ было отмечено у 4

больных из 40 пациентов с МВ (с генотипами: DelF508/DelF508, DelF508/неуточненная мутация, FTRDel21kb/неуточненная мутация) с тяжелым течением заболевания [15]. В зарубежной литературе также встречаются описания сочетанного течения заболеваний. В популяционном исследовании выявлено 5 случаев Ц среди 1100 пациентов с МВ, встречаемость Ц среди пациентов с МВ была рассчитана, как 1 к 220 (0,45%) [333]. В 2009 г. проводились систематические обследования на Ц в крупной скандинавской когорте - 790 пациентов с МВ, выявлено 10 пациентов сочетанного течения заболевания (1,2%) [243]. В Польше недавнее исследование выявило 2,13% случаев Ц среди 230 пациентов с МВ [337].

В литературе описаны единичные локальные исследования по распространенности Ц в России. Истинная частота заболевания, очевидно, значительно выше средних значений, так как некоторые больные не имеют выраженных клинических симптомов со стороны желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), а лишь незначительные проявления в виде артралгий, миопатий, судорожного синдрома, анемии. Важность активного выявления скрытых форм Ц и назначения безглютеновой диеты (БГД) заключается в снижении риска развития сочетанных с Ц аутоиммунных заболеваний, формирования дефицитных состояний (остеопороз, бесплодие, задержка развития, анемия) и их последствий [12, 30, 40, 108, 127, 203].

1.2.2. Регистры как основа изучения эпидемиологии заболевания

Совершенствование гастроэнтерологической службы предполагает получение статистически надежной информации об эпидемиологической ситуации по аутоиммунным заболеваниям желудочно-кишечного тракта, в частности по Ц. В мировой практике эти проблемы решаются путем создания регистров сахарного диабета, МВ, регистра больных с хроническими заболеваниями почек и др. [130]. В современном представлении регистр больных— прежде всего автоматизированная информационно-аналитическая система

мониторинга состояния здоровья больных, качества лечебно-профилактической помощи и эпидемиологической ситуации в отношении заболевания [99, 171]. Система предусматривает наблюдение за больным от момента заболевания до момента его смерти. Поэтому скрининговые исследования и регистр больных с целиакией должны сыграть ключевую роль в изучении распространенности данной патологии.

1.2.3. Заболевания, ассоциированные с целиакией

В настоящее время Ц относят к одной из распространенных аутоиммунных патологий с разнообразными системными проявлениями [17, 137, 166]. Выявленные основные аутоиммунные компоненты: аутоантитела (тканевые трансглутаминазные антитела, эндомизийные антитела), связь с определенными HLA-генами, лимфоплазматическая инфильтрация в очаге поражения, системность поражения, эффективность лечения кортикостероидами, позволили отнести Ц к аутоиммунным заболеваниям [13, 24, 109, 114, 237, 239]. Аутоиммунные заболевания (СД 1 типа, аутоиммунный тиреоидит, целиакия) являются мультифакториальными по своей природе, значительную роль в их развитии играют генетические факторы [44].

Пациенты с АИТ страдают Ц в 4 раза чаще, чем здоровые лица; распространенность Ц у больных СД 1 типа составляет 6,2-7,7%; при диабете АИТ диагностируется в 10-24% случаев; аутоиммунные заболевания щитовидной железы встречаются приблизительно у 13% пациентов с Ц [210, 211, 240]. Начато изучение вклада генов цитокинов в аутоиммунный воспалительный процесс [18, 225, 259]. В то же время получила широкое распространение теория синтропных генов, определяющих развитие однотипных изменений при различной патологии [26, 120]. В связи с этим изучение генов подверженности к сочетанному течению СД 1 типа, Ц, АИТ и болезней соединительной ткани может служить ключом к познанию механизмов развития каждого компонента синтропии в отдельности. В данном направлении проведено крупное генетическое обследование больших

групп пациентов с СД 1 типа и Ц. Было показано, что СД 1 типа ассоциирован с определенными генами системы HLA, локализующимися на двух локусах хромосомы 6p21 (*HLA-DQB1* и *HLA-DRB1*), а также с другими генами, не относящимися к системе HLA, и факторами окружающей среды [5, 190, 285]. Была обнаружена ассоциация гена цитотоксического Т-лимфоцит-ассоциированного белка 4 (*CTLA4*) хромосомы 2q33 с обоими заболеваниями. Исследования показали большую выявляемость людей с Ц среди пациентов с СД 1 типа, заболеваниями щитовидной железы (таблица 3), и не только, например, с первичным билиарным циррозом и синдромом Шегрена. Данное явление могут объяснять общий генетический фон (HLA гаплотипы) и однотипные механизмы иммунной опосредованности заболеваний. Аналогичные HLA гаплотипы могут частично объяснять сильную связь между дефицитом IgA и Ц. Выявлены неожиданные ассоциации Ц с эпилепсией и различными неопределенными неврологическими нарушениями [164, 165]. Встречаемость этих заболеваний в общей популяции на порядок ниже. Такие данные свидетельствуют о возможной общности патогенеза перечисленных аутоиммунных заболеваний, в основе которых могут лежать иммунологические и иммуногенетические нарушения. Несмотря на то, что аутоиммунное воспаление, приводящее к потере функции органа, развертывается при СД 1 типа в поджелудочной железе, при АИТ - в щитовидной железе, при Ц - в кишечнике, механизмы его развития, вероятно, протекают по единому сценарию [205, 240]. Установлена связь иммунных нарушений при Ц с другими аутоиммунными заболеваниями [50, 64, 204]. Эта связь определяется двумя ведущими теориями: 1) нарушением равновесия между генами, ответственными за развитие Ц, и генами, ответственными за развитие сопутствующих аутоиммунных заболеваний; 2) нелеченная Ц приводит к развитию других аутоиммунных болезней. Однако имеющиеся на настоящий момент данные не позволяют четко определить, какая из теорий объясняет связь между Ц и другими заболеваниями. Можно предположить, что потеря барьерной функции слизистой оболочки кишечника при Ц играет важную роль в развитии

аутоиммунных заболеваний [207, 237]. В таблице 3 приведены данные по частоте ассоциированных с Ц заболеваний.

Таблица 3

Частота заболеваний, ассоциированных с целиакией, (%)*

Заболевание	Частота (%)
Сахарный диабет 1 типа [Cronin C.C., Shanahan F., 1997]	2-7,8
Тиреотоксикоз [Midhagen G., Jarnerot G., Kraaz W., 1988; Collin P., Reunala T., Pukkala E. et al., 1994]	5-5,8
Дефицит IgA [Cataldo F., Marino V., Ventura A. et al., 1998; Collin P., Reunala T., Pukkala E. et al., 1998]	2-2,6
Синдром Шегрена [Collin P., Reunala T., Pukkala E. et al., 1994]	3,3
Первичный билиарный цирроз [Kingham J.G., Parker D.R., 1998]	3
Остеопороз [Lindh E., Ljunghall S., Larsson K., 1992]	3,3
Эпилепсия [Cronin C.C., Jackson L.M., Feighery C., 1998]	2,3
Неопределенные неврологические нарушения [Hadjivassiliou M., Gibson A., Davies-Jones GAB et al., 1996]	17

* Источник: Conleth Feighery Celiac disease.// BMJ. 1999 .Vol. 319.-P. 236-2239.

Поэтому ранняя диагностика Ц—это в свою очередь профилактика опухолей ЖКТ и другой локализации, а также развития ассоциированных с ней аутоиммунных заболеваний. Таким образом, дальнейшие исследования в данном направлении расширят наши познания о механизмах развития аутоиммунной патологии, и в том числе целиакии.

1.3. Современные аспекты патогенеза целиакии

Целиакия - аутоиммунное заболевание, иммунопатологические процессы при котором протекают в слизистой оболочке тонкой кишки [184, 313]. Патогенез заболевания характеризуется многофакторностью. Только сочетание средовых, генетических и иммунологических факторов приводит к развитию развернутой клинической картины целиакии. Некоторые из этих факторов уже хорошо известны, роль других еще только уточняется [161].

Главным инициирующим фактором Ц являются глютен (группа растительных белков фракций проламинов и глютелинов, содержащихся в злаковых) [119, 166, 279]. У генетически предрасположенных людей эти протеины вызывают неадекватную реакцию СОТК. Несомненно, что заболевание без глютена не возникает, но однозначных мнений о патогенезе Ц до настоящего времени нет, поэтому существует ряд гипотез [166]. Большинство исследований сосредоточено на иммунологических, генетических факторах, приводящих к гиперчувствительности к глиадину и другим белкам из группы проламинов. Существуют несколько теорий развития заболевания: токсическая, иммунная, инфекционная, генетическая.

По данным ряда авторов, у больных целиакией снижена активность дипептидаз в щеточной кайме энтероцитов. В результате нарушения метаболизма накапливается глютен и его нерасщепленные продукты, оказывающие прямое токсическое воздействие на энтероциты, как следствие этого развивается атрофия СОТК [11, 83, 207, 208]. Эта теория подтверждается полным восстановлением СОТК на фоне безглютеновой диеты [207, 211]. Гипотезу частично подтвердило исследование, обнаружившее короткий (33-mer) пептид глиадина с высоким содержанием пролина, который, по-видимому, повреждает щеточную кайму мембран эпителия тонкой кишки и вызывает воспалительный ответ у лиц, предрасположенных к Ц. Это привело к тому, что появились мнения об использовании ферментов пролиновых энтеропептидаз некоторых бактерий и

грибов, которые могут переваривать богатые пролином пептиды глютена, в дополнение к БГД [155].

В настоящее время активно разрабатывается иммуногенетическая гипотеза, включающая в себя взаимоотношения генетических, иммунологических и средовых условий в запуске заболевания. Установлена связь Ц с генами, входящими в главный комплекс гистосовместимости, биологической функцией которых является регуляция иммунного ответа. Выявлена наиболее тесная ассоциация болезни с локусом DQ II класса HLA-системы. После всасывания в СОТК глиадины подвергаются дезаминированию ферментом тканевой трансглутаминазой (tTG), превращающей пептиды глиадина в глютеносодержащие пептиды. tTG, как важнейший аутоантиген эндомиозия - мишень при Ц. Этот фермент синтезируется широким спектром клеток различного типа, но обычно находится в межклеточном пространстве и потребляется клеточными элементами, участвующими в репарации и стабилизации тканей [22].

Важно, что дезаминированные пептиды более эффективно презентуются в иммунной системе антигенпрезентирующими клетками в контексте HLA-DQ2 или DQ8 межэпителиальным лимфоцитам и преимущественно лимфоцитам собственной пластинки интестинальной слизистой оболочки; они имеют более специфичные эпитопы для В-клеток, чем нативные пептиды, и иммунный ответ против таких пептидов у больных Ц повышен [22, 83].

Через Т-клеточный рецептор активируются CD4+, CD8+ Т лимфоциты, запускается цитокиновый каскад, индуцируется апоптоз энтероцитов, продукция антител. На рисунке 2 представлен запуск цитокинового каскада при Ц [245]. Пусковыми цитокинами целиакии являются NF- κ B, INF- γ , IL-15. Глиадин опосредованно активирует нуклеарный фактор каппа В [NF- κ B], он в свою очередь запускает экспрессию провоспалительных цитокинов и молекул адгезии, местно развивается реакция воспаления [197].

Антитела к tTG имеют сродство к Toll-like рецепторам 4 типа на поверхности межэпителиальных лимфоцитов. Комплексы АГ-АТ вызывают повреждение энтероцитов. На их поверхности начинается экспрессия MICA,

МСВ–рецепторов, активирующих межэпителиальные лимфоциты. Таким образом, местная воспалительная реакция генерализуется. Вместе с тем запускается каскад системных аутоиммунных реакций (тиреоидит, СД 1 типа, дерматит), и развитие заболевания приобретает молниеносный характер.

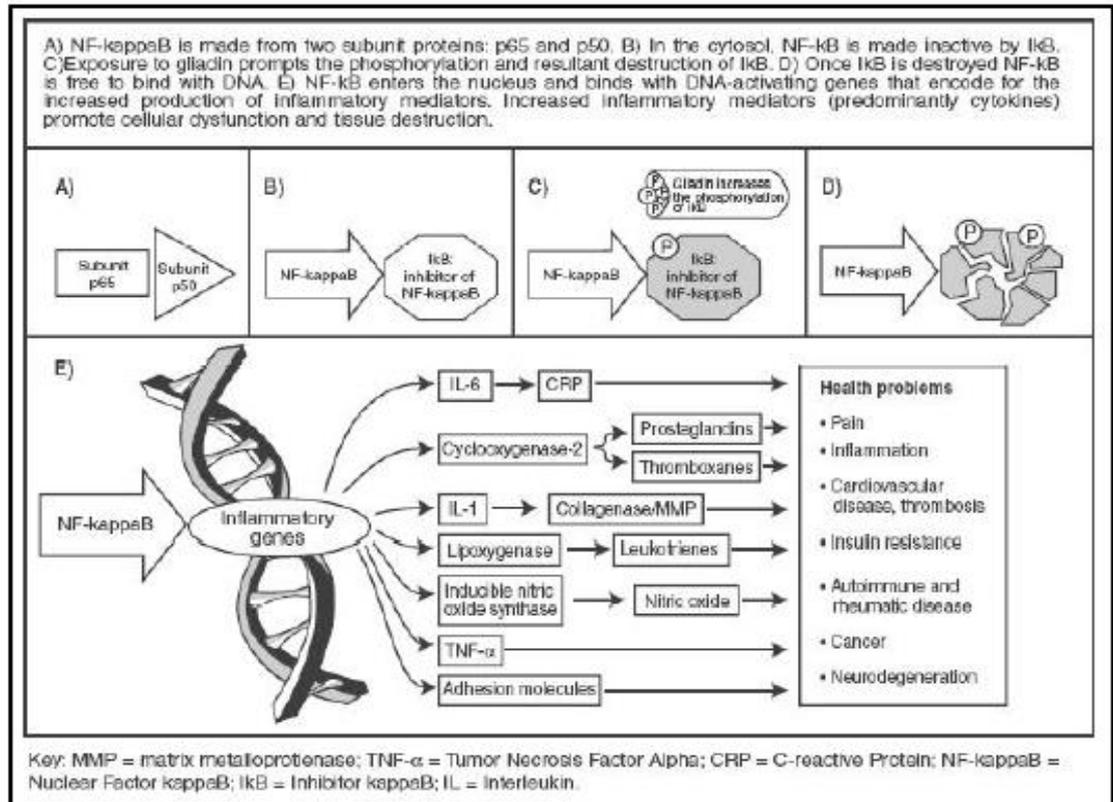


Рисунок 2. Запуск цитокинового каскада при целиакии [Helms S., 2005]

Обсуждается роль вирусов в патогенезе Ц. В крови у некоторых больных Ц определяется повышение титров антител к аденовирусам типа 12, снижение которых отмечено при улучшении состояния больных на фоне БГД, но, очевидно, вирусы играют роль провоцирующего фактора в патогенезе Ц [126, 311].

Таким образом, патогенез Ц связан с иммунологическими механизмами, относящимися к Т-лимфоцитарным реакциям, и с генами класса II HLA-системы. Дисбалансу цитокинов в патогенезе отводится важная роль. Изучение роли в патогенезе заболевания иммунологических и генетических факторов, их взаимоотношений со средовыми факторами остается актуальным.

1.4. Вклад генетических факторов в развитие заболевания

1.4.1. HLA-система при целиакии

Гены Ц тесно связаны с локусом DQ HLA класса II и его гетеродимерами HLA-DQ2 или HLA-DQ8 [199, 222, 229, 256]. У лиц, генетически предрасположенных к Ц, с DQ2 или DQ8 связываются «белки глютена», содержащие глутамин и пролин, которые образуются в процессе гидролитического расщепления глиадина в просвете кишки [254]. Комплекс «DQ–пептид глиадина» эффективно активизирует Т–клетки в собственной пластинке слизистой оболочки кишки (рисунок 3) [254, 256, 258].

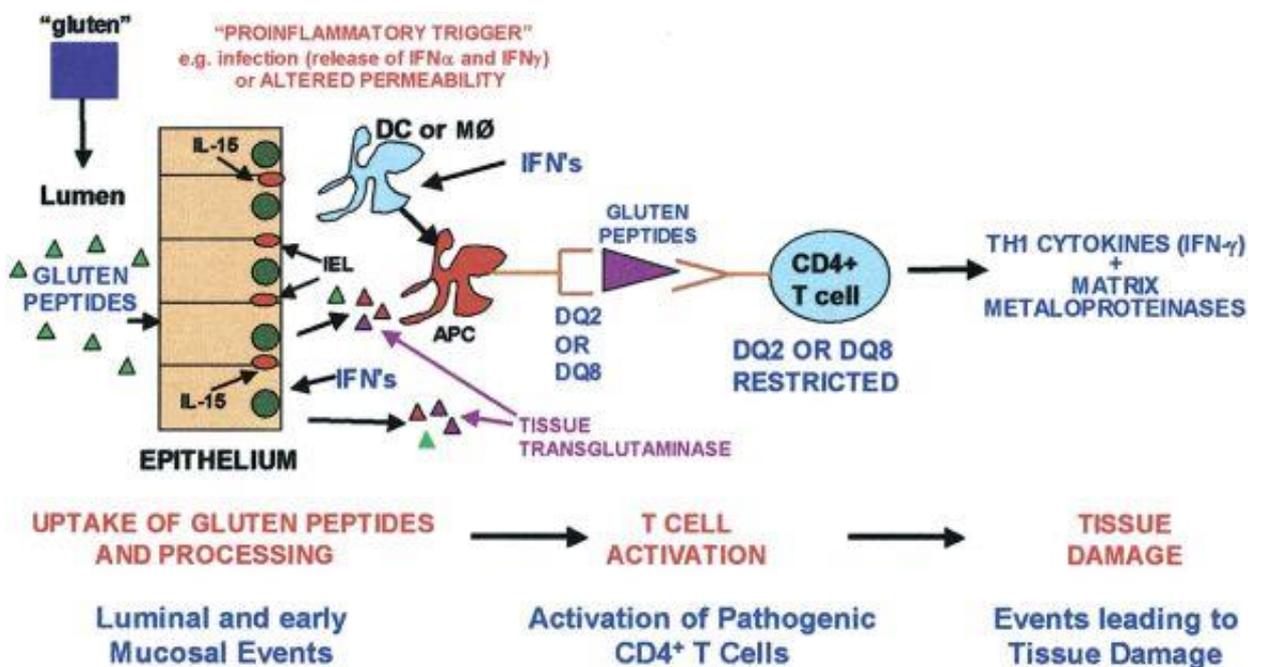


Рисунок 3. Роль HLA-системы в развитии целиакии [Arentz-Hansen H., 2002]

Существует, по крайней мере, два возможных варианта формирования специфических антител в экстрацеллюлярном матриксе собственной пластинки слизистой оболочки тонкой кишки. Первый путь осуществляется через макрофаги, которые захватывают глиадин и передают информацию Т– и В–лимфоцитам. Т–хелперы интенсивно экспрессируют антигены

гистосовместимости HLA DR, которые активируют рецепторы CD40L на В-лимфоцитах и вызывают пролиферацию и дифференцировку плазматических клеток, продуцирующих антитела к глиадину. Другой путь иммунного ответа на глиадин связан с образованием комплекса глиадин с tTG–ферментом, дезаминирующим его. Комплекс обладает сродством к HLA DQ2 или HLA DQ8 на В–лимфоцитах и активизирует пролиферацию и дифференцировку плазматических клеток, которые синтезируют специфические антитела. Вновь образованный комплекс глиадин с tTG приводит к образованию антиглиадиновых антител (АГА), антител к tTG и эндомизию (АЭА) [22, 241, 254]. Дезаминированный глиадин активирует синтез провоспалительных цитокинов Т–лимфоцитами. Интерферон– γ , ИЛ–4 и ФНО– α повреждают энтероциты [112]. Увеличение числа межэпителиальных лимфоцитов (МЭЛ)–неспецифический ответ на повреждение эпителиоцитов, является самым ранним морфологическим проявлением Ц [286].

Наследственную предрасположенность к Ц определяют молекулы HLA II класса DQ2 (DQB1*201, DQA1*501) и DQ8 (DQB1*302, DQA1*301) [231]. Проведенные популяционные исследования достоверно выявили высокую распространенность указанных выше аллельных вариантов (генетических маркеров риска) у больных Ц [282], однако их частота в различных регионах мира изменяется от 50% до 97% [51], (таблица 4).

Таблица 4

Распространенность HLA-гаплотипов в различных популяциях

Популяция	Гаплотипы	Частота встречаемости
Италия [Salvati V.M., 2002]	HLA-B4-DR7	50%
Скандинавские страны	DQ2	90%-95 %
Скандинавские страны	DQ8	5%-10%
Финляндия [Polvi et al., 1998]	DQ2 и/или DQ8	97%

Продолжение таблицы 4.

Израиль [Thorsby E., 1994]	DQA1*0501, DQB1*0201	80%
Северная Европа [Margaritte-Jeannin P., 2004]	DQA1*0501, DQB1*0201	98,9%
Казахстан [Исабекова Т.К., 2007]	DQA1*0501, DQB1*0201	62%
Узбекистан [Камилова А.Т., 2007]	DQA1*0501, DQB1*0201	69,2%

Аллели HLA, ассоциированные с целиакией, представлены в таблице 5.

Таблица 5

Аллели HLA, ассоциированные с целиакией

Гаплотип	Кодирующие аллели
DQ2	DQA1*0501 (0505)/DQB1*0201 (0202)
	DQA1*0201/DQB1*0202 (201)
DQ8	DQA1*0301/DQB1*302
DQ7	DQA1*0505 (0501)/DQB1*0301

Примечание: составлено по Karell K., (2003), Keuning, J.J., (1976) [252, 255]

Среди детей с Ц генотипы генов HLA распространены следующим образом: DQ8 у 62,7%; DQ2 у 33,8%; у 3,4% DQ8/DQ2 [116, 270]. При этом в каждой популяции необходимо учитывать свои особенности. Так, у детей казахской популяции при диагностике скрытых, латентных форм Ц помимо аллелей DQA1*501, DQB1*201 и DQA1*301, DQB1*302, также наблюдается высокая частота DRB1*10 [174].

Результаты показали, что патологическими изменениями иммунологической реактивности организма при Ц следует считать снижение фагоцитарной активности и повышение микробицидной активности нейтрофилов по «кислородзависимому механизму». Комплексное изучение

иммуногенетических показателей позволило обосновать диагностически значимые критерии, к которым относят фагоцитарную активность, НСТ-тест и положительную ассоциацию межлокусных сочетаний HLA [103].

Анализ HLA-антигенов среди иракских детей, больных Ц, показал значительное повышение частоты HLA-B8 и B12 антигенов с величиной относительного риска 14,5 для HLA-B8 и 4,58—для HLA-B12. Генотип HLA-DQ2 выявляется почти у 95% пациентов с Ц в Северной Европе, в то время как остальные пациенты имеют HLA-DQ8 [256]. У больных Ц также регистрируются гаплотипы DR3, DR7, DQW2. Антигены DR3 и DR7 выявлены у 80 и 50% больных, а сочетание этих антигенов - у 34% (среди населения в целом - 26, 20 и 1%, соответственно) [211]. Специалисты Всемирной организации гастроэнтерологов считают, что отсутствие аллелей, кодирующих DQ2 и DQ8, делает диагноз Ц маловероятным [211].

В нашей стране данные об ассоциации генов HLA-системы с заболеванием изучены недостаточно, требуется расширение исследований, не определена роль HLA-гаплотипов в определении фенотипических вариаций Ц.

Таким образом, в настоящее время установлена роль генов HLA-системы в развитии Ц, продолжаются исследования по изучению распространенности аллельных вариантов (генетических маркеров риска заболевания) в различных популяциях. В России проведены единичные эпидемиологические исследования о вкладе HLA-системы в иммунопатогенез заболевания.

1.4.2. Ассоциации генетических маркеров с подверженностью и резистентностью к целиакии (концепция генов-кандидатов модификаторов иммунного ответа)

Целиакия является многофакторным заболеванием и очевидно, что в патогенез вовлекаются многие гены, включая HLA маркеры и многие другие локусы, а также факторы внешней среды [137, 282]. Известно, что гены разных регионов HLA-системы участвуют в процессе аутоиммунного воспаления. Так,

усиленную продукцию цитокина ФНО- α при Ц напрямую связывают с геном фактора некроза опухоли третьего региона HLA-системы [261]. Также описана связь генов-модификаторов иммунного ответа (ген белка цитококлических Т-лимфоцитов - *CTLA4*, тирозин фосфатазы - *PTPN2*) с Ц. Около двадцати лет назад появились сообщения о том, что биологически активная форма витамина D, известная как регулятор фосфор/кальциевого метаболизма и отвечающая за минерализацию костной ткани, влияет и на клетки иммунной системы.

К настоящему времени достигнуты весьма скромные успехи в изученности генетических факторов в развитии Ц (таблица 6). Недостаточность исследований Ц в контексте понимания генетических особенностей подверженности этому заболеванию в различных популяциях диктует необходимость идентификации генов-кандидатов Ц, что в дальнейшем может способствовать оценке риска развития заболевания с большей степенью достоверности.

Таблица 6

Гены предрасположенности к целиакии

Автор	Ген/ Полиморфизм	OR/ TDT/p	Дизайн исследования
Garrote J.A. et al., 2005	G (-308)A гена <i>TNFA</i>	p=0.008	Случай–контроль, популяционный
Rueda B., Zhernakova A. et al., 2005	<i>IL1RN</i>	TDT нет ассоциации	Случай (105)– контроль, семейный.
Woolley N. et al., 2005	<i>IL10, IFNG, TNFA</i>	Нет ассоциации	Случай–контроль, популяционный
Cataldo F., Scola L. et al., 2005	G (-308) A <i>TNFA</i> <i>IFNG</i> (+874T-->A) <i>IL10</i> G (-1082) A	p=0.043	Случай (10 и 40)– контроль, популяционный (220)
Hahn-Zoric M., Hytonen A.M. et al., 2003	<i>IL10</i> G (-1082) A G (-308) A <i>TNFA</i>	AA, GG -1087IL10 p<0.05; AGp<0.0005	Случай–контроль, популяционный
Pedro J.I., Bilbao J.R. et al., 2003	<i>Fok I, Bsm I, Apa I,</i> <i>Taq I</i>	ff-p=0.01; OR=3.45	Случай (37 и 64)– контроль (88), популяционный

Продолжение таблицы 6

Lio D., Scola L. et al., 2005	<i>IL10</i> G (-1082) A G (-308) A <i>TNF</i> A	308A p<0.033; OR 1.72 +874T p=0.0045; OR: 3.02 -1082G/A	Случай (110)– контроль (220), популяционный
Cherňavsky A.C. et al., 2008	<i>IL10</i> G (-1082) A G (-308) A <i>TNF</i> A <i>IL-1B</i> (-511C, +3953T)	OR 15.389 OR 9.402	Случай (228)– контроль (244), популяционный

В настоящее время известна роль цитокинов в развитии аутоиммунного процесса при Ц [261, 278, 282, 289]. Ц опосредуется взаимодействием пептида с DQ2, приводящего к активации специфических Т-клеток, в результате происходит активация антигенспецифической помощи, которая включает продукцию цитокинов: интерлейкина-2, 4, 10, а также INF- γ [183, 306]. Исследование, проведенное в Италии, показало, что после активации Т-клеток кишечника у генетически предрасположенных лиц запускаются различные механизмы воспаления, находящиеся под контролем цитокинов, среди которых провоспалительные INF- γ , TNF- α , IL-15, IL-18, секретируемые Т-клетками, и противовоспалительные, такие как IL-10 [183, 226, 289, 290, 291, 306]. Эти цитокины, кроме повышения активности и числа иммунокомпетентных клеток в слизистой оболочке кишечника, регулируют активность эпителиальных факторов роста и металлопротеиназ, которые принимают участие в повреждении эпителиальных структур слизистой оболочки, что в конечном итоге приводит к развитию СМА [278].

Цитокины обладают множеством свойств: участвуют в межклеточном взаимодействии тканей различного уровня дифференцировки; выступают в роли медиаторов локального взаимодействия, а также оказывают аутокринные, пара- и эндокринные эффекты; не депонируются в клетках, а синтезируются «по требованию»; выработка одного цитокина запускает выработку других цитокинов, названную цитокиновым каскадом [181]. Наибольший интерес

исследователей в настоящее время направлен на изучение цитокинового каскада 1 типа при аутоиммунных заболеваниях, в том числе и при Ц [200, 289, 306]. В качестве медиаторов доиммунного воспаления, которые иначе называются провоспалительными цитокинами, продуцируемых тканевыми макрофагами, в ответ на повреждающее воздействие антигена выступают IL-1, IL-6, IL-12, TNF- α , INF- α , INF- β [332]. Регуляторы пролиферации и дифференцировки лимфоцитов - противовоспалительные цитокины (IL-2, IL-4, IL-10, IL-12, TGF- β), координируют активность клеток на всех этапах цитокинового каскада [35, 175].

Ответ клеток иммунной системы на действие цитокинов возможен лишь при условии экспрессии на поверхности этих клеток соответствующих рецепторов, которых в состоянии покоя на мембране клеток небольшое число. Полиморфизм промоторных участков генов рецепторов цитокинов также способен оказывать влияние на продукцию соответствующего белка.

Экспрессия генов цитокинов начинается в ответ на проникновение в организм патогенов, антигенное раздражение или повреждение тканей. Полиморфизм генов, кодирующих цитокины, оказывает существенное влияние на предрасположенность к аутоиммунным заболеваниям и ответную реакцию на лечение. За последние два десятилетия секвенированы гены большинства цитокинов. В связи с этим представляет научный и практический интерес поиск ассоциаций заболевания и его клинических проявлений с генами-кандидатами воспаления.

Ген рецептора к витамину D (VDR)

Ген *VDR* расположен у человека на хромосоме 12q12-q14. Существует предположение, что одним из генетических факторов, способных определять Th1-Th2 поляризацию иммунного ответа, может быть генотип *VDR*, в зависимости от которого может проявляться тенденция к развитию Th-1 или Th2 иммунитета, что, в свою очередь, может определять характер клинического течения исследуемой патологии [220].

Выявлено, что индивиды, обладающие генотипом «ff», имеют повышенный риск развития Ц ($p=0,01$; OR=3,45 (1,12–10,79)), зарегистрирована высокая

частота гаплотипа «fBAt» в группе пациентов с СД 1 типа ($p=0,02$; $OR=4,4$ (1,5–15,3)) [249].

Гены семейства интерлейкина-1

Ключевую роль в развитии воспалительного ответа играют гены семейства интерлейкина-1 (IL-1), ответственные за выработку провоспалительных цитокинов IL-1 α и IL-1 β и противовоспалительного цитокина - антагониста рецептора IL-1 (IL-1Ra) [33]. Формальные данные о генах-модификаторах иммунного ответа отражены в таблице 7. Значение IL-1 в развитии аутоиммунного воспаления в тонком кишечнике при Ц, как главного медиатора воспаления, известно [114]. Поддержание структуры ворсинок на нормальном уровне является сложным процессом, включающим состояние базальной мембраны, обеспечивающей прилипание эпителиоцитов посредством протеогликанов, фибронектина, а также адекватное кровоснабжение и иннервацию. Известно, что IL-1 и FNO- α ингибируют синтез гликозаминогликанов (ГАГ) в культуре эндотелиальных клеток, изменения ГАГ при Ц могут потенциально индуцировать нарушение структуры ворсинок, усиливать кишечную проницаемость и секрецию альбумина в просвет кишки [332].

Ген *IL1B* расположен на 2 хромосоме (2q14). Аллель A1 полиморфизма +3953 гена *IL1B* ассоциирован с нарастанием продукции IL-1 β в ответ на воздействие липополисахарида [33]. Для гена *IL1B* выявлена связь с туберкулезом [131], СД 1 типа, диабетической нефропатией, миастенией, периодонтитом, колитами.

Формальные данные о генах-модификаторах иммунного ответа

Ген	MIM	Хромосомная локализация	Локализация в гене	Полиморфизм	Название белка	Фермент рестрикции	Роль в иммунном ответе	Литература
<i>IL1B</i>	147720	2q14	Экзон 5	rs1143634	Интерлейкин-1	Taq I	Провоспалительный ответ, стимуляция клеточного звена иммунитета	Wilkinson R.J. et al., 1999
<i>IL1RN</i>	147679	2q14.2	Интрон 2	VNTR	Антагонист рецептора к интерлейкину-1	Taq I	Взаимодействие с рецептором к IL-1 и ингибирование провоспалительного ответа	Tarlowetal, 1993
<i>VDR</i>	601769	12q12-q14	Экзон 2 Интрон 8	rs2228570 rs144410	Рецептор к витамину D	Fok I Bsm I (Pct I)	Стимуляция клеточного иммунитета, усиление синтеза иммуноглобулинов и цитокинов	Wilkinson R.J. et al, 2000
<i>IL4</i>	147780	5q31.1	3'-UTR	rs2243291	Интерлейкин-4	Taq I	Провоспалительный ответ, стимуляция клеточного звена иммунитета	Mitsuyasu H. et al., 1998
<i>IL4RA</i>	147781	16p12.1- p11.2	Экзон 3	rs1805010	Рецептор интерлейкина-4	Taq I	Взаимодействие с рецептором к IL-4 и ингибирование провоспалительного ответа	Mitsuyasu H. et al., 1998

Показано, что индивиды с комбинациями генотипов HLA-DQ2 совместно с генотипами +3953T гена *IL1B* и 308A *TNFA* имеют более высокий риск развития Ц [332]. Таким образом, полиморфизм гена *IL1B* может приводить к изменениям функции клеточного иммунитета, что, в свою очередь, может сказываться на клинической картине аутоиммунных заболеваний, в частности Ц.

IL1RN (ген антагониста рецептора IL-1) ингибирует пути связывания IL-1 α и IL-1 β с соответствующими клеточными рецепторами. Ген *IL1RN* локализован на 2 хромосоме (2q14.2), функцией рецепторного антагониста к IL-1, кодируемого геном *IL1RN*, является взаимодействие с рецептором цитокина и его блокировка, что проявляется ослаблением клеточного иммунитета. Для *IL1RN* найдена связь с туберкулезом, лейкемией, алкогольным фиброзом печени, СД 1 типа, СД 2 типа, коронарной болезнью, шизофренией, АИТ и др. [33]. Известно, что аллель A2+VNTR полиморфизма гена *IL1RN* даже в гетерозиготном состоянии многократно усиливает секрецию кодируемого продукта, что приводит к противовоспалительному эффекту [273].

Ген фактора некроза опухоли (TNFA)

FNO- α человека имеет молекулярную массу 17,4 кДа и два рецептора: RI и RII. Ген фактора некроза опухолей- α (*TNFA*) расположен на 6 хромосоме (6p21.3) в высокополиморфном регионе III класса главного комплекса гистосовместимости (HLA) между геном лимфотоксина α (*LTA*) и лимфотоксина β (*LTB*). Для FNO характерен широкий спектр биологического действия. FNO- α является продуктом моноцитов/макрофагов, эндотелиальных, тучных, миелоидных клеток, клеток нейроглии, в особых случаях – активированных T-лимфоцитов. По спектру клеток-мишеней и биологических эффектов FNO- α близок к IL-1 [304]. Помимо участия в остром воспалении, FNO- α играет роль в хронизации процесса, как за счет повышения адгезии макрофагов, которые, как известно, являются основными клетками-эффекторами хронического воспаления, так и опосредованно, через фактор активации тромбоцитов и индукции синтеза оксида азота [158].

FN α является одним из наиболее ранних цитокинов, продуцируемых при Ц [242]. К настоящему времени накоплено немало подтверждений того, что *TNF- α* участвует в патогенезе Ц, уровень данного цитокина коррелирует с клиническими проявлениями и исходом заболевания [242]. Аллель -308А ассоциирован с увеличением риска инфекционных заболеваний [264], аутоиммунных заболеваний (ревматоидный артрит, системная красная волчанка, сахарный диабет 1 типа и др.) [181]. Исследование полиморфных вариантов генов цитокинов, проведенное у детей с синдромом Дауна и Ц (*TNFA* (-308G), *INF- γ* (+874T), *IL-10* (-1082G)), показало связь аллеля 308 гена *TNFA* с Ц у детей с синдромом Дауна. Исследование, проведенное в Италии, продемонстрировало связь полиморфизмов 308А гена *TNFA* и +874Т гена *IFN-G* с Ц [257].

Гены, ответственные за содержание интерлейкина 4 (IL-4)

IL-4 является ключевым цитокином Th2 иммунного ответа, индуцируя дифференцировку Т-лимфоцитов в Th2-хелперные клетки; он находится в противодействии с *INF- γ* , ответственным за иммунный ответ по Th-1 пути; *IL-4* активирует синтез IgE В-лимфоцитами; его действие повышают *IL-5*, *IL-6* и ингибируют *INF- α* , *INF- γ* [3, 4, 181]. Роль *IL-4* в патогенезе Ц остается неизученной.

Ген интерлейкина 4 (*IL4*) картирован на 5 хромосоме (5q31.1), имеет протяженность 10 кб и содержит 4 экзона. Его кодирующая последовательность высоко консервативна. В то же время выявлено несколько точечных полиморфизмов в промоторной области гена (С-590Т, С-285Т, А-81G) и один микросателлит в интроне. *IL-4* функционирует через свой рецептор на клетках-мишенях, который посредством активации внутриклеточных посредников индуцирует экспрессию генов, чувствительных к сигналу *IL-4* [42]. Рецептор к *IL-4* состоит из двух субъединиц: α -специфической для лиганда и γ -общей для рецепторов других цитокинов [42]. Известно, что полиморфизм 3'-UTR G/C находится в тесном неравновесии по сцеплению ($p < 0.0001$) с полиморфизмом С-590Т (сцеплены аллели G и С). Аллель 590Т (3'-UTR С) ассоциирован с пониженным уровнем экспрессии *IL4*, тогда как аллель С-590 (или сцепленный с

ним 3'-UTR G) ассоциирован с нормальным или повышенным уровнем экспрессии. Полиморфизм 3'-UTR G/C гена локализован вне кодирующей области, его исследование при Ц не проводилось, в то же время его локализация, возможно, может влиять на изменение уровня экспрессии *IL4*.

Ген рецептора интерлейкина 4 (IL4RA) (кодирует субъединицу α) картирован на 16 хромосоме (16p11.2-12.1). При изучении сферы компетенции генов, ответственных за продукцию ИЛ-4 и его рецептора, была выявлена связь с атопией, бронхиальной астмой, СД 1 типа, инфекционными заболеваниями, такими, как СПИД и синцитиальная инфекция. Аллельный вариант I50V локализован в экстрацеллюлярном домене гена *IL4RA*. Известны ассоциации этого полиморфного варианта с бронхиальной астмой, повышенным уровнем IgE и другими иммунологическими нарушениями [157, 323]. Аллель I50 повышает сродство рецептора к STAT6, усиливая, таким образом, эффект ИЛ-4 [174]. Однако для Ц не было выявлено ассоциации с геном *IL4RA*.

Ген интерлейкина 10 (IL10)

Интерлейкин 10 (ИЛ-10), относящийся к противовоспалительным цитокинам, был описан еще в 1989 г. как ингибитор активности Th-1 клеток. Он вырабатывается Th-2 клетками, а также моноцитами и цитотоксическими Т-клетками [181]. ИЛ-10 путем подавления пролиферации Th1-клеток ингибирует синтез ИЛ-2 и INF- γ [3]. Представляет интерес проведенный анализ ассоциации серологических маркеров Ц с полиморфизмом -1087 гена *IL10* и полиморфизмом-308 гена *TNFA*. Была выявлена высокая частота встречаемости аллеля 2 гена *TNFA* и генотипа AA гена *IL10* с заболеванием. В дальнейшем была выявлена ассоциация уровня тканеспецифических антител с экспрессией гена *IL10* [194]. Гомозиготы AA и GG имели более низкие значения тканеспецифических антител по сравнению с гетерозиготами AG. Получена обратная зависимость между уровнем ИЛ-10 и тканеспецифическими антителами, это предполагает его возможную причастность к развитию заболевания [194]. Было показано, что ИЛ-10 способствует снижению активности Т-клеточного иммунного ответа, нормализации соотношения CD25⁺/CD80⁺клеток, подавляет секрецию INF- γ , не

влияя на экспрессию Fas-лиганда. В результате проведенного исследования было высказано мнение о перспективности новой терапевтической стратегии, основанной на регуляции иммунного ответа с помощью IL-10 [306].

Таким образом, анализ объединенных экспериментальных данных, полученных в разных лабораториях и на различных популяциях, позволит увеличить количество доказанных локусов сцепления с целиакией. Несмотря на полигенность заболевания, все же имеет смысл идентифицировать гены, влияющие на риск его развития, однако это влияние должно быть настолько существенным, чтобы его можно было распознать на фоне индивидуальных или семейных различий по другим генетическим факторам или воздействиям среды. Идентификация генов-кандидатов Ц позволит прогнозировать риск развития заболевания с большей степенью достоверности и может определить пути профилактики заболевания.

1.5. Гены цитокинов в регуляции воспаления при синдроме мальабсорбции на примере целиакии и муковисцидоза

1.5.1. Хроническое воспаление

Особое место среди медиаторов воспаления занимает цитокиновая сеть, контролирующая процессы реализации иммунной и воспалительной реактивности [105]. Многочисленные факты указывают на наличие тесной взаимосвязи между уровнем продукции цитокинов и клиническими характеристиками инфекционного процесса [41]. Высокая концентрация цитокинов в сыворотке крови свидетельствует о выраженности активности воспаления, низкая концентрация характеризует высокую рецепторную активность клеток мишеней в очагах повреждения, в том числе и эндотелиальных клеток, или истощение цитокинпродуцирующей способности клеток-продуцентов при длительной антигенной стимуляции, или ингибирующем эффекте таких лекарств, как антибиотики, кортикостероиды [163].

Многие авторы отмечают, что высокий уровень цитокинов (TNF- α и IL-8), прежде всего провоспалительных, является отражением активности и тяжести патологического процесса. Обсуждается вклад генетической компоненты в данный процесс и применение противовоспалительных средств при острых и хронических бактериальных процессах [57, 185]. Такие цитокины, как IL-1, IL-6, TNF- α , играющие важную роль в воспалительном процессе при МВ, также продуцируются в повышенном количестве в условиях хронического воспаления в бронхолегочном аппарате [121]. При бактериальных, вирусных или грибковых инфекциях основными индукторами воспалительной реакции являются структурные компоненты микроорганизмов или продукты их жизнедеятельности. На выделение цитокинов могут оказывать влияние структурные компоненты клеточных стенок грамотрицательных и грамположительных бактерий. Адгезия бактерий на клетках макроорганизма также может стимулировать выделение цитокинов [340].

Известно, что воспалительный процесс с вовлечением цитокинов характеризует как острые заболевания, связанные с микробным агентом, так и хронические заболевания, при которых связь с микробным возбудителем обсуждается, или он является триггерным фактором, не определяя дальнейшее течение патологического процесса у генетически предрасположенных лиц, как например, при аутоиммунных заболеваниях (СД 1 типа). Однако при Ц, в основе которой лежит непереносимость глютена, наблюдаются однотипные изменения иммунного статуса. Энтероциты способны продуцировать IL-15 при инфекционном или ином их повреждении, что приводит к активации межэпителиальных лимфоцитов (МЭЛ), которые приобретают цитотоксические свойства и способны продуцировать INF- γ [260]. INF- γ подавляет инвазию и репликацию инфекционного агента в клетке и активирует уничтожение бактерий. Необоснованный выход INF- γ может способствовать деструкции ткани, провоцируя воспаление с повышением кишечной проницаемости и активацию антигенпрезентирующих клеток. Показано, что IL-10 является одним из обратных регуляторов продукции цитокинов, продуцируемым в значительных количествах

активированными IL-15 МЭЛ. В активный период Ц в СОТК повышен уровень INF- γ , одного из модуляторов дифференцировки Th1-лимфоцитов, стимулирующего продукцию INF- γ и TNF- α , а также стимулятора развития гиперплазии крипт [308].

Кроме того, в СОТК у больных Ц в активном периоде заболевания повышен уровень продукции IL-17, а IL-21 - и в активном периоде, и в ремиссию. Установлено, что IL-21 стимулирует INF- γ и IL-17 продукцию CD4⁺ и CD4⁺CD8⁺ Т-лимфоцитами. В культуре ткани тонкой кишки было показано, что переваривание глиаина стимулирует активность продуцирующих IL-21 Т-лимфоцитов и опосредованно повышает продукцию IL-17 и INF- γ . Некоторые исследователи придают этим механизмам ключевое значение в повреждении энтероцитов, но не все детали этого процесса остаются изученными [267].

Таким образом, выявление общих закономерностей патологического процесса при воспалении позволяет разрабатывать антицитокиновую терапию, саногенетическую терапию, профилактику и лечение осложнений заболевания.

1.5.2. Гены, регулирующие хроническое воспаление и место генов цитокинов

Согласно данным последних лет различия в генах, контролирующих защитные реакции организма, могут влиять на уровень продукции кодируемых белков и, тем самым, на характер протекания иммунного ответа. В связи с этим функциональный полиморфизм генов цитокинов представляет значительный интерес, так как именно эти белки вносят наибольший вклад в регуляцию иммунитета [33, 65, 181]. В настоящее время известна роль цитокинов и их генов в развитии и поддержании аллергического воспаления при бронхиальной астме [27, 157].

Полиморфизм генов, кодирующих белки семейства IL-1 β , влияет на характер протекания воспалительного ответа, предрасположенность к ряду заболеваний и способы иммунокоррекции. Ген *IL1B* кодирует одноименный

цитокин, являющийся важным активатором иммунных реакций, провоспалительным цитокином, способным стимулировать Т- и В-лимфоциты, индуцировать продукцию других цитокинов, а также опосредованно влиять на развитие системного острофазного ответа [35]. С повышенной продукцией TNF- α ассоциируют риск развития артритов, бронхиальной астмы, атопии, резорбции костной ткани, хронического воспалительного состояния. Промоторная зона гена *TNFA* включает 8 полиморфных участков с единичными нуклеотидными заменами: -1031Т/С, -863С/А, -857С/Т, -575G/А, -376G/А, -308G/А, -244G/А, -238G/А. Наиболее значимыми для человека считаются 2: -308 (GRA) и -238 (GRA), которые вызывают изменения уровня продукции TNF- α , то есть являются функциональными.

В настоящее время рассматривается возможное участие в развитии патологии легких при МВ генов, ответственных за формирование иммунного ответа (в частности, генов интерлейкина-4 (*IL4*) и его рецептора), а также генов, кодирующих синтез оксида азота (NO) в организме. В качестве одних из возможных генов-кандидатов, влияющих на тяжесть течения МВ, рассматриваются гены, кодирующие синтез цитокина IL-4 и α -цепи рецептора IL-4. Ген *IL4* картирован в 5 хромосоме (5q31.1). Функционально значимым полиморфным вариантом гена *IL4* является полиморфизм С590Т в промоторной области, который представляет собой замену С на Т в 590 положении [309]. Согласно некоторым исследованиям полиморфизм С590Т гена *IL4* ассоциирован с повышенной промоторной активностью гена и повышенным уровнем общего IgE в сыворотке крови. Ген α -цепи рецептора IL-4 (*IL4RA*) картирован в 16 хромосоме (16p12). Полиморфизм Q576R представляет собой замену глутамина (Q) на аргинин (R) в 576 положении аминокислотной последовательности α -цепи рецептора для IL-4. При этом происходит замена А/Г в положении 1902 в ДНК-последовательности гена. На основе проведенных экспериментов был сделан вывод, что аллель 576R предрасполагает к развитию аллергии путем изменения сигнальной функции рецептора [309]. Отмечены особенности аллельного

полиморфизма генов, кодирующих синтез конститутивных изоформ фермента NOS, IL-4, его рецептора, а также их влияние на тяжесть течения МВ [60].

Согласно современным представлениям, ведущая роль в патогенезе аутоиммунных заболеваний принадлежит клеточно-опосредованному и гуморальному аутоиммунному ответу [181]. В то же время предпринимаются единичные попытки описать данные заболевания с позиции хронического системного воспаления, при котором ведущая роль придается нарушению цитокинового профиля.

Экспериментальные данные показали, что воспалительный аутоиммунный процесс в поджелудочной железе (инсулит) при дебюте СД 1 типа связан с увеличением выработки провоспалительных цитокинов (IL-1 β , TNF- α , INF- γ , IL-2, IL-12). Цитокины стимулируют выработку NO, являются цитотоксичными для β -клеток и участвуют в развитии эндотелиальной дисфункции [272]. Ц характеризуется активными иммунологическими процессами, протекающими в СОТК [184, 292, 313]. Роль цитокинов при Ц во многом не изучена, однако проведенные исследования свидетельствуют об их участии в патогенезе данного заболевания и поддержании локального воспаления в СОТК [278, 292, 293, 306, 308, 322]. Среди генетических факторов большая роль в развитии Ц принадлежит антигенам HLA-комплекса (DQ2 и DQ8). В настоящее время остается открытым вопрос о вкладе в генетическую подверженность к Ц других генов, не относящихся к HLA-системе, но оказывающих значительное влияние на характер иммунных процессов в организме, к примеру, генов-модификаторов иммунного ответа [211, 220, 278].

Таким образом, гены-модификаторы иммунного ответа несомненно представляют интерес для изучения их вклада в возникновение такой аутоиммунной патологии, как Ц. Кроме того, Ц и МВ имеют много общих проявлений, таких как развитие синдрома мальабсорбции, стеаторея, задержка роста и др. Есть несколько гипотез для объяснения течения Ц и МВ у одного пациента [243, 337].

1.5.3. Муковисцидоз как модель синдрома мальабсорбции на фоне хронического воспалительного процесса

Муковисцидоз - частое моногенное заболевание, обусловленное мутацией гена *CFTR* (*CFTR* - cystic fibrosis transmembrane conductance regulator, трансмембранный регуляторный белок муковисцидоза), характеризующееся поражением экзокринных желез организма [89, 223, 245, 296, 330, 341]. СМА при МВ развивается как следствие экзокринной недостаточности поджелудочной железы. Для МВ характерно развитие дефицитных состояний: гипотрофии, отставания в физическом и половом развитии, снижения минеральной плотности костной ткани [32, 198, 201]. В условиях мукостаза и бронхиальной обструкции у детей с МВ уже в течение первого года жизни развивается микробная контаминация нижних отделов респираторного тракта [107, 265]. Наиболее распространенными является палочка инфлюэнции (*Haemophilus influenzae*), золотистый стафилококк (*Staphylococcus aureus*) и синегнойная палочка (*Pseudomonas aeruginosa*). *Pseudomonas aeruginosa* может трансформироваться в мукоидные (слизистые) формы, что обеспечивает ее устойчивость к антибактериальной терапии [90]. В последнее время возросла роль *Burkholderia cepacia*, данный возбудитель вызывает большую озабоченность из-за мультирезистентности к антибиотикам и трансмиссивности некоторых ее штаммов [135, 144]. Особенностью МВ, наряду с СМА и поражением бронхолегочного тракта, является хронический воспалительный процесс, способствующий развитию полиорганной недостаточности и летальности. Воспалительный процесс при МВ характеризуется выраженной нейтрофильной инфильтрацией, связанной с выходом в дыхательные пути большого количества хемоаттрактантов, которые могут продуцироваться как бактериями, так и клетками воспаления хозяина. Приток в очаг воспаления нейтрофилов сопровождается их активацией, наработкой активных соединений кислорода и дегрануляцией. Эластаза, освобождаемая из азурофильных гранул нейтрофилов, активирует секрецию слизи бокаловидными клетками и синтез

провоспалительных цитокинов и хемоаттрактантов эпителиальными клетками, макрофагами, нейтрофилами и другими клетками воспаления [295].

В настоящее время проводится интенсивное изучение роли тучных клеток больных МВ в запуске воспаления, поскольку трансмембранный регуляторный белок МВ, представляющий собой цАМФ-зависимый хлоридный канал, присутствует не только в эпителиальных, но и в тучных клетках больных МВ [233]. В связи с этим тучные клетки также могут вносить существенный вклад в инициацию раннего воспалительного ответа при МВ, синтезируя и освобождая целый ряд метаболитов обмена арахидоновой кислоты, провоспалительных цитокинов и хемокинов еще до начала присоединения инфекции. Развивающееся в раннем возрасте непродуктивное нейтрофильное воспаление характеризуется выраженным дисбалансом про- и противовоспалительных цитокинов, нарушением равновесия протеиназо-антипротеиназных и оксиданто-антиоксидантных взаимодействий в бронхолегочной системе больных МВ. В экспериментах на клеточных линиях изучены дозозависимые эффекты различных про- и противовоспалительных цитокинов и их растворимых рецепторов на клетки бронхолегочного эпителия [281].

Генетический полиморфизм МВ определяет клиническое разнообразие заболевания, но далеко не всегда обнаруживается четкая корреляция между появлением респираторной патологии и какими-либо мутациями в гене *CFTR*. В результате проведенных мультицентровых исследований с участием отечественных ученых определены спектры и частоты МВ-мутаций, характерные для стран Центральной и Восточной Европы, включая Россию, и выявлены 33 частые мутации в гене *CFTR*. Наиболее распространенной мутацией является делеция 3 нуклеотидов в 10 экзоне, приводящая к потере остатка фенилаланина в 508 положении молекулы белка (F508del). В настоящее время установлено, что делеция F508 встречается с частотой 75-88% в странах Северной Америки и Западной Европы [330]. Основная мутация делеция F508 в России встречается в 56% случаев, а в Москве - в 41% [116], делеция F508 в гомо- или гетерозиготном состоянии у больных МВ Западной Сибири обнаружена у 44 % пациентов и

встречается в 31,5% хромосом больных [100]. Корреляция клинических форм, характера и степени нарушения функции отдельных органов и систем, особенностей течения МВ с характером мутации гена (гомозигота по делеции F508, гетерозигота по делеции F508, сочетание двух неизвестных мутаций) составляет предмет изучения. Предсказать характер течения болезни при наличии одной и той же мутации у разных больных на сегодняшний день не представляется возможным [17, 132, 224]. В некоторых случаях даже при ранней диагностике и адекватном лечении больного с МВ отмечается быстрое развитие и неуклонное прогрессирование хронического бронхолегочного процесса. Существуют и другие аспекты, оказывающие влияние на течение заболевания и прогноз: факторы окружающей среды, состояние питания, иммунный статус и, соответственно, реакция макроорганизма на персистирующую вирусную и хроническую бактериальную инфекции и др. [76, 90, 223].

Мутации гена *CFTR* подразделяют на классы в зависимости от типа и тяжести фенотипического проявления (таблица 8). Мутации гена *CFTR* в зависимости от тяжести фенотипического проявления делят на «тяжелые», «мягкие», «варьирующие» [272, 297].

Таблица 8

Классификация мутаций *CFTR* по тяжести фенотипического проявления
[272]

Мутации «тяжелые»	Мутации «мягкие»	Мутации «варьирующие»
F508del	R117H	3849+10kbC-T
1677delTA	G551S	R334W
G542X	R347P	IVS8polyT-5T
N1303K	T338I	G85E
W1282X		
CFTRdele2,3(21kb)		
621+1G-T		
1717-1G-A		

Наиболее тяжелое течение МВ свойственно пациентам, имеющим две копии мутации F508del (гомозиготам), а также носителям других «тяжелых» мутаций.

Интенсивные иммунологические исследования позволили выявить общие закономерности в патогенезе ряда заболеваний, которые прежде не связывали друг с другом.

Обобщение полученных данных привело к формированию концепции об иммуноопосредованных воспалительных заболеваниях. Выделяют заболевания, ассоциированные с Th1, Th2-лимфоцитами и заболевания, ассоциированные с воспалительными цитокинами [181, 227]. Существует мнение, что хронический воспалительный процесс при МВ поддерживается за счет дисбаланса про- и противовоспалительных цитокинов [25, 121]. Начаты исследования о вкладе генов, ответственных за синтез цитокинов как с провоспалительной, так и противовоспалительной активностью при МВ [60, 118, 121, 192].

Равновесие между продукцией, экспрессией и ингибированием синтеза белков семейства IL-1 играет одну из ключевых ролей в развитии, регуляции и исходе воспалительного процесса, получен ряд ассоциаций генов *IL1* и антагониста рецептора гена *IL1* с хроническими воспалительными заболеваниями, как МВ и др. [146, 147]. Известно, что активная форма витамина D₃ - регулятор кальций/фосфорного метаболизма, отвечающего за минерализацию костей, стимулирует клеточное звено иммунитета и секрецию цитокинов. Ген интерлейкина 4 (*IL4*) кодирует белок, часто называемый критическим цитокином воспаления [174, 181].

Таким образом, выбранные для исследования гены-кандидаты несомненно представляют интерес для изучения их вклада в возникновение и дальнейшее прогрессирование такой аутоиммунной патологии, как Ц, а также МВ. В то же время большой интерес представляет дальнейшее углубленное изучение детоксицирующих систем организма у больных, страдающих МВ, в частности микро- и макрофагального звеньев иммунитета. Кроме того, как следует из представленных данных, сходные по своей клинической симптоматике заболевания Ц и МВ (СМА развивается при Ц как следствие формирования

гиперрегенераторной атрофии СОТК и вторичной внешнесекреторной недостаточности поджелудочной железы (ПЖЖ), при МВ внешнесекреторная недостаточность первична) детерминированы разными генами. Анализ внегенных и внутригенных полиморфных маркеров гена *CFTR* открывает новые возможности для исследования генетической структуры популяции и контроля заболевания. То есть подтверждается существование генетической гетерогенности в отношении заболеваний, общим для которых является СМА различной степени тяжести. Изучение генов главного комплекса гистосовместимости и генов-модификаторов иммунного ответа поможет определить их роль в развитии воспалительного процесса в СОТК. Полученные данные позволят определить прогноз заболевания и выбор терапевтической стратегии у конкретного пациента.

1.6. Спорные вопросы классификации целиакии

Клинические проявления Ц многообразны, проявления СМА, в классическом варианте свойственного заболеванию, могут быть разной степени выраженности: от тяжелой мальабсорбции до отсутствия таковой. Многоликость Ц объясняется разной чувствительностью больных к глиадину, возможностью аутоиммунных манифестаций и выраженностью гистологических изменений слизистой оболочки тонкой кишки. Существуют 3 степени гиперчувствительности к глиадину: выраженная, умеренная и слабая [258]. В виду клинического полиморфизма Ц называют «Великим мимом», который подражает множеству заболеваний [237]. Известно много вариантов клинического течения и форм Ц, но отсутствуют четкие определения каждого из них, критерии разграничения некоторых клинических проявлений Ц и ее осложнений.

На сегодняшний день общепринятой классификации нет. Выделение первичной и вторичной Ц, а также «синдрома целиакии» нецелесообразно, так как сходные состояния, которые могли бы быть обозначены как «вторичная целиакия» или «синдром целиакии», Ц не являются. Ц – всегда первичное

заболевание, на сегодняшний день не поддающееся радикальному излечению (хотя достижим высокий уровень качества жизни). Вышеперечисленные термины путают врача и пациента, оставляя возможность излечения от Ц и, как следствие, могут стать причиной отмены БГД [11, 66].

В 2005 г. была предложена классификация целиакии [112, 114] (рисунок 4).



Рисунок 4. Классификация целиакии

Заболевание в его классической форме развивается на 1-2 году жизни после введения прикормов, содержащих глютен (манная, овсяная каши и др.) [236, 238, 250]. Нет ни одного симптома, который бы встречался у 100% больных Ц. Это обстоятельство затрудняет диагностику заболевания.

До настоящего времени продолжается дискуссия о формах заболевания. Выделяют формы: типичная, атипичная (малосимптомная), скрытая (латентная). Для типичной формы Ц характерна манифестация через 1,5-2 месяца после введения в питание злаковых продуктов. Развитие Ц возможно после перенесенного инфекционного заболевания (кишечной инфекции, ОРВИ), которое является провоцирующим фактором, а также без связи с каким-либо заболеванием или состоянием. Первыми симптомами типичной Ц являются эмоциональная лабильность, снижение аппетита, замедление темпов прибавок массы тела. Характерны следующие симптомы: учащение стула, полифекалия, стеаторея, увеличение окружности живота, вздутие живота, истончение подкожного жирового слоя, снижение мышечного тонуса, утрата ранее приобретенных навыков и умений, гипопропротеинемические отеки. Также возможны разнообразные дефицитные состояния: анемия, снижение МПКТ (рахитоподобный синдром, боли в костях, ночные и при физической нагрузке, патологические переломы костей), судорожный синдром, дистрофические изменения и ломкость ногтей, поражение зубной эмали, кариес зубов, раздражительность, агрессивное поведение, беспокойный сон и многое другое [127, 164, 165, 167, 202, 275].

Атипичная (малосимптомная, стертая) форма Ц клинически проявляется каким-либо отдельным симптомом, чаще анемией или низким ростом, кишечные симптомы могут отступать на второй план перед внекишечными манифестациями или же вовсе отсутствовать. Атипичная форма Ц характеризуется атрофией слизистой оболочки тонкой кишки, наличием серологических маркеров заболевания. Возможны многочисленные варианты атипичной целиакии, например, анорексическая форма, изолированная геморрагическая форма и другие. Чаще всего встречаются варианты с такими характерными симптомами,

как задержка роста, железодефицитная анемия, остеопороз [236]. Установлено, что в современных условиях Ц у 84% детей имеет типичную, а у 16% - атипичную форму [155]. При латентной форме Ц клинические признаки заболевания отсутствуют, имеет место атрофия СОТК различной степени выраженности, определяются серологические маркеры. Часто этот вариант наблюдается у родственников больных целиакией [11, 114, 166].

Имеются предложения выделять потенциальную форму Ц, которая является по существу предболезнью. Для нее свойственны иммунологические нарушения, сходные с таковыми, как у больных Ц, но без характерных данных биопсии. Ближайшие родственники больных Ц могут иметь именно эту форму целиакии [114, 294, 331]. Латентная целиакия выявляется при позитивных серологических тестах в отсутствии атрофии ворсинок при биопсии [43]. У этих индивидуумов нет клинических проявлений, но они могут появиться в сочетании или без гистологических изменений. Эта форма регистрируется во взрослом состоянии. Молчаливая (бессимптомная) Ц устанавливается пациентам, у которых нет симптомов заболевания, но они имеют позитивные серологические тесты и атрофию ворсинок на биопсии. Эти индивидуумы выявляются во время скрининга групп высокого риска, и атрофия ворсинок может быть случайно обнаружена при эндоскопии или биопсии, проводимой по другому поводу [43]. Выделяют также торпидную (рефрактерную) форму Ц. Она характеризуется тяжелым течением, отсутствием эффекта от обычного лечения, в данном случае необходимо применение глюкокортикоидных гормонов. Удельный вес больных с этой формой целиакии до 13 % [156].

Обсуждается предложение по выделению латентного периода в течение болезни (от введения глютена в рацион до начала клинических проявлений заболевания), а также периода начальной ремиссии (до 3 месяцев соблюдения безглютеновой диеты); неполной ремиссии (от 3 до 9-12 месяцев диеты), отдаленный период ремиссии (свыше 1 года БГД) [11]. Утверждается, что патогенетически обосновано выделение периода ранней (до 1 года после обострения) и поздней ремиссии (от 1 года и более после обострения) [154].

На сегодняшний день в классификации Ц в детском возрасте не нашли отражение осложнения целиакии, ассоциированные с Ц заболевания, рефрактерная целиакия [321]. Как известно, при длительном течении нераспознанной Ц повышается риск возникновения опухолей желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и другой локализации, а также ассоциированных с Ц аутоиммунных заболеваний: сахарного диабета 1 типа, аутоиммунного тиреоидита, болезни Аддисона, системной красной волчанки, склеродермии, миастении, ревматоидного артрита, алопеции, аутоиммунного гепатита, герпетиформного дерматита, первичного билиарного цирроза печени, атаксии с антителами к клеткам Пуркинье, кардиомиопатий и др. В литературе о рефрактерной целиакии говорят при персистенции симптомов и кишечного воспаления спустя 12 и более месяцев соблюдения БГД [228]. Клинические формы рефрактерной целиакии соответствуют, как правило, СМА тяжелой степени. После назначения БГД и комплексной медикаментозной терапии у некоторых больных наступает клиническое улучшение: прекращается диарея, исчезают гипопропротеинемические отеки, увеличивается масса тела. Однако СОТК не восстанавливается [228]. У большинства больных клиническая ремиссия устанавливается только после назначения глюкокортикоидной терапии. Таким образом, классификация Ц требует доработки и обсуждения.

1.7. Методы диагностики целиакии и их этапность

Методы диагностики Ц включают проведение 3 последовательных этапов [195, 246, 258]. Первый диагностический этап (лабораторный) базируется на ИФА (ELISA) с определением специфических серологических биомаркеров целиакии - АГА, антиэндомизийных (АЭА) антител, антител к tTG и «современных» антител к дезаминированным пептидам глиаина и связанной с ними tTG [22, 34, 232, 333]. Всем пациентам с позитивными результатами серологического исследования показано морфологическое исследование СОТК для установления диагноза.

Второй диагностический этап включает проведение эндоскопического исследования двенадцатиперстной и тощей кишки со взятием биопсии СОТК и последующим гистологическим исследованием биоптата. Морфологическое исследование является «золотым стандартом» в диагностике заболевания [11, 38, 43, 189, 268]. Интерпретация полученных данных проводится в соответствии с общепринятой классификацией [221, 285, 299].

Роль третьего этапа - проведение HLA-типирования, активно обсуждается [256]. Ц связана с генами, входящими в главный комплекс гистосовместимости, расположенными на коротком плече 6 хромосомы в регионе класса 2 (D-регионе) HLA системы.

Основная биологическая роль HLA-антигенов 2 класса - это распознавание экзогенных антигенов и контроль иммунного ответа. Известно, что большинство HLA-ассоциированных заболеваний не наследуется согласно законам Менделя. Они являются генетически сложными и характеризуются неполной пенетрантностью, относятся к мультифакториальным и полигенным заболеваниям, что подтверждено в исследовании семей с детьми, больных Ц.

Было доказано, что наследственную предрасположенность к Ц определяют в основном аллели DQ2 (DQA1*0501, B1*0201), реже аллели DQ8 (DQA1*0301, DQB1*0302), а также один из аллелей DQ2–DQA1* 0501 или DQB1* 0201. Гомозиготные носители аллелей молекулы DQ имеют в 6 раз выше риск развития Ц, чем гетерозиготные [251, 253].

Генетическое исследование HLA-специфичностей показано для уточнения диагноза при неоднозначности/несоответствии морфологии и серологии или нарушении последовательности диагностики и лечения (проведение гистологического исследования на фоне БГД). Предлагаются алгоритмы диагностики Ц [133].

Таким образом, диагностировать Ц можно по совокупности данных этапов диагностики (клинический, серологический, морфологический, генетический) [12].

1.7.1. Серологический этап диагностики

Серологические методы диагностики основаны на определении уровня АТ к компонентам собственной пластинки СОТК. В ответ на антигенную стимуляцию глютенном происходит выработка специфических антител 2 классов иммуноглобулинов А и G [327]. Возможно определение в крови антиглиадиновых (АГА), антиэндомизийных антител (АЭА), антител к tTG [22, 271, 310, 333], а также антител к деаминированным пептидам глиаина [312]. Фермент tTG синтезируется клетками различного типа, обычно находится в межклеточном пространстве и изменяет синтез коллагена, входящего в структуру СОТК [266, 283].

Чувствительность и специфичность серологических тестов различна (таблица 9).

Таблица 9

Информативность серологических тестов *

Тест	Чувствительность, %	Специфичность, %	Положительная предсказательная оценка, %	Отрицательная предсказательная оценка, %
АЭА (IgA, ИФА)	85-98	97-100	98-100	80-95
tTG (IgA, ELISA)	95-100	94-100	80-95	96-100
IgA АГА (ELISA)	75-90	82-95	28-100	65-100
IgG АГА (ELISA)	69-85	73-90	20-95	41-88

Примечание: АЭА - антиэндомизийные антитела, tTG - антитела к тканевой трансглутаминазе, АГА - антиглиадиновые антитела

Определение антител к tTG в настоящее время является оптимальным [145], но наиболее доступным является определение АГА. Установлено, что, если концентрация АГА в крови уменьшается с возрастом больного, то концентрация tTG от этого фактора не зависит. Серологические методы диагностики Ц информативны только в активный период заболевания. Серологическая верификация диагноза в случае соблюдения пациентом строгой БГД более 1 месяца затруднена [11, 22, 178]. Для повышения эффективности определения АГА должно проводиться одномоментное определение IgA и IgG в связи со стойкой ассоциацией Ц с селективным IgA-дефицитом [115, 127, 276].

Несмотря на высокие специфичность и чувствительность, серологические маркеры имеют свои недостатки. В частности, прямая зависимость чувствительности серологических маркеров от степени поражения СOTК не позволяет получать достоверные результаты на ранней стадии болезни [333]. Одним из критериев эффективности лечения больных Ц является снижение уровня АГА, АЭА, антител tTG под влиянием БГД. Известно, что АТ к tTG класса G могут длительно циркулировать в крови, оставаясь повышенными до 3 лет строгой БГД. У детей снижение АГА класса A происходило в течение первых 2 месяцев, а АГА класса G – в течение 6 месяцев строгого соблюдения БГД. Выявленные корреляции между уровнем анти - tTG антител Ig G и высотой ворсин, глубиной крипт, количеством МЭЛ, АГА класса G позволяют считать данный показатель основным серологическим маркером строгости соблюдения БГД [1].

Таким образом, определение серологических маркеров Ц используют не только для диагностики, но и для контроля за течением заболевания (соблюдением БГД).

1.7.2. Морфологический этап диагностики

Морфологическое исследование является «золотым стандартом» диагностики Ц. Биопсия должна быть выполнена всем больным, у которых

предполагается Ц или требуется исключить эту болезнь: лицам с положительными серологическими маркерами, а также с остеомалацией, мальабсорбцией и существенной необъяснимой потерей массы тела. Отрицательные показатели серологического скрининга не являются основанием для отказа от биопсии у больных с теми или иными признаками Ц [11].

Попытки заменить биопсию на менее инвазивные, например, серологические методы диагностики, пока себя не оправдали. Предлагается установление диагноза «целиакия» при наличии высоких титров антител (АГА, АЭА, tTG) и принадлежности к гаплотипам HLA DQ2/DQ8. В то же время ряд ученых указывают, что такой подход к диагностике Ц недопустим, так как может привести к серьезным диагностическим ошибкам. Биопсию можно не выполнять в случае наличия четких симптомов заболевания и высоких титров IgA anti-tTG (более 10 норм), положительных АЭА, наличия HLA DQ2 и/или DQ8, эффективности БГД в катamnестическом наблюдении, с нормализацией серологических проб [256].

Патогномоничных эндоскопических признаков Ц нет. В ответ на повреждающее влияние глиадины СОТК отвечает стереотипным набором реакций, главными из которых являются уменьшение высоты ворсинок, углубление крипт и инфильтрация собственной пластинки СОТК иммунокомпетентными клетками.

Патологические изменения начинаются в двенадцатиперстной кишке (ДПК) и затем распространяются по всей тощей кишке, уменьшаясь по мере снижения концентрации глютена в химусе. Установлено, что интенсивность пролиферации эпителия при Ц возрастает в 3 раза, а количество клеток в криптах увеличивается приблизительно в 5 раз. Следовательно, для морфологической диагностики вполне достаточно использовать биоптаты, полученные обычным дуоденоскопом из дистального отдела ДПК [5, 11, 88, 189, 234, 300].

В целях унифицирования гистологического описания и заключений о наличии или отсутствии Ц в 1992 г. Marsh M.N. предложил патоморфологическую классификацию Ц, которая предусматривала 4 морфологические стадии развития

болезни. В 1999 г. была представлена более детальная градация 3 морфологической стадии целиакии [299].

В 2005 г. предложена новая трехстадийная классификация заболевания, в основу которой положены относительные величины (соотношение высоты ворсинок и глубины крипт): Grade A: ворсинка (V): крипта (C) > 3:1; Grade B1: V: C < 1:3; Grade B2: V:C - 0 [221]. Возможно, что эта классификация постепенно вытеснит применяемую классификацию по Маршу.

Диагноз Ц обычно устанавливают при обнаружении атрофии ворсинок, т.е. на третьей стадии по Маршу. В этих случаях диагностика не представляет трудностей. Между тем у многих больных аутоиммунное воспаление не достигает стадии атрофии ворсинок, ограничиваясь 1 и 2 стадиями по Маршу.

Поэтому у большинства больных с малосимптомным и атипичным течением Ц остается невыявленной даже при положительных серологических тестах [114]. Желательно проведение морфометрии, которая повышает достоверность диагностики и оценки результатов динамического наблюдения [81, 196].

По последним данным в пользу Ц свидетельствует повышение количества интраэпителиальных лимфоцитов, которое является признаком воспаления в стенке кишки, предлагаются и иные иммунологические маркеры в диагностике Ц [143, 209]. Есть противоречивая информация о корреляции между степенью атрофии и клиническим течением заболевания [338, 339].

Увеличение числа МЭЛ и атрофия ворсинок не являются патогномоничными только для Ц [215, 221]. Дифференциальный диагноз Ц необходимо проводить со всеми заболеваниями тонкой кишки, проявляющимися хронической диареей и СМА [52, 54, 226].

Таким образом, использование серологических, генетических, гистологических маркеров в системе диагностики позволит получить надежные результаты, которые способствуют раннему выявлению и эффективному лечению больных целиакией.

1.8. Возможности реабилитации больных целиакией

Лечение больных Ц комплексное. Основным патогенетическим методом лечения является БГД [96, 98, 125, 129, 214]. Кроме этого лечение сводится к коррекции дефицитных состояний, обучению родителей и пациента контролю за заболеванием, психологической поддержке и реабилитации [68, 128, 134, 154, 169]. Из рациона питания исключаются все продукты, содержащие в своем составе пшеницу, рожь, ячмень и овес. Рекомендованные приемлемые уровни глютена составляют 20 мг на 1 кг сухого продукта (<20 ppm) для продуктов питания, естественным образом не содержащих глютен, и <200 ppm для продуктов, из которых глютен удаляется в процессе их обработки [9, 128, 170]. Переход на БГД - психологически трудный шаг. Отмечено, что дети с установленным диагнозом «целиакия» строго соблюдают БГД в 31% случаев, соблюдают БГД с нарушениями, употребляют продукты, содержащие «скрытый» глютен в 47%, и не соблюдают БГД в 22% случаев. В России в большинстве случаев строгая БГД соблюдается около 2-3 лет от начала лечения. Продолжительность клинической ремиссии при строгом соблюдении БГД составляет от 4–5 мес до 1 года и более в зависимости от исходной тяжести клинического состояния. Продолжительность морфофункциональной ремиссии обычно варьирует от 1,5 до 2 лет [170].

При лечении Ц необходимо учитывать наличие вторичных нарушений со стороны органов и систем и дефицитных состояний, которые могут потребовать специализированного питания. Состояние и проведение диетотерапии у таких больных осложняется также частое развитие у них множественной пищевой непереносимости. Наиболее часто это вторичная лактазная недостаточность (75%), сенсibilизация к белкам коровьего молока (72%), нередко сенсibilизация к другим пищевым протеинам: рису, банану, белкам куриного яйца и пр. Таким образом, приблизительно у 2/3 детей раннего возраста с Ц в остром периоде наряду с глютеном требуется исключение молочных продуктов и

смесей [11]. При несоблюдении БГД у всех детей выявляется дисахаридазная недостаточность, а в 16% случаев экссудативная энтеропатия [1].

Основным в медикаментозной терапии является коррекция дефицитных состояний: дефицита панкреатических ферментов, витаминов, микро- и макроэлементов (железа, кальция, йода), нарушения микрофлоры кишечника [61, 84, 106, 166]. Это обязательная составляющая в лечении больных Ц. Проведенные исследования доказали наличие дисбаланса микробной флоры у детей с целиакией [91, 166]. В остром периоде Ц выявляются нарушения обмена кальция. Поэтому адекватное и обоснованное в зависимости от степени нарушения восполнение кальция при Ц должно быть частью комплексного лечения [8, 39]. Поражение тонкой кишки при Ц влечет за собой изменение функции поджелудочной железы [9]. Поэтому назначение терапии препаратами панкреатических ферментов при Ц необходимо и имеет патогенетическое значение [149, 216, 305]. Приоритетным в педиатрической практике является использование высокоактивных микросферических препаратов панкреатических ферментов с рН-чувствительной оболочкой, которые являются на сегодняшний день наиболее эффективными [10].

По данным сонографического обследования для больных Ц характерны диффузные изменения поджелудочной железы (ПЖЖ), дискинезия желчного пузыря, диффузные изменения в печени. Последствием заболевания тонкой кишки является белково-энергетическая недостаточность (БЭН). Для ее коррекции все большее внимание уделяется энтеральному питанию [97]. При нутритивной недостаточности перспективными является применение элементных или модульных смесей. Для детей первого года жизни целесообразным является применение полуэлементных смесей на основе гидролизатов сывороточного белка [55, 63, 80].

Проведенные исследования убедительно свидетельствуют о том, что у детей с Ц, несмотря на длительное соблюдение БГД и видимую социальную адаптацию, выявляется различная патология ЖКТ и других органов и систем, что не

позволяет считать их абсолютно здоровыми и требует пожизненного диспансерного наблюдения [1, 95, 172].

Целиакия, как любое хроническое неинфекционное заболевание, имеет психо-социальные последствия: нарушение адаптации ребенка в обществе и снижение качества его жизни в силу необходимости соблюдения пожизненной БГД и развития дефицитных состояний, а также за счет хронической стрессовой ситуации в семье больного. В мировой медицинской практике накоплен опыт реабилитации больных, страдающих хроническими неинфекционными заболеваниями, с помощью организации системы обучения. На примере «Школы управления диабетом», «Астма-школы» и объединения родителей больных детей в ассоциации показана медико-социальная значимость и экономическая эффективность такой формы работы, ее влияние на качество жизни пациента [29, 101, 108, 130, 141]. Реализация мер социальной поддержки больных целиакией, проживающих в Свердловской области, позволила улучшить качество питания [169]. До настоящего времени реабилитации детей и подростков с Ц на санаторно-курортном этапе не уделялось должного внимания. В нашей стране специалистами Москвы, Санкт-Петербурга накоплен опыт обучения больных особенностям диетотерапии при Ц, как с целью их информированности о заболевании, так и с целью выработки мотивации на соблюдение диеты и психологической поддержки больных. В связи с этим для повышения эффективности лечения необходимо организовывать «Школы управления целиакией» и изыскивать возможности организации работы психолога с данной категорией больных.

Таким образом, до настоящего времени механизмы развития заболевания изучены недостаточно. Роль генетического этапа в диагностике заболевания, роль генов-модификаторов иммунного ответа на течение заболевания уточняются. Несвоевременная диагностика и отсутствие адекватной терапии сопровождаются развитием дефицитных состояний, тяжелых обменных нарушений у детей с целиакией, что ухудшает прогноз заболевания. Необходимость дальнейшего изучения механизмов развития данного заболевания: уточнение его клинических

вариантов, разработка методов комплексной реабилитации больных, очевидна. Подобный подход к исследованию целиакии у детей ранее не применялся.

Комплексная реабилитация больных (нутритивная поддержка, обучение в «Школе больных целиакией») значительно повышает эффективность лечения. Изложенное выше определяет актуальность проведенных научных исследований, которые позволяют с новых патогенетических позиций оценить варианты течения заболевания, протекающего с синдромом мальабсорбции, а также модифицировать терапевтическую тактику с учетом нарушений функциональной системы защиты с целенаправленной коррекцией звеньев, обеспечивающих сопротивляемость к действию повреждающих факторов.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Общая структура и стратегия исследования

Разработанный научной группой протокол исследования одобрен решением локального этического комитета ГБОУ ВПО СибГМУ МЗ РФ (регистрационный № 830 от 26.05.2008).

Стратегия исследования предполагала комплексное изучение состояния иммунитета и влияния генетических факторов в системе больной Ц (пробанд)–родственники 1 степени родства на клинические и морфологические особенности течения заболевания; ответа на лечение и реабилитацию для определения факторов риска, осложнений, разработки критериев диагностики и способов реабилитации пациентов. Стратегия исследования представлена на рисунке 5.

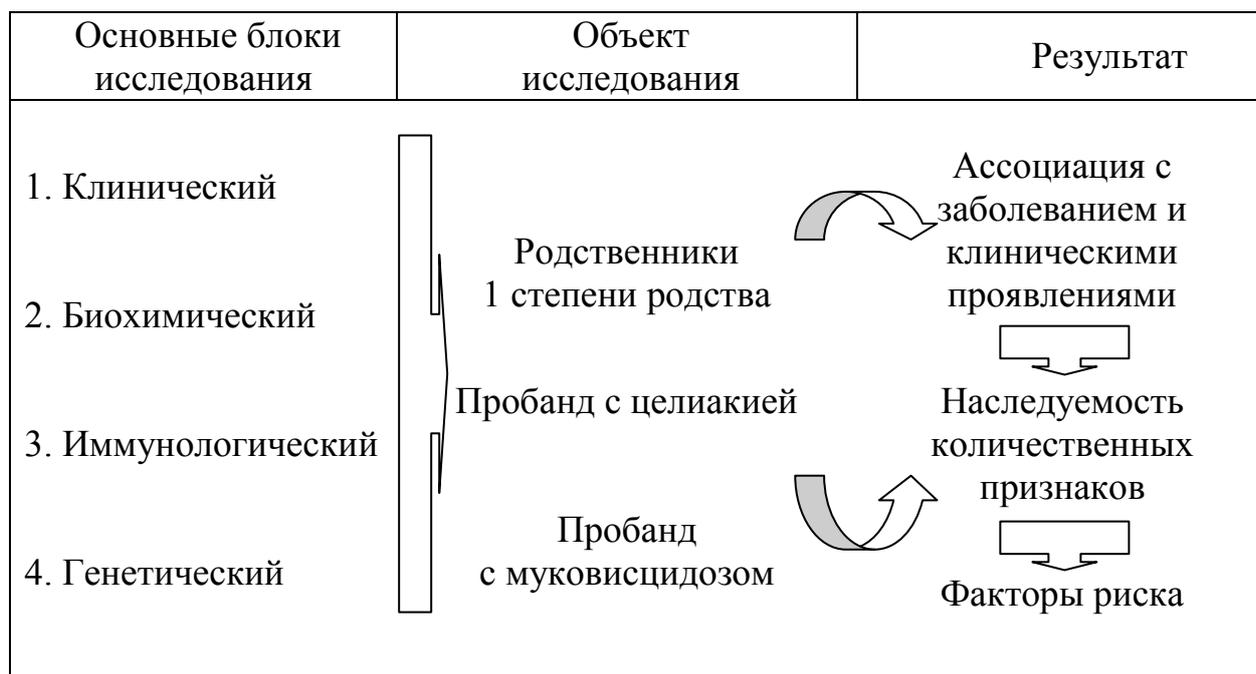


Рисунок 5. Стратегия исследования

В работе применялся молекулярно-генетический анализ для выявления HLA-маркеров заболевания у детей с Ц Томской области и Краснодарского края, в группах риска по заболеванию Ц – родственники 1 степени родства пробанда с

Ц в популяции Томской области, и у пациентов с СД 1 типа из популяций больных Томской области и Краснодарского края. Нами использовался скрининговый метод: определение антиглиадиновых антител (АГА) класса А и G.

Исследование также предполагало выявление общности иммунологического ответа на воспаление при заболеваниях, клиническими проявлениями которых является СМА (целиакия, муковисцидоз). В группу сравнения в иммунологическом и генетическом блоке исследования вошли пробанды с муковисцидозом.

Для решения поставленных задач в работе были использованы клинические, биохимические, иммунологические, молекулярно-генетические методы, которые были объединены в основные блоки исследования (клинический, биохимический, иммунологический, генетический).

На каждого больного врачом–исследователем заполнялась индивидуальная регистрационная карта. Информация о пациентах вносилась в электронную базу данных. На 01. 01. 2011 г. в «Регистр целиакия» внесены сведения о 99 пациентах - жителях Томской области (свидетельство о государственной регистрации базы данных. Регистр целиакия, № сертификата 2009620392, выдан 17.07.09; свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ. Регистр целиакия, № сертификата 2009615739, выдан 15.10.09.).

2.2. Материал исследования

Информация о пациентах вносилась в электронную базу данных. В регистр внесены сведения о 99 пациентах с Ц Томской области и 32 пациентах Краснодарского края. В соответствии с поставленной целью было обследовано 99 пациентов с целиакией и 82 пациента с муковисцидозом (группа сравнения в иммунологическом и генетическом блоке исследования), (таблица 10).

В группе больных с Ц 65 детей были с типичной формой заболевания, 34 – с атипичной формой целиакии. Средний возраст больных Ц составил $8,59 \pm 0,59$ лет (мальчиков - 50, девочек - 49). Дети получали лечение в гастроэнтерологическом

отделении ОГАУЗ «Детская больница №1», г. Томска (главный врач - Карташов В.А., 1976-2012 г.г.), и находились на реабилитации в детском отделении Томского НИИ курортологии и физиотерапии ФМБА России (директор - заслуженный деятель науки, доктор мед. наук, проф. Левицкий Е.Ф., 2003-2010 г.г.). Кратность наблюдения в среднем составила 6-8 раз за весь период (до 6 лет).

Таблица 10

Характеристика обследованных больных

Объект исследования	Число детей	Средний возраст (лет)	Пол		Характеристика заболевания	
			М	Ж	Форма	Число детей
Пробанд с целиакией, Томская область	99	8,59±0,59	50	49	типичная	65
					атипичная	34
Пробанд с муковисцидозом	82	11,2±4,58	37	45	легочная	7
					смешанная	75

В генетической клинике ФГБУ «НИИ медицинской генетики» СО РАМН (директор - академик РАМН, доктор мед. наук, проф. Пузырев В.П.) проведено клинико-генеалогическое обследование пациентов с Ц и собеседование с родственниками из 99 семей. В городе проживало 74 семьи, в области 25 семей. Общий объем исследования, проведенного указанным методом, представлен в таблице 11. Количество родственников составило 739 человек, из них родственники 1 поколения составили 244 человек, 2 - 370 человек.

Дополнительные статистические исследования включали анализ 216 историй болезни пациентов с Ц, получавших лечение в гастроэнтерологическом отделении ОГАУЗ «Детская больница №1» г. Томска, за указанный период. Истории болезни также послужили основой для составления регистра больных Ц, это позволило оценить особенности клинического течения Ц у детей Томской области.

Данные о состоянии здоровья больных с Ц и степени компенсации заболевания послужили основой для создания программы их реабилитации. На базе детского отделения ФГБУН Томского НИИ курортологии и физиотерапии ФМБА России и ОГАУЗ «Детская городская больница №1» г. Томска проведены занятия в «Школе больных целиакией», оценена ее эффективность на примере 51 больного с целиакией.

Таблица 11

Общий объем исследования по данным родословных семей
пробандов с целиакией, (n)

Поколение	Член семьи		Количество, n
III	Пробанд с целиакией	Мальчики	49
		Девочки	50
	Всего		99
	Другие родственники (сисбы)		26
	ИТОГО		125
II	Родители	Мужчины	97
		Женщины	97
	Всего		194
	Другие родственники		50
	ИТОГО		244
I	Прародители	Мужчины	160
		Женщины	160
	Всего		320
	Другие родственники		50
	ИТОГО		370
Всего родственников пробанда с целиакией			739

Нутритивную поддержку смесью «Нутризон» получали 22 больных, группу сравнения составили 14 детей с Ц, получавших стандартную терапию. В рамках выполнения гранта РФФИ (грант РФФИ № 10-04-10126-к «Организация и проведение экспедиционных работ в Краснодарском крае», 2010) была организована экспедиция в г. Краснодар для консультирования и обследования

детей с Ц и групп риска по Ц (совместно с Тлиф А.И.). Консультирование проводилось на базе Краснодарского краевого консультативно-диагностического центра для детей. Диагноз Ц подтвержден у 32 детей, которые вошли в регистр больных Ц Краснодарского края (таблица 12).

Таблица 12

Характеристика обследованных больных целиакией Краснодарского края

Объект исследования	Число детей	Средний возраст (лет)	Пол		Характеристика заболевания	
			М	Ж	Форма	Число детей
Пробанд с целиакией	32	5,28±0,67	15	17	типичная	25
					атипичная	7

В группу вошли дети с 1 года до 17 лет, средний возраст обследованных детей 5,28±0,67, соотношение м:д было 1:1, в 78,1% (25 детей) случаев диагностирована ЦТ, в 21,9% (7 детей) – ЦА. На всех больных заполнена регистрационная карта, пациентам с Ц проведена ДНК-диагностика: определение HLA-генов заболевания, обследование проводилось после подписания информированного согласия.

С целью выявления общности иммунологического ответа на воспаление на фоне синдрома мальабсорбции в группу сравнения (иммунологический, генетический блок исследования) вошли 82 пациента с МВ. Из них 26 пациентов наблюдались на базе ФГБУ «НИИ медицинской генетики» СО РАМН, 56 больных МВ были из других регионов страны (Астрахань, Москва, Барнаул). В группе больных 75 детей были со смешанной формой заболевания, 7 - с преимущественно легочной формой МВ; средний возраст пациентов составил 11,2±4,58 лет, девочек было 45, мальчиков – 37.

Контрольную группу детей составили 20 практически здоровых детей в возрасте от 6 до 17 лет, которые не имели хронических заболеваний, аутоиммунных заболеваний, родственников с целиакией. Острые респираторные вирусные заболевания (ОРВИ) у них отмечались не чаще 2-3 раз в год. На момент

забора крови все дети были здоровы, от момента последнего эпизода ОРВИ прошло более 2 месяцев. Детям этой группы было проведено иммунологическое обследование: определение показателей гуморального иммунитета и уровня цитокинов в сыворотке крови.

В контрольную группу для иммунологического исследования, включающего оценку структурно-функционального статуса Мн-Мф, с определением экспрессии C_3b - и Fc γ -рецепторов вошли 20 практически здоровых детей, в возрасте от 6 до 17 лет, не имеющих ОРЗ в течение последних 2 месяцев перед обследованием.

В качестве контрольной группы для родителей пробандов с Ц были использованы данные 25 практически здоровых взрослых людей в возрасте 26-42 лет, не имевших хронических заболеваний, отягощенной наследственности по целиакии, синдрому мальабсорбции, аутоиммунной патологии. В контрольные значения вошли результаты обследования детей и их родителей из 18 семей, добровольно согласившихся на обследование. Учитывая статистически недостоверные различия в основных показателях практически здоровых детей и взрослых в зависимости от пола, мы сочли возможным объединить их в одну группу.

В качестве популяционного контроля для оценки частот аллельных вариантов изучаемых генетических маркеров в сибирской популяции использовали группу неродственных индивидов из банка ДНК ФГБУ НИИ медицинской генетики СО РАМН. Общая численность контрольной выборки составила 123 человека, проживающих в г. Томске и не имеющих по данным анамнеза целиакии, признаков синдрома мальабсорбции и аутоиммунных заболеваний. Средний возраст контрольной группы составил $44,3 \pm 0,7$ лет.

В качестве популяционного контроля для изучения значимости генетической предрасположенности специфичностей HLA-системы (аллели генов *HLA-DQA1*, *HLA-DQB1*, *HLA-DRB1*) использованы данные о распространенности аллелей HLA генов для 300 человек, проживающих на территории г. Москва и Московской области [6].

2.3. Методы исследования

2.3.1. Клиническое обследование больных целиакией

Клинический блок исследований включал:

- анализ истории развития ребенка (форма 112);
- сбор медицинского анамнеза, жалоб;
- клиническое обследование пациента, оценка жизненно важных функций;
- антропометрию;
- специализированные лабораторные и инструментальные методы обследования согласно протоколам диагностики заболевания [11];
- осмотр узкими специалистами.

Диагноз Ц устанавливали согласно критериев ESPGHAN (1990) и «Рабочего протокола диагностики и лечения целиакии у детей», принятого на XI Конгрессе детских гастроэнтерологов России в 2004 г. (координатор проекта проф. Бельмер С.В). Для верификации заболеваний ЖКТ использовали классификацию Мазурина А.В., Запруднова А.М (1984) с учетом Международной классификации болезней десятого пересмотра (МКБ-10).

Физическое развитие оценивали по центильным таблицам, половое развитие детей - согласно классификации J. Tanner (1969).

Диагноз АИТ подтверждали на основании требований, утвержденных Консенсусом «Аутоиммунный тиреоидит: клинические рекомендации по диагностике и лечению», 2002. Диагноз МВ устанавливался согласно стандартам диагностики заболевания [89, 219].

Разработаны критерии включения и исключения в исследование для больных целиакией.

Критерии включения:

1. дети с 1 года до 17 лет, с верифицированным диагнозом Ц;
2. наличие добровольного информированного согласия.

Критерии исключения:

1. отсутствие целиакии;
2. возраст до 1 года и старше 17 лет;
3. тяжелые сопутствующие заболевания в фазе декомпенсации;
4. пищевая аллергия к глютену (наличие специфических IgE);
5. отсутствие добровольного информированного согласия;
6. для группы детей, требующих нутритивной поддержки - прием за 2 месяца до обследования лекарственных препаратов для метаболической терапии, смесей для энтерального питания.

Определены критерии включения и исключения в исследование для больных МВ (группа сравнения в иммунологическом и генетическом блоке исследования).

Критерии включения:

1. дети с муковисцидозом от 1 до 17 лет с установленным диагнозом;
2. наличие добровольного информированного согласия.

Критерии исключения:

1. отсутствие муковисцидоза;
2. возраст до 1 года и старше 17 лет;
3. пациенты с пороками развития легких;
4. отсутствие добровольного информированного согласия.

2.3.2. Лабораторно-инструментальные методы исследования

В работе использовались следующие лабораторно-инструментальные методы исследования:

- общий анализ крови;
 - биохимическое исследование крови;
- а) определение уровня маркеров гепатопривного синдрома (общий белок, белковые фракции), синдрома цитолиза (аспартатаминотрансфераза, аланинаминотрансфераза), синдрома холестаза (щелочная фосфатаза, билирубин – прямая и непрямая фракции), общевоспалительного синдрома (тимоловая

проба), синдрома гиперферментемии (альфа-амилаза), минерального обмена (кальций, фосфор, сывороточное железо);

б) определение содержания в сыворотке крови больных Ц жизненно необходимых (эссенциальные) элементов: кальций (Ca), железо (Fe), кобальт (Co), цинк (Zn), селен (Se), хром (Cr). Метод применялся для оценки эффективности реабилитационных мероприятий;

в) определение показателей ремоделирования костной ткани в сыворотке крови (остеокальцин, телопептиды, общая щелочная фосфатаза, костная щелочная фосфатаза, общая кислая фосфатаза, тартрат-резистентная кислая фосфатаза, кальций, фосфор, креатинин) и моче (кальций, фосфор).

- ультразвуковое исследование органов брюшной полости (печень, желчный пузырь, поджелудочная железа, почки, щитовидная железа, половые органы) проводили на УЗ-сканере «Toshiba Sal» 38AS линейным и секторным датчиками;

- ультразвуковое исследование пяточной кости, измерение костной прочности выполнялось на ультразвуковом остеометре «Achilles Express» фирмы Lunar, США, с частотой датчиков 500 кГц. Для оценки результатов измерения костной прочности детей методом костной ультрасонометрии использовали референтную базу в виде перцентильных таблиц и кривых показателей костной ультрасонометрии в зависимости от возраста и от роста [62];

- электрокардиографическое исследование;
- копроовоскопическое и бактериологическое исследование фекалий;
- рентгенография кистей с лучезапястными суставами,
- эндоскопическое исследования ЖКТ с прицельной щипцовой биопсией фрагментов СОТК с последующим морфологическим и морфометрическим исследованием с помощью фиброскопа «Olimpus Ciit» модель PQ-20;
- определение хеликобактерной инфекции (Хелик – тест).

Эндоскопические и морфологические методы

Эндоскопическое и морфологическое исследование включало выполнение фиброэзофагогастродуоденоскопии (ФЭГДС) пациентам с Ц, получение методом

щипцовой биопсии фрагментов СОТК с последующим проведением морфометрии. Морфологическое исследование проводилось на кафедре патологической анатомии ГБОУ ВПО СибГМУ (зав. каф., доктор мед. наук, проф. Перельмутер В.М., 2003-2010 гг.). Результаты исследований оценивались в соответствии с патоморфологической классификацией Marsh M.N. [280].

Появились работы, в которых подчеркивается необходимость разработки и применения строгих количественных критериев атрофической энтеропатии. С учетом этого в работе использованы морфометрические критерии Marsh M.N. в модификации Лысикова Ю.А. [11, 81], (таблица 13).

Таблица 13

Морфометрические признаки атрофической энтеропатии при целиакии

Показатель	Значения, характерные для целиакии
Высота ворсинок	менее 200 мкм
Глубина крипт	более 300 мкм
Толщина слизистой оболочки	менее 450 мкм
Соотношение ворсинка/крипта	менее 2
Лимфоцитарная инфильтрация эпителия (межэпителиальные лимфоциты, %)	более 40%
Количество бокаловидных клеток	Резко уменьшено – 0,1 клетка на 10 эпителиоцитов

Диагностика хеликобактерной инфекции

Наиболее убедительно доказана роль *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) бактерии в этиологии язвенной болезни желудка и язвенной болезни двенадцатиперстной кишки. *H. pylori*, как и другие инфекционные агенты, вызывает местные и общие изменения иммунного статуса организма хозяина. Морфологические изменения, возникающие в слизистой оболочке гастродуоденальной зоны, подвергаются обратному развитию в случае своевременно проведенной эрадикации *H. pylori* [153, 177]. В работе *H. Pylori* инфекция диагностировалась с помощью

гистологического исследования с окраской гистологического препарата по Гимзе, а также применялся неинвазивный дыхательный тест (Хелик-тест) с индикаторными трубками (ООО «Ассоциация Медицины и Аналитики, Санкт-Петербург») [159]. Гистологический метод со взятием 2 биоптатов СО желудка обладает высокочувствительным (97,8%) и специфичным (92,5%) для диагностики инфекции *H. pylori* до лечения, так и в сроки 4 недели после него [53, 177]. Использовали оборудование и реактивы для Хелик-теста с индикаторными трубками: индикаторная Хелик-трубка (ИТ) производства ООО «АМА» ТУ 93998-002-45564088-2003; микрокомпрессор для аспирации воздуха через индикаторную трубку типа ELITE или RESUM модифицированный; мочевины (карбамид) N_2H_4CO нормального изотопного состава. Проведение анализа осуществлялось утром натощак.

Метод изучения микроэлементного состава крови

Все образцы крови подвергались пробоподготовке (выпаривание жидкости при температуре 50-60°C до сухого остатка и упаковывание в фольгу по 100 мг) и анализу согласно методическим указаниям МУК 4.1.1482-03, МУК 4.1.1483-03. Аналитические исследования выполнены методами атомной эмиссионной спектроскопии с индукционно связанной аргоновой плазмой (АЭС-ИСП) и масс-спектрометрии с индуктивно связанной аргоновой плазмой (МС-ИСП), на приборах Optima 2000 DV и Elan 9000 (метод нейтронно-активационного анализа с облучением тепловыми нейтронами), на базе атомного реактора НИИ ЯФ при ТПУ сотрудниками кафедры геоэкологии и геохимии Национального исследовательского Томского политехнического университета (зав. кафедрой проф., доктор геолого-минералогических наук Рихванов Л.П.). В образцах крови определяли содержание 6 элементов: кальций, железо, кобальт, цинк, селен, хром. Уровни элементов сравнивались с показателями, полученными для Томска [140].

Данные использовались для оценки дефицита нутриентов и их коррекции при проведении реабилитационных мероприятий.

2.3.3. Иммунологические методы исследования

Иммунологический блок исследования включал:

- определение антиглиадиновых антител класса (АГА) А и G;
- определение уровня сывороточного IgA, Ig G, IgM;
- определение уровня цитокинов: IL-1 β , IL1Ra, IL-10, IL-4, IFN- γ , TNF- α ;
- исследование структурно-функционального статуса Мн-Мф в сыворотке крови:
 - определение поверхностных рецепторов (C₃b и Fc γ -R) Мн-Мф;
 - количественное определение лизосом [158];
- исследование функциональной активности Мн-Мф в крови:
 - определение фагоцитарной активности моноцитов-макрофагов.

Основные методы исследования иммунитета, тканеспецифического антителоносительства

Определение антиглиадиновых антител

Антиглиадиновые антитела присутствуют у большинства больных Ц. Определение АГА класса IgA и IgG проводили с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) на планшетном иммуноферментном анализаторе, в качестве исследуемого биологического материала использовалась сыворотка пациента, полученная путем тщательного центрифугирования (3000-5000 об/мин не менее 10 минут). В работе использовались реактивы фирмы ООО «Хема-Медика», Москва. Постановка теста проводилась согласно прилагаемой к набору реагентов инструкции.

Исследование осуществлялось на базе клинико-диагностической лаборатории ФГБУ НИИ медицинской генетики СО РАМН (врач-лаборант Луканина О.Б.). Уровень антител к глютену в сыворотке крови выражали в ед/мл. Полученные результаты оценивались в зависимости от принятых референтных пределов для данного теста.

Определение содержания иммуноглобулинов в сыворотке крови

Определение уровня иммуноглобулинов класса А, М, G в сыворотке крови осуществлялось методом ИФА. Концентрацию иммуноглобулинов выражали в г/л.

Определение уровня продукции цитокинов

Уровень интерлейкина-1 β (IL-1 β), фактора некроза опухоли- α (TNF- α), интерферона- γ (IFN- γ), интерлейкина-4 (IL-4), интерлейкина-10 (IL-10) определяли с помощью иммуноферментного метода (ИФА) реактивами фирмы ООО «Протеиновый контур», Санкт-Петербург. Постановка теста проводилась согласно прилагаемых к набору рекомендаций производителя. Содержание рецепторного антагониста интерлейкина-1 (IL-1Ra) определяли реактивами фирмы ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск, на базе биохимической лаборатории ЦНИЛ СибГМУ. Концентрации цитокинов в пробах рассчитывали по калибровочным кривым и выражали в пг/мл.

Методы исследования структурного статуса и функциональной активности моноцитов-макрофагов сыворотки крови

Учитывая, что макрофаги являются прилипающими клетками, для определения их функциональной активности использовали монослой этих клеток на стекле. Для характеристики макрофагов определялся рецепторный аппарат клеток C₃b-рецепторы, Fc γ -рецепторы. Индикатором для C₃b-рецепторов служили эритроциты барана (БЭР), нагруженные гемолитическими антителами и комплексом мыши (ЕАС-комплекс). Для определения Fc γ -рецепторов индикатором служили БЭР, нагруженные гемолитическими антителами (ЕА-комплекс) Учитывался процент клеток, прикрепивших 3 и более БЭР или по группам: 3-5; 6-8; 9-14; 15 и более на 400 макрофагов [46].

Получение обогащенного монослоя моноцитов-макрофагов периферической крови

Метод основан на способности моноцитов прилипать к стеклу или к пластику. Мононуклеары получали из гепаринизированной крови, взятой натощак. Кровь разводили в соотношении 1:3 средой 199, наслаивали на grad плотности фикол-верографина (1,082) и центрифугировали в течение 20 минут

при 1500 об/мин. Полученное на границе сред кольцо мононуклеаров дважды отмывали средой 199. Суспензию клеток доводили до концентрации $15 \cdot 10^3$ в 1 мл. Затем 0,2 мл этой суспензии наслаивали на чистые покровные стекла размером 11x22 мм, помещенные в чашки Петри диаметром 40 мм, и инкубировали 60 мин. при 37°C в увлажненной атмосфере с 5% CO₂. После инкубации неприлипшие клетки смывали со стекол теплым раствором Хенкса.

Оценка количества моноцитов, несущих C₃b- и Fcγ-рецепторы на мембране и лизосом

Для выявления C₃b- рецепторов на поверхности моноцитов крови использовали метод ЕАС-(C₃b) и ЕА-(Fcγ)-розеткообразования [86].

Количественное определение лизосом

Метод основан на способности клетки поглощать акридиновый-оранжевый и окрашивать им лизосомы, которые в ультрафиолетовом свете выявляются в виде гранул красного цвета в цитоплазме клеток. Количество лизосом оценивали по системе:

+++ – нет зеленых просветов

++ – есть зеленые просветы

+ – единичные гранулы в цитоплазме

0 – нет гранул в цитоплазме

Затем вычисляли суммарный показатель люминисценции.

$$\text{СПЛ} = [\%+++ \times 10] + [\%++ \times 3] + [\% \times 1]$$

Определение фагоцитарной активности макрофагов проводили с помощью оптической плотности лизирующего раствора после разрушения фагоцитов, поглотивших частицы нейтрального красного.

2.3.4. Молекулярно-генетические методы исследования

В данном блоке исследования применялись следующие методы:

- сбор генеалогического анамнеза;
- использование метода родословных;

- изучение наследуемости количественных признаков на основе внутрисемейного корреляционного анализа;
- генотипирование аллелей *HLA-DQA1*, *HLA-DQB1*, *HLA-DRB*;
- выделение ДНК и амплификация участков генов-модификаторов иммунного ответа *IL1B*, *IL1RN*, *IL4*, *IL4RA*, *VDR*, *INF-G* с использованием одного из методов ДНК-диагностики - полимеразная цепная реакция (ПЦР-метод). Выделение тотальной ДНК проводили с помощью неэнзиматического метода с некоторыми модификациями. Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) представляет собой многократно повторяющиеся циклы синтеза (амплификация) специфической области ДНК-мишени в присутствии термостабильной ДНК-полимеразы, дезоксирибозид-трифосфатов, соответствующего солевого буфера и олигонуклеотидных затравок - праймеров, определяющих границы амплифицируемого участка репликации. Каждый цикл амплификации состоит из 3 стадий с различными температурными режимами. На первой стадии при 94⁰С происходит денатурация цепей ДНК, затем при 54-58⁰С - присоединение (отжиг) праймеров к гомологичным последовательностям на ДНК-мишени, и при температуре 72⁰С протекает синтез новых цепей ДНК путем удлинения праймера в направлении 5'-3'. В каждом цикле происходит удвоение числа копий амплифицируемого участка, что позволяет за 25-40 циклов наработать ДНК, соответствующей размеру этого участка, в количестве, достаточном для ее детекции с помощью электрофореза.

Исследовали следующие полиморфные варианты генов:

- интерлейкина 1 β - *IL1B* (rs1143634);
- антагониста рецептора интерлейкина 1 - *IL1RN* (VNTR);
- интерлейкина 4 - *IL4* (rs2243291);
- α -субъединицы рецептора интерлейкина 4 - *IL4RA* (rs1805010);
- полиморфизмы F/f и B/b гена *VDR* (rs2228570, rs144410);
- интерферона γ - *INF-G* (rs2069705).

Характеристика исследованных полиморфизмов представлена в таблице 14.

Характеристика исследованных полиморфизмов генов

Ген	Хромосомный локус/ ОМIM	Полиморфизм	Локализация в гене	Фермент рестрикции	Литературный источник
<i>IL1RN</i>	2q14.2 / 147679	(VNTR)	Интрон 2	-	Tarlow J.K. et al., 1993
<i>IL1B</i>	2q14 / 147720	(rs1143634)	Экзон 5	<i>TaqI</i>	Wilkinson R.J. et al., 1999
<i>IL4</i>	5q31.1 / 147780	(rs2243291)	3'-UTR	<i>Vne I</i>	Пузырев В.П. с соавт., 2002
<i>IL4RA</i>	16p12.1-11.2 /147781	(rs1805010)	Экзон 3	<i>Rsa I</i>	Mitsuyasu H. et al., 1998
<i>VDR</i>	12q12-q14 / 601769	(rs2228570)	Экзон -2	<i>FokI</i>	Wilkinson R.J. et al., 2000
		(rs144410)	Интрон-8	<i>BsmI (PctI)</i>	
<i>IFNG</i>	12q14	(rs2069705)	Промотор	HpaI	Ожегова Д.С., 2009

ДНК выделена по стандартной неэнзиматической методике из лимфоцитов периферической крови, взятой из кубитальной вены. Выделенную ДНК замораживали и хранили при -20°C до проведения генотипирования. Изучение полиморфных вариантов исследуемых генов проводили с помощью амплификации соответствующих участков генома методом полимеразной цепной реакции, используя структуру праймеров и параметры температурных циклов, описанных в геномной базе данных (GDB) и литературе. Смесь для ПЦР содержала 0,5–1,5 мкл специфической пары праймеров концентрацией 1 о.е./мл, 1–1,5 мкл 10x буфера для амплификации с концентрацией MgCl_2 0.5-2.0 mM; 0,5-2,0 е.а. Taq ДНК-полимеразы («Сибэнзим», «Медиген», Новосибирск) и 100-200 мкл геномной ДНК.

Смесь помещали в 0,5 мл пробирки типа «Эппендорф», накрывали сверху минеральным маслом для предотвращения испарения и амплифицировали в автоматических минициклерах «MJResearch» (США) и «БИС 108» (Россия,

Новосибирск). Программа амплификации включала предварительную денатурацию при 94°C в течение 5 минут, с последующими 30-35 циклами, состоящими из отжига при специфической для каждой пары праймеров температуре (1 мин.), элонгации цепи ДНК при 72°C (45 с) и ее денатурации при 94°C (45 с). Программу завершала финальная элонгация при 72°C в течение 3 минут. Продукты амплификации обрабатывали соответствующими рестриктазами при оптимальной для фермента температуре в течение 16-24 часов. Рестрикционная смесь включала 5-10 мкл амплификата, 1,0-1,4 мкл 10 буфера для рестрикции («Сибэнзим», Новосибирск) и 1-8 единиц активности фермента (в зависимости от эффективности его работы).

Продукты рестрикции фракционировали в 3% агарозном геле при напряжении 90-120В в течение 35-70 минут или при напряжении 90-120В в течение 35-100 минут в 8-10% полиакриламидном геле. Фрагменты ДНК визуализировали в УФ-свете с применением компьютерной видеосъемки на приборе «Biorad» (США).

Все изученные варианты являются SNPs, за исключением минисателлитного маркера во втором интроне гена *IL1RN*, для которого известно 5 аллелей, различающихся по количеству 86-п.н. блоков (от 2 до 6): аллель А1 - 410 п.о. (4 повтора), А2 – 240 п.о. (2), А3 – 500 п.о. (5), А4 – 325 п.о. (3), А5 – 595 п.о. (6).

Название аллелей полиморфизма VNTR дано в зависимости от частоты их встречаемости, так аллель А1 – наиболее часто встречающийся, соответственно А5 – наиболее редкий аллель.

Генотипирование специфичностей HLA-системы

Исследование генетических полиморфизмов *HLA-DQA1* (8 полиморфизмов), *HLA-DQB1* (12 полиморфизмов), *HLA-DRB1* (13 полиморфизмов) проводили с применением коммерческих наборов для HLA-типирования фирмы «ДНК-технология», Москва (таблица 15).

Характеристика исследованных полиморфизмов генов HLA-системы

Ген	Локализация гена на хромосоме / OMIM	Полиморфизм	Локализация в гене	Метод детекции (диагностический набор, фермент рестрикции)
Гены <i>HLA</i> -системы				
<i>HLA-DQA1</i>	6p21.3 / 146880	DQA1*0101 DQA1*0102 DQA1*0103 DQA1*0201 DQA1*0301 DQA1*0401 DQA1*0501 DQA1*0601	Структурная часть гена	Комплект реагентов для генотипирования HLA, научно-производственная фирма «ДНК-диагностика», Москва
<i>HLA-DQB1</i>	6p21.3 / 604305	DQB1*0201 DQB1*0301 DQB1*0302 DQB1*0303 DQB1*0304 DQB1*0305 DQB1*0401/2 DQB1*0501 DQB1*0502/4 DQB1*0503 DQB1*0601 DQB1*0602-8	Структурная часть гена	Комплект реагентов для генотипирования HLA, научно-производственная фирма «ДНК-диагностика», Москва
<i>HLA-DRB1</i>	6p21.3. 0.166 (0.044–0.486)	DRB1*01 DRB1 *04 DRB1 *07 DRB1*08 DRB1 *09 DRB1 *10 DRB1 *11	Структурная часть гена	

<i>HLA-DRB1</i>		DRB1 *12		
		DRB1 *13		
		DRB1 *14		
		DRB1 *15		
		DRB1 *16		
		DRB1 *17		

2.4. Методы статистического анализа данных

После идентификации полученные результаты вносились в компьютерную базу данных, где проводилась их последующая статистическая обработка с применением специальных программ.

Статистические методы были разделены на методы для описания количественных признаков и специальные методы для проведения генетического анализа. Описательный анализ включал определение среднего арифметического значения (\bar{X}), ошибки среднего значения (m), а также расчет квартилей (Me , Q_1 - Q_3) для ненормально и несимметрично распределенных параметров. Сравнительный анализ основывался на определении достоверности разницы показателей по t-критерию Стьюдента для нормально распределенных, для независимых выборок определение достоверности разницы показателей проводилось с помощью U-критерия Манна - Уитни, для ситуации с зависимыми выборками определение достоверности разницы показателей проводилось с помощью T-критерия Вилкоксона. Критический уровень значимости (p) при проверке статистических гипотез в исследовании принимался равным 0,05 [28].

Специальные методы включали следующие методики статистической обработки генетического материала: показатель наследуемости (h^2) получали, как удвоенное значение коэффициента корреляции в парах родитель-ребенок. Анализ зависимости признаков проводился с помощью расчета и оценки значимости

непараметрического коэффициента корреляции Спирмена. Достоверность полученных данных оценивали по T-критерию Стьюдента.

Тестирование распределения изучаемых генотипов на равновесие Харди-Вайнберга (РХВ) проводили с помощью точного теста Фишера. Сравнение распределения генотипов и частот аллелей проводили с помощью критерия χ^2 с поправкой Йетса на непрерывность при числе степеней свободы равном 1, а также двусторонний точный тест Фишера, в случае, если ожидаемое значение хотя бы в одной ячейке таблицы сопряженности было меньше 5.

Для оценки ассоциаций полиморфных вариантов генов с патологическим фенотипом рассчитывали показатель отношение шансов (OR) по формуле: $OR=ad/bc$, где a - частота анализируемого аллеля у больных; b - частота анализируемого аллеля в контрольной выборке; c и d - суммарная частота остальных аллелей у больных и в контроле соответственно. Величина $OR=1$ указывает на отсутствие ассоциации, $OR>1$ – имеет место при положительной ассоциации («фактор риска») и $OR<1$ – отрицательная ассоциация аллеля с заболеванием. Обсуждение величин OR проводили при уровне значимости не более 5%. Для поиска ассоциации патологии с генетическими маркерами был использован критерий, оценивающий отклонения передачи исследуемого аллеля от гетерозиготных родителей потомкам (Transmission / Disequilibrium Test, TDT)/ $TDT=(b-c)^2/(b+c)$, где b и c - наследуемые аллели от гетерозиготных родителей. [188]. Все расчеты проводили с помощью программ «STATISTICA for Windows 6.0», «Microsoft Excel 7.0».

2.5. Объем работы

Все дети с целиакией (99 человек) наблюдались на протяжении 2003-2010 г.г., кратность осмотра составила 6-8 раз. Пациентам после подписания информированного согласия проведено обследование. Определение значений АГА класса А и G в сыворотке крови осуществлялось при постановке диагноза и в динамике наблюдения через 6 месяцев, 1 год.

Метод определения АГА класса А и G в сыворотке крови использовался как скрининговый метод в группах риска по Ц. Метод был применен 1344 пациентам: из них 99 детей с Ц, родственники 1 степени родства 111 человек, 731 ребенок - случайная выборка (дети с различной соматической патологией), 119 больных – с АИТ и 284 пациента - СД 1 типа.

Проводилось определение уровня Ig сыворотки крови 225 человекам: из них 99 больных Ц и 126 человек родственники 1 степени родства (62 – матери, 46 – отцы, 18 сибсов), (таблица 16).

Определение уровня продукции цитокинов сыворотки крови у пробанда с Ц осуществлялось при постановке диагноза и в динамике наблюдения. Обследован 231 пациент, из них 76 больных Ц, 134 человека - родственники 1 степени родства пробанда с Ц и 21 больной с МВ.

Показатели структурного статуса и функциональной активности Мн-Мф крови детей оценены у 46 детей, из них 25 детей с Ц и 21 больной с МВ (таблица 17).

Таблица 17

Объем исследований показателей структурного статуса и функциональной активности моноцитов-макрофагов крови у больных и в контрольной группе, n

Показатели	Пробанд, (n)		Контроль, (n)	Всего, (n)
	целиакия	муковисцидоз		
C ₃ b, %	25	21	20	66
F _{cγ} , %	25	21	20	66
СПЛ, ед.	25	21	20	66
Макрофагальный фагоцитоз (ед. опт. пл.)	25	21	20	66
Итого	100	84	80	264

Общий объем исследований количественных признаков, n

Изучаемые направления	Пробанд, n		Родственники пробанда с целиакией, n			*Скрининг, n	Всего, n	
	целиакия	муковисцидоз	мать	отец	сиссы			
Иммунологический блок								
Антиглиадиновые антитела класса IgA	99	-	44	44	23	1134	1344	
Антиглиадиновые антитела класса IgG	99	-	44	44	23	1134	1344	
Итого	198	-	88	88	46	2268	2688	
Иммуноглобулины сыворотки крови								
Показатели	целиакия	муковисцидоз	мать	отец	сиссы	Контроль, n		Всего, n
						дети	взрослые	
IgA	99	-	62	46	18	20	25	270
IgM	99	-	62	46	18	20	25	270
IgG	99	-	62	46	18	20	25	270
Итого	297	-	186	138	54	60	75	810

Продолжение таблицы 16

Цитокины сыворотки крови**								
Показатели	целиакия	муковисцидоз	родственники пробанда с целиакией, n			Контроль, n		Всего, n
			мать	отец	сиссы			
						дети	взрослые	
IL-1 β	76	21	62	46	26	20	25	276
IL1Ra	76	21	62	46	26	20	25	276
IL-10	76	21	62	46	26	20	25	276
IL-4	76	21	62	46	26	20	25	276
IFN- γ	76	21	62	46	26	20	25	276
TNF- α	76	21	62	46	26	20	25	276
Итого	456	126	372	276	156	120	150	1656

Примечание:* Скрининг - группа из 1134 человека, из них 731 ребенок - случайная выборка, 119 больных - АИТ и 284 пациента - СД 1 типа. ** - для статистической обработки были использованы непараметрические методы

Элементный состав сыворотки крови изучался у 22 больных Ц и учитывался при оценке реабилитационных мероприятий (таблица 18).

Таблица 18

Объем исследований содержания микро- и макроэлементов в сыворотке крови больных целиакией

Элементы	Кальций (Ca)	Железо (Fe)	Кобальт (Co)	Цинк (Zn)	Селен (Se)	Хром (Cr)	Всего
Количество больных, n	22	22	22	22	22	22	132

Показатели ремоделирования костной ткани в сыворотке крови и мочи больных Ц оценены у 36 пациентов, (таблица 19). Данное исследование проведено совместно с Гаприндашвили Е.Г. [23]. Хелик-тест проведен 72 больным с Ц.

Таблица 19

Объем исследований биохимических маркеров ремоделирования костной ткани в сыворотке крови и моче больных целиакией и в контрольной группе, n

Показатели	Количество больных, n	Контроль, n	Всего, n
Остеокальцин	25	93	118
Телопептиды	11	8	19
Общая щелочная фосфатаза	36	145	181
Костная щелочная фосфатаза	36	145	181
Общая кислая фосфатаза	36	145	181
Тартрат резистентная кислая фосфатаза	36	145	181
Креатинин	36	145	181
Кальций крови	36	145	181
Фосфор крови	36	145	181

Продолжение таблицы 19

Кальций мочи	36	85	121
Фосфор мочи	36	85	121
Итого	288	1286	1574

Гены-модификаторы иммунного ответа (*IL1B* (rs1143634), *IL1RN* (VNTR), *IL4* (rs2243291), *IL4RA* (rs1805010), *INF-G* (rs2069705), полиморфизмы (rs2228570, rs144410) гена *VDR* оценивались у пробандов с Ц, их родственников 1 степени родства (мать, отец, сибсы), также у пробандов с МВ (группа сравнения в иммунологическом и генетическом блоке). Общий объем проведенных исследований указан в таблице 20.

Таблица 20

Общий объем генетических исследований
(гены-модификаторы иммунного ответа), n

Ген/ полиморфизм	Контроль, n	Пробанды, n		Матери, n		Отцы, n		Сибсы, n		Всего n
		Ц	МВ	Ц	МВ	Ц	МВ	Ц	МВ	
<i>VDR</i> (rs144410)	237	78	82	64	-	53	-	20	-	297
<i>VDR</i> (rs2228570)	122	78	82	64	-	53	-	20	-	297
<i>IL1B</i> (rs1143634)	117	78	82	64	-	53	-	20	-	297
<i>IL1RN</i> (VNTR)	118	78	82	64	-	53	-	20	-	297
<i>IL4</i> (rs2243291)	123	78	82	64	-	53	-	20	-	297
<i>IL4RA</i> (rs1805010)	122	78	82	64	-	53	-	20	-	297
<i>INF-G</i> (rs2069705)	123	-	82	-	-	-	-	-	-	82
Итого		468	492	384	-	318	-	120	-	1864

Примечание: Ц - целиакия, МВ - муковисцидоз

Генотипирование аллелей *HLA-DQA1*, *-DQB1*, *-DRB1* проведено по 33 полиморфизмам гена у пробандов с Ц Томской области и членов их семей, (таблица 21), а также 32 больным Ц Краснодарского края, в группах риска по Ц –

СД 1 типа: 50 больным СД 1 типа томской популяции и 100 пациентам с СД 1 типа популяции Краснодарского края (работа выполнена совместно с Тлиф А.И.).

Таблица 21

Общий объем генетических исследований
(гены главного комплекса гистосовместимости), n

Ген/полиморфизм	<i>HLA</i>			Всего, n
	<i>DQA1</i>	<i>DQB1</i>	<i>DRB1</i>	
Пробанды с целиакией Томской области, n	76	76	76	223
Сибсы, n	10	10	10	30
Родители (мать, отец), n	61	61	61	183
Пробанды с целиакией Краснодарского края, n	32	32	32	96
Пациенты с СД 1 типа популяции Томской области	50	50	50	150
Пациенты с СД 1 типа популяции Краснодарского края, n	100	100	100	300
Итого	329	329	329	982

В работе выбраны следующие дизайны исследования:

- для описания клинического материала использовали сравнительное исследование в параллельных группах;
- одномоментное проспективное сравнительное исследование применено к оценке показателей выборки больных Ц и МВ;
- для оценки эффективности БГД, занятий в «Школе больных целиакией», эрадикационной терапии хеликобактерной инфекции, эффективности нутритивной терапии использовали пролонгированное, сравнительное, рандомизированное исследование. Для оценки анаболической терапии использовалось простое пролонгированное исследование;

- для оценки целесообразности 3-этапной диагностики в группах риска по Ц использовали пролонгированное наблюдение в группах генетического риска (родственники 1 степени родства) и иммунологического риска (больные СД 1 типа и АИТ). Наблюдение проводили в течение 6 лет;
- для генетического исследования было выбрано 2 дизайна: «случай-контроль» и семейный анализ ассоциаций. «Случай-контроль» анализ: *случай* – 99 для больных целиакией, *популяционный контроль* – 123 человека (для генов-модификаторов); второй: *случай* – 76 больных целиакией, *популяционный контроль* – 300 человек (для HLA). Семейный анализ ассоциаций: *случай* – 99 больных целиакией; *контроль* - родственники 1 степени родства – 130 человек родителей и сибсов без признаков заболевания.

2.6. Клинико-лабораторная характеристика контрольных групп

Контрольную группу детей для иммунологического обследования составили 20 практически здоровых индивидуумов от 6 до 17 лет, которые не страдали хроническими заболеваниями, аутоиммунными заболеваниями, не имели родственников с Ц. Острые респираторные вирусные заболевания у них отмечались не чаще 2-3 раз в год. На момент забора крови все дети были здоровы. Детям этой группы было проведено иммунологическое обследование – определение показателей гуморального иммунитета (сывороточные IgA, IgM, IgG) и цитокинов.

В качестве контрольной группы для родителей пробандов с Ц были использованы данные 25 практически здоровых взрослых людей в возрасте 26-42 лет, не имевших хронических заболеваний, аутоиммунной патологии,отягощенной наследственности по Ц, синдрому мальабсорбции. В контрольные группы вошли дети и их родителей из 18 семей, добровольно согласившихся на обследование.

Характеристика показателей гуморального иммунитета, показателей цитокинового статуса контрольных групп детей и взрослых представлена в

таблицах 22, 23. Учитывая статистически недостоверные различия в основных показателях практически здоровых детей и взрослых в зависимости от пола, показатели объединили в одну группу.

Таблица 22

Характеристика показателей гуморального звена иммунитета детей и взрослых контрольной группы ($X \pm m$)

Показатель, г/л	Здоровые дети, (n=20)	Здоровые взрослые, (n=25)
Ig A	1,31±0,05*	2,15±0,18
Ig M	1,29±0,04	1,50±0,08
Ig G	10,09±0,12	13,20±0,60

Примечание: * - достоверность различий между группами ($p < 0,01$)

Таблица 23

Характеристика показателей цитокинового статуса детей и взрослых контрольной группы, Me (Q_1 - Q_3), ($X \pm m$)

Показатель, пг/мл	Здоровые дети, (n=20)	Здоровые взрослые, (n=25)
IL-1 β	6,95 (1,24-15,92)	2,15±0,18
IL-1Ra	12,72 (10,85-13,04)	0-50*
IL-10	2,55 (0,00-11,41)	0-50*
IL-4	0,3 (0,1-5,15)	1,50±0,08
IFN- γ	50,87 (50,25-52,46)	0-50*
TNF- α	35,38 (22,93-50,85)	13,20±0,60

Примечание: * - использовали референтные значения, рекомендованные производителем наборов для диагностики

В контрольную группу для иммунологического исследования, включающее оценку структурного статуса и функциональной активности Мн-Мф с определением экспрессии С3b- и Fc γ -рецепторов, количество лизосом, показателя макрофагального фагоцитоза вошли 20 практически здоровых детей в возрасте от

6 до 17 лет, не имеющих ОРЗ в течение последних 2 месяцев перед обследованием (таблица 24).

Показатели макрофагального фагоцитоза в группе контроля составили 460 (320-510) единиц оптической плотности. По данным литературы в норме эти показатели находятся в пределах 400-500 единиц оптической плотности. Отличий активности изучаемых показателей между девочками и мальчиками не обнаружено.

Таблица 24

Показатели структурного статуса и функциональной активности моноцитов-макрофагов крови детей контрольной группы, Me (Q₁-Q₃)

Показатель	Здоровые дети, (n=20)
C ₃ b, %	21 (19-24)
Fc γ , %	13 (11-16)
СПЛ, ед.	26 (12-31)
Макрофагальный фагоцитоз (ед. опт. пл.)	460 (320-510)

При оценке функциональной активности Мн-Мф и их рецепторного аппарата у здоровых детей зарегистрированы следующие значения: экспрессия C₃b-рецепторов Мн-Мф – 21 (19-24)% и Fc γ -рецепторов – 13 (11-16)% - это средние показатели экспрессии рецепторов на мембране макрофагов, а суммарный показатель люминесценции (СПЛ) составил 26 (12-31) ед. По данным литературы показатели экспрессии рецепторного аппарата макрофагов у здоровых детей следующие: C₃b-рецепторов Мн-Мф 28,11±2,14%, Fc γ -рецепторов 16,77±2,26%; СПЛ - 16,0±4,63. Так как рецепторный аппарат макрофагов представляет важную характеристику опсонизирующей, хемотаксической и фагоцитарной способностей клеток, изучение изменений рецепторного аппарата клетки важно в понимании течения воспалительного процесса и в прогнозе заболевания. Полученные нами данные показателей здоровых детей использовались в качестве контрольных значений (таблица 24).

Для оценки биохимических показателей ремоделирования костной ткани в сыворотке крови и моче применялись данные контрольной группы, используемой в совместном исследовании с Гаприндашвили Е.Г. [23].

В качестве популяционного контроля для оценки частот аллельных вариантов изучаемых генетических маркеров в сибирской популяции использовали группу неродственных индивидуумов из банка ДНК ФГБУ НИИ медицинской генетики СО РАМН. Общая численность контрольной выборки составила 123 человека, проживающих в г. Томске и не имеющих по данным анамнеза целиакии, признаков синдрома мальабсорбции и аутоиммунных заболеваний. Средний возраст контрольной группы составил $44,3 \pm 0,7$ лет.

В контрольной выборке жителей г. Томска распределение генотипов практически всех изученных полиморфных вариантов соответствовало ожидаемому при равновесии Хайди–Вайнберга (таблица 25). В качестве популяционного контроля для изучения ассоциации полиморфных аллелей генов *HLA-DQA1*, *HLA-DQB1*, *HLA-DRB1* с Ц использовали данные 300 человек случайной выборки г. Москва и Московской области [6].

Таблица 25

Частота аллелей и генотипов изученных полиморфизмов генов в контрольной группе

Гено тип	N.O.	N.E.	χ^2 d.f.=1	Частота аллеля	$h_{obs} \pm s.e.$ $h_{exp} \pm s.e.$	D
VNTR полиморфизм гена <i>IL1RN</i>						
11	87	73,73	0,857 p=0,355	1=0,826	$h_{obs}=0,178 \pm 0,001$ $h_{exp}=0,287 \pm 0,032$	-0,492
12	21	17,80		2=0,174		
22	10	8,47				
Полиморфизм rs1143634 гена <i>IL1B</i>						
A1A1	75	64,10	0,151 p=0,698	1=0,799	$h_{obs}=0,316 \pm 0,002$ $h_{exp}=0,321 \pm 0,031$	-0,015
A1A2	37	31,62		2=0,026		
A2A2	5	4,27				

Полиморфизм rs2243291 гена <i>IL4</i>						
CC	5	4,07	0,269 p=0,604	C=0,25 6	$h_{obs}=0,431 \pm 0,002$ $h_{exp}=0,381 \pm 0,027$	0,131
GC	53	43,09		G=0,74		
GG	65	52,85		4		
Полиморфизм rs1805010 гена <i>IL4RA</i>						
II	40	32,79	0,323 p=0,647	I=0,590 V=0,41	$h_{obs}=0,525 \pm 0,002$ $h_{exp}=0,484 \pm 0,011$	0,084
IV	64	52,46		0		
VV	18	14,75				
Полиморфизм rs2228570 гена <i>VDR</i>						
FF	42	37,17	0,00 p=1,0	F=0,61 1	$h_{obs}=0,478 \pm 0,002$ $h_{exp}=0,476 \pm 0,014$	0,005
Ff	54	47,79		f=0,389		
ff	17	15,04				
Полиморфизм rs144410 гена <i>VDR</i>						
BB	11	11,22	1,171 p=0,279	B=0,31 6	$h_{obs}=0,408 \pm 0,002$ $h_{exp}=0,433 \pm 0,024$	-0,056
Bb	40	40,82		b=0,684		
bb	47	47,96				

Примечание. N.O. - наблюдаемая численность генотипов; N.E. - ожидаемая численность генотипов; критерий χ^2 использован для оценки соответствия наблюдаемого распределения генотипов ожидаемому исходя из РХВ; d.f. – число степеней свободы; $h_{obs} \pm s.e.$ и $h_{exp} \pm s.e.$ - соответственно наблюдаемая и ожидаемая гетерозиготность с ошибкой; D - относительное отклонение наблюдаемой гетерозиготности от ожидаемой

Таким образом, комплексный анализ клинико-лабораторных данных состояния здоровья детей и взрослых позволил сформировать контрольные группы в представленном исследовании.

ГЛАВА 3. КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЦЕЛИАКИИ

3.1. Регистр и распространенность целиакии в Томской области

В мире накоплен опыт использования регистров относительно больных с сахарным диабетом, муковисцидозом. Регистр больных - прежде всего автоматизированная информационно-аналитическая система мониторинга состояния здоровья больных, качества лечебно-профилактической помощи и эпидемиологической ситуации в отношении заболевания. Путем создания регистра возможно получить статистически надежную информацию об эпидемиологической ситуации в отношении аутоиммунных заболеваний желудочно-кишечного тракта, в частности по целиакии [99].

Система предусматривает наблюдение за больным от момента заболевания до момента его смерти. Разработка системы комплексного мониторинга (регистр целиакия) состояния здоровья детей, подростков и взрослых с использованием современных информационных технологий, для организации своевременной лечебно-реабилитационной помощи больным Ц в стране - один из этапов нашей работы.

Регистр был представлен на проблемной комиссии по детской гастроэнтерологии, состоявшейся 18 апреля (Москва) и 3 июня 2006 года (Санкт-Петербург). В настоящее время регистр апробирован в Томской области.

Получено свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ «Регистр целиакия», сертификат № 2009615739, выдан 15.10.09; свидетельство о государственной регистрации базы данных «Регистр целиакия», сертификат № 2009620392, выдан 17.07.09. Программное обеспечение «Регистр целиакия» работает в операционной системе Windows 95 и ее последующих версиях, при наличии установленной СУБД Firebird.

Регистр дает возможность:

- получать и хранить информацию о первичном визите пациента и мониторинговании состояния здоровья (клиническая, лабораторная, инструментальная характеристика);
- получать эпидемиологические данные о распространенности Ц, динамики их по годам, с учетом формы Ц, возраста и пола больных на основе отдельного структурного модуля;
- регистрировать детей-инвалидов (по возрасту, месту проживания, форме Ц);
- изучать потребность в безглютеновых продуктах (мука, хлеб, макаронные изделия) и ферментной терапии в стране и каждом регионе;
- создавать выписки из историй болезней при госпитализации в профильное отделение, а также этапные эпикризы при амбулаторном обращении.

Верификация диагноза, наличие осложнений и сопутствующих заболеваний осуществлялась при обследовании в специализированном стационаре и кодировались согласно МКБ-10. Данные в регистр вносились из истории болезни пациента или карты регистрации и наблюдения больного целиакией.

Регистр включает в себя 10 основных частей.

Первая часть – паспортная, включает основные сведения о больном, а также информацию о форме заболевания, времени установления диагноза и внесения сведений о пациенте в регистр, данные об инвалидности.

Вторая часть – называемая «Визит», содержит подробную информацию о наличии у больного сопутствующей патологии (в виде дефицитных состояний, ассоциированных аллергических и аутоиммунных заболеваний), которая представлена в виде отдельных нозологических форм с указанием степени поражения. Помимо перечисленного, эта часть регистра позволит отразить динамику течения заболевания, уменьшение степени тяжести осложнений на фоне их медикаментозной коррекции. Другие сопутствующие заболевания вносятся в регистр согласно их коду в МКБ-10.

Третья часть - «Семейный анамнез», позволяет дать характеристику генеалогического анализа родословных, т. е. проследить встречаемость патологии

ЖКТ и наиболее значимых групп заболеваний, таких как аутоиммунные и онкологические (нозологическая форма соответствует коду МКБ-10) у родственников. Кроме этого, данная часть регистра будет содержать сведения о носительстве антител к глютену у родственников, как группы риска. Планируется указывать уровень антител к глютену и/ или к трансглутаминазе, HLA-аллели, характерные для целиакии, результаты эндоскопического обследования и биопсии тонкого кишечника.

Четвертая часть - «Анамнез заболевания», включает сведения о возрасте ребенка при манифестации патологического процесса и его осложнений, времени начала терапии заболевания, информацию о диагнозе, с которым наблюдался ребенок до постановки диагноза Ц, что еще раз позволит подчеркнуть полиморфизм клинической симптоматики, обозначить группы риска при анализе данных регистра и наметить пути оптимизации диагностики заболевания.

Пятая и шестая часть регистра «Жалобы» и «Объективный статус», соответственно, отражают наличие у ребенка основных гастроинтестинальных и внекишечных проявлений заболевания при динамическом наблюдении.

Седьмая часть регистра - этапы диагностики целиакии и критерии компенсации. Особый акцент в регистре сделан на этапность диагностики заболевания (представлены серологический, морфологический, генетический этапы). В данный раздел с учетом особенностей регионов включены и другие методы диагностики, которые продолжают порой использоваться. В частности, пробная БГД и провокационная проба (отмена БГД и наблюдение за возвратом симптомов целиакии, повышением антител и появлением гистологических признаков заболевания). Динамическое наблюдение за клиническим течением болезни, исчезновение дефицитных состояний, оценка титра антител и состояния морфологической картины слизистой кишечника (по Маршу – 4 стадии) позволит оценить эффективность терапии. Данный раздел предназначен для оценки качества диагностики и степени компенсации больных в различных регионах страны.

В восьмую часть регистра «Лабораторно-инструментальные методы» кроме общеклинических методов исследования были включены определение гормонального профиля, состояния иммунитета, а также методы, позволяющие верифицировать дефицитные состояния, например, остеопению, йоддефицитный зоб.

В девятой части регистра, посвященной лечению, предоставляется возможность рассчитать потребность в безглютеновых продуктах (хлеб, мука, макаронные изделия) в регионах и стране. Из средств медикаментозной терапии регистр дает возможность рассчитать потребность больных в ферментной терапии (Креоне) в сутки, месяц и год с учетом возраста больного.

Десятая часть включила в себя заполнение выписки из истории болезни (этапный эпикриз), при этом внесенные в регистр данные переносятся автоматически, а дополнительные вносятся «вручную», имеется набор стандартных рекомендаций для больного.

Регистр содержит «Приложение», на основе которого с помощью построения таблиц планируется оценивать распространенность Ц в регионе и стране с учетом формы заболевания, возраста, пола, места жительства. Приложение одновременно позволит иметь информацию об уровне диагностики заболевания, степени компенсации состояния больных, рассчитывать потребность в безглютеновых продуктах и медикаментозной заместительной терапии. К регистру прилагается руководство пользователя с подробной информацией о работе с регистром и построении аналитических таблиц.

При разработке программы «Регистр целиакия» для Windows (версии 95 и выше) использовались:

1. инструмент моделирования бизнес-процессов Power Designer(© 1991-2003 Sybase);
2. компилятор Borland Delphi 7.0.(© 1983-2006 Borland Software Corporation);
3. инсталлятор EasyInstaller для Windows 95 и выше;
4. система управления базами данных Firebird 1.5. (Firebird Project, <http://firebird.sourceforge.net>);

5. средство для работы с сервером Interbase, Firebird, MySQL (© 200-2006 НК-Software);
6. приложение.

На 01.01.2011 г. в Регистр внесены сведения о 99 пациентах - жителях Томской области с верифицированным диагнозом «целиакия» согласно критериев ESPGHAN (1990) и «Рабочего протокола диагностики и лечения целиакии у детей», принятого на XI Конгрессе детских гастроэнтерологов России в 2004 г. (координатор проекта проф. Бельмер С.В.). На каждого больного заполнена карта регистрации (приложение А, рисунок 6), информация занесена в электронную базу данных.

Распространенность верифицированного диагноза целиакии в Томской области

На 01.01.2011 г. в регистр внесены сведения о 99 пациентах. В группу детей с Ц Томской области вошли 50 девочек и 49 мальчиков. По данным регистра больных Ц распространенность верифицированного диагноза у детей Томской области на 01.01.2011 г. составила 49,98 на 100 000 детского населения (в 2008г. – 40,83 на 100 000 детского населения). В возрасте от 0 до 4 лет распространенность установлена как 45,31 на 100 000 детей; от 5 до 9 лет – 52,09 на 100 000; от 10 до 14 лет – 41,17 на 100 000, среди подростков (с 15 до 17 лет) - 69,32 на 100 000. Расчет проводился с учетом численности детского населения на 01.2011 [173]. Показатель распространенности выше в группе детей от 5 до 9 лет и с 15 до 17 лет, что отражает позднюю диагностику заболевания.

Динамика распространенности верифицированного диагноза Ц у детей Томской области представлена на рисунке 7.

На начальном этапе (2003 г.) диагностировано 18 случаев Ц (6 детей с ЦТ и 12 с ЦА), в 2008 г. зарегистрировано 82 пациента (50 с типичной формой заболевания и 32 с атипичной), в 2009 г. – 92 больных (58 с ЦТ и 34 с ЦА), в 2010 г. – 99 пациентов с целиакией (65 с ЦТ и 34 с ЦА). За последние 4 года (2007–2010 г.г.) по данным регистра было выявлено 35 больных Ц (таблица 26).

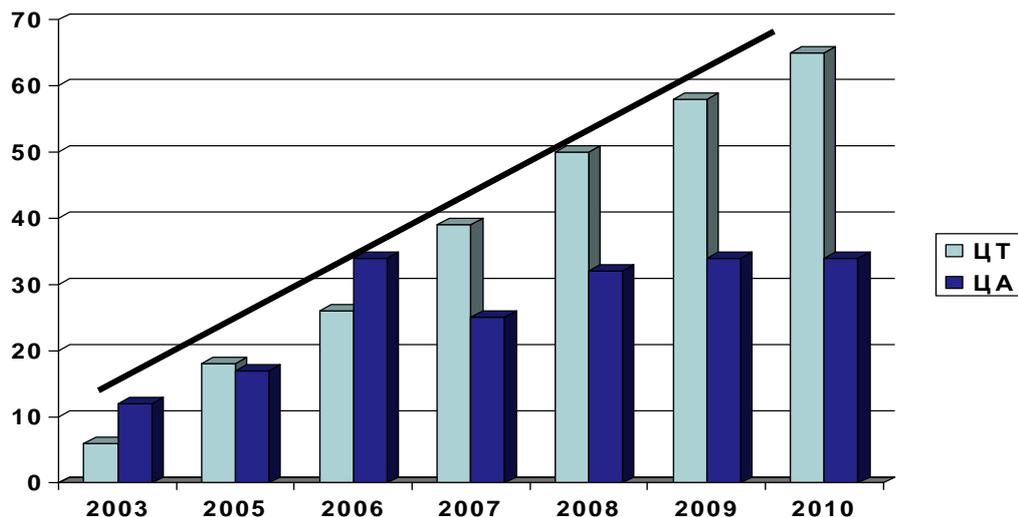


Рисунок 7. Динамика распространенности верифицированного диагноза целиакии на территории Томской области за период с 2003 г. по 2010 г.

Возможности программы «Регистр целиакия» сводятся к формированию отчета, например, по вновь выявленным случаям заболевания (таблица 26).

Таблица 26

Количество вновь зарегистрированных больных по данным регистра

Край / Область – «Томская область»	
Общее число больных на 01.01.2011	99
Из них количество вновь выявленных больных за последний год (2010 г.)	7
Из них количество больных вновь выявленных за последние 2 года (2009-2010 г.г.)-	17
Количество больных вновь выявленных за последние 3 года (2008-2010 г.г.)	35

Среди пациентов с Ц в 2009 г. соотношение девочек и мальчиков было равным, в 2010 г. соотношение осталось прежним: 49 мальчиков, 50 девочек. За годы наблюдения соотношение ЦТ к ЦА составило 1:1; 1,5:1, в 2010 г. – 2:1. Из 99 детей с Ц в городе проживало 74 ребенка, на территории области 25 человек (11

девочек, 14 мальчиков). Распространенность верифицированного диагноза Ц для города составила 54,12:100 000, для сельской местности – 35,56:100 000 детского населения. Надо отметить, что из группы сельских детей 18 человек были школьного возраста, 4 ребенка дошкольного и только 3 пациента раннего возраста (до 3 лет). Эти данные свидетельствует как о повышении выявляемости заболевания с введением 3-х - этапной диагностики, так и о сохраняющихся проблемах при верификации атипичной формы заболевания.

Программное обеспечение регистра позволяет рассчитывать потребность в лекарственных средствах, а также в безглютеновых продуктах питания. В таблице 27 представлена информация о потребности пациентов в ферменте Креон 10 000 ЕД (из расчета 10 000 ЕД в сутки ребенку до года и 30 000 ЕД ребенку старше 1 года).

Таблица 27

Потребность в креоне 10 000 ЕД у детей с целиакией (капсулы)

Край / Область – «Томская область»			
Возрастная категория	Младше года	Старше года	Всего требуется
Количество больных	-	99	
Фермент Креон (10 000 ед/сутки)	-	98 x 3	294
Фермент Креон (10 000 ед/месяц)	-	98 x 90	8820
Фермент Креон (10 000 ед/год)	-	98 x 1095	107310

Расчет потребности (50 гр. в сутки на ребенка раннего возраста) больных с Ц в безглютеновом хлебе представлена в таблице 28.

Таблица 28

Потребность в безглютеновом хлебе и хлебобулочных изделиях (граммах)

Край / Область – «Томская область»	Грамм
Количество больных	99
Хлеб и хлебобулочные изделия в сутки	4900

Хлеб и хлебобулочные изделия в месяц	147 000
Хлеб и хлебобулочные изделия в год	1 764 000

Использование подобного расчета позволило в свою очередь организовать обеспечение специализированными продуктами детей г. Томска.

Таким образом, распространенность верифицированного диагноза целиакии в Томской области составила 49,98 на 100 000 детского населения, что значительно ниже данных по распространенности заболевания в мире и в стране. В возрасте от 5 до 9 лет, а также среди подростков заболевание выявлялось чаще. Полученное соотношение типичной к атипичной формы заболевания, как 2:1 диктует необходимость расширения диагностического поиска в группах риска по Ц. Приведенные данные свидетельствует о сохраняющихся проблемах в диагностике заболевания и среди детей сельской местности. Также регистр больных Ц впервые позволил установить распространенность врачом-верифицированного диагноза целиакии, клинические особенности заболевания, рассчитать потребность в лекарственных средствах (в частности, ферментах) и безглютеновых хлебо-булочных изделиях, выявить проблемы в организации помощи больным в Томской области, в том числе по обеспечению безглютеновыми продуктами.

3.2. Клинические проявления целиакии

3.2.1. Клинические проявления целиакии в зависимости от формы заболевания

Клиническое наблюдение проведено за 99 пациентом с Ц, из них мальчиков было 49 (49,4%), девочек - 50 (50,6%). ЦТ имели 65 (66%) детей, ЦА – 34 (34%) пациента. Средний возраст больных на момент включения в регистр составил 8,59 ±0,59 лет (таблица 29).

Характеристика больных целиакией
в зависимости от возраста и формы заболевания

Возраст (года)	Все пациенты, (n=99)	Целиакия типичная, (n=65)	Целиакия атипичная, (n=34)	Мальчики, (n=49)	Девочки, (n=50)
	1	2	3	4	5
При манифестации целиакии	1,41±0,24*	1,17±0,21	1,72±0,48	1,56±0,32	1,22±0,35
При постановке диагноза	6,58±0,52* (0,8-16,0) p*=0,028	5,86±0,62 (0,8-15,0)	7,81±0,88 (1,0-18,0)	7,58±0,72 p ₄₋₅ =0,036	5,40±0,70
На момент включения в регистр	8,59±0,59	8,08±0,70лет	9,72±0,95	9,96±0,80 p ₄₋₅ =0,012	7,26±0,76

Примечание: p - достоверность различий при межгрупповом сравнении; p₂₋₃ - достоверность различий между больными с ЦТ и ЦА; p₄₋₅ - достоверность различий между мальчиками и девочками; p* - достоверность различий внутри групп больных при манифестации целиакии и на момент постановки диагноза

Анализ данных анамнеза и жалоб

Постановка диагноза Ц запаздывала относительно сроков манифестации симптомов заболевания, о чем свидетельствует проведенный анализ в общей группе больных Ц (6,58±0,52 лет), p=0,028. Диагноз устанавливался позже в среднем на 2 года у больных с ЦА по сравнению с ЦТ (7,81±0,88 лет против 5,86±0,62 лет), но без статистически значимой разницы. Данное обстоятельство связано с объективными трудностями диагностики, так как заболевание характеризуется клиническим полиморфизмом, отчасти недостаточной осведомленностью врачей первичного звена здравоохранения о заболевании.

Возраст мальчиков был при постановке диагноза больше по сравнению с возрастом девочек ($p=0,036$).

В группе пациентов с ЦТ диагноз устанавливался одинаково часто, как в возрасте до 3 лет (40%), так и в возрасте с 7 до 16 лет (42%). В раннем возрасте ЦТ выявлялась за счет выраженности энтерального синдрома, а в возрасте 7-16 лет, очевидно, в связи со сформировавшимися дефицитными состояниями или осложнениями, которые сопровождают течение заболевания. При этом надо отметить, что в группе больных до 3 лет с ЦА диагноз устанавливался реже по сравнению с ЦТ ($p=0,044$), диагноз ЦА чаще приходился на возраст с 7 до 16 лет ($p=0,001$), (таблица 30).

Таблица 30

Возраст установления диагноза целиакии в зависимости от формы заболевания (n, %)

Возраст установления диагноза	Общая группа, (n=99)	Целиакия типичная, (n=65)	Целиакия атипичная, (n=34)	p
	1	2	3	
с 1 до 3 лет, (n=36)	36 (36%)	26 (40%)	10 (29%)*	$p_{2-3}=0,044$
с 4 до 6 лет, (n=15)	15 (15%)	10 (15%)	5 (15%)	$p_{2-3}=0,070$
с 7 до 16 лет, (n=44)	44 (45%)	27 (42%)	17 (50%)* $p^*=0,001$	$p_{2-3}=0,151$
17 лет, n=4	4 (4%)	2 (3%)	2 (6%)	

Примечание: p - достоверность различий между группами больных с ЦТ и ЦА; (%) - % (процент) по отношению к количеству анализируемого признака внутри групп; p* - достоверность различий показателей внутри группы больных с ЦА

При изучении акушерского анамнеза выявлено, что аборт накануне настоящей беременности были у 20 (20,2%) матерей, при этом из группы детей с

ЦТ у 17 (26%), из группы детей с ЦА – у 5 (14%) матерей. Особенности перинатального периода больных Ц представлены в таблице 31.

Таблица 31

Особенности перинатального периода больных целиакией (n, %)

Показатели	Общая группа детей, (n=99)	Целиакия типичная, (n=65)	Целиакия атипичная, (n=34)
	1	2	3
Хроническая фетоплацентарная недостаточность (ХФПН)	34 (34%)	22 (34%)	12 (35%)
Угроза прерывания беременности в 1-ой половине	48 (48%)	29 (45%)	19 (56%)
Угроза прерывания беременности во 2-ой половине	30 (30%) $p_{1-3}=0,07$	23 (35%) $p_{2-3}=0,035$	7 (20%)
Ранний токсикоз	44 (45%)	27 (41%)	17 (50%)
Анемия	29 (29%)	21 (32%) $p_{2-3}=0,06$	8 (23%)
Гестоз	29 (29%)	20 (31%)	9 (26%)
Дискоординация родовой деятельности	21 (21%)	12 (19%)	9 (19%)
Задержка внутриутробного развития (ЗВУР)	17 (17%)	12 (19%)	5 (15%)
Асфиксия	11 (11%)	7 (11%)	4 (12%)
Перинатальная энцефалопатия (ПЭП)	56 (56%) $p_{1-3}= 0,04$	32 (49%) $p_{2-3}= 0,003$	24 (71%)

Примечание: p_{1-2} - достоверность различий показателей между общей группой больных и ЦТ; p_{1-3} - достоверность различий показателей между общей группой и ЦА; p_{2-3} - достоверность различий между группами больных с ЦТ и ЦА; (%) - % (процент) по отношению к количеству признака внутри группы

Угроза прерывания беременности во второй половине чаще отмечалась у детей с ЦТ ($p=0,035$), при ЦТ в абсолютных числах чаще без достоверной разницы было указание на анемию и на ЗВУР. Среди детей с Ц, имеющих в

анамнезе перинатальную энцефалопатию, доминировали пациенты с ЦА ($p=0,003$).

Из общей группы больных с Ц на естественном (грудном) вскармливании находились 73 (74%) человека, в группе детей с ЦТ – 45 (69%), с ЦА – 28 (82%) без достоверной разницы ($p=0,08$). Продолжительность грудного вскармливания в группе больных Ц оставила $6,5\pm 0,55$ месяцев. Грудное вскармливание было более продолжительным в группе пациентов с ЦА по сравнению с ЦТ ($28,0\pm 0,37$ недель и $24,0\pm 0,55$ недель, соответственно), ($p=0,034$).

Возраст на момент введения глютенсодержащего прикорма в рацион, как оказалось, был больше у детей с ЦА ($20,0\pm 0,21$ недель для ЦА и $16,0\pm 0,44$ недель для ЦТ), ($p=0,041$).

Возможно, позднее введение продуктов, содержащих глютен, в рацион питания при ЦА, более продолжительное грудное вскармливание, за счет протективной роли грудного молока на местный иммунитет СОТК, обуславливали позднюю манифестацию и атипичную симптоматику целиакии.

3.2.2. Характеристика диспепсических жалоб больных целиакией

Проведенный анализ показал, что манифестация заболевания в 65,7% случаев носило типичный характер, симптомы заболевания развивались через 1-2 месяца от начала употребления глютенсодержащих продуктов. Жалобы на нарушение аппетита предъявляли 74 (74,7%) пациента с Ц. Снижение аппетита отмечали 67 (90,5%) больных и в большинстве случаев при ЦТ, чем при ЦА (43 (64,2%) и 24 (35,8%), соответственно), ($p=0,0001$). Повышенный аппетит наблюдался у 7 (9,5%) пациентов.

Жалобы на рвоту были в основном в группе детей с ЦТ (у 10 (15%) детей с ЦТ и у 2 (6%) больных с ЦА, $p=0,005$). На отрыжку воздухом указывали 20 (20,2%) пациентов, без статистической разницы в группе детей ЦТ и ЦА (14 (21,5%) и 6 (17,6%), соответственно). Метеоризм достоверно чаще

регистрировался у пациентов с ЦТ (48 больных (74%)), чем при ЦА (15 (44%)), $p=0,0001$ (рисунок 8).

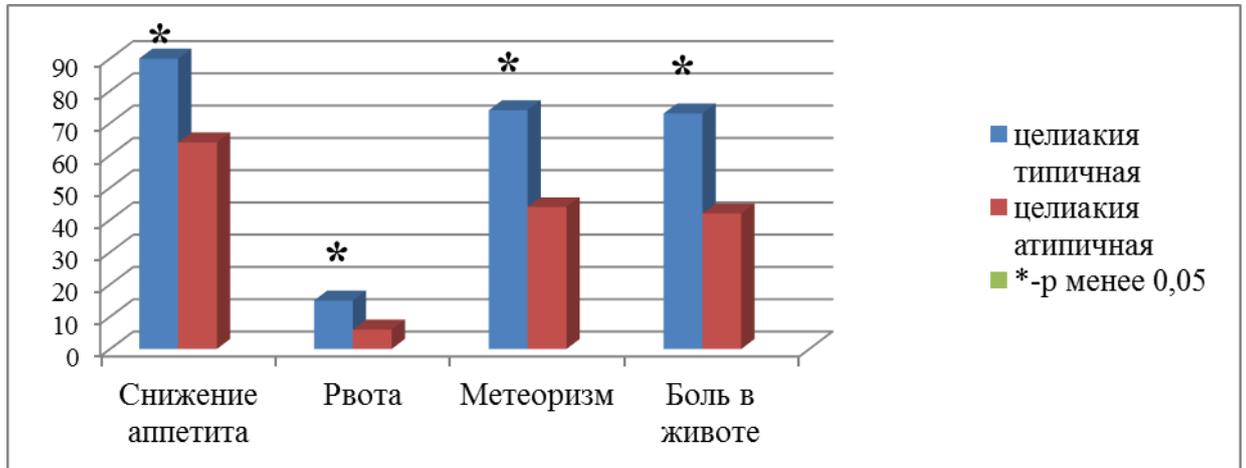


Рисунок 8. Частота жалоб при типичной и атипичной целиакии

Жалобы на боль в животе предъявляли 63 (64%) пациента с Ц, в 48 (74%) случаях - с ЦТ и в 15 (44%) случаях - с ЦА, $p=0,001$. Характеристика абдоминального болевого синдрома представлена в таблице 32.

Таблица 32

Характеристика абдоминального болевого синдрома у детей с целиакией,
(n, %)

Показатели	Общая группа (n=99), (%)	Мальчики (n=49), (%)	Девочки (n=50), (%)	Целиакия типичная (n=65), (%)	Целиакия атипичная (n=34), (%)
Группа	1	2	3	4	5
Абдоминальная боль	63 (64,0)	32 (65,0)	31 (62,0)	48 (74,0) $p_{4-5}=0,001$	15 (44,0)
Возраст манифестации абдоминального болевого синдрома*					
до 1 года	26 (41,2)	14 (43,7)	12 (38,7)	23 (47,9) $p_{4-5}=0,001$	3 (20,0)
2-3 года	21 (33,3)	10 (34,3)	11 (35,4)	18 (37,5) $p_{4-5}=0,001$	3 (20,0)
4-6 лет	4 (6,3)	2 (6,2)	2 (6,5)	3 (6,3)	1 (6,6)

Продолжение таблицы 32

старше 7 лет	12 (12,0)	6 (18,8)	6 (19,4)	4 (8,3)	8 (53,3) p ₄₋₅ =0,0001
Локализация боли*					
Эпигастрий	4 (6,3)	2 (6,3)	2 (6,5)	2 (4,1)	1 (6,6)
Правое подреберье	5 (7,9)	2 (6,3)	3 (10,5)	4 (8,3)	2 (13,3)
Мезогастрий	54 (85,7)	28 (87,5)	26 (83,8)	42 (64,6)	12 (80,0)
Характер болевого синдрома*					
Ноющая боль	30 (47,6)	17 (53,1)	13 (41,9)	18 (37,5)	12 (80,0) p ₄₋₅ =0,001
Приступообразная боль	33 (52,3)	15 (46,9)	18 (58,0)	30 (62,5) p ₄₋₅ =0,001	3 (20,0)
Голодные боли	5 (7,9)	1 (3,1)	0 (0,0)	3 (6,3)	1 (6,6)
Ранние боли	6 (9,5)	4 (12,5)	6 (19,3)	2 (4,2)	5 (33,3)
Поздние боли	35 (55,5)	18 (56,2)	17 (54,8)	28 (58,3)	7 (46,6)
Связь боли с дефекацией	17 (26,9)	9 (28,1)	8 (25,8)	15 (31,2) p ₄₋₅ =0,001	2 (13,3)

Примечание: p - достоверность различий при межгрупповом сравнении; % - (%) процент по отношению к количеству анализируемого признака внутри групп больных; * - частота анализируемого признака в подгруппе; p₂₋₃ - достоверность различий между мальчиками и девочками; p₄₋₅ - достоверность различий между ЦТ и ЦА

В 47 (74,5%) случаях манифестация болевого синдрома приходилась на ранний возраст. В раннем возрасте болевой синдром регистрировался одинаково часто как у мальчиков, так и у девочек, но преимущественно при ЦТ, (p=0,001). В возрасте старше 7 лет болевой синдром доминировал при ЦА (p=0,0001). Характерным проявлением заболевания было локализация болей в мезогастрии, которая имела место в 85,7% случаев. На боли приступообразного характера жаловались 33 (52,3 %) пациента, преимущественно с ЦТ (30 (62,5%), (p=0,001)), и в большинстве случаев абдоминальная боль при ЦТ была связана с актом дефекации, (p=0,001). Ноющий (монотонный) характер боли отмечали пациенты с ЦА, (p=0,001).

Изменение характера и частоты стула является одним из ведущих симптомов Ц (таблица 33). Для пациентов с ЦТ свойственен обильный (58,6%), зловонный (65,7%), жирный (65,7%), серый (49,5%), неустойчивый (чередование кашицеобразного, жидкого и оформленного стула с различной временной протяженностью) (45,5 %) стул, ($p=0,001$). Частота стула у больных с ЦА варьировала от 1 до 2 раз в сутки ($p=0,001$), у пациентов с ЦТ - от 3 и более 10 раз, $p=0,001$. Дефекация более 10 раз в день отмечалась чаще среди девочек ($p=0,001$) с ЦТ ($p=0,001$). Запоры регистрировались в 16,2% случаев, чаще у девочек ($p=0,04$) и у больных с ЦА ($p=0,005$).

На фоне соблюдения БГД стул нормализовался у более половины детей с Ц. Дольше сохранялся патологический характер стула у девочек в отличие от мальчиков ($p=0,002$), (таблица 33).

Таблица 33

Характеристика стула у больных целиакией, (n, %)

Показатели	Общая группа (n=99), (%)	Мальчики (n=49), (%)	Девочки, (n=50), (%)	Целиакия типичная, (n=65), (%)	Целиакия атипичная, (n=34), (%)
	1	2	3	4	5
Кратность стула					
1-2 раза/сутки	37 (37,3)	15 (30,6)	22 (44,0)	15 (23,0)	22 (64,7) $p_{4-5}=0,001$
3-5 раз/сутки	32 (32,3)	19 (38,8) $p_{2-3}=0,02$	13 (26,0)	28 (43,0) $p_{4-5}=0,001$	4 (11,8)
6-10 раз/сутки	12 (12,1)	6 (12,2)	6 (12,0)	12 (18,5) $p_{4-5}=0,001$	0 (0,0)
>10 раз/сутки	3 (3,0)	0 (0,0)	3 (6,0) $p_{2-3}=0,001$	3 (4,6) $p_{4-5}=0,001$	0 (0,0)
Запоры	16 (16,2)	10 (20,4)	6 (12,0)	8 (12,3)	8 (23,5)

Продолжение таблицы 33

			$p_{2-3}=0,04$		$p_{4-5}=0,005$
Неустойчивый стул	45 (45,5)	23 (46,9)	22 (44,0)	41 (63,0)	4 (11,8)
Характеристика стула					
Объемный характер стула	58 (58,6)	35 (71,4)	23 (46,0)	50 (76,9)	8 (23,5)
		$p_{2-3}=0,001$		$p_{4-5}=0,001$	
Зловонный запах стула	65 (65,7)	33 (67,3)	32 (64,0)	56 (86,1)	9 (26,4)
				$p_{4-5}=0,001$	
«Жирный» стул	65 (65,7)	34 (69,3)	31 (62,0)	55 (84,6)	10 (29,4)
				$p_{4-5}=0,001$	
Серый цвет стула	49 (49,5)	25 (51,0)	24 (48,0)	43 (66,1)	6 (17,6)
				$p_{4-5}=0,001$	
Динамика характера стула на фоне БГД					
Нормальный	52 (52,5)	31 (63,2)	21 (42,0)	34 (52,3)	18 (52,9)
		$p_{2-3}=0,004$			
Патологический	47 (47,5)	18 (36,7)	29 (58)	31 (47,7)	16 (47,1)
			$p_{2-3}=0,002$		

Примечание: p - достоверность различий при межгрупповом сравнении больных; % - по отношению к количеству анализируемого признака внутри групп больных; p_{2-3} - достоверность различий между мальчиками и девочками; p_{4-5} - достоверность различий между ЦТ и ЦА

Для Ц характерен синдром нарушенного пищеварения и всасывания. Анализ данных копроскопии дал возможность оценить выраженность синдрома мальдигестии (повышение количества нейтрального жира, жирных кислот, мылов, крахмала, переваримой клетчатки, мышечных волокон) у пациентов с Ц (таблица 34).

В общей группе больных Ц стеаторея 1 типа выявлялась чаще, чем стеаторея смешанного типа (57 (57,6%) против 36 (36,4%), соответственно),

$p=0,001$. Стеаторея 1 типа - наиболее частый копрологический признак при ЦТ, $p=0,021$. Известно, что стеаторея 1 типа отражает вовлеченность поджелудочной железы в патологический процесс [9].

Таблица 34

Показатели копроскопии у больных целиакией (n, %)

Показатели	Общая группа, (n=99), (%)	Мальчики (n=49), (%)	Девочки, (n=50), (%)	Целиакия типичная, (n=65), (%)	Целиакия атипичная, (n=34), (%)
	1	2	3	4	5
Стеаторея 1 типа	57 (57,6) $p^*=0,001$	29 (59,1)	28 (56,0)	41 (63,1) $p_{4-5}=0,021$	16 (47,0)
Стеаторея смешанного типа	36 (36,4)*	17 (34,7)	19 (38,0)	22 (33,8)	14 (41,2) $p_{4-5}=0,1$
Амилорея	55 (55,5)	29 (59,1)	26 (52,0)	36 (55,4)	19 (55,9)
Креаторея	8 (8,0)	3 (6,1)	5 (10,0)	4 (6,1)	4 (11,7)

Примечание: p - достоверность различий при межгрупповом сравнении больных; % - (%) процент по отношению к количеству анализируемого признака внутри групп больных; p_{4-5} - достоверность различий между ЦТ и ЦА, p^* - достоверность различий внутри групп больных

3.2.3. Физическое развитие детей с целиакией

Масса тела и рост ребенка чувствительные параметры, реагирующие на заболевание и отражающие нарушение питания. Оценка физического развития 95 детей с Ц выявила следующие особенности (таблица 35).

Характеристика роста больных целиакией в зависимости от пола и формы заболевания, (n, %)

Рост, процентиля	Мальчики, (n=46)	Девочки, (n=49)	Целиакия типичная, (n=63), (%)	Целиакия атипичная, (n=32), (%)	Всего, (n =95), (%)
	1	2	3	4	5
Ниже 5	20 (43)	23 (47)	26 (41)	17 (53) $p_{3-4}=0,054$	43 (45)
5-25	8 (17)	6 (12)	10 (16)	4 (13)	14 (15)
25-75	15 (33)	18 (37)	24 (38) $p_{3-4}=0,058$	9 (28)	33 (35)
75-95	3 (7)	2 (4)	3 (5)	2 (6)	5 (5)

Примечание: % - по отношению к количеству анализируемого признака внутри групп; p - достоверность различий при межгрупповом сравнении больных; p_{3-4} - достоверность различий при сравнении между ЦТ и ЦА

Отставание в росте отмечено у 57 (60%) больных Ц, с одинаковой частотой как у мальчиков, так и у девочек. Показатели роста ниже 5 процентиля имели 43 (45%) ребенка, причем при ЦА статистически значимо ($p=0,054$). Показатели роста в пределах 25-75 процентиля (расценивались как нормальные значения) наблюдались только у 35% детей. В группе детей с ЦТ и ЦА число детей с показателями роста в пределах 25-75 процентиля достоверно не отличалось (таблица 36).

Продолжительность заболевания более 5 лет была сопряжена с уменьшением количества больных с ростом ниже 5 процентиля и 5-25 процентиля с 72% до 54% ($p=0,016$) детей, и увеличением числа детей, имеющих показатели роста в пределах 25-75 процентиля (с 22% до 38%), (таблица 36).

Продолжительность заболевания и динамика роста больных целиакией
n, (%)

Всего детей	Продолжительность заболевания	Рост, процентиля			
		ниже 5 (%)	5-25 (%)	25-75 (%)	75-95 (%)
n=95	До 3 лет, n=18	8 (44)	5 (28)	4 (22)	1 (6,0)
	От 3 до 5 лет, n=24	12 (50)	3 (13)	9 (37)	0 (0,0)
	Более 5 лет, n=53	23 (43)	6 (11)	20 (38)	4 (8)

Примечание: % - по отношению к количеству анализируемого признака внутри групп

Соматотропная недостаточность была подтверждена у 2 пациентов (мальчик и девочка с ЦТ и ЦА, соответственно).

В общей группе (95 детей) хроническая БЭН была выявлена у 61 (64%) больного с Ц, при этом чаще у девочек, чем у мальчиков (35 (71%) против 26 (57%), соответственно, ($p=0,052$)) и одинаково часто, как при ЦТ, так и при ЦА. При этом надо отметить, что в группе детей с ЦТ показатели выраженности БЭН были выше, ($p=0,001$).

Легкая БЭН регистрировалась достоверно чаще у пациентов с ЦА (в 28% случаев), $p=0,0001$, среди девочек с легкой БЭН больше было пациенток с низкими значениями ($p=0,001$). Средне-тяжелая и тяжелая БЭН в 2-3 раза чаще наблюдалась среди детей с ЦТ. Тяжелая БЭН чаще отмечалась у девочек, ($p=0,014$), и была более выражена при целиакии типичной ($p=0,001$), (таблица 37).

Нарушение нутритивного статуса часто влечет за собой задержку полового развития.

Задержка полового развития выявлена у 5 детей с ЦТ, которая сочеталась с ЗФР, гипогонадизм - у 19 (19%) больных с Ц, преимущественно при ЦТ 14 (22%), и у девочек 11 (22%), без достоверной разницы (таблица 38).

Степень хронической белково-энергетической недостаточности
(% от долженствующего роста по возрасту) у детей с целиакией, (n, %)

Степень хронической БЭН (% от долженствующего роста по возрасту)	Мальчики, (n=46), (%)	Девочки, (n=49), (%)	Целиакия типичная, (n=63), (%)	Целиакия атипичная, (n=32), (%)	Всего, (n=95), (%)
	1	2	3	4	5
Общее значение для всей группы	n=26 (57%) 86,15 (83,52-92,40)	n=35 (71%)* p* ₁₋₂ =0,052 84,61 (77,77-90,32) p ₁₋₂ =0,231	n=38 (60%) 85,217 (34,07-94,84)	n=23 (72%) 86,125 (68,18-95,00) p ₃₋₄ =0,001	n=61 (64%) 59,005 (34,07-94,84)
I (легкая) (90-95)	n=6 (13%) 94,91 (93,33-95,74)	n=10 (20%) 90,90 (90,43-92,30) p ₁₋₂ =0,001	n=7 (11%)* 92,477 (90,44-94,84)	n=9 (28%)* p* ₃₋₄ =0,0001 91,807 (90,00-95,00)	n=16 (17%) 92,100 (90,00-95,00)
II (средне-тяжелая) (85-89)	n=9 (20%) 87,227 (85,57-89,39)	n=7 (14%) 86,807 (85,22-88,89)	n=12 (19%) 86,812 (85,22-89,39)	n=4 (13%) 87,74 (85,55-88,89)	n=16 (17%) 87,043 (85,22-89,39)
III (тяжелая) (<85)	n=11 (24%) 77,908 (34,07-84,61)	n=18 (37%)* p* ₁₋₂ =0,014 77,643 (62,00-84,61)	n=19 (30%) 76,363 (34,07-84,21) p ₃₋₄ =0,001	n=10 (31%) 80,367 (68,18-84,61)	n=29 (31%) 77,743 (34,07-84,61)

Примечание: % - по отношению к количеству анализируемого признака внутри групп;

p - достоверность различий при межгрупповом сравнении больных; p₁₋₂ - достоверность различий значений между мальчиками и девочками; p₃₋₄ - достоверность различий значений при сравнении между ЦТ и ЦА; p*₁₋₂ - достоверность различия числа (%) детей с БЭН между мальчиками и девочками; p*₃₋₄ - достоверность различия числа (%) детей с БЭН с ЦТ и ЦА

Нарушения полового развития у больных целиакией (n, %)

Показатели	Общая группа (n=99), (%)	Мальчики, (n=49), (%)	Девочки, (n=50), (%)	Целиакия типичная, (n=65), (%)	Целиакия атипичная, (n=34), (%)
	1	2	3	4	5
Задержка полового развития	5 (5)	2 (4)	3 (6)	5 (8)	0 (0,0)
Гипогонадизм	19 (19)	8 (16)	11 (22) p ₂₋₃ =0,125	14 (22) p ₄₋₅ =0,081	5 (15)

Примечание: % - по отношению к количеству анализируемого признака внутри групп к общему количеству пациентов в этих группах; p - достоверность различий при межгрупповом сравнении; p₂₋₃ - достоверность различий между мальчиками и девочками; p₄₋₅ - достоверность различий между ЦТ и ЦА

Итак, при Ц имеет место задержка физического развития. Задержка роста была выявлена в 60% случаев, БЭН - в 64% случаев, тяжелая БЭН чаще развивалась при ЦТ.

3.2.4. Поражение кожных покровов и слизистых оболочек при целиакии

Неспецифические изменения кожи у детей с Ц связаны с нарушением всасывания нутриентов. Изменения кожи в виде ее бледности, сухости и наличия ангулярного стоматита были характерны для 50,5%, 46,5% и 5,05% пациентов, соответственно (таблица 39). Сухость кожных покровов выявлялась у пациентов с ЦТ достоверно чаще, чем при ЦА, (p=0,05). Гиперкератоз на локтях отмечался у 7 (15,2%) детей. Ангулярный стоматит проявлялся у 5 (5,1%) больных, преимущественно у мальчиков (p=0,007) с ЦТ и сочетался у них с лямблиозом. Стойкий фурункулез имел место у одной пациентки с ЦТ и четко был связан с

нарушением БГД. Наиболее частый вариант поражения кожных покровов у наблюдаемых нами больных с Ц - атопический дерматит.

Среди наблюдаемых нами детей атопическим дерматитом страдали 16 (16,1%) детей, в 88% случаев - с ЦТ. Проявления атопии были зарегистрированы у детей до 1 года на фоне сенсibilизации пищевыми аллергенами, в старшем возрасте проявлений атопии среди пациентов с Ц выявлено не было. В литературе встречаются данные, что атопический дерматит у пациентов с Ц отмечается в 60% случаев [127].

Среди наблюдаемых нами детей с Ц герпетиформный дерматит зарегистрирован не был. Системные поражения кожи в виде тотального и гнездного облысения отмечены у 2 (2,0%) детей с ЦТ, что совпадает с литературными данными, согласно которым приблизительно у 2% больных Ц наблюдается гнездное облысение, а соблюдение БГД может способствовать росту волос у некоторых из них [218]. В единичных случаях у обследованных детей встречались витилиго, крапивница, ихтиоз (таблица 39).

Таблица 39

Характер поражения кожи и ее придатков у детей с целиакией (n, %)

Показатели	Общая группа (n=99), (%)	Мальчики (n=49), (%)	Девочки, (n=50), (%)	Целиакия типичная, (n=65), (%)	Целиакия атипичная, (n=34), (%)
	1	2	3	4	5
Бледность кожи	50 (50,5)	23 (46,9)	27 (54,0)	33 (50,7)	17 (50,0)
Сухость кожи	46 (46,5)	24 (48,9)	22 (44,0)	33 (50,7) p ₄₋₅ =0,05	13 (38,2)
Гиперкератоз на локтях	7 (15,2)	4 (8,1)	3 (6,0)	3 (4,6)	4 (11,8)
Фурункулез	1 (1,0)	0 (0,0)	1 (2,0)	1 (1,5)	0 (0,0)
Ангулярный стоматит	5 (5,1)	4 (8,1)	1 (2,0)	4 (6,1)	1 (2,9)

Продолжение таблицы 39

Атопический дерматит	16 (16,1)	8 (16,3)	8 (16,0)	14 (21,5)	2 (5,8)
Аллопеция	2 (2,02)	1 (2,04)	1 (2,0)	2 (3,07)	0 (0,0)
Витилиго	2 (2,02)	1 (2,04)	1 (2,0)	2 (3,07)	0 (0,0)
Ихтиоз	1 (1,01)	1 (2,04)	0 (0,0)	1 (1,53)	0 (0,0)
Крапивница	1 (1,01)	1 (2,04)	0 (0,0)	1 (1,53)	0 (0,0)

Примечание: р - достоверность различий при межгрупповом сравнении больных; % - (%) процент по отношению к количеству анализируемого признака внутри групп больных; р₂₋₃ - достоверность различий при сравнении мальчиков и девочек; р₄₋₅ - достоверность различий при сравнении больных с типичной и атипичной целиакией

3.2.5. Состояние верхнего отдела пищеварительного тракта у детей с целиакией

При Ц основной патологический процесс развивается на СОТК, в других отделах ЖКТ также могут наблюдаться изменения, которые в большинстве случаев носят неспецифический характер [142]. В нашей выборке больным для подтверждения диагноза Ц проводилась фиброэзофагогастродуоденоскопия с биопсией и морфометрией. При эндоскопическом исследовании явления катарального дистального эзофагита выявлены у 2 пациентов (2%) с ЦТ. Эти дети в дальнейшем наблюдались по поводу гастроэзофагеальной рефлюксной болезни (ГЭРБ). Явление гастрита отмечено у 64 (64,4%) пациентов, у 4 из них был изолированный гастрит, дуоденит - у 81 (81,8%) больного Ц, изолированный дуоденит - у 21 пациента, сочетанное поражение желудка и ДПК имело место в 60,6% случаев (таблица 40).

Поражение желудка и ДПК в виде эксудативно-эритематозного гастрита, дуоденита доминировало и встречалось с одинаковой частотой при различных формах заболевания, эксудативно-эритематозный дуоденит достоверно чаще выявлялся у мальчиков (р=0,004), субатрофические процессы у девочек.

Характеристика изменений верхнего отдела пищеварительного тракта
у детей с целиакией (n, %)

Показатели	Общая группа (n=99), (%)	Мальчики (n=49), (%)	Девочки (n=50), (%)	Целиакия типичная, (n=65), (%)	Целиакия атипичная, (n=34), (%)
	1	2	3	4	5
ГЭРБ	2	1	1	2	-
Эзофагит	2 (2)	1 (2,0)	1 (2,0)	2 (3,1)	0 (0,0)
Гастрит**	64 (64,4)	35 (71,4)	29 (58,0)	41 (63,0)	23 (67,6)
Эксудативно-эритематозный*	57 (89,0)	31 (88,5)	26 (89,6)	36 (87,8)	21 (91,3)
Субатрофический*	3 (4,6)	1 (2,8)	2 (6,9)	3 (7,3) p ₄₋₅ =0,001	0 (0,0)
Гиперпластический (нодулярный)*	4 (6,25)	3 (12,5) p ₂₋₃ = 0,05	1 (7,1)	2 (8,2)	2 (12,5)
Дуоденит, бульбит**	81 (81,8)	41 (83,6)	40 (80,0)	53 (81,5)	28 (82,3)
Эксудативно-эритематозный*	77 (95,0)	39 (95,1) p ₂₋₃ =0,04	38 (76,0)	50 (94,3)	27 (79,4)
Субатрофический*	2 (2,5)	0 (0,0)	2 (5,0)	1 (1,9)	1 (3,6)
Гиперпластический (фолликулярная гиперплазия)*	2 (2,5)	2 (4,9) p ₂₋₃ = 0,001	0 (0,0)	2 (3,8)	0 (0,0)
Гастродуоденит	60 (60,6)	32 (65,0)	26 (52,0)	38 (58,5)	22 (64,7)

Примечание: p - достоверность различий при межгрупповом сравнении больных; % - (%) процент по отношению к количеству анализируемого признака внутри групп больных; * - (%) процент к общему числу пациентов с гастритом и дуоденитом; p₂₋₃ - достоверность различий между мальчиками и девочками; p₄₋₅ - достоверность различий между целиакией типичной и атипичной, ** - эндоскопическая характеристика

В диагностике Ц используются маркеры гистологических изменений СОТК. Степень выраженности гистологических изменений классифицировали в соответствии с морфологическими критериями, установленными для СОТК по Marsh M.N. [285]. Анализ морфометрических критериев СОТК показал, что в общей группе больных в 57,5% были выявлены изменения СОТК соответствующие стадии IIIA-IIIВ по Marsh M.N. При ЦТ подобные изменения (стадии IIIA-IIIВ) встречались достоверно чаще ($p=0,014$, $p=0,02$), чем при ЦА. Патологические изменения, соответствующие 0-I стадии по классификации Marsh M.N., чаще встречались при ЦА ($p=0,001$), при назначении БГД до проведения биопсии и морфометрии (таблица 41).

«Золотым стандартом» в диагностике Ц остается до настоящего времени морфологическое исследование. Оценку структурных изменений в СОТК важно осуществлять до назначения БГД, так как структура СОТК у больных Ц является очень динамичной и быстро изменяется на фоне БГД. Выявленные изменения на СОТК также необходимо соотносить с продолжительностью БГД, характером диеты, возможностью ее нарушений.

Назначение БГД до проведения морфологического исследования СОТК послужило поводом для проведения провокационной пробы 3 больным Ц. Проведение морфометрии повышает достоверность диагностики заболевания и оценку эффективности патогенетической терапии. Данные морфометрии показали, что у обследованных нами пациентов с ЦТ иммунопатологический процесс более выражен, о чем свидетельствует минимальная толщина СОТК, высота ворсинок, максимальная глубина крипт, соотношение ворсинка/крипта, выраженность инфильтрации МЭЛ по сравнению с группой детей с ЦА, ($p=0,001$), что согласуется с данными литературы.

На фоне БГД у пациентов с ЦА быстрее нормализуется цитоархитектоника СОТК. Соотношение ворсинка / крипта на фоне лечения нормализовалось быстрее у больных с ЦА ($p=0,001$). Выявленные изменения СОТК не зависели от пола (приложение А, таблица 42).

Характеристика морфологических изменений слизистой оболочки тонкого кишечника у детей больных целиакией (n, %)

Показатели	Общая группа, (n=99), (%)	Мальчики, (n=49), (%)	Девочки, (n=50), (%)	Целиакия типичная, (n=65), (%)	Целиакия атипичная, (n=34), (%)
Группы	1	2	3	4	5
Марш 0-I	31 (31,3)	14 (28,5)	17 (34)	14 (21,5)	17 (49,9) p ₄₋₅ =0,001
Марш II	11 (11,1)	5 (10,2)	6 (9,2)	8 (12,3)	3 (8,8)
Марш IIIA	32 (32,3)	17 (34,7)	15 (30,0)	24 (36,9) p ₄₋₅ =0,014	8 (23,5)
Марш IIIB	25 (25,3)	12 (24,5)	13 (26,0)	19 (29,2) p ₄₋₅ =0,02	6 (17,6)

Примечание: p - достоверность различий при межгрупповом сравнении больных; % - по отношению к количеству анализируемого признака внутри групп больных; p₂₋₃ - достоверность различий между мальчиками и девочками; p₄₋₅ - достоверность различий между ЦА и ЦА

Таким образом, хронический гастрит, дуоденит (преимущественно экссудативно-эритематозный) одинаково часто встречались при ЦТ и ЦА. Морфологическое исследование показало, что при ЦТ изменения, соответствующие стадии IIIA-IIIВ, встречались достоверно чаще, чем при ЦА.

Изменения на СОТК, соответствующие 0-I стадии по классификации Marsh M.N, выявленные в момент подтверждения диагноза при ЦА, были как результат соблюдения БГД до проведения исследования. На фоне патогенетической терапии по данным морфометрии регенераторные процессы на СОТК при ЦТ протекают медленнее в сравнении с ЦА.

3.2.6. Состояние билиарного тракта, поджелудочной железы, кишечника у детей с целиакией

При Ц наблюдаются существенные изменения гуморальной регуляции функции ЖКТ (вторичные нарушения функции печени, желчевыделительной системы, поджелудочной железы), обусловленные повреждением СОТК. Это, в свою очередь, усугубляет уже имеющиеся нарушения процессов пищеварения [11]. Имеются данные, что у больных Ц выявляются функциональные нарушения печени, умеренная гепатомегалия. У 15-21% больных Ц развивается стеатогепатит [112, 133]. Морфологическая картина в этих случаях чаще соответствует стеатозу, реже – хроническому гепатиту или даже циррозу [133].

В нашем исследовании у больных Ц дисфункциональные расстройства билиарного тракта (ДБТ) определялись у 48 (48,4%) детей, достоверно чаще при ЦТ ($p=0,01$), (таблица 43).

Таблица 43

Характеристика поражения билиарного тракта, поджелудочной железы, кишечника у больных целиакией (n, %)

Показатели	Общая группа (n=99), (%)	Мальчики, (n=49), (%)	Девочки, (n=50), (%)	Целиакия типичная, (n=65), (%)	Целиакия атипичная (n=34), (%)
	1	2	3	4	5
ДБТ ¹	48 (48,4)	23 (46,9)	25 (50,0)	35 (53,8) $p_{4-5}=0,013$	13 (38,2)
Аномалии желчного пузыря	18 (18,2)	10 (20,4)	8 (16,0)	14 (21,5)	4 (17,8)
Реактивный панкреатит (данные УЗИ)	21 (21,2)	14 (28,6) $p_{2-3}=0,004$	7 (14,0)	12 (18,5)	9 (26,5)
Хронический холецистит (по УЗИ)	11 (11,1)	8 (16,3)	3 (6,0)	7 (10,7)	4 (11,7)

Продолжение таблицы 43

Дисхолия	32 (32,3)	18 (36,7)	14 (28,0)	23 (35,3)	9 (26,5)
Описторхоз	8 (8,1)	4 (8,1)	4 (8,0)	7 (10,7)	1 (2,9)
Повышение активности трансаминаз	11 (11,1)	6 (12,2)	5 (10,0)	6 (9,2)	5 (14,7)
Дисбактериоз кишечника	95 (95,9)	47 (95,9)	48 (96,0)	63 (96,9)	32 (94,1)
Болезнь Крона	1 (1,01)	0	1 (2)	1 (1,5)	0 (0,0)
Лямблиоз	34 (34,3)	18 (36,7)	16 (32,0)	27 (41,5)	7 (20,5)

Примечание:¹ – дискинезия билиарного тракта; p - достоверность различий при межгрупповом сравнении; % - (%) процент по отношению к количеству анализируемого признака внутри групп; p₂₋₃ – достоверность различий между мальчиками и девочками; p₄₋₅ – достоверность различий между ЦТ и ЦА

По результатам УЗИ признаки дисхолии с одинаковой частотой регистрировались среди пациентов с Ц, хронического холецистита (ХЦ) и реактивного состояния поджелудочной железы (РП) - у 11 (11,1%) и 21 (21,2%) пациента, соответственно. Изменения чаще выявлены среди мальчиков (16,3% против 6,0% среди девочек, p=0,002), для ХЦ и РП (28,6% против 14,0% среди девочек, p=0,004). Описторхоз диагностирован у 8 (8,1%) детей с Ц, из которых 7 детей имели ЦТ. Повышение активности трансаминаз в сыворотке крови в период манифестации болезни и при нарушении диеты выявлено у 11 (11,1%) человек, (6 (9,2%) детей с ЦТ, 5 (14,7%) – с ЦА). Активность печеночных трансаминаз приходила к норме на фоне соблюдения БГД и гепатотропной терапии.

Дисбактериоз кишечника в виде снижения нормофлоры и повышения содержания условно-патогенных микроорганизмов регистрировался у большинства пациентов (95 (95,9%)) и не зависел от формы Ц и пола ребенка (таблица 43). Лямблиоз был выявлен у 34 (34,3%) больных, причем достоверно чаще при ЦТ, p=0,001. В литературе описаны случаи сочетания Ц с неспецифическим язвенным колитом и болезнью Крона (БК), данная ассоциация

скорее всего связана с общностью иммунопатологического процесса [336]. Под нашим наблюдением находилась пациентка с ЦТ в сочетании с болезнью Крона и соматотропной недостаточностью (клинический пример приводится (Приложение А)).

Таким образом, при ЦТ достоверно чаще развиваются моторные нарушения со стороны билиарного тракта. У больных с Ц (в 11,1% случаев) наблюдается повышение активности печеночных трансаминаз, как результат действия комплекса патологических факторов. Реактивные изменения поджелудочной железы по данным ультразвукового исследования чаще отмечались у мальчиков. Развитие дисбактериоза кишечника характерно для больных целиакией. Выявленные изменения подтверждают полиорганность поражения органов пищеварительного тракта у больных Ц, что следует учитывать при проведении лечения.

3.2.7. Клинические проявления нарушений психоэмоциональной сферы у больных целиакией

Для Ц, как известно из данных литературных источников, характерно поражение нервной системы [164, 165]. Выделяют 2 механизма развития энцефалопатии на фоне энтеральной недостаточности, которая имеет место при Ц: токсический и гипознергетический. Проанализирован психоневрологический статус детей с Ц, изменения чаще встречались у детей с ЦТ (40 (61,5%)), ($p=0,001$). Агрессивность (9 (9,1%) случаев в общей группе больных) чаще отмечали родители детей с ЦТ (7 (10,8%) случаев при ЦТ и 2 (5,9%) при ЦА). Жалобы на головную боль предъявляли чаще дети с ЦТ ($p=0,05$). Цефалгия в большей степени была характерна для девочек ($p=0,003$), раздражительность – для мальчиков ($p=0,005$), (таблица 44).

Таким образом, для детей с Ц свойственна психоэмоциональная лабильность, при ЦТ (61,5%) достоверно чаще в виде головной боли (27,7%) и у девочек (30%).

Частота психоневрологических проявлений у детей с целиакией (n, %)

Показатели	Общая группа, (n=99), (%)	Мальчики, (n=49), (%)	Девочки, (n=50), (%)	Целиакия типичная, (n=65), (%)	Целиакия атипичная (n=34), (%)
	1	2	3	4	5
Агрессивность	9 (9,09)	4 (8,2)	5 (10,0)	7 (10,8)	2 (5,9)
Головная боль	24 (24,2)	9 (18,4)	15 (30,0) $p_{2-3}=0,003$	18 (27,7) $p_{4-5}=0,05$	6 (17,6)
Раздражительность	20 (20,2)	19 (38,8) $p_{2-3}=0,005$	11 (22,0)	15 (23,07)	5 (14,7)
Всего	53 (53,5)	32 (65,3)	31 (62,0)	40 (61,5) $p_{4-5}=0,001$	13 (38,2)

Примечание: p - достоверность различий при межгрупповом сравнении больных; % - по отношению к количеству анализируемого признака внутри групп больных; p_{2-3} - достоверность различий между мальчиками и девочками; p_{4-5} - достоверность различий между ЦТ и ЦА

3.3. Влияние сопутствующей патологии на клинические, иммунологические и морфологические проявления целиакии

Изучение клинических особенностей течения хронических заболеваний ЖКТ у пациентов с Ц остается актуальным. На фоне БЭН развиваются дистрофические и атрофические изменения в органах пищеварительного тракта, в железистом аппарате поджелудочной железы, лимфоидных органах. При Ц у большинства больных выявляются симптомы со стороны нервной системы. Известно, что развитие и хронизация ряда патологических состояний ЖКТ обусловлены сочетанием инфекционных агентов (таких, как *Helicobacter pylori* (НР), лямблии, гельминты, вирус Эпштейн-Барра, цитомегаловирус (ЦМВ) и др.)

с нарушением местных и общих механизмов иммунитета и неспецифической защиты. Хронический гастрит (ХГ), как изолированное поражение, встречается у детей лишь в 10-15% случаев, речь чаще идет о сочетанном поражении желудка и ДПК [166, 179]. Уровень инфицированности НР среди детей 7-11 лет с заболеваниями верхних отделов ЖКТ превышает 50% и составляет почти 80% у детей старшего школьного возраста. Заражение НР начинается в раннем детском возрасте, достигает 33,3% к 10 годам и 56,3% к 17-летнему возрасту [53, 153, 177]. В последние годы обсуждаются подходы к проведению эрадикационной терапии НР-инфекции в связи с ростом ее антибиотикорезистентности [74]. Выявлено, что стертые формы Ц диагностировались у 6% детей с лямблиозом, протекающим с синдромом мальабсорбции [82]. В исследовании мы попытались выявить особенности течения Ц у пациентов с НР-инфекцией, лямблиозом, отметить особенности течения Ц у детей, рожденных с ЗВУР.

3.3.1. Особенности течения целиакии, ассоциированной с хеликобактерной инфекцией

Обследовано на наличие НР-инфекции 72 пациента с Ц. Всем больным проводилось клиническое обследование по общепринятой схеме. Для верификации диагноза применялась ФЭГДС. В работе НР-инфекция диагностировалась с помощью гистологического исследования, а также применялся неинвазивный дыхательный тест (Хелик-тест) с индикаторными трубками. Пациент считался инфицированным НР при результате разницы между базальным и нагрузочным уровнем более 3 мм.

Из 72 детей с Ц обследованных на наличие НР-инфекции 52 больных наблюдались с ЦТ и 20 - с ЦА, средний возраст – $9,94 \pm 0,7$ (5,0-17,0) лет. Мальчиков было 44 (61,1%), девочек – 28 (38,9%). НР-инфекция была выявлена у 40 детей из 72 обследованных больных Ц, что составило 55,5%. В группе детей с Ц и НР-инфекцией, так же, как и без НР-инфекции, доминировали дети с ЦТ ($p=0,0001$). В группе детей с Ц и НР-инфекцией мальчиков было больше девочек

($p=0,004$), в группе детей с Ц без НР-инфекции соотношение мальчиков и девочек было 1:1. Наследственная отягощенность по язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки (ЯБЖ и ЯБ ДПК) отмечена у 40% больных Ц с НР-инфекцией и у 25% без НР ($p=0,04$). В анамнезе анемия имела место у 24 (60%) больных Ц, у которых в последующем зарегистрирована НР-инфекция, и в 12 (38%) случаях у детей без НР-инфекции, ($p=0,001$), (таблица 45).

Таблица 45

Клинико-anamнестическая характеристика больных целиакией
с хеликобактерной инфекцией, (n, %)

Показатели	Целиакия		
	Общая группа, обследованных на НР- инфекцию, (n=72)	Пациенты с НР-инфекцией, (n=40)	Пациенты без НР-инфекции, (n=32)
	1	2	3
Целиакия типичная	52 (72,0%)	27 (67,5%) $p^*=0,0001$	25 (78,2%) $p^*=0,0001$
Целиакия атипичная	20 (28,0%)	13 (32,5%)	7 (21,8 %)
Мальчики	40 (56,0%)	24 (60,0%) $p_{2-3}=0,004$	16 (50,0%)
Девочки	32 (44,0%)	16 (40,0%)	16 (50,0%)
Наследственная отягощенность по ЯБЖ*, ЯБ ДПК**	24 (33,0%)	16 (40,0%) $p_{2-3}=0,04$	8,0 (25%)
Анемия в анамнезе	36 (50,0%)	24 (60,0%) $p_{2-3}=0,001$	12 (38,0%)
Диспепсические жалобы			
Отрыжка воздухом	20 (22,0%)	14 (35,0%) $p_{2-3}=0,002$	6 (19,0%)
Рвота	8 (11,0%)	6 (15,0%)	2 (6,0%)
Изменения аппетита	47 (65,3%)	28 (70,0%) $p_{2-3}=0,01$	19 (62,5%)
Характеристика болей в животе			

Схваткообразные боли	26 (31,1%)	26 (65,0%)	-
Ноющие боли	16 (22,2%)	4 (10%)	12 (37,5%)
Поздние боли	35 (48,6%)	27 (67,5 %) p ₂₋₃ =0,0001	8 (25,0%)

Примечание: ЯБЖ* - язвенная болезнь желудка, ЯБДПК** - язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки; % - (%) процент по отношению к количеству анализируемого признака внутри групп больных; p* - достоверность различий показателей внутри группы; p₂₋₃ - достоверность различий показателей при межгрупповом сравнении больных с целиакией с НР-инфекцией и без НР-инфекции

Жалобы на отрыжку воздухом предъявляли 14 (35%) больных Ц с наличием НР-инфекции и 6 (19%) детей без НР-инфекции (p=0,002), на рвоту - единичные пациенты (6 (15%) детей и 2 (6%), соответственно). Аппетит чаще был изменен при Ц, ассоциированной с НР-инфекцией, (p=0,01).

Локализация абдоминальной боли не зависела от наличия НР. Боли носили преимущественно схваткообразный характер у 26(65%) пациентов с НР-инфекцией, в 67,5% случаев это были поздние боли, p=0,0001. У больных Ц без НР-инфекции в 37,5% случаях боли носили умеренный, ноющий характер, поздние боли были свойственны 8 (25%) пациентам.

Данные эндоскопического обследования (ФЭГДС) не различались по топографии и распространенности воспаления. У 2/3 детей с Ц в основном выявлялся очаговый антрум-гастрит, очаговый дуоденит с экссудативно-эритематозным характером воспаления, язвенных дефектов и рубцовых деформаций не обнаружено. Больным Ц с НР-инфекцией проводилась эрадикационная терапия (трехкомпонентная), эффективность которой составила 84%. В дальнейшем проведена оценка гуморального иммунитета и изучены особенности цитокинового статуса сыворотки крови больных Ц с НР-инфекцией и без таковой до и после лечения. Показатели гуморального иммунитета у пациентов с НР-инфекцией представлены в таблице 46.

Характеристика гуморального звена иммунитета больных целиакией с хеликобактерной инфекцией до и после лечения, Ме (Q₁-Q₃)

Показатели (г/л)	Контроль (г/л)	Целиакия		Р
		с НР-инфекцией, (n=40)	без НР-инфекции, (n=32)	
	1	2	3	
Характеристика гуморального звена иммунитета				
IgA до лечения	1,31±0,06	0,705 (0,425-1,010) p*=0,505	0,705 (0,460-2,020) p*=0,457	p ₁₋₂ =0,851 p ₁₋₃ =0,950 p ₂₋₃ =0,381
Ig A после лечения		1,230 (1,12-1,49)	1,180 (1,11-1,40)	p ₁₋₂ =0,937 p ₁₋₃ =0,657 p ₂₋₃ =0,535
Ig M до лечения	1,24±0,04	1,205 (0,970-1,300) p*=0,606	1,205 (0,900-1,450) p*=0,481	p ₁₋₂ =0,954 p ₁₋₃ =0,885 p ₂₋₃ =0,453
Ig M после лечения		1,249 (1,17-1,38)	1,243 (1,11-1,28)	p ₁₋₂ =0,789 p ₁₋₃ =0,939 p ₂₋₃ =0,392
Ig G до лечения	10,09±0,12	14,00 (10,40-19,20) p*=0,008	14,00 (10,64-21,28) p*=0,001	p ₁₋₂ =0,552 p ₁₋₃ =0,443 p ₂₋₃ =0,432
Ig G после лечения		10,18 (9,91-10,53)	10,18 (9,82-10,35)	p ₁₋₂ =0,810 p ₁₋₃ =0,829 p ₂₋₃ =0,329

Примечание: p₁₋₂, p₁₋₃, p₂₋₃ - достоверность различия при межгрупповом сравнении показателей целиакия с *H. pylori* инфекцией и без *H. pylori* инфекции; p* - достоверность различия показателей внутри группы до и после лечения

Проведенный анализ данных не выявил статистически значимых отличий между группой пациентов с наличием НР-инфекции и без таковой. На фоне патогенетической терапии отмечено снижение уровня IgG в сравниваемых

группах ($p=0,008$; $p=0,001$). Значения АГА класса А в группе детей с НР-инфекцией и без НР-инфекции не отличались достоверно как между собой, так и по отношению к референтным значениям (таблица 47). АГА класса G в сравниваемых группах были повышены только относительно референтных значений ($p=0,004$; $p=0,048$, соответственно), и их уровень снижался на фоне соблюдения БГД

Таблица 47

Характеристика уровня антиглиадиновых антител у больных целиакией с хеликобактерной инфекцией до и после лечения, Me (Q₁-Q₃)

Показатели (ед/мл)	Контроль (ед/мл)	Целиакия		P
		с НР-инфекцией, (n=40)	без НР-инфекции, (n=32)	
	1	2	3	
АГА А до лечения	0-40*	13,00 (6,1-38,60) $p^*=0,430$	13,25 (5,05-39,25) $p^*=0,407$	$p_{1-2}=0,628$ $p_{1-3}=0,728$ $p_{2-3}=0,751$
АГА А после лечения		10,00 (4,300-41,90)	11,70 (4,80-38,60)	$p_{1-2}=0,874$ $p_{1-3}=0,808$ $p_{2-3}=0,724$
АГАG до лечения	0-40*	85,40 (59,00-134,10) $p^*=0,163$	75,40 (42,85-203,65) $p^*=0,093$	$p_{1-2}=0,004$ $p_{1-3}=0,048$ $p_{2-3}=0,320$
АГАG после лечения		12,70 (3,60-107,0)	22,05 (9,90-48,10)	$p_{1-2}=0,506$ $p_{1-3}=0,418$ $p_{2-3}=0,838$

Примечание: 1 - референтные значения; p_{2-3} - достоверность различия при сравнении показателей групп целиакия с Н. pylori инфекцией и целиакия без Н. pylori инфекции; $p_{1-2,3}$ - достоверность различий при сравнении показателей группы целиакия с Н. pylori инфекцией и группы целиакия без Н. pylori инфекции с группой контроля; p^* - достоверность различия показателей внутри группы до и после лечения

Анализ цитокинового статуса в группе детей с НР-инфекцией и без наличия НР-инфекции (дети были сопоставимы по возрасту с группой контроля) выявил повышенный уровень как провоспалительных (IL-1 β), (p=0,001), так и противовоспалительных цитокинов (IL-4, IL-10, IL-1Ra), (p=0,001) по отношению к контрольным значениям.

После лечения уровень IL-1 β оставался высоким в группе детей с НР-инфекцией по отношению к значениям в группе контроля (p=0,001). В группе детей без НР-инфекции в динамике наблюдения уровень IL-1 β снижался более значимо, (p=0,029), (таблица 48).

Таблица 48

Особенности цитокинового статуса сыворотки крови больных целиакией с хеликобактерной инфекцией до и после лечения, Me (Q₁-Q₃)

Показатель, пг/мл	Контроль, (пг/мл), (n=20)	Целиакия		P
		с <i>H. pylori</i> инфекцией, (n=24)	без <i>H. pylori</i> инфекции, (n=16)	
		1	2	
IL-1 β до лечения	6,9 (1,2-15,9)	242,13 (22,51–322,12) p*=0,050	239,47 (182,92–365,95) p*=0,029	p _{1-2,3} =0,001 p ₂₋₃ =0,884
IL-1 β после лечения		55,00 (0,44–56,33)	16,72 (0,16–42,48)	p ₁₋₂ =0,001 p ₂₋₃ =0,185
IL-4 до лечения	0,3 (0,1-5,9)	23,19 (0,69–36,13) p*=0,019	29,57 (0,132–39,45) p*=0,298	p _{1-2,3} =0,001 p ₂₋₃ =0,976
IL-4 после лечения		0,597 (0,32–21,00)	0,342 (0,229–13,81)	p ₂₋₃ =0,343
TNF- α до лечения	35,38 (22,9-50,9)	45,89 (14,13–331,11) p*=0,367	41,91 (19,58–250,83) p*=0,365	p ₂₋₃ =0,201
TNF- α после лечения		28,80 (0,87–211,5)	20,02 (15,84–112,72)	p ₂₋₃ =0,888

Продолжение таблицы 48

IL-10 до лечения	2,55 (0,01-11,4)	15,0 (0,69–257,50) p*=0,461	13,10 (0,65–247,75) p*=0,508	p _{1-2,3} =0,001 p ₂₋₃ =0,822
IL-10 после лечения		172,01 (96,60–625,00)	217,20 (118,64–616,25)	p _{1-2,3} =0,001 p ₂₋₃ =0,385
IFN-γ до лечения	50,9 (50,3-52,5)	20,38 (0,619–61,20) p*=0,138	17,66 (0,545–42,13) p*=0,370	p ₂₋₃ =0,199
IFN-γ после лечения		5,780 (0,09–15,23)	7,96 (0,05–8,87)	p ₂₋₃ =0,673
IL-1Ra до лечения	12,7 (10,9-13,0)	119,70 (11,80–387,0) p*=0,084	88,73 (21,5–514,1) p*=0,170	p _{1-2,3} =0,001 p ₂₋₃ =0,261
IL-1Ra после лечения		16,57 (0,24–75,7)	10,34 (0,21–52,06)	p ₂₋₃ =0,359

Примечание: p₂₋₃ - достоверность различия при сравнении показателей групп целиакия с H. pylori инфекцией и целиакия без H. pylori инфекции; p_{1-2,3} - достоверность различий при сравнении показателей группы целиакия с H. pylori инфекцией и группы целиакия без H. pylori инфекции с группой контроля; p* - достоверность различия внутри группы до и после лечения

Таким образом, у детей с Ц высока распространенность НР-инфекции (55,5%). Эпидемиологические исследования в Сибири по распространенности НР-инфекции показали, что в возрасте 5-10 лет инфицировано 29%, а в возрасте 11-14 лет - уже 56% обследованных детей [78]. Распространенность НР при Ц согласуется с литературными данными.

В клинической картине у пациентов с Ц и НР-инфекцией чаще регистрировались моторные нарушения со стороны ВОПТ (отрыжка воздухом, рвота), p=0,002, p=0,005 соответственно; в анамнезе - анемия (p=0,001), что, возможно, связано не только с течением основного заболевания, но и наличием НР-инфекции.

Цитокиновый профиль сыворотки крови больных Ц с НР-инфекцией характеризовался повышением уровня IL-1 β , после лечения у детей без НР-инфекции уровень IL-1 β снижался до нормальных значений, в то время как в группе с НР-инфекцией уровень этого провоспалительного цитокина оставался выше контрольных значений.

3.3.2. Особенности течения целиакии на фоне паразитарной инвазии

В Российской Федерации регистрируется более 130 тысяч случаев лямблиоза в год, из них 70% составляют дети в возрасте до 14 лет [7, 73]. Интерес к *Lamblia intestinalis* связан с тем, что данный возбудитель способен оказывать воздействие на центральную нервную систему. Для пациентов с лямблиозом характерны эмоциональная лабильность, повышенная тревожность, утомляемость, головные боли [7, 73, 82]. В исследовании 124 детей с лямблиозом авторами было доказано, что лямблиоз у детей всегда вызывает формирование хронического дуоденита, в 55% случаев с лимфостазом, в 45% - с атрофией слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки; в 88% - развитием лактазной недостаточности, в 81% - функциональными расстройствами билиарной системы, и во всех случаях - нарушением микробиоценоза кишечника [73].

Нами при обследовании больных с Ц лямблиоз был выявлен в 34,3% случаев. Достоверно чаще лямблиоз встречался у больных с ЦТ (27 (79,4%) детей, против 7 (21,6%) при ЦА, ($p=0,0001$)), и с одинаковой частотой как у мальчиков (18 (53%)), так и у девочек (16 (47%)). Паразитоз протекал на фоне ХГД и ДБТ у 2/3 пациентов, у одного пациента с Ц была сочетанная глистная инвазия - описторхоз и лямблиоз. На снижение аппетита (22 (64,7%)), непереносимость молока (19 (55,8%)) жаловалось более половины детей с лямблиозом, с достоверной разницей в отличие от детей неинвазированных, чаще мальчики ($p=0,045$, $p=0,001$, соответственно), и в нашей выборке все дети с ЦА, $p=0,0001$ (таблица 49). Многочисленные исследования проблемы лямблиоза у детей свидетельствуют о том, что лямблии колонизируют верхние отделы тонкой

кишки, в особенности ДПК, нарушая структуру и функции ее слизистой оболочки. Лямблии способны поглощать питательные вещества и различные ферменты непосредственно из щеточной каемки и, следовательно, могут вмешиваться в процесс мембранного пищеварения и нарушать его [82].

Признаки мальдигестии в виде стеатореи смешанного типа превалировали в группе детей с Ц, инвазированных лямблиями, и преимущественно у мальчиков ($p=0,0001$), стеаторея первого типа была характерна пациентам без лямблиозной инвазии ($p=0,001$). У пациентов с Ц и лямблиозом ЗФР имели 70,6% больных, резистентны к терапии были 32,2% пациентов, что статистически значимо, чем в группе неинвазированных детей ($p=0,001$; $p=0,001$, соответственно), при этом достоверно чаще ЗФР и резистентность к патогенетической терапии отмечены у мальчиков: 11 (61,1%), $p_{3-4}=0,01$ и 6 (33,3%), $p=0,008$, соответственно. Практически у 1/3 пациентов с Ц, инвазированных лямблиями, отмечались кожные проявления атопии, преимущественно у мальчиков ($p=0,0001$).

Для Ц, как известно из данных литературных источников, характерны нарушения в психоэмоциональной сфере, лямблиозная инвазия также приносит изменения в неврологический статус больных. В группе детей с Ц, инвазированных лямблиями, наиболее частая жалоба была головная боль ($p=0,001$), особенно у девочек ($p=0,008$), и раздражительность ($p=0,002$), в отличие от детей без инвазии (таблица 49).

Следовательно, при длительности таких жалоб, как головная боль, раздражительность, а также отсутствии клинической компенсации заболевания на фоне БГД у пациентов с Ц необходимо исключать лямблиоз. Морфологическая картина биоптатов кишечника в группах сравниваемых детей с Ц достоверно не отличалась.

Исследования последних лет показали, что многие паразиты, как гельминты, так и простейшие, активно вмешиваются в функционирование иммунной системы хозяина. Факторы, выделяемые паразитами, могут вызывать сдвиг соотношения Th 1/Th 2 клеток в направлении, благоприятном для их выживания [65].

Клинико-лабораторная характеристика лямблиоза у больных целиакией (n, %)

Показатели	Группа без лямблиоза, (n=65), (%)	Группа с лямблиозом, (n=34), (%)	Группа с лямблиозом (n=34),%			
			Мальчики, (n=18), (%)	Девочки, (n=16), (%)	Целиакия типичная, (n=27), (%)	Целиакия атипичная, (n=7), (%)
			1	2	3	4
Снижение аппетита	30 (46,2)	22 (64,7) p ₁₋₂ =0,01	13 (72,2) p ₃₋₄ =0,045	9 (56,2)	14 (51,3)	7 (100) p ₅₋₆ =0,0001
Непереносимость молока	28 (43,1)	19 (55,8) p ₁₋₂ =0,06	8 (44,4) p ₃₋₄ =0,001	11 (68,7)	12 (44,4)	7 (100) p ₅₋₆ =0,0001
Неустойчивый характер стула	28 (43,1)	17 (50)	9 (50,0)	8 (50,0)	14 (51,8)	3 (42,8)
Стеаторея 1 типа	44 (67,8)	13 (38,2) p ₁₋₂ =0,001	11 (61,1)	10 (62,2)	8 (29,2)	5 (71,4) p ₅₋₆ =0,0001
Стеаторея смешанного типа	15 (23,1)	21 (61,7) p ₁₋₂ =0,001	5 (27,7) p ₃₋₄ =0,0001	9 (56,2)	13 (48,1)	6 (85,7) p ₅₋₆ =0,0001
ЗФР	33 (33,8)	24 (70,6) p ₁₋₂ =0,000	11 (61,1) p ₃₋₄ =0,01	13 (81,2)	17 (62,9)	7 (100) p ₅₋₆ =0,0001
Резистентная Ц	22 (12,3)	14 (38,2) p ₁₋₂ =0,001	6 (33,3) p ₃₋₄ =0,008	8 (50,0)	11 (40,7)	3(42,8)
Психоневрологические проявления						

Продолжение таблицы 49

Агрессивность	8 (12,3)	1 (2,9)	-	1 (6,2)	1 (3,7)	-
Головная боль	10 (15,4)	14 (38,2) $p_{1-2}=0,001$	6 (33,3)	8 (50,0) $p_{3-4}=0,008$	11 (40,7)	3 (42,8)
Раздражительность	9 (13,8)	11 (32,2) $p_{1-2}=0,002$	5 (27,7)	6 (37,5)	6 (22,2)	5 (71,4) $p_{5-6}=0,0001$
Морфологическая картина						
Марш 0	2 (3,1)	1 (2,9)	-	-	-	-
Марш 1-2	28 (43,1)	11 (32,3)	4 (22,2)	7 (43,7) $p_{3-4}=0,001$	8 (29,6)	3 (42,8) $p_{5-6}=0,03$
Марш 3a-3b	35 (53,8)	22 (64,4)	11 (61,1)	11 (68,7)	18 (66,6)	4 (57,1)

Примечание: p - достоверность различий при межгрупповом сравнении больных; % - по отношению к количеству анализируемого признака внутри групп больных

Проведена сравнительная оценка показателей гуморального иммунитета (таблица 50), содержания антиглиадиновых антител и цитокинового статуса (провоспалительных (IL-1 β , TNF- α , IFN- γ) и противовоспалительных цитокинов (IL-4, IL-10, IL-1Ra)) у пациентов с Ц в сочетании с лямблиозом (таблицы 51, 52).

Таблица 50

Особенности гуморально иммунитета сыворотки крови больных целиакией с лямблиозом, Me (Q₁-Q₃)

Показатели (г/л)	Контроль (г/л)	Целиакия		P
		с лямблиозом,(n=34)	без лямблиоза, (n= 65)	
	1	2	3	
Ig A до лечения	1,31 \pm 0,06	0,75 (0,55-2,02) p=0,691	0,56 (0,42-1,01) p=0,744	p ₁₋₂ =0,941 p ₁₋₃ =0,775 p ₂₋₃ =0,580
Ig A после лечения		1,18 (1,07-1,40)	1,18 (1,11-1,49)	p ₁₋₂ =0,933 p ₁₋₃ =0,779 p ₂₋₃ =0,751
Ig M до лечения	1,24 \pm 0,04	1,20 (1,00-1,30) p=0,573	1,20 (0,91-1,27) p=0,999	p ₁₋₂ =0,862 p ₁₋₃ =0,922 p ₂₋₃ =0,415
Ig M после лечения		1,243 (1,11-1,28)	1,24 (1,11-1,38)	p ₁₋₂ =0,984 p ₁₋₃ =0,962 p ₂₋₃ =0,915
Ig G до лечения	10,09 \pm 0,12	13,60 (10,64-20,60) p=0,036	14,45 (10,40-21,28) p=0,001	p ₁₋₂ =0,524 p ₁₋₃ =0,970 p ₂₋₃ =0,544
Ig G после лечения		10,18 (9,52-10,35)	10,18 (9,82-10,35)	p ₁₋₂ =0,464 p ₁₋₃ =0,977 p ₂₋₃ =0,726

Примечание: p - достоверность различия до и после лечения внутри группы; p₂₋₃ - достоверность различия при сравнении показателей групп целиакия с лямблиозом и целиакия без лямблиоза; p_{1-2,3} - достоверность различий при сравнении показателей групп целиакия с лямблиозом и целиакия без лямблиоза с группой контроля

Уровень сывороточных иммуноглобулинов у больных Ц, инфицированных лямблиями, не отличался от значений в группе детей, где Ц протекала без паразитарной инвазии (таблица 50). Следует отметить, что абсолютные значения Ig G были выше показателей в контрольной группе, и уровень его на фоне лечения достоверно снижался, как в группе детей с лямблиозной инвазией ($p=0,036$), так и без таковой ($p=0,001$).

Уровень АГА класса А достоверно не отличался в сравниваемых группах. После лечения значения АГА класса А снижались более значимо в группе детей без лямблиоза ($p=0,026$), (таблица 51).

Таблица 51

Характеристика уровня антиглиадиновых антител у больных целиакией с лямблиозом, Me (Q_1-Q_3)

Показатели (ед/мл)	Контроль (ед/мл)	Целиакия		P
		с лямблиозом, (n=34)	без лямблиоза, (n=65)	
	1	2	3	
АГА А до лечения	0-40*	13,35 (5,4-39,10) $p=0,734$	18,70 (9,60-50,60) $p=0,026$	$p_{1-2}=0,812$ $p_{1-3}=0,840$ $p_{2-3}=0,265$
АГА А после лечения		10,30 (3,30-45,00)	9,95 (3,25-34,00)	$p_{1-2}=0,629$ $p_{1-3}=0,944$ $p_{2-3}=0,582$
АГА G до лечения	0-40*	101,00 (67,60-265,00) $p=0,001$	101,80 (58,60-226,2) $p=0,001$	$p_{1-2}=0,022$ $p_{1-3}=0,034$ $p_{2-3}=0,911$
АГА G после лечения		33,85 (9,90-68,00)	24,20 (9,75-78,00)	$p_{1-2}=0,223$ $p_{1-3}=0,445$ $p_{2-3}=0,725$

Примечание: * - референтные значения; p - достоверность различия до и после лечения внутри группы; p_{2-3} - достоверность различия при сравнении показателей групп целиакия с лямблиозом и целиакия без лямблиоза; $p_{1-2,3}$ - достоверность различий при сравнении показателей группы контроля с группой целиакия с лямблиозом и целиакия без лямблиоза

Уровень АГА G был достоверно высоким в сравниваемых группах по отношению к референтным значениям ($p=0,022$, $p=0,034$, соответственно), и снижался после лечения без статистически значимой разницы между группой больных с лямблиозом и без инвазии. Уровни исследуемых цитокинов провоспалительных, также, как и противовоспалительных, в группах детей с целиакией и лямблиозом и без лямблиоза не отличались между собой. На фоне терапии отмечено снижение уровня IL-1 β , TNF- α , IL-4 и IL-1Ra в сравниваемых группах, кроме IL-10, уровень которого после лечения возрастал (таблица 52).

Таблица 52

Особенности цитокинового статуса сыворотки крови больных целиакией с лямблиозом и без лямблиоза до и после лечения, Me (Q₁-Q₃)

Показатель, пг/мл	Целиакия		P
	с лямблиозом, (n=25)	без лямблиоза, (n=51)	
	1	2	
IL-1 β до лечения	267,80 (58,23–453,20) $p^*=0,003$	210,15 (28,62–391,15) $p^*=0,006$	$p_{1-2}=0,982$
IL-4 до лечения	7,58 (0,22–38,1) $p^*=0,008$	23,59 (0,55–35,45) $p^*=0,003$	$p_{1-2}=0,841$
IL-4 после лечения	0,447 (0,16–14,86)	0,561 (0,361–18,00)	$p_{1-2}=0,804$
IL-10 до лечения	13,25 (0,81–218,51) $p^*=0,001$	15,20 (0,30–191,75) $p^*=0,001$	$p_{1-2}=0,393$
IL-10 после лечения	176,23 (72,7–738,03)	138,75 (65,89–552,66)	$p_{1-2}=0,288$
TNF- α до лечения	53,87 (20,8–137,33) $p^*=0,397$	43,11 (19,70–119,23) $p^*=0,042$	$p_{1-2}=0,932$

Продолжение таблицы 52

TNF- α после лечения	12,72 (0,652–153,21)	11,60 (0,66–72,50)	$p_{1-2}=0,432$
INF- γ до лечения	15,09 (0,619–50,00) $p^*=0,037$	12,79 (0,545–49,71) $p^*=0,143$	$p_{1-2}=0,677$
INF- γ после лечения	7,68 (0,052–15,19)	7,47 (0,063–13,18)	$p_{1-2}=0,476$
IL-1Ra до лечения	80,0 (11,80–441,09) $p^*=0,001$	78,43 (14,26–363,0) $p^*=0,001$	$p_{1-2}=0,626$
IL-1Ra после лечения	12,03 (0,64–70,3)	11,99 (0,25–56,08)	$p_{1-2}=0,719$

Примечание: p_{1-2} - достоверность различия при сравнении показателей групп целиакия с лямблиозом и целиакия без лямблиоза; p^* - достоверность различий до и после лечения внутри группы

IL-10 участвует в развитии гуморальной составляющей иммунного ответа, обуславливая и антипаразитарную защиту, и аллергическую реактивность организма [65,79]. Анализ данных морфометрии СОТК у обследованных нами пациентов с Ц ассоциированной с лямблиозом и без инвазии достоверных различий по толщине СОТК, высоте ворсинок, глубине крипт, соотношению ворсинка/крипта, выраженности инфильтрации МЭЛ в этих группах не выявил (приложение А, таблица 53).

Таким образом, у больных Ц в популяции детей Томской области лямблиоз выявлялся в 34,3 % случаев, это противоречит встречающемуся в литературе суждению, что у детей с Ц в связи с понижением уровня пристеночного пищеварения лямблиоз наблюдается крайне редко [82]. Лямблиоз наблюдался преимущественно при ЦТ. У детей с Ц, инвазированных лямблиями, достоверно чаще отмечается снижение аппетита, ЗФР, резистентность к терапии, стеаторея смешанного типа (преимущественно у мальчиков) и головная боль

(преимущественно у девочек). На фоне лечения значения АГА класса А быстрее приходили к норме в группе детей без лямблиоза ($p=0,026$). Не выявлено значимых различий в продукции как провоспалительных, так и противовоспалительных цитокинов в группе детей с Ц в сочетании с лямблиозом и без инвазии.

3.3.3. Особенности течения целиакии в сочетании с атопическим дерматитом

Наиболее частый вариант поражения кожных покровов у наблюдаемых нами больных с Ц - атопический дерматит, которым страдали 16,1% детей (по данным Ревновой М.О., 1998 – в 60% случаев), из них 88% с ЦТ.

Проанализированы анамнестические и клинические данные больных Ц, у которых были проявления АД (приложение А, таблица 54). Атопический дерматит чаще регистрировался при ЦТ (у 14 (21,5%) детей), соотношение мальчиков и девочек было 1:1. Дети с Ц в сочетании с АД дольше находились на естественном вскармливании ($7,5\pm 1,0$ мес. против $6,09\pm 0,61$ мес. в группе детей без АД в анамнезе), и им позже были введены прикормы ($p=0,029$). Очевидно, с этим связана и выявленная тенденция к более поздней постановке диагноза Ц ($7,56\pm 1,5$ лет и $6,36\pm 0,5$ лет в общей группе). У детей с ЦТ в сочетании с АД и без такового частота частота лямблиоза, ЗФР достоверно не отличались.

Анализ значений сывороточных иммуноглобулинов в сравниваемых группах выявил низкое содержание Ig A ($0,55$ ($0,54-0,75$) г/л и $0,65$ ($0,45-1,60$), соответственно), достоверное отличие получено относительно референтных значений с группой детей без проявлений атопического дерматита, ($p=0,015$); возможно это связано с большей выборкой (таблица 55). При этом после лечения у пациентов с Ц, ассоциированной с лямблиозом, уровень Ig A оставался низким по сравнению с группой детей без атопии, ($p=0,039$). Содержание сывороточного Ig M также было низким по сравнению с группой детей без проявлениями атопии, как до лечения, так и после ($p=0,022$, $p=0,023$, соответственно). Значения

сывороточного Ig G в абсолютных значениях были выше контрольных в сравниваемых группах, но без достоверной разницы. На фоне лечения отмечено статистически значимое снижение Ig G в сравниваемых группах.

Таблица 55

Особенности гуморального звена иммунитета сыворотки крови больных целиакией с атопическим дерматитом, Me (Q₁-Q₃)

Показатели (г/л)	Контроль (г/л), (n=20)	Целиакия		p
		с атопическим дерматитом, (n=14)	без атопического дерматита, (n=81)	
		1	2	
IgA до лечения	1,31±0,06	0,55 (0,54-0,75) p*=0,868	0,65 (0,45-1,60) p*=0,984	p ₁₋₂ =0,963 p ₁₋₃ =0,015 p ₂₋₃ =0,920
IgA после лечения		1,10 (1,07-1,10)	1,18 (1,11-1,49)	p ₁₋₂ =0,983 p ₁₋₃ =0,872 p ₂₋₃ =0,039
I M до лечения	1,24±0,04	1,15 (0,98-1,87) p*=0,316	1,20 (0,93-1,25) p*=0,742	p ₁₋₂ =0,727 p ₁₋₃ =0,125 p ₂₋₃ =0,022
Ig M после лечения		1,11 (1,11-1,12)	1,24 (1,11-1,38)	p ₁₋₂ =0,983 p ₁₋₃ =0,842 p ₂₋₃ =0,023
IgG до лечения	10,09±0,12	13,75 (11,50-21,40) p*=0,054	14,40 (10,50-20,60) p*=0,001	p ₁₋₂ =0,473 p ₁₋₃ =0,297 p ₂₋₃ =0,952
IgG после лечения		9,82 (9,52-9,82)	10,18 (9,82-10,35)	p ₁₋₂ =0,487 p ₁₋₃ =0,904 p ₂₋₃ =0,014

Примечание: АД - атопический дерматит; p* - достоверность различия показателей внутри группы; p₂₋₃ - достоверность различия показателей групп Ц с АД и Ц без АД; p₁₋₂ - достоверность различий показателей групп Ц с АД с группой контроля; p₁₋₃ - достоверность различий при сравнении показателей Ц без АД с группой контроля

Уровень АГА класса G в сравниваемых группах был выше референтных значений ($p=0,02$), на фоне лечения отмечено статистически значимое снижение уровня АГА G у детей с Ц, как с проявлениями атопического дерматита, так и без такового (таблица 56).

Таблица 56

Уровень антиглиадиновых антител в сыворотке крови больных целиакией с атопическим дерматитом, Me (Q_1-Q_3)

Показатели (ед/мл)	Контроль (ед/мл)	Целиакия		P
		с атопическим дерматитом, (n=16)	без атопического дерматита, (n=83)	
		1	2	
АГА А до лечения	0-40*	12,30 (5,3-27,05) $p^*=0,741$	16,60 (5,70-38,60) $p^*=0,032$	$p_{1-2}=0,984$ $p_{1-3}=0,893$ $p_{2-3}=0,276$
АГА А после лечения		6,55 (2,15-28,60)	10,90 (3,30-43,00)	$p_{1-2}=0,659$ $p_{1-3}=0,899$ $p_{2-3}=0,833$
АГА G до лечения	0-40*	92,00 (52,65-229,10) $p^*=0,006$	101,80 (51,40-222,7) $p^*=0,001$	$p_{1-2}=0,021$ $p_{1-3}=0,020$ $p_{2-3}=0,731$
АГА G после лечения		30,70 (9,10-57,75)	35,70 (9,10-75,00)	$p_{1-2}=0,194$ $p_{1-3}=0,428$ $p_{2-3}=0,263$

Примечание: АГА - антиглиадиновые антитела; * - референтные значения; p^* – достоверные различия внутри группы до и после лечения; $p_{1-2,3}$ - достоверность различий при сравнении показателей групп целиакия с АД и целиакия без АД с группой контроля; p_{2-3} - достоверность различия при сравнении показателей групп целиакия с АД и целиакия без АД

В дальнейшем был изучен цитокиновый статус 14 детей больных Ц, у которых было указание на АД. Уровни про- и противовоспалительных цитокинов у детей с Ц в сочетании с АД не отличались от значений в группе детей с Ц без

АД. Статистически значимых отличий по уровню как провоспалительных цитокинов, так и противовоспалительных цитокинов в сравниваемых группах не получено (таблица 57).

Таблица 57

Особенности цитокинового статуса сыворотки крови больных целиакией с атопическим дерматитом, Ме (Q₁-Q₃)

Показатель, пг/мл	Целиакия		p
	с атопическим дерматитом, (n=14)	без атопического дерматита, (n=62)	
	1	2	
IL-1β	254,85 (94,79–307,80)	260,46 (100,28–350,45)	p ₁₋₂ =0,551
IL-4	13,59 (0,25–32,99)	6,1 (0,51–39,83)	p ₁₋₂ =0,156
IL-10	12,10 (0,58–210,40) p=0,260	16,10 (1,43–190,25) p*=0,001	p ₁₋₂ =0,557
TNF-α	37,76 (16,3–107,02)	49,39 (21,25–141,66)	p ₁₋₂ =0,273
IFN-γ	18,12 (0,85–57,60)	12,79 (0,56–49,43)	p ₁₋₂ =0,624
IL-1Ra	85,98 (11,87–269,00)	104,89 (18,68–435,3)	p ₁₋₂ =0,525

Примечание: p₁₋₂ - достоверность различия при сравнении показателей целиакия с АД и целиакия без АД

Однако в динамике на фоне БГД отмечено снижение уровня IL-1β, IL-4, IL-1Ra, в то время как IL-10 в сравниваемых группах повышался более значимо в группе детей без АД (94 (70,08–586,42) и 128 (60,45–780,24) пг/мл, (p=0,001)). Достоверных отличий в уровне других цитокинов после лечения у больных Ц с АД и без АД не получено, в связи с этим данные не приводятся.

Повышение уровня IL-10 носит компенсаторный характер и отражает усиление регенераторно-восстановительных процессов в СОТК на фоне БГД, с другой стороны повышение IL-10 приводит к угнетению продукции IFN- γ . В нашем исследовании уровень IFN- γ был низким, что, в свою очередь, способствует развитию направленности иммунного ответа по Th2 пути, и приводит к повышенному антителообразованию, в том числе IgE, снижению противоинфекционной защиты.

В группе детей с Ц уровень общего IgE составил 49,00 (24,37–132,0) МЕ/мл, у детей с ЦТ - 24,37 (20,0–49,0) МЕ/мл, при ЦА - 101,00 (50,0–148,0) МЕ/мл, соответственно, ($p=0,01$).

Морфометрические показатели биоптата СОТК пациентов с Ц и АД не отличались от больных, не имевших АД в анамнезе (приложение А, таблица 58). На БГД отмечено нивелирование кожных проявлений у детей с Ц и АД.

Таким образом, АД регистрировался в 16,1% больных Ц, преимущественно с ЦТ. Дети с Ц в сочетании с АД позже получали прикормы ($p=0,029$), диагноз Ц устанавливался у них позднее, чем в группе детей с Ц без АД. Значение сывороточного IgA на фоне лечения оставался низким у больных Ц с проявлениями АД, по сравнению с группой детей без АД, ($p=0,039$), так же, как и IgM ($p=0,023$).

Уровень IgG у больных с Ц, имеющих указание на АД, статистически значимо снижался на фоне проводимой терапии и был ниже по сравнению с больными Ц без АД, $p=0,014$. Следовательно, у пациентов с Ц, ассоциированной с АД, имеют место нарушения в системе гуморального звена иммунитета. Уровень АГА не отличался в группах детей с проявлением АД и без такового. Не выявлен дисбаланс в системе про- и противовоспалительных цитокинов у больных с Ц в сочетании с АД. Назначение терапии Ц в виде диеты приводило к исчезновению клинических проявления АД.

3.4. Целиакия у детей, рожденных с задержкой внутриутробного развития, особенности течения

Среди детей с Ц 17 (17,1%) больных (6 мальчиков и 11 девочек) были рождены с задержкой внутриутробного развития (ЗВУР). Были проанализированы особенности течения Ц у детей, рожденных с ЗВУР и выяснено, что среди них в 2 раза чаще регистрировалась ЦТ. Манифестация Ц отмечалась в более ранние сроки у детей, имевших в анамнезе указания на ЗВУР ($p=0,004$), (приложение А, таблица 59). Диагноз у всех пациентов с ЗВУР установлен раньше, чем в общей группе детей ($p=0,05$), что возможно объясняется манифестным началом заболевания.

Естественное вскармливание у детей с ЗВУР было менее продолжительным ($3,9\pm 1,0$ мес), ($p=0,05$), глютенсодержащий прикорм вводился позднее ($p=0,025$). Рост ниже 5 перцентиля в группе детей с указанием на ЗВУР имели 10 (58,8%) детей, БЭН имело место у 15 (88,2%) больных, и преимущественно среди мальчиков с ЗВУР ($p=0,05$). Резистентность к терапии спустя 2 года с момента назначения БГД наблюдалась преимущественно среди мальчиков ($p=0,001$) и достоверно чаще в группе детей с ЗВУР ($p=0,001$). До постановки диагноза Ц пациенты наблюдались по поводу гипотрофии (70%) и субкомпенсированного дисбактериоза кишечника (30%).

Характеристика сопутствующей патологии и диспепсических жалоб у детей с Ц, имеющих указание на задержку внутриутробного развития в анамнезе, представлена в таблице 60. Такие проявления энтерального синдрома, как метеоризм, изменение характера стула, а также наличие лактазной недостаточности, пищевой аллергии, клинические проявления рахита, анемия достоверно чаще диагностировались в группе больных с ЗВУР.

Морфометрические показатели пациентов ($n=17$) анализируемой группы не отличались от показателей больных, не имевших ЗВУР в анамнезе. Сравнительный анализ показателей больных с Ц, имеющих указание на ЗВУР, до и после лечения выявил слабовыраженную положительную динамику на фоне

соблюдения БГД в течение 1 года: сокращалась интенсивность воспалительной инфильтрации ($p=0,033$), хотя и не достигала нормальных значений при контрольном обследовании; остальные параметры указывали на отсутствие компенсации воспалительного процесса на СОТК (таблица 61).

Таблица 60

Характеристика детей с целиакией, имеющих указание на задержку внутриутробного развития в анамнезе, (n), (%)

Показатели	Целиакия без ЗВУР, (n=82)	Целиакия с ЗВУР, (n=17)	Целиакия типичная с ЗВУР, (n=12), (%)	Целиакия атипичная без ЗВУР, (n=5), (%)	Мальчики (n=6), (%)	Девочки (n=11), (%)
	1	2	3	4	5	6
Анемия	23 (28,0)	12 (70,6) $p_{1-2}=0,001$	7 (58,3)	5 (100,0)	4 (66,7)	8 (72,7)
Лактазная недостаточность	16 (19,5)	15 (88,2) $p_{1-2}=0,001$	10 (83,3)	5 (100,0)	6 (100,0)	9 (81,8)
Пищевая аллергия	18 (18,1)	12 (70,6) $p_{1-2}=0,001$	8 (66,6)	4 (80,0)	4 (66,7)	8 (72,7)
Рахит	12 (14,6)	12 (70,6) $p_{1-2}=0,001$	7 (58,3)	5 (100,0)	4 (66,7)	8 (72,7)
Снижение аппетита	56 (68,2)	11 (64,7)	7 (58,3)	4 (80,0)	5 (83,3)	6 (66,7)
Метеоризм	26 (31,7)	12 (70,6) $p_{1-2}=0,001$	10 (83,3)	2 (40,0)	4 (66,7)	8 (72,7)
Кратность стула	$2,9\pm 0,3$	$3,2\pm 0,6$	$4,0\pm 0,7$ $p_{3-4}=0,01$	$1,2\pm 0,2$	$4,3\pm 0,9$	$2,5\pm 0,6$

Примечание: p_{1-2} - достоверность различий между группой больных целиакией без ЗВУР и группой пациентов, имевших в анамнезе указания на ЗВУР; (%) - % (процент) по отношению к общему количеству анализируемого признака

Больные Ц, в анамнезе которых есть указание на ЗВУР, имели низкие значения сывороточного Ig A по сравнению с группой контроля (таблица 62). Не исключено, что определенный вклад в развитие супрессии гуморального

иммунитета вносит неблагоприятное течение перинатального периода, это в свою очередь влияет и на становление мукозального иммунитета.

Таблица 61

Основные морфометрические показатели у детей с задержкой
внутриутробного развития, Me (Q₁-Q₃)

Показатель	Группа детей без ЗВУР до лечения, (n= 82)	Группа детей без ЗВУР после лечения, (n=82)	Пациенты с ЗВУР до лечения, (n=17)	Пациенты с ЗВУР после лечения, (n=17)
	1	2	3	4
Толщина СОТК (мкм)	537,44 (494,21-580,1)	547,40 (522,0-593,11)	539,12 (500,33-577,0)	577,44 (522,0-591,0)
Высота ворсинок (мкм)	285,62 (180,44-403,0)	343,03 (255,0-408,0)	272,06 (168,0-382,0)	377,6 (214,0-405,2)
Глубина крипт (мкм)	248,11 (152,0-346,0)	206,2 (112,0-303,0)	266,22 (156,0-342,0)	222,17 (134,22-320,11)
Количество МЭЛ (%)	56,41 (45,22-63,0)	42,63 (33,22-60,11)	57,9 (49,3-75,2) p ₃₋₄ =0,033	45,13 (32,33-66,23)
Соотношение ворсинка/крипта	0,81 (0,55-2,06)	1,94 (0,88-2,11)	1,01 (0,44-2,0)	1,92 (0,63-2,1)

Примечание: p₂₋₄ - достоверность различий между группой детей без ЗВУР и группой больных с ЗВУР после лечения; p₃₋₄ - достоверность различий в группе больных с ЗВУР до назначения БГД и на фоне соблюдения БГД в течение 1 года

Таблица 62

Особенности гуморального звена иммунитета у больных целиакией
с указанием на задержку внутриутробного развития в анамнезе, (n, %)

Показатели (г/л)	Контроль (г/л)	Целиакия		p
		Группа детей с ЗВУР, (n=17)	Группа детей без ЗВУР, (n=78)	
	1	2	3	
IgA до лечения	1,31±0,06	0,50 (0,30-1,00)	0,65 (0,40-1,14)	p ₁₋₂ =0,048

Продолжение таблицы 62

IgA после лечения	1,31±0,06	1,00 (0,64-1,00)	0,56 (0,20-1,53)	-
IgM до лечения	1,24±0,04	1,13 (0,90-1,20)	1,20 (1,03-1,40)	-
IgM после лечения		1,20 (0,70-1,20)	1,20 (1,08-2,08)	-
IgG до лечения	10,09±0,12	9,10 (6,70-12,50)	14,60 (10,64-21,68)	p ₁₋₃ =0,054
IgG после лечения		9,40 (7,40-10,60)	11,02 (8,00-14,40)	-

Примечание: p₂₋₃ - достоверность различия при сравнении показателей групп целиакия с ЗВУР и целиакия без ЗВУР; p_{1-2,3} - достоверность различий при сравнении показателей группы целиакия с ЗВУР и группы целиакия без ЗВУР с группой контроля

Значения АГА у детей с Ц, имеющих ЗВУР в анамнезе, не отличались от значений в группе детей с Ц без ЗВУР, уровень АГА класса G в сравниваемых группах был повышен относительно референтных значений (p=0,007; p=0,008, соответственно), (таблица 63).

На фоне соблюдения пациентами БГД спустя 6 месяцев терапии показатели АГА класса G снижались в обеих группах.

Таблица 63

Уровень антиглиадиновых антител у больных целиакией с указанием на задержку внутриутробного развития в анамнезе, (n, %)

Показатели (ед/мл)	Референтные значения (ед/мл)	Целиакия		p
		Группа детей с ЗВУР, (n=17)	Группа детей без ЗВУР, (n=82)	
	1	2	3	
АГА А до лечения	0-40*	16,30 (4,7-30,80)	17,60 (7,30-36,20)	p ₁₋₂ =0,577 p ₁₋₃ =0,606 p ₂₋₃ =0,861
АГА А после лечения		6,80 (1,80-39,80)	11,10 (3,40-45,00)	p ₁₋₂ =0,960 p ₁₋₃ =0,764 p ₂₋₃ =0,515

Продолжение таблицы 63

АГА G до лечения	0-40*	85,40 (46,70-187,40) p=0,052	114,20 (67,60-226,20)	p ₁₋₂ =0,007 p ₁₋₃ =0,008 p ₂₋₃ =0,921
АГА G после лечения		36,70 (5,80-99,30)	32,00 (9,90-75,00)	p ₁₋₂ =0,349 p ₁₋₃ =0,837 p ₂₋₃ =0,629

Примечание: * - референтные значения уровня антител к глютену; p - достоверность отличия показателей внутри группы до и после лечения; p₁₋₂; p₁₋₃ - достоверность различий показателей детей с ЗВУР и без ЗВУР с референтными значениями; p₂₋₃ - достоверность различий между группой детей без ЗВУР и группой больных, имеющих указание на ЗВУР в анамнезе

Цитокиновый статус изучен у 76 детей с Ц. В дальнейшем проанализирован уровень цитокинов сыворотки крови 17 детей с Ц, в анамнезе которых было указание на ЗВУР при рождении. Содержание провоспалительных цитокинов IL-1 β , TNF- α оказалось выше у детей с ЗВУР (p=0,031 и p=0,020, соответственно), концентрация противовоспалительных цитокинов IL-10, IL-1Ra также была выше у пациентов, имеющих в анамнезе ЗВУР (таблица 64). В динамике значимо уменьшался уровень провоспалительных цитокинов IL-1 β , TNF- α . Содержание противовоспалительных цитокинов - антагониста рецептора IL-1, IL-4, также снижалось (таблица 64).

Таблица 64

Характеристика цитокинового статуса у больных целиакией с указанием на задержку внутриутробного развития в анамнезе, (X \pm m)

Показатель, пг/мл	Целиакия		p
	Дети с ЗВУР, (n=17)	Дети без ЗВУР, (n=59)	
	1	2	
IL-1 β до лечения	251,90 (45,11-453,20) p=0,001	144,80 (24,79-322,12) p=0,029	p ₁₋₂ =0,031
IL-1 β после лечения	20,04 (0,36-72,01)	16,86 (0,12-43,12)	p ₁₋₂ =0,862
TNF- α до лечения	77,18 (23,56-217,5)	48,23 (15,26-123,87) p=0,012	p ₁₋₂ =0,020

Продолжение таблицы 64

TNF- α после лечения	32,87 (0,47–178,30)	12,01 (0,65–65,11)	$p_{1-2}=0,074$
IL-4 до лечения	4,07 (0,25–39,0) $p=0,001$	12,77 (0,48–35,03) $p=0,001$	$p_{1-2}=0,737$
IL-4 после лечения	0,34 (0,18–11,01)	0,56 (0,35–21,0)	$p_{1-2}=0,376$
IL-10 до лечения	7,6 (0,20–219,34)	15,0 (0,78–237,90)	$p_{1-2}=0,009$
IL-10 после лечения	183,90 (98,01–730,60)	172,01 (69,21–553,10)	$p_{1-2}=0,261$
INF- γ до лечения	11,12 (0,89–59,02)	13,11 (0,45–49,50)	$p_{1-2}=0,399$
INF- γ после лечения	3,90 (0,05–15,14)	8,75 (0,06–10,07)	$p_{1-2}=0,908$
IL-1Ra до лечения	141,01 (14,04–444,09) $p=0,001$	65,55 (11,17–368,3)	$p_{1-2}=0,004$
IL-1Ra после лечения	12,06 (0,25–67,11)	13,25 (0,13–75,01)	$p_{1-2}=0,744$

Примечание: p - достоверность различия внутри групп до и после лечения; p_{1-2} - достоверность различия при сравнении показателей групп целиакия с ЗВУР и целиакия без ЗВУР

Из группы детей с Ц (17 больных), в анамнезе которых было указание на ЗВУР, 11 пациентам проведено HLA-типирование. Наследование патологических гаплотипов и аллелей HLA-системы (DQA1*501*201), отвечающих за предрасположенность к заболеванию, отмечено у всех детей данной группы (100%) и не зависело от течения перинатального периода.

Таким образом, дети с Ц, имеющие указание на ЗВУР в анамнезе, имели раннюю классическую клиническую картину при манифестации и высокую частоту дефицитных состояний, что, вероятно, связано с выраженностью цитокинового воспаления, снижением Ig A.

3.5. Макро- и микроэлементный состав сыворотки крови у больных целиакией

Одним из этапов исследования было определение количественного содержания кальция (Ca) и 5 микроэлементов: хрома (Cr), железа (Fe), кобальта (Co), цинка (Zn), селена (Se) в сыворотке крови у 22 пациентов с Ц (таблица 65). Некоторые эссенциальные микроэлементы являются одновременно и иммунонутриентами. К иммунонутриентам, действие которых подтверждено клиническими и экспериментальными исследованиями, в настоящее время относят железо, цинк, селен. Определяющим фактором в реализации нормального иммунного ответа является адекватное поступление в организм всех необходимых микроэлементов, витаминов и других нутриентов [162].

Пациенты с Ц составляют группу риска по развитию остеопороза с уровнем доказательности А [176]. В результате анализа установлены следующие изменения. В группе больных Ц (22 человека) исходно выявлено низкое содержание кальция 38,64 (35,0-43,0) мг/кг по сравнению с группой контроля: $68,5 \pm 0,38$ мг/кг ($p=0,002$), (таблица 65). Другой жизненно важный микроэлемент – хром. Содержание хрома у больных с Ц статистически значимо отличалось от показателей группы контроля: 0,20 (0,20-0,20) мг/кг и $1,07 \pm 0,4$ мг/кг, соответственно, ($p=0,0001$). Хром участвует в регуляции синтеза жиров, в регуляции работы сердечной мышцы, входит в состав низкомолекулярного органического комплекса – фактора толерантности к глюкозе, обеспечивающего нормальный ее уровень в крови.

В группе обследованных детей с Ц имел место дефицит железа ($p=0,0001$), низкий уровень кобальта ($p=0,039$) по сравнению с группой контроля. Установлено в ряде исследований влияние недостатка железа на функцию иммунокомпетентных клеток. Недостаток железа снижает активность рибонуклеотид-редуктазы и соответственно синтез ДНК, что является фактором, снижающим скорость клеточной пролиферации [248]. В состав молекулы цианкобаламина входит кобальт, данный микроэлемент активно участвует в

ферментативных процессах образования гормонов щитовидной железы и гемопоэзе.

Таблица 65

Содержание жизненно необходимых элементов в сыворотке крови у больных целиакией, Me (Q₁-Q₃)

Элемент, мг/кг	Пациенты с целиакией, (n=22)	Контрольная группа, (мг/кг), (n=68) [140]	p
	1	2	
Ca	38,64 (35,0-43,0)	68,5±0,38	p ₁₋₂ =0,002
Cr	0,20 (0,20-0,20)	1,07±0,4	p ₁₋₂ =0,0001
Fe	2381,81 (2100,0-2500,0)	3280±127	p ₁₋₂ =0,0001
Co	0,033 (0,014-0,05)	0,046±0,004	p ₁₋₂ =0,039
Zn	29,24 (20,6-30,0)	16,2±1,1	p ₁₋₂ =0,0001
Se	1,60 (1,4-1,8)	0,6±0,02	p ₁₋₂ =0,003

Примечание: p - достоверность различий показателей больных целиакией по сравнению с контрольной группой

Уровень цинка 29,24 (20,6-30,0) мг/кг был достоверно выше показателей контрольной группы: 16,2±1,1 мг/кг, p=0,0001. Известно, что дефицит цинка снижает уровень Т- и В-клеток периферической крови и вызывает нарушение их функции, в виде снижения уровня продуцируемых ими цитокинов, в частности, γ -интерферона, в димеризации которого цинк играет ключевую роль.

Выявлена высокая концентрация селена у больных Ц ($p=0,003$). Биохимическая функция селена – участие в построении и функционировании основных антиоксидантных соединений (глутатионпероксидазы, глицинредуктазы и цитохрома). Недостаток селена способствует продукции провоспалительных эйкозаноидов и предрасполагает к более тяжелому течению воспалительных заболеваний [193]. В исследовании обращает на себя внимание низкое исходное содержание кальция, железа, хрома и кобальта у больных Ц, что связано с СМА. Высокая концентрация цинка и селена у пациентов с Ц в сравнении с группой контроля и нормами, предложенными Скальным А.В. [138], объясняется особенностями проживания на территории отдельных районов промышленного города, с формированием на этих территориях особых геоэкологических зон с высоким уровнем определенных микроэлементов, для г. Томска – цинка и селена [140].

Таким образом, у детей с Ц выявлено снижение кальция и ряда микроэлементов, что связано с синдромом мальабсорбции, повышенное содержание цинка и селена в обследованной группе детей с целиакией обусловлено местом проживания, что важно учитывать при проведении реабилитационных мероприятий.

3.6. Ремоделирование костной ткани при целиакии

Снижение минерализации костной ткани у больных Ц развивается как результат нарушенного кишечного всасывания. Существенными факторами, влияющими на минеральную плотность кости при Ц, являются возраст установления диагноза, длительность БГД и уровень физической активности [8, 314].

В исследовании показано, что снижение минеральной плотности кости у пациентов с Ц идет параллельно с отставанием костного возраста. Описаны клинические проявления, которые имеют место при нарушении минеральной плотности костной ткани, это боли в костях, иногда мучительные, резистентные к

терапии [114]. Все больные с остеопорозом должны подвергаться серологическому скринингу на Ц, даже если у них нет признаков дефицита кальция и витамина Д [114].

В нашем исследовании боли в костях чаще регистрировались у пациентов с ЦТ ($p=0,001$), проявления рахита, кариес с одинаковой частотой встречались при ЦТ и ЦА, нарушение осанки чаще выявлялось среди больных с ЦА ($p=0,001$), (таблица 66).

Таблица 66

Характеристика данных, указывающих на наличие дефицита минерала у детей с целиакией, (n, %)

Показатели	Общая группа, (n=99), (%)	Мальчики, (n=49), (%)	Девочки, (n=50), (%)	Целиакия типичная, (n=65), (%)	Целиакия атипичная, (n=34), (%)
	1	2	3	4	5
Боли в костях	9 (9,1)	4 (8,2)	5 (10,0)	8 (12,3) $p_{4-5}=0,001$	1 (2,9)
Проявления рахита	65 (65,7)	29 (59,2)	36 (72,0)	41 (63,1)	24 (70,6)
Кариес	50 (50,5)	26 (53,1)	24 (48,0)	32 (49,2)	18 (52,9)
Нарушение осанки	35 (35,4)	20 (40,8)	15 (34,0)	10 (15,4)	25 (73,5) $p_{4-5}=0,001$
Сколиоз	3 (3,0)	2 (4,1)	1 (2,0)	1 (1,5)	2 (5,9)
Гипокальциемия *	18 (16,2)	7 (10,2)	11 (22,0) $p_{2-3}=0,049$	11 (16,9)	5 (14,7)
Гипофосфатемия *	22 (22,2)	9 (18,4)	13 (26,0)	15 (23,1)	7 (20,6)
Снижение МПКТ	37 (37,4)	22 (44,9) $p_{2-3}=0,01$	15 (30,0)	25 (38,5)	12 (35,3)

Примечание: % - по отношению к количеству анализируемого признака внутри групп больных по сравнению к общему количеству пациентов в этих группах; p - достоверность различий; p_{2-3} - достоверность различий между мальчиками и девочками; p_{4-5} - достоверность различий между целиакией типичной и атипичной; * - по данным биохимического анализа крови

Гипокальциемия была свойственна девочкам ($p=0,049$), возможно, здесь сыграла роль небольшая выборка пациентов, в то время как снижение МПКТ достоверно чаще наблюдалось у мальчиков (22 (44,9%) против 15 (30,0%) у девочек), ($p_{2-3}=0,01$).

В последующем нами была проведена оценка параметров ремоделирования костной ткани, а также состояния систем ее контроля у детей с целиакией. Обследование больных Ц осуществлялось на базе ФГБУ НИИ медицинской генетики СО РАМН, ОГАУЗ «Детская больница №1» г. Томска, детского отделения ФГБУН НИИ курортологии и физиотерапии ФМБА России. Инструментальные и биохимические методы исследования проводились на базе ГБОУ ВПО СибГМУ МЗ России.

Нами была сформирована группа больных Ц (37 человек (37%)), которые по данным денситометрии имели снижение показателей МПКТ (Z -score менее -2) для данного возраста и пола, с коррекцией при низком росте). Все пациенты со сниженной МПКТ с Ц находились в стадии клинко-иммунологической ремиссии по основному заболеванию не менее 6 месяцев. Контрольную группу составили 152 ребенка с нормальными показателями физического развития и минеральной плотности костной ткани (таблица 67).

Из обследованных 37 детей у 25 (68%) больных установлена ЦТ, у 12 (32%) пациентов – ЦА. Мальчиков было 22, девочек – 15 человек. Средний возраст больных - $9,7\pm 0,6$. ИМТ составил $14,8\pm 0,5$.

Таблица 67

Характеристика детей с целиакией со сниженной МПКТ по полу и возрасту

Показатель	Всего			Девочки			Мальчики		
	n	%	возраст	n	%	возраст	n	%	возраст
Целиакия	37	9,2	$9,7\pm 0,3$	15	6,9	$9,5\pm 0,4$	22	11,8	$9,9\pm 0,4$
Контроль	152	37,7	$12,4\pm 0,3$	96	44,2	$12,7\pm 0,3$	56	30,1	$12,1\pm 0,3$

Анализ показателей кальций-фосфорного обмена у детей с Ц установил следующие изменения: повышенную экскрецию кальция в утренней моче,

повышение соотношения кальция к креатинину, что указывало на избыточное выделение кальция из организма (таблица 68).

Таблица 68

Показатели кальций-фосфорного обмена у детей с целиакией, $X \pm Sx$
(среднее \pm стандартное отклонение)

Группы	Фосфор			Кальций		
	сыворотки крови, ммоль/л	утренней порции мочи ммоль/л	мочи, ммоль/ммоль креатинина	сыворотки крови, ммоль/л	утренней порции мочи ммоль/л	мочи, ммоль/ммоль креатинина
Целиакия, (n=37)	1,35 \pm 0,04	25,71 \pm 4,30	5,87 \pm 1,78	2,23 \pm 0,03	3,55 \pm 0,39*	1,03 \pm 0,17*
Контрольная группа, (n=152)	1,33 \pm 0,02	18,43 \pm 1,19	4,43 \pm 0,26	2,20 \pm 0,01	2,84 \pm 0,18	0,77 \pm 0,06

Примечание: * – статистическая значимость различия показателей по сравнению с контрольной группой, $p < 0,05$

Проведенный анализ показал, что в группе детей со сниженной МПКТ на фоне Ц показатели системы остеосинтеза характеризовались следующим: уровень остеокальцина (84,43 \pm 9,67) нг/мл не отличался от значений группы контроля (115,74 \pm 22,74) нг/мл, значения активности костного изофермента щелочной фосфатазы (260,95 \pm 12,11) Е/л были статистически значимо выше в группе детей с Ц (таблица 69).

Система резорбции характеризовалась следующим. Выявлены высокие показатели концентрации продуктов деградации коллагена (С-концевые телопептиды) у больных с Ц со сниженной МПКТ (1,62 \pm 0,22 нг/мл) по сравнению с показателями детей контрольной группы (0,88 \pm 0,20 нг/мл), ($p < 0,05$), (таблица 69). Повышенная концентрация указывает на активность процессов остеорезорбции.

Показатели костного метаболизма у детей с целиакией и нарушением
МПКТ, $X \pm S_x$ (среднее \pm стандартное отклонение)

Группы	Остеокальцин нг/мл	Костная щелочная фосфатаза, Е/л	С-концевые телопептиды коллагена 1 типа, нг/мл	Тартрат- резистентная кислая фосфатаза, моль/с·л
Целиакия, (n=37)	84,43 \pm 15,67	260,95 \pm 32,11*	1,62 \pm 0,22*	176,96 \pm 15,55
Контрольная группа, (n=152)	115,74 \pm 22,74	226,50 \pm 25,15	0,88 \pm 0,20	192,72 \pm 37,76

Примечание: * – статистическая значимость различия показателей по сравнению с группой практически здоровых детей и подростков, $p < 0,05$

Пациентам с Ц и сниженной МПКТ были разработаны реабилитационные мероприятия. Рекомендации включали коррекцию рациона питания с оптимальным соотношением минералов и витамина Д; для устранения дефицита кальция прием фармакологического препарата карбоната кальция с витамином Д₃ (Кальций Д₃ Никомед, Норвегия) с учетом потребляемого пищевого кальция, также рекомендации по оптимизации двигательной активности и подбор индивидуальных комплексов лечебной физкультуры.

Оценку эффективности проведенных мероприятий и приема карбоната кальция и с витамином Д₃ проводили через 6 месяцев (таблица 70). Больные с Ц потребляли пищевой кальций меньше по сравнению с контрольной группой, ($p < 0,05$). Потребления кальция с продуктами питания пациентами с Ц в динамике наблюдения не возросло. При оценке основных параметров ремоделирования костной ткани отмечена стабилизация процессов костного метаболизма.

Статистически значимо повысился уровень КЩФ, остеокальцина и отмечено снижение уровня С-концевых телопептидов коллагена I типа (таблица 70).

Таблица 70

Показатели кальций-фосфорного обмена у детей с целиакией на фоне приема карбоната кальция и витамина Д₃

Показатели	Целиакия		Контроль
	до лечения	после лечения	
Потребление кальция с пищей	793,03±73,9*	818,71±82,34	927,9±42,5
Остеокальцин нг/мл	84,43±15,67	106,90±23,38	115,74±22,74
Костная щелочная фосфатаза, Е/л	260,95±32,11	370,23±72,80	226,50±25,15
Тартрат-резистентная кислая фосфатаза, нмоль/с·л	176,96±15,55	200,21±37,97	192,72±37,76
С-концевые телопептиды коллагена I типа, нг/мл	1,62±0,22*	1,52±0,25*	0,88±0,20
Общий кальций сыворотки крови, ммоль/л	2,23±0,03	2,04±0,03	2,20±0,01
Фосфор сыворотки крови, ммоль/л	1,35±0,04	1,21±0,02	1,33±0,02
Общий кальций утренней порции мочи ммоль/л	3,55±0,39*	3,44±0,48	2,84±0,18
Фосфор утренней порции мочи ммоль/л	25,71±4,30	27,05±3,25	18,43±1,19
Кальций мочи, ммоль/ммоль креатинина	1,03±0,17*	0,94±0,16	0,77±0,06
Фосфор мочи, ммоль/ммоль креатинина	5,87±1,78	5,71±1,21	4,43±0,26

Примечание: * – достоверность ($p < 0,05$) различия показателей по сравнению с данными детей контрольной группы, # – статистическая значимость различия показателей до и после реабилитационных мероприятий

Таким образом, по данным анализа основных показателей костного метаболизма можно сделать вывод, что для Ц характерно повышение костной резорбции по уровню С-концевых телопептидов ($p < 0,05$), что, вероятно,

объясняется реакцией остеокластов на дефицит поступления кальция. КЩФ повышается компенсаторно на фоне резорбтивных процессов и повышенной кальциурии. Дополнительный прием препаратов кальция в течение 6 месяцев благоприятно влияет на процессы снижения резорбции (снижение С-концевых телопептидов) и повышение остеосинтеза (повышение КЩФ, остеокальцина).

Государственный регистр больных целиакией
КАРТА
регистрации и наблюдения больного целиакией
(нужное обвести)

РАЗДЕЛ 0.

1.Код формы	2.ДАТА заполнения карты	3. КОД учреждения по ОКПО	4. Дополнительный КОД
40-99			

РАЗДЕЛ 1. - ИДЕНТИФИКАЦИЯ

1.Номер в регистре _____ 2.Фамилия _____ 3.Имя _____ 4.Отчество _____ 5.Пол больного: 1 –мужчина; 2 – женщина. 6. Дата рождения (число, месяц, год) _____
--

РАЗДЕЛ 2 АДРЕС И МЕСТО ЖИТЕЛЬСТВА

1. Почтовый индекс _____ Телефон _____ 2. Республика (край, область) _____ 3. Населенный пункт _____ 4. Район (округ) _____ 5. Улица _____ дом _____ корпус _____ квартира _____

РАЗДЕЛ 3 – СВЕДЕНИЯ О ЗАБОЛЕВАНИИ И ЛЕЧЕНИИ ЦЕЛИАКИИ

1. Год установления диагноза: 19____ г., 20____ г. 2. Год начала диетотерапии: 19____ г., 20____ г. 3. Форма целиакии: 1 – типичная 2 - атипичная 4. Рост (в см) _____ центиль _____ 5. Вес (в кг) _____ центиль _____ 6. АД _____ / _____ мм рт. ст. 7. Диета: 1 – нет, 2 – да, 3 – не регулярно. 8. Название ферментов (и др. препаратов) и их количество в день, получаемых больным в момент заполнения карты: а) _____ капс. /сутки б) _____ капс. /сутки в) _____ капс. /сутки 9. Последние лабораторные данные: ОАК () Нб _____, цв.пок. _____, эрит. _____; ретик. _____ эозин. _____ Б/х () билирубин _____, тимоловая _____, сахар _____, холест. _____, амилаза _____, щел. фосф. _____, АЛТ/АСТ _____, Копрология () н/жир _____, мыла _____, ж/кис. _____, клетч. _____
--

Продолжение рисунка 6

Перевар. _____, крахмал _____, лейкоц. _____, слизь _____, эр. _____

Кал дисбактериоз () УПФ _____, Кишечная п-ка _____, Биф. _____,
Лак. _____, М-К стрептокок. _____, грибы _____, клостридии _____

ФГДС () Закл-е: _____

УЗИ печени () Закл-е: _____

УЗИ щитовидной железы () Закл-е: _____

УЗИ половых органов () Закл-е: _____

Обследование на остеопороз () Закл-е: _____

Д/зондирование () _____

Панкр.зондир. () Закл-е: _____

Общий IgE () _____

Нагрузка с лактозой () _____

Костный возраст () Закл-е: _____

Гормоны щит. железы () Т3 _____ Т4 _____ ТТГ _____

Половые гормоны () _____

Тест на сомат.недостаточность () _____

Иммун. анализ сыв.() IgA _____ IgM _____ IgG _____;

(мать) IgA _____ IgM _____ IgG _____

(отец) IgA _____ IgM _____ IgG _____

(сибс 1) IgA _____ IgM _____ IgG _____

(сибс 2) IgA _____ IgM _____ IgG _____

Данные биопсии

Число/ Результат	Признаки атрофии + -	Углублен ие крипт + -	Лимфоцитарн ая Инфилт. + -	Лимф- плазм. Инфил. + -	Другие
1					
2					

6. HLA DQ2 (+, -); DQ8(+, -); число _____

РАЗДЕЛ 4 – ОСЛОЖНЕНИЯ ЦЕЛИАКИИ

1. ВИД ОСЛОЖНЕНИЯ	2. Год установления осложнения
1.ЗОБ1 – нет, 2 – да.	19__ г. 20__ г.
2. ЗАДЕРЖКА ФИЗИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ У ДЕТЕЙ 1-нет, 2-да	19__ г. 20__ г.

Характеристика структурных параметров СОТК по данным морфометрии у больных целиакией до и после лечения (n), Me (Q₁-Q₃)

Показатели		Общая группа, (n=99)	Целиакия типичная, (n=65)	Целиакия атипичная, (n=34)	Мальчики, (n=49)	Девочки, (n=50)	Параметры нормальной СОТК (Лысиков Ю.А., 2003)	р-достоверность
		1	2	3	4	5	6	
Высота ворсинок (мкм)	I	254,50 (180,00-387,00) p=0,001	214,00 (148,00-268,00) p=0,001	314,00 (208,00-304,00) p=0,163	243,50 (190,0-358,5) p=0,004	279,0 (178,00-405,0) p=0,051	300-400	p ₁₋₂ =0,001 p ₁₋₃ =0,001 p ₂₋₃ =0,001 p ₂₋₄ =0,011 p ₂₋₆ =0,038 p ₃₋₄ =0,001 p ₃₋₅ =0,001
	II	321,50 (250,00-472,00)	280,00 (231,00-400,00)	360,00 (360,00-480,00)	306,0 (250,0-455,0)	365,00 (250,0-480,0)	300-400	p ₁₋₂ =0,016 p ₁₋₃ =0,001 p ₂₋₃ =0,001 p ₂₋₅ =0,023 p ₃₋₄ =0,001 p ₃₋₅ =0,006

Продолжение таблицы 42

Глубина крипт (мкм)	I	300,00 (150,00-360,00) p=0,003	321,00 (260,00-350,00) p=0,001	220,00 (190,00-215) p=0,340	308,00 (153,0-344,0) p=0,040	300,00 (150,0-321,0) p=0,039	150-200	p ₁₋₂ =0,003 p ₁₋₃ =0,001 p ₂₋₃ =0,001 p ₂₋₄ =0,034 p ₂₋₅ =0,003 p ₂₋₆ =0,035 p ₃₋₄ =0,001 p ₃₋₅ =0,001
	II	200,00 (114,00-300,00)	274,00 (170,00-309,00)	180,00 (100,00-200,0)	200,00 (120,5-300,0)	200,00 (100,0-300,0)	150-200	p ₁₋₂ =0,054 p ₁₋₃ =0,004 p ₂₋₃ =0,001 p ₂₋₅ =0,043 p ₃₋₄ =0,002 p ₃₋₅ =0,027
Толщина СОТК (мкм)	I	538,00 (496,00-580,00) p=0,178	513,00 (485,00-552,00) p=0,314	574,00 (540,00-590,0) p=0,235	540,00 (493,0-571,0) p=0,061	523,00 (500,0-582,0) p=0,647	450	p ₁₋₃ =0,015 p ₂₋₃ =0,001 p ₃₋₄ =0,004 p ₃₋₆ =0,017
	II	553,50 (521,00-589,00)	538,00 (519,00-570,00)	580,00 (554,00-606,0)	550,00 (518,0-585,0)	554,50 (521,0-595,0)	450	p ₁₋₃ =0,048 p ₂₋₃ =0,006 p _{6-3,4} =0,010

Продолжение таблицы 42

Ворсинка /крипта	I	0,88 (0,58-1,8) p=0,001	0,62 (0,45-0,96) p=0,001	0,89 (0,89-1,33) p=0,070	0,79 (0,57-0,94) p=0,026	0,71 (0,60-1,2) p=0,024	1,9	p ₁₋₂ =0,001 p ₁₋₃ =0,001 p ₂₋₃ =0,001 p ₂₋₅ =0,001 p ₃₋₄ =0,001 p ₃₋₅ =0,001
	II	1,54 (0,83-2,0)	1,09 (0,71-1,7)	2,07 (1,8-2,18) p=0,001	1,49 (0,83-2,1)	1,80 (0,833-2,15)	1,9	p ₁₋₂ =0,025 p ₁₋₃ =0,003 p ₂₋₃ =0,001 p ₂₋₅ =0,015 p ₃₋₄ =0,002 p ₃₋₅ =0,037
МЭЛ (%)	I	56,00 (46,00-65,00) p=0,001	62,00 (51,00-71,00) p=0,001	48,00 (44,00-57,00)	57,00 (45,50-71,50) p=0,001	55,00 (46,0-63,00) p=0,001	30	p ₁₋₃ =0,007 p ₁₋₆ =0,024 p ₂₋₃ =0,001 p ₂₋₅ =0,020 p ₂₋₆ =0,015 p ₃₋₄ =0,003 p ₃₋₅ =0,038 p ₃₋₆ =0,015 p _{6-4,5} = 0,044

Продолжение таблицы 42

МЭЛ (%)	II	43,00 (32,00-60,00)	45,00 (38,00-66,00)	38,00 (27,00-46,00)	44,00 (38,50-65,00)	40,50 (29,00-57,00)	30	$p_{1-3}=0,032$ $p_{2-3}=0,001$ $p_{2-5}=0,040$ $p_{3-4}=0,005$
---------	----	------------------------	------------------------	------------------------	------------------------	------------------------	----	--

Примечание: I – показатели до лечения; II – показатели после лечения; СОТК – слизистая оболочка тонкой кишки; p – достоверность различий до и после лечения; p_{1-2} , p_{1-3} , p_{1-4} , p_{1-5} , p_{1-6} , p_{2-3} , p_{2-4} , p_{2-5} , p_{2-6} , p_{3-4} , p_{3-5} , p_{3-6} , p_{4-5} , p_{4-6} , p_{5-6} - достоверность различий при межгрупповом сравнении

Таблица 53

Характеристика структурных параметров СОТК по данным морфометрии у больных целиакией до и после лечения на фоне лямблиоза и без лямблиоза (n), Me (Q₁-Q₃)

Показатели		Общая группа, (n=99)	Целиакия с лямблиозом, (n=34)	Целиакия без лямблиоза, (n=65)	Параметры нормальной СОТК (Лысиков Ю.А., 2003)	p достоверность
		1	2	3	4	
Высота ворсинок (мкм)	I	254,50 (180,00-387,00) p=0,001	267,00 (180,00-390,00) p=0,039	242,50 (210,00-435,00) p=0,021	300-400	-
	II	321,50 (250,00-472,00)	380,00 (250,00-478,00)	306,00 (270,00-450,00)	300-400	-
Глубина крипт (мкм)	I	300,00 (150,00-360,00)	256,00 (150,00-340,00)	305,50 (150,00-334)	150-200	

		p=0,003	p=0,094	p=0,037	-	
	II	200,00 (114,00-300,00)	200,00 (114,00-300,00)	200,00 (110,00-305,0)	150-200	-
Толщина СОТК (мкм)	I	538,00 (496,00-580,00)	525,00 (496,00-580,00)	542,50 (500,00-574,0)	(450) 525-625	-
	II	553,50 (521,00-589,00)	560,00 (521,00-589,00)	554,50 (520,00-582,0)	(450) 525-625	-
Ворсинка/крипта	I	0,88 (0,58-1,81) p=0,001	0,62 (0,45-0,97) p=0,049	0,88 (0,79-1,33) p=0,037	1,9	-
	II	1,54 (0,83-2,09)	1,18 (0,79-2,1)	1,4 (0,99-1,8)	1,9	-
МЭЛ (%)	I	56,00 (46,00-65,00) p=0,001	56,00 (46,00-66,00) p=0,004	55,00 (47,00-63,00) p=0,001	30	p ₁₋₄ =0,024 p ₂₋₄ =0,025 p ₃₋₄ =0,029
	II	43,00 (32,00-60,00)	44,00 (33,00-60,00)	43,00 (29,00-60,00)	30	-

Примечание: I – до лечения; II – после лечения; СОТК – слизистая оболочка тонкой кишки; p – достоверность различий до и после лечения; p₁₋₄, p₂₋₄, p₃₋₄ - достоверность различий при межгрупповом сравнении

Анамнестические и клинические данные детей с целиакией, ассоциированной с атопическим дерматитом (n, %)

Показатели	Целиакия	Целиакия	Целиакия	Целиакия с АД	
	без АД, (n=83), (%)	с АД, (n=16), (%)	типичная с АД, (n=14),(%)	Мальчики, (n=8), (%)	Девочки, (n=8), (%)
	1	2	3	5	6
Естественное вскармливание (мес.)	6,09±0,61	7,5±1,0	7,5 ±1,14	9,0±1,03	6,0±1,54
Возраст введения прикорма (мес.)	4,5±0,3 p ₁₋₂ = 0,029	5,25±0,35	5,14±0,39	5,5±0,59	5,0±0,37
Постановка диагноза (год)	6,36±0,5	7,56±1,5	7,35±1,49	7,12±2,07	7,98±2,17
ЗФР (%)	49 (59,0)	8 (50,0)	8 (57,1)	6 (75,0)	4 (50,0)
Лямблиоз	29 (34,9)	5 (31,3)	4 (28,6)	4 (50,0)	1 (12,5)
Резистентность к терапии (%)	30 (36,1)	6 (37,5)	5 (35,7)	2 (25,0)	4 (50,0)

Примечание: АД – атопический дерматит; p – достоверность различий при межгрупповом сравнении; p₁₋₂ - достоверность различий между группой пациентов с атопическим дерматитом и пациентами без атопического дерматита

Характеристика структурных параметров СОТК по данным морфометрии у больных целиакией с атопическим дерматитом до и после лечения (n), Me (Q₁-Q₃)

Показатели		Общая группа, (n=99)	Целиакия с АД, (n=16)	Целиакия без АД, (n=83)	Параметры нормальной СОТК (Лысиков Ю.А., 2003)	p
		1	2	3		
Высота ворсинок (мкм)	I	254,50 (180,00-387,00) p=0,001	252,00 (200,00-408,50) p=0,101	247,00 (178,00-390,00) p=0,008	300-400	-
	II	321,50 (250,00-472,00)	400,00 (259,50-495,00)	309,00 (250,00-460,00)	300-400	-
Глубина крипт (мкм)	I	300,00±99,69 (150,00-360,00) p=0,003	250,00 (119,00-336,00) p=0,231	304,00 (150,00-360,0) p=0,016	150-200	-
	II	200,00±96,36 (114,00-300,00)	170,00 (100,00-275,00)	200,00 (117,00-300,0)	150-200	-
Толщина СОТК (мкм)	I	538,00±61,68 (496,00-580,00) p=0,178	540,00 (515,00-572,00) p=0,174	540,00 (495,00-582,0) p=0,415	(450) 525-625	-
	II	553,50±76,66 (521,00-589,00)	561,50 (525,50-595,00)	554,00 (520,00-589,0)	(450) 525-625	-

Продолжение таблицы 58

Ворсинка/крипта	I	0,88 (0,58-1,8) p=0,001	0,82 (0,61-1,33) p=0,152	0,84 (0,56-1,16) p=0,013	1,9	-
	II	1,54 (0,83-2,09)	1,15 (0,75-1,95)	1,6 (0,79-2,07)	1,9	-
МЭЛ (%)	I	56,00±11,60 (46,00-65,00) p=0,001	53,50 (47,50-59,00) p=0,028	57,00 (45,00-67,00) p=0,001	30	p ₁₋₄ =0,024 p ₂₋₄ =0,032 p ₃₋₄ =0,026
	II	43,00±17,44 (32,00-60,00)	40,50 (29,00-52,50)	44,00 (36,00-60,00)	30	-

Примечание: I – показатели до лечения; II – показатели после лечения; АД – атопический дерматит; СОТК – слизистая оболочка тонкой кишки, p – достоверность различий до и после лечения; p₁₋₄, p₂₋₄, p₃₋₄ – достоверность различий при межгрупповом сравнении

Клинико-anamnestическая характеристика детей, рожденных с задержкой внутриутробного развития (n, %).

Показатели	Дети без ЗВУР, (n=82)	Дети с ЗВУР, (n=17)	ЦТ+ЗВУР, (n=12), (%)	ЦА+ЗВУР, (n=5), (%)	Мальчики с ЗВУР, (n=6), (%)	Девочки с ЗВУР, (n=11), (%)
	1	2	3	4	5	6
Естественное вскармливание (мес.)	6,9±0,5 p ₁₋₂ =0,05	3,9±1,0	3,4±1,2	5,2±2,0	4,0±1,9	3,9±1,3
Возраст введения прикорма (мес.)	4,6±0,3 p ₁₋₂ =0,025	5,2±0,3	5,1±0,4	5,6±0,5	5,2±0,5	5,3±0,4
Возраст манифестации целиакии (год)	1,5±0,3 p ₁₋₂ =0,004	0,7±0,1	0,72±0,04	0,68±0,2	0,77±0,1	0,66±0,1
Возраст установления диагноза (год)	7,4±0,6 p ₁₋₂ =0,05	3,14±0,6	3,2±0,8	3,0±0,6	3,7±1,5	2,8±0,3
Рост ниже 5 перцентили (%)	33 (41,4) p ₁₋₂ =0,01	10 (58,8)	6 (50,0)	4 (80,0)	4 (66,7)	6 (66,7)
БЭН (%)	46 (56,1) p ₁₋₂ =0,01	15 (88,2)	11 (91,7)	4 (80,0)	6 (100,0) p ₅₋₆ =0,05	9 (81,8)
Резистентность к терапии (%)	25 (30,5) p ₁₋₂ =0,001	11 (64,7)	8 (66,6)	3 (60,0)	5 (83,3) p ₅₋₆ =0,001	6 (54,5)

Примечание: p₁₋₂ – различие показателей группы пациентов без ЗВУР и пациентами со ЗВУР; p₃₋₄ – различие показателей больных с ЦТ и ЦА; p₅₋₆ – различие показателей мальчиков от девочек; (%) - % (процент) по отношению к общему количеству анализируемого признака

Клинический пример**Сочетание целиакии с болезнью Крона и соматотропной недостаточностью.**

Под нашим наблюдением находился ребенок с Ц в сочетании с соматотропной недостаточностью и болезнью Крона. Больная М., 12.09.1988 г.р. Масса при рождении 3650 г, рост 51 см. Грудное вскармливание до 2 месяцев. С 2 месяцев вскармливание искусственное. Введение глютеносодержащих продуктов с 2 месяцев (отвар овсяной каши). При анализе амбулаторной карты обращало на себя внимание динамика развития осложнений заболевания и дефицитных состояний до 1 года и в 4 года - острый энтерит; анемия железодефицитная; в 6 лет – ЗФР, 8 лет – хр. гастродуоденит, хр. энтероколит; анемия железодефицитная; ЗФР.

Основные жалобы при посещении гастроэнтеролога в 1996 г. – отставание в физическом развитии, плохой аппетит, неустойчивый стул. В 1998 г. появились жалобы на боли в животе, головокружение, боли в ногах. Костный возраст соответствовал 7 годам - задержка 1,5 года. Диагноз: Хронический гастродуоденит (экссудативно-эритематозный гастрит, дуоденит), период обострения. Сопутствующий: Хронический энтероколит. Анемия 1 степени. Задержка физического развития. В 14 лет госпитализация в эндокринологическое отделение по поводу задержки роста: рост 136,5 см (дефицит роста 18 см), масса 28,5 кг (дефицит 4 кг), на рентгенографии черепа - признаки внутричерепной гипертензии. Костный возраст соответствовал 10 годам. Ультразвуковое исследование органов малого таза позволило верифицировать признаки гипоплазии матки 3 степени. УЗИ щитовидной железы без изменений. Окулист – флебопатия сосудов сетчатки. По данным ЯМР выявлены признаки внутричерепной гипертензии и гипоплазии гипофиза. Проведена проба с клофелином (3.10.2001 г.): СТГ 1–9,5; 2–5,0; 3–1,6; 4–6,5 нм/мл, на основании полученного результата выставлен диагноз: Соматотропная недостаточность, назначена заместительная терапия гормоном роста. В возрасте 15 лет по поводу

сохраняющегося энтерального синдрома пациентка проконсультирована гастроэнтерологом: жалобы на сохраняющиеся боли в животе, стул 3 раза в день на протяжении 2 недель, отставание в физическом развитии. Масса 31кг, рост 146 см. уровень антител к глютену резко повышен: IgA 95ед/мл (норма до 25 ед/мл.), IgG 736 ед/мл (норма до 25/ед/мл). Костный возраст на 10-11 лет (задержка 3-4 года). Диагноз: Целиакия. Соматотропная недостаточность. Задержка полового развития. Назначена безглютеновая диета. На диете уменьшилась кратность стула, исчезла зловонность.

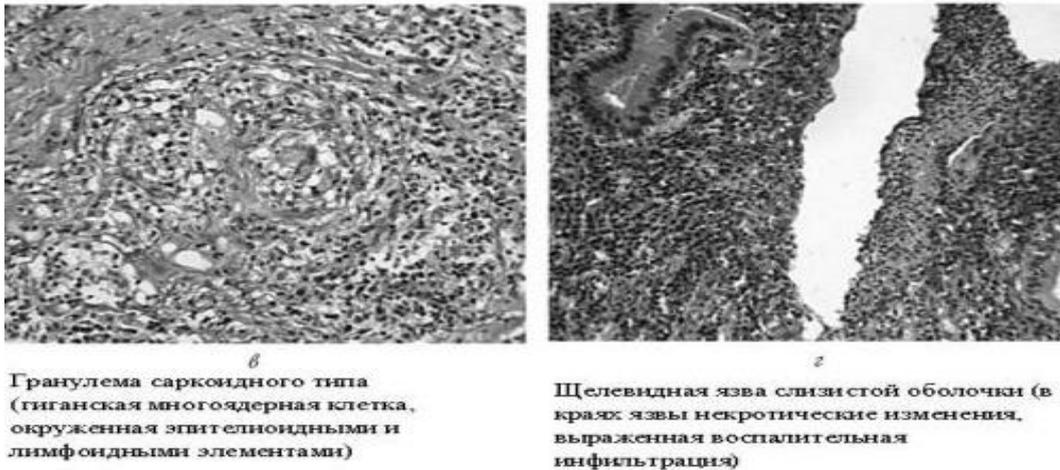
В возрасте 16 лет по поводу острого абдоминального болевого синдрома осмотрена хирургом (Диагноз: Киста яичника слева? Аднексит?). При поступлении на передней брюшной стенке имелся очаг гиперемии. УЗИ брюшной полости: инфильтрат левой половины брюшной полости (возможно забрюшинный) с абсцедированием. Проведена срединная лапаротомия, в результате обнаружен запаянный конгломерат из петель кишечника в левой половине живота. Проведено наружное дренирование гнойного очага, на коже живота слева остался функциональный свищ, расцененный как лигатурный. Послеоперационный период протекал гладко. Фистулография - выявлено поступление контраста в тонкую кишку. Диагноз: Тонкокишечный свищ. Проведена операция (3.08.04). В левой подвздошной области выделен свищ, уходящий к корню брыжейки и к петле тонкой кишки с брыжеечного края. Данный участок тонкой кишки находился на расстоянии 30 см от связки Трейца. На протяжении 15 см тонкая кишка резко утолщена, инфильтрирована, гиперемирована. Удален измененный участок тонкой кишки с элементами свища. Длина удаленного участка 25см. Наложен тонко-тонкокишечный анастомоз конец в конец. Морфологическая картина соответствует гранулематозному энтериту (Болезнь Крона), (рисунок 10-11). На основании гистологического заключения выставлен диагноз: Болезнь Крона, тонкокишечный вариант, тяжелой степени. Наложение тонко-тонкокишечного анастомоза по поводу полного тонкокишечного свища от 3.08.04. Соп. Целиакия. Соматотропная недостаточность (гипоплазия гипофиза).



Воспалительный^a инфильтрат слизистой оболочки (в инфильтрате преобладают лимфоциты и плазматические клетки)

Воспалительная инфильтрация мышечной оболочки

Рисунок 9. Морфологическая картина болезни Крона
(Больная М., 12.09.1988 г.р.)



Гранулема саркоидного типа (гигантская многоядерная клетка, окруженная эпителиоидными и лимфоидными элементами)

Щелевидная язва слизистой оболочки (в краях язвы некротические изменения, выраженная воспалительная инфильтрация)

Рисунок 10. Морфологическая картина болезни Крона
(Больная М., 12.09.1988 г.р.)

На фоне БГД проведена биопсия (15.09.04) В слизистой тонкой кишки слабый отек, слабая и умеренная инфильтрации лимфоцитами, гистиоцитами, плазмацитами с примесью эозинофилов, редкие очаги фиброза, мелкоочаговый склероз, тесное расположение желез, лимфоидный фолликул без светлого центра. Заключение: хронический энтерит. Колоноскопия (9.09.04): выражена атрофия слизистой кишки на всем протяжении, встречаются «рассеянные» бугорки бледно-розового цвета – лимфоидные фолликулы. Дефектов слизистой и

дополнительных образований нет. Заключение: Лимфофолликулярная гиперплазия слизистой толстой кишки (тотально), атрофия слизистой.

В дальнейшем пациентка перенесла спаечную болезнь: острая спаечная тонкокишечная непроходимость. Разлитой серозный перитонит. Вторичный катаральный аппендицит. Болезнь Крона. В динамике на фоне соблюдения безглютеновой диеты и терапии генотропином прибавка роста в течение 2 лет составила 12 см, массы - 5 кг, снизился уровень тканеспецифических антител (АГА IgG с 736 ед/мл до 74 ед/мл). Родственники 1 степени родства были также обследованы на содержание антител к глютену; специфическое антителоносительство выявлено у сибса (АГА IgA 23,6 ед/мл, АГА IgG 219,3 ед/мл). HLA-типирование выявило характерные для целиакии гаплотипы HLA-DQ2 (DQA1*501*102, DQB1*201*602).

Возможно, именно длительное течение нераспознанной целиакии способствовало развитию такого аутоиммунного заболевания, как болезнь Крона. Соматотропная недостаточность в данном случае первичного генеза, так как выявлена гипоплазия гипофиза (по данным ЯМР), хотя у детей с длительно недиагностированной Ц на фоне тяжелого аутоиммунного процесса и синдрома мальабсорбции может развиваться гипосоматотропинемия, которая в свою очередь также приводит к формированию низкорослости. Диагноз целиакии у пациентки не вызывает сомнения, так как имели место: энтеральный синдром с раннего возраста; дефицитные состояния; эффект безглютеновой диеты; повышенные значения АГА в сыворотке, с уменьшением их на фоне соблюдения БГД; наличие генетических маркеров заболевания. Отсутствие классических гистологических признаков (биопсия в 2004 г.) не исключает данное заболевание по причине длительного нахождения ребенка на безглютеновой диете. Следует подчеркнуть, что назначение безглютеновой диеты пациентам без морфологического подтверждения целиакии создает в дальнейшем трудности в трактовке диагноза.

ГЛАВА 4. ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЦЕЛИАКИИ, ВЛИЯНИЕ НА ТЕЧЕНИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

4.1. Анализ уровня антиглиадиновых антител у больных целиакией

Определение уровня антиглиадиновых антител (АГА) в сыворотке крови проведено 99 пациентам с Ц одновременно с определением уровня сывороточных иммуноглобулинов, т.к. Ц часто протекает на фоне селективного дефицита IgA. Анализ уровня сывороточных иммуноглобулинов выявил низкие значения IgA в группе больных с Ц ($p < 0,019$), преимущественно при ЦТ ($p < 0,001$) по сравнению с контрольными значениями, при ЦА статистически значимо не отличался. Для обследованных больных с Ц была характерна гипергаммаглобулинемия, $p < 0,001$ (таблица 71).

Таблица 71

Характеристика иммуноглобулинов сыворотки крови у больных с
целиакией, ($M \pm m$)

Показатели, (г/л)	Общая группа, (n=99)	Целиакия типичная, (n=65)	Целиакия атипичная, (n=34)	Контрольные значения, (г/л) (n=20)	p
	1	2	3	4	
IgA	0,6±0,11	0,56±0,13	0,75±0,023	1,31±0,05	$p_{1-4} < 0,019$ $p_{2-4} < 0,001$
IgM	1,2±0,05	1,2±0,06	1,17±0,08	1,29±0,04	-
IgG	14,1±1,16	13,5±1,64	14,4±1,08	10,09±0,12	$p_{1,2,3-4} < 0,001$

Примечание: p- различия показателей при межгрупповом сравнении; p_{1-4} - различия показателей общей группы и контроля; p_{2-4} - различия показателей группы ЦТ и контроля; $p_{1,2,3-4}$ - различия показателей групп - общая группа, ЦТ, ЦА и контроль

Определение АГА осуществлялось при постановке диагноза и в динамике через 6 месяцев, 1 год от начала соблюдения БГД (таблица 72). Анализ данных уровня АГА показал, что у пациентов с Ц были повышены АГА класса G. Уровень АГА G был выше референтных значений как в общей группе больных, так и при ЦТ и ЦА ($p=0,005$; $p=0,004$; $p=0,001$, соответственно).

На фоне лечения отмечено снижение уровня АГА А в общей группе пациентов, более значимо у мальчиков ($p=0,046$), а также достоверное снижение АГА G в анализируемых группах (общей, ЦТ, ЦА). На фоне соблюдения БГД (через 6 мес.) дети с ЦА имели более высокие абсолютные значения АГА G по сравнению с группой детей с ЦТ, но без статистически значимой разницы. Не выявлено повышенного титра антител к глютену у 4 (4%) детей.

Таким образом, при определении уровня АГА антител класса А и G у детей с Ц преимущественно были повышены АГА G, уровень которых через 6 месяцев снижался, но оставался выше референтных значений, что свидетельствует о длительной циркуляции АГА G и, возможно, плохой комплаентности пациентов в отношении соблюдения БГД.

Гипергаммаглобулинемия характерна для больных с Ц. Низкий уровень IgA сыворотки крови, очевидно, определял у больных Ц невысокие значения АГА А в нашем исследовании. АГА не были повышены у 4% детей с Ц в связи с дефицитом IgA в сыворотке крови. Однако имеют место серонегативные случаи очевидной Ц даже при нормальных значениях IgA.

Определение уровня АГА имеет свое значение не только в диагностике Ц, как отражение активности иммунологического ответа на поступление глютена, но и для оценки эффективности лечения.

Характеристика уровня антиглиадиновых антител у больных целиакией до и после лечения (n), Me (Q₁-Q₃)

Показатели, (ед/мл)		Референтные значения, (ед/мл)	Общая группа, (n=99)	ЦТ, (n=65)	ЦА, (n=34)	Мальчики, (n=49)	Девочки, (n=50)	p
Группа		1	2	3	4	5	6	
АГА А	I	0-40	16,30 (5,40-34,90) p=0,049	14,70 (5,20-34,90) p=0,072	18,60 (6,60-38,60) p=0,442	18,00 (5,40-36,20) p=0,046	14,20 (5,95-30,55) p=0,519	-
	II		9,00 (3,11-41,90)	6,80 (2,30-34,00)	14,25 (4,40-45,00)	8,50 (2,80-41,90)	11,10 (3,30-46,20)	-
АГА G	I	0-40	99,00 (51,40-222,70) p=0,001	103,40 (51,40-265,0) p=0,001	94,50 (47,10-186,90) p=0,006	85,40 (51,40-198,0) p=0,001	123,60 (53,90-260,50) p=0,001	p ₁₋₂ =0,005 p ₁₋₃ =0,004 p ₁₋₄ =0,001 p ₁₋₅ =0,011 p ₁₋₆ =0,007
	II		32,0 (9,10-73,80)	23,00 (7,30-76,00)	55,25 (12,30-73,80)	40,35 (7,30-72,80)	29,40 (9,10-80,0)	-

Примечание: I – показатели до лечения; II – показатели после лечения; ЦТ- целиакия типичная; ЦА – целиакия атипичная; p - достоверность различий до и после лечения; p₁₋₂ - достоверность различий показателей общей группы с референтными значениями; p₁₋₃ - достоверность различий показателей группы ЦТ с референтными значениями; p₁₋₄ - достоверность различий показателей группы ЦА с референтными значениями; p₁₋₅ - достоверность различий показателей мальчиков с референтными значениями; p₁₋₆ - достоверность различий показателей девочек с референтными значениями

4.2. Анализ уровня антиглиадиновых антител по результатам скрининга на целиакию в выборке детей г. Томска

Выявление серологических маркеров заболевания – один из этапов диагностики Ц. В настоящее время возможно не только определение антиглиадиновых антител, но и антител к эндомизию, антител к тканевой трансглутаминазе и др. Наиболее информативным считается определение антител к тканевой трансглутаминазе [21, 276, 277]. При этом надо отметить, что серологические маркеры диагностики Ц, несмотря на высокие специфичность и чувствительность, имеют свои недостатки.

При соблюдении пациентом БГД более 1 месяца серологическая верификация Ц затруднена. С другой стороны, повышение уровня АГА возможно при других патологических состояниях [10].

Нами проведен иммунологический скрининг по определению АГА (АГА IgA, АГА IgG) методом ИФА с использованием тест наборов (Хема – Медика, Москва). Данный метод был применен к 731 пациенту г. Томска с различной соматической патологией. Средний возраст пациентов составил $6,71 \pm 5,49$ лет. До 1 года обследовано 139 детей (20%), с 1 года до 3 лет - 151 ребенок (21%), с 4 до 6 лет - 115 человек (16%), с 7 до 11 лет - 145 пациентов (20%), старше 12 лет - 181 человек (23%).

Приводим результаты иммунологического скрининга. Средний уровень АГА класса IgA и АГА класса IgG среди обследованных больных не отличался от возрастных референтных значений, представленных производителем (таблица 73). Однако показатели Q_3 (75 перцентиль) отличались от верхней границы референтных значений, особенно для показателей АГА IgA, что очевидно связано с течением воспалительного процесса у пациентов (в обследовании были дети с инфекционно-воспалительными заболеваниями, нарушением функции печени (желтуха), с заболеваниями аутоиммунного характера воспаления внекишечной локализации (АИТ, СД 1 типа)).

Характеристика уровня антиглиадиновых антител в сыворотке крови у детей
в зависимости от возраста, Me (Q₁-Q₃)

Возраст и количество детей	АГА IgA, (ед/мл)	АГА IgG, (ед/мл)	*Референтные значения АГА, (ед/мл)	
			АГА IgA	АГА IgG
До 1 года, (n=139)	1,08 (0,43-21,68)	11,18 (2,23-21,59)	0,35-1,7	3,5-12,0
От 1 до 3 лет, (n=151)	1,04 (0,4-19,81)	12,21 (4,06-22,97)	0,8-2,2	6,5-18,0
С 4 до 6 лет, (n=115)	1,76 (0,49-20,23)	6,78 (2,07-22,56)	0,8-2,2	6,5-18,0
С 7 до 11 лет, (n=145)	2,04 (0,5-17,7)	8,33 (2,24-35,35)	0,9-2,6	8,5-15,0
Старше 12 лет, (n=181)	1,75 (0,54-37,7)	11,05 (2,74-36,23)	1,0-6,5	9,0-20,0
Общая группа, (n=731)	1,7 (0,47-32,36)	5,0 (2,0-36,9)	-	-

Примечание: АГА – антиглиадиновые антитела; * - возрастные референтные значения, представленные производителем

Представляем результаты анализа уровня АГА у пациентов с различной соматической патологией (таблица 74). Был выявлен достоверно высокий уровень АГА у больных с аутоиммунной патологией (АИТ, СД 1 типа), неспецифическими воспалительными заболеваниями вирусной и бактериальной этиологии (лакунарная ангина, пневмония, бронхит, пиелонефрит, иерсиниоз), аллергическими заболеваниями (бронхиальная астма, крапивница), патологией билиарного тракта, перинатальной энцефалопатией (ПЭП) и конъюгационной желтухой.

Уровень антиглиадиновых антител в сыворотке крови у детей с различной соматической патологией, Ме (Q₁-Q₃)

Нозологическая форма	Количество пациентов, (n)	АГА IgA, (ед/мл)	АГА IgG, (ед/мл)
Аутоиммунный тиреоидит	25	13,7 (4,81-18,7)*	39,71 (31,48-45,08)*
Лакунарная ангина	64	21,49 (16,73-32,16)*	36,74 (26,03-54,0)*
Бронхиальная астма	18	8,85 (4,73-16,89)	39,72 (25,21-67,37)*
Острый бронхит	26	37,62 (25,11-52,97)*	29,48 (23,38-44,96)*
Дисфункция билиарного тракта	27	27,0 (25,46-54,0)*	31,53 (25,73-67,95)*
Желтуха конъюгационная	23	10,88 (5,84-28,1)	26,35 (25,31-27,39)*
Иерсиниоз	12	29,77 (21,51-45,61)*	114,2 (114,2-114,2)*
Острая крапивница	14	26,95 (23,8-38,59)*	41,51 (27,15-67,95)*
Пиелонефрит	32	8,9 (7,2-13,88)	33,2 (24,96-50,61)*
Пневмония	44	10,79(8,5-16,49)	29,06(25,5-59,99)*
Перинатальная энцефалопатия	22	66,34 (24,0-117,59)	36,2 (23,34-54,09)
Сахарный диабет 1 типа	12	12,99 (8,12-39,3)*	28,79 (25,62-33,46)*
Хронический гастродуоденит	21	7,62 (5,01-12,98)	23,86 (22,06-28,91)
Итого:		731	

Примечание: АГА – антиглиадиновые антитела; * - достоверность различий при сравнении показателей больных с различными нозологическими формами с референтными значениями, $p < 0,001$, (использовались наборы Хема – Медика, Москва)

Таким образом, при воспалительных заболеваниях различной локализации отмечается повышение АГА, что необходимо учитывать при проведении серологического скрининга пациентов групп риска по Ц. Следовательно, границы референтных значений могут быть расширены. В частности, для АГА IgA (в

возрасте старше 12 лет) верхняя граница может быть увеличена до 38 ед/мл, для АГА IgG - до 36 ед/мл (таблица 73). Проведенное исследование показывает, что ставить диагноз Ц лишь на основании положительных значений антител, в частности АГА, не следует. В подобных случаях требуются дополнительные диагностические мероприятия: определение антител к тканевой трансглутаминазе и/или антител к эндомиозию, проведение морфологического исследования биоптата из двенадцатиперстной и/или тощей кишки. В то же время при отсутствии повышенных значений АГА и наличии определенных клинических симптомов Ц, как показывают собственные наблюдения и данные литературных источников, есть основания рекомендовать эндоскопическое исследование с проведением биопсии.

4.3. Анализ уровня антиглиадиновых антител в группах риска: родственники 1 степени родства (родители пробанда, сибсы), больные сахарным диабетом 1 типа, аутоиммунным тиреоидитом

Особенно часто Ц встречается в группах риска. Известно, что родственники 1 степени родства имеют высокий риск (1:10) по развитию заболевания [112, 119, 237]. Нередко Ц сочетается с различными аутоиммунными заболеваниями (СД 1 типа, АИТ и др.). В настоящее время обнаружена тенденция развития перечисленных выше аутоиммунных заболеваний к совместному течению [114].

Обследовано 99 семей детей больных Ц, проживающих в г. Томске и Томской области. Семейный анамнез был изучен с использованием метода родословных. С помощью этого метода информация получена на 739 человек, из них родственники 1 поколения составили 244 человека, 2 поколения 370 человек. Определение уровня АГА проведено у родственников 1 степени родства пробанда с Ц (111 человек, из них отцы - 44, матери - 44, сибсы - 23 человека). Выборка для определения АГА у больных с СД 1 типа составила 284 человека (114 детей, 170 взрослых) и больных АИТ - 119 человек.

Анализ уровня АГА класса IgA и IgG у родственников 1 степени родства пробанда с Ц показал, что уровень АГА класса Ig A у отцов, матерей пробанда с Ц, а также у sibсов не отличался от референтных значений, представленных производителем (таблица 75). Уровень АГА класса IgG был повышенным у родителей ($p=0,0004$), а также у sibсов ($p=0,0001$) пробанда с Ц статистически значимо по отношению к референтным значениям. В дальнейшем у 4 (17%) sibсов был подтвержден диагноз Ц.

Таблица 75

Уровень антиглиадиновых антител у родственников 1 степени родства пробанда с целиакией, Me (Q_1-Q_3)

Члены семьи	Количество родственников, (n)	Уровень антиглиадиновых антител (ед/мл)	
		Общая группа	*Референтные значения
Отец, АГА А	44	26,02 (11,7-34,75)	до 25,0
Отец, АГА G	44	45,73 (11,45-64,00)	до 25,0 $p=0,0004$
Мать, АГА А	44	21,46 (5,6-27,65)	до 25,0
Мать, АГА G	44	45,14 (6,65-55,55)	до 25,0 $p=0,0004$
Сибс, АГА А	23	42,8 (13,0-75,0)	до 35,0
Сибс, АГА G	23	131,23 (49,5-209,3)	до 35,0 $p=0,0001$

Примечание: АГА - антиглиадиновые антитела; * - референтные значения представленные производителем; p – достоверность различий показателей обследованных с референтными значениями

Анализ значений АГА в выборке больных с АИТ (119 человек) выявил 11 (9,2%) пациентов с высокими значениями АГА. Эти пациенты получили рекомендации по дальнейшему обследованию.

Среди больных с СД 1 типа (284 человек) имели высокие значения АГА 4 (1,4%) пациента, одному из которых при углубленном обследовании был подтвержден диагноз Ц.

Таким образом, высокая выявляемость антителоносительства (АГА IgG) среди родственников 1 степени родства пробанда с Ц подтверждает необходимость обязательного их обследования.

Резюме

Таким образом, у детей с Ц при определении уровня АГА класса IgA и IgG преимущественно были повышены АГА класса IgG. Невысокий уровень АГА класса А в исследовании, очевидно, связан с низким уровнем IgA сыворотки крови. Выявлена длительная циркуляция АГА класса IgG, что, возможно, обусловлено низкой приверженностью больных с Ц к соблюдению БГД. Для пробандов с Ц характерна гипергаммаглобулинемия.

В популяции больных Ц г. Томска и Томской области 4% детей не имели повышенного титра АГА, это еще раз подтверждает необходимость параллельно с определением уровня АГА проводить исследование состояния гуморального звена иммунитета.

При воспалительных заболеваниях различной локализации наблюдается повышение АГА, что подтверждено при обследовании детей (случайная выборка) с различной соматической патологией. Данное обстоятельство необходимо учитывать при трактовке результатов анализа по определению уровня АГА.

Высокая выявляемость АГА отмечается среди родственников 1 степени родства. В 17% (4 пациента) случаев среди sibсов был подтвержден диагноз Ц. Частота высоких значений АГА среди пациентов с СД 1 типа, АИТ составила 9,2%; 1,4%, соответственно.

4.4. Цитокиновый статус у пациентов с целиакией

Цитокиновый профиль изучен у 76 больных Ц, из них с ЦТ было 51 человек, с ЦА - 25 детей. С 1 года до 3 лет (1 возрастная группа) вошло 26 больных Ц, с 4 до 6 лет (2 возрастная группа) – 13; с 7 лет до 14 лет (3 возрастная группа) - 17 пациентов, с 15 до 17 лет (4 возрастная группа) - 20 человек. В связи с особенностями иммунитета и выработки цитокинов у детей в первые годы жизни контрольная группа включала детей с 6 до 17 лет, по этой причине из общей группы больных Ц были исключены дети до 6 лет.

Анализ результатов исследования в группе больных с 6 до 17 лет (40 детей) показал, что для пациентов с Ц характерно повышение уровня IL-1 β , TNF- α ($p=0,001$), что свидетельствует об активном воспалительном процессе. При этом отмечалось компенсаторное повышение IL-1Ra ($p=0,001$). Установлено снижение уровня INF- γ ($p=0,001$). На фоне БГД отмечалась положительная динамика изучаемых показателей в виде понижения количества цитокинов семейства IL-1 β , TNF- α , так и повышения уровня противовоспалительного цитокина IL-10 ($p=0,001$ для всех показателей), (таблица 76). При ЦТ уровень провоспалительного цитокина TNF- α , был выше чем в группе детей с ЦА и в группе контроля ($p=0,001$). Группа пациентов с ЦА, напротив, характеризовалась высокой концентрацией противовоспалительных (IL-1Ra ($p=0,001$), IL-4 ($p=0,001$)) цитокинов. Содержание перечисленных цитокинов снижалось на фоне лечения и параллельно возрастал уровень противовоспалительного цитокина IL-10, особенно при ЦА, ($p=0,001$).

В целом, при соблюдении БГД концентрация IL-1 β снижалась в группах больных (таблица 76), что связано с уменьшением активности воспалительного процесса. Снижение концентрации IL-1 β сопровождалось и уменьшением концентрации противовоспалительного цитокина IL-1Ra. В то же время возрастали показатели IL-10, статистически значимо в группе детей с ЦА ($p=0,001$).

Содержание про- и противовоспалительных цитокинов сыворотки крови
у детей с целиакией до и после лечения, Ме (Q₁-Q₃)

Показатель пг/мл	Общая группа, (n=40)	Целиакия типичная, (n=33)	Целиакия атипичная, (n=17)	Контроль, (пг/мл) (n =20)	р
Группа	1	2	3	4	
IL-1β до лечения	247,8 (109,08-391,3) p*=0,001	277,7 (99,39-409,0) p**=0,001	233,99 (118,0-311,0) p***=0,001	6,95 (1,24-15,92)	p ₁₋₄ =0,001 p ₂₋₄ =0,001 p ₃₋₄ =0,001 p ₂₋₃ =0,057
IL-1β после лечения	18,50 (0,19-56,33)	21,58 (0,27-45,56)	15,39 (0,19-43,25)		p ₁₋₄ =0,001 p ₂₋₄ =0,005 p ₃₋₄ =0,005
TNF-α до лечения	49,03 (16,9-139,5) p*=0,001	49,8 (16,9-272,9) p**=0,001	27,56 (15,2-109,0) p***=0,001	35,38 (22,93-50,85)	p ₁₋₄ =0,001 p ₂₋₃ =0,001 p ₂₋₄ =0,003
TNF-α после лечения	24,03 (0,56-125,0) p*=0,001	31,19 (0,82-233,8) p**=0,003	1,2 (0,26-60,13)		-
IL-1Ra до лечения	83,49 (14,06-300,0) p*=0,001	67,51 (13,54-262,1) p**=0,001	142,0 (39,7-515,11) p***=0,001	12,72 (10,85-13,04)	p ₁₋₄ =0,001 p ₂₋₄ =0,001 p ₃₋₄ =0,001 p ₂₋₃ =0,001
IL-1Ra после лечения	13,93 (0,67-75,0) p*=0,001	13,27 (0,33-75,01)	14,05 (1,01-53,74)		-
IL-10 до лечения	12,09 (0,58-214,9) p*=0,001	10,88 (0,58-214,9) p**=0,001	13,08 (0,98-150,0) p***=0,001	2,55 (0,00-11,41)	p ₁₋₄ =0,001 p ₂₋₄ =0,001 p ₃₋₄ =0,001
IL-10 после лечения	192,15 (68,77-773,8) p*=0,001	92,01 (65,93-648,6)	130,8 (70,13-779,5)		p ₁₋₄ =0,001 p ₂₋₃ =0,001 p ₂₋₄ =0,001 p ₃₋₄ =0,001

Продолжение таблицы 76

IL-4 до лечения	4,08 (0,23-33,7) p*=0,001	2,02 (0,18-33,7) p**=0,001	15,19 (0,35-33,7) p***=0,001	0,3 (0,1-5,15)	p ₁₋₄ =0,001 p ₂₋₃ =0,001 p ₂₋₄ =0,001 p ₃₋₄ =0,001
IL-4 после лечения	0,38 (0,17-21,86) p*=0,001	0,32 (0,16-12,05)	0,72 (0,21-21,86)		-
INF-γ до лечения	18,15 (0,56-50,07) p*=0,001	17,7 (0,55-50,07) p**=0,001	14,77 (0,52-49,71) p***=0,001	50,87 (50,25-52,46)	p ₁₋₄ =0,01 p _{2,3-4} =0,001
INF-γ после лечения	8,0 (0,05-10,71) p*=0,001	8,0 (0,05-7,56)	5,44 (0,06-13,21)		p ₁₋₄ =0,001 p ₂₋₄ =0,001 p ₃₋₄ =0,01

Примечание: p - достоверность различий при межгрупповом сравнении больных; p₂₋₃ - достоверность различий между ЦТ и ЦА; * - достоверность различий (p=0,001) в общей группе больных до назначения БГД и в динамике через 1 год; ** - достоверность различий (p=0,001) в группе пациентов с ЦТ на БГД (через 1 год); *** - достоверность различий (p=0,001) в группе пациентов с ЦА на БГД (через 1 год)

Содержание цитокинов в сыворотке крови у детей с Ц зависело от пола (n=76), (таблица 77). В исследовании были выявлены следующие особенности. Уровень IL-1β оказался выше среди девочек (247,02 пг/мл, (134,0-419,0)), по сравнению с мальчиками (214,05 пг/мл, (109,08-351,89), p=0,03).

Уровень TNF-α также оказался максимальным у лиц женского пола (p=0,02). Возможно, с этим была связана большая распространенность БЭН и ее тяжести у девочек. Напротив, активность IL-1Ra была более выражена среди мальчиков (83,49 пг/мл, (14,75-296,3), p=0,05), по сравнению с девочками (66,25 пг/мл, (14,04-219,4)).

Анализ содержания цитокинов сыворотки крови у детей в зависимости от пола и формы Ц (таблицы 78, 79) показал, что при ЦТ уровень IL-1β был высоким среди мальчиков (p=0,0001), а при ЦА - у девочек (p=0,0007) по сравнению с

мальчиками. Уровень TNF- α и IL-1Ra был выше у девочек при ЦА ($p=0,0001$) по сравнению с мальчиками. Высокие показатели INF- γ ($p=0,0001$) при ЦТ были характерны для девочек.

Таблица 77

Содержание про- и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови у детей с целиакией в зависимости от пола, Ме (Q₁-Q₃)

Показатель, пг/мл	Мальчики, (n=42)	Девочки, (n=34)	p
	1	2	
IL-1 β до лечения	214,05 (109,08-351,89)	247,02 (134,0-419,0)	$p_{1-2}=0,03$
IL-1 β после лечения	14,05 (0,18-51,89)	24,04 (0,9-45,89)	-
TNF- α до лечения	38,69 (15,58-89,09)	56,25 (19,1-353,03)	$p_{1-2}=0,02$
TNF- α после лечения	11,2 (0,26-60,13),	24,03 (0,56-233,8)	-
IL-1Ra до лечения	83,49 (14,75-296,3)	66,25 (14,04-219,4)	$p_{1-2}=0,05$
IL-1Ra после лечения	14,05 (0,05-75,00)	12,4 (0,33-53,74)	-

Примечание:., p_{1-2} - достоверность различий между мальчиками и девочками

Высокие показатели INF- γ ($p=0,0001$) при ЦТ были характерны для девочек. В таблице 78, 79 приведены данные со статистически значимыми различиями показателей цитокинов в сравниваемых группах

Уровень цитокинов сыворотки крови у детей с типичной целиакией
в зависимости от пола, Ме (Q₁-Q₃)

Показатель, пг/мл	Мальчики, (n=27)	Девочки, (n=24)	P
	1	2	
IL-1β до лечения	307,6 (128,9-399,5)	233,86 (75,4-408,45)	p ₁₋₂ =0,0001
IL-1β после лечения	18,6 (0,12-45,9)	20,6 (0,54-50,4)	-
IL-1Ra до лечения	67,12 (14,24-258,5)	37,29 (8,26-160,55)	p ₁₋₂ =0,0001
IL-1Ra после лечения	15, 15 (0,33-65,5)	14,5 (0,41-75,01)	-
INF-γ до лечения	9,33 (0,35-49,36)	16,34 (0,68-50,69)	p ₁₋₂ =0,03
INF-γ после лечения	6,33 (0,35-10,36)	5,34 (0,68-7,69)	-

Примечание: p - достоверность различий при межгрупповом сравнении больных; p₁₋₂ - достоверность различий между мальчиками и девочками

Уровень цитокинов сыворотки крови у детей с атипичной целиакией
в зависимости от пола, Ме (Q₁-Q₃)

Показатель, пг/мл	Мальчики, (n=15)	Девочки, (n=10)	p
	1	2	
IL-1β до лечения	211,1 (90,11-284,00)	263,2 (103,4-322,1)	p ₁₋₂ =0,0007

IL-1 β после лечения	13,3 (0,21-45,25)	15,45 (0,19-43,25)	-
IL-1Ra до лечения	79,00 (14,75-315,11)	180,7 (61,0-516,21)	p ₁₋₂ =0,0001
IL-1Ra после лечения	12,05 (0,93-35,04)	16,5 (4,3-53,74)	-
TNF- α до лечения	27,08 (13,04-109,00)	51,36 (33,5-128,9)	p ₁₋₂ =0,0001
TNF- α после лечения	7,08 (0,34-45,13)	15,36 (3,35-60,13)	-

Примечание: p - достоверность различий при межгрупповом сравнении больных; p₁₋₂ - достоверность различий между мальчиками и девочками

Проведен анализ состояния цитокинового статуса в зависимости от возраста пациентов с Ц (таблица 80, 81). Во всех возрастных группах до назначения БГД был значительно повышен уровень IL-1 β в сыворотке крови, максимальная его концентрация приходилась на возраст с 7 до 14 лет, в группе с 15 до 17 лет его значения уменьшались (p=0,001).

Через 1 год от начала наблюдения БГД содержание провоспалительного цитокина IL-1 β снижалось у всех пациентов вне зависимости от возраста (p=0,001). Ключевым цитокином в процессе воспаления является TNF- α . Наибольшая концентрация TNF- α отмечена у больных до 6 лет по отношению к группам детей старше 7 лет (p=0,001). Снижение содержания TNF- α согласуется с выраженностью клинических проявлений, которые уменьшаются с возрастом у пациентов с Ц. Уровень TNF- α у детей с 1 до 3 лет в динамике на фоне БГД оставался высоким по сравнению с показателями 2 и 3 возрастной группы. Эти данные подтверждают трудности достижения компенсации Ц у детей младшей возрастной группы (таблица 81).

Уровень провоспалительных цитокинов в сыворотке крови в зависимости от возраста ребенка до и после лечения, Ме (Q₁-Q₃)

Показатель, пг/мл		Возраст больных целиакией (n=76)				p
		1-3 года, (n=26)	4-6 лет, (n=13)	7-14 лет, (n=17)	15-17лет, (n=20)	
		1	2	3	4	
IL-1β	I	173,4 (51,59–335,19)	274,5 (233,0–391,3)	284,0 (128,9–399,5)	237,6 (7,57–434,99)	p _{1-2,4} =0,001 p ₁₋₃ =0,004
IL-1β	II	0,96* (0,44–200,01)	0,51* (0,34–56,33)	0,34* (0,19–0,84)	0,44* (0,27–0,71)	
TNF-α	I	65,31 (20,2–583,4)	112,0 (16,3–353,0)	25,61 (16,5–60,91)	32,14 (16,37–55,0)	p ₁₋₂ =0,001 p _{2-3,4} =0,001
TNF-α	II	61,62 (5,42–213,08)	12,01 (0,69–60,19)	14,87 (0,29–86,34)	42,91 (8,19–198,0)	p*** _{1-2,3} =0,001
INF-γ	I	18,6 (1,22–50,07)	13,11 (0,35–55,78)	15,41 (12,3–49,36)	25,08 (0,54–49,89)	-
INF-γ	II	5,33* (0,06–11,43)	7,21* (0,04–7,35)	8,06* (0,05–13,56)	8,06* (0,05–10,14)	-

Примечание: p_{1-2,3,4} – различия при сравнении показателей группы детей от 1-3 лет с другими возрастными группами; p_{3,4} – различия при сравнении показателей группы с 7 до 14 лет и с 15 до 17 лет; p_{1,-2-3,4} – различия показателей групп младше и старше 7 лет; p* – достоверность различия показателей до и после лечения (p=0,001); p***_{2,3} – достоверность различия показателей до и после лечения между группами 2 и 3

Уровень противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови в зависимости от возраста ребенка до и после лечения, Ме (Q₁-Q₃)

Показатель, пг/мл	Возраст больных целиакией (n=76)				p
	1-3года, (n=26)	4-6 лет, (n=13)	7-14 лет, (n=17)	15-17 лет, (n=20)	
	1	2	3	4	
IL-1Ra до лечения	39,7 (5,56–268,3)	179,0 (45,45–650,91)	87,12 (20,0–269,0)	59,69 (30,2–160,55)	p _{2-3,4} =0,001
IL-1Ra после лечения	12,06 (0,24–21,19)	27,39 (11,45–53,74)	14,05 (1,33–75,01)	14,19 (2,03–66,72)	p*=0,001
IL-10 до лечения	13,08 (0,98–197,2)	5,86 (0,56–11,12)	65,0 (1,84–318,51)	130,84 (0,59–427,77)	p _{1,2-3,4} =0,001
IL-10 после лечения	135,00 (64,66–773,8)*	67,15 (51,32–320,5)*	274,1 (92,48–811,8)*	458,95 (84,4–719,65)*	p*=0,001
IL-4 до лечения	12,99 (0,34–32,8)	13,87 (0,12–65,11)	3,43 (0,31–56,31)	3,19 (0,26–59,14)	p _{1,2-3,4} =0,001
IL-4 после лечения	0,78 (0,19–17,15)	0,65 (0,16–12,13)	0,29 (0,17–0,76)	0,32 (0,15–8,88)	p*=0,001

Примечание: p - достоверность различий; p_{1-2,3,4} – достоверность различия показателей между группой детей до 3 лет с остальными возрастными группами; p₃₋₄ – достоверность различия показателей между группой с 7 до 14 лет с группой детей с 15 до 17 лет; p_{1,2-3,4} – достоверность различия показателей между детьми младше и старше 7 лет; * - p*=0,001 – достоверность различия показателей до и после лечения

Уровень противовоспалительного цитокина IL-1Ra был максимальным у пациентов в возрасте с 4 до 6 лет по сравнению с группой детей старше 7 лет ($p=0,001$) и далее уменьшался с возрастом ($p=0,001$). Низкий уровень IL-1Ra зафиксирован также в 1 возрастной группе, что может играть существенную роль в поддержании воспаления в раннем возрасте. Через 1 год наблюдения БГД уровень IL-1Ra снижался во всех возрастных группах (таблица 82). Концентрация IL-4 была повышенной у больных до 6 лет по сравнению с группой детей после 7 лет. На фоне лечения отмечено снижение уровня IL-4 среди всех обследованных (таблица 81). Содержание IL-10 увеличивалось с возрастом пациента, достигая максимума среди больных старшей возрастной группы ($p=0,001$), (таблица 81). IL-10 относится к числу противовоспалительных цитокинов и его активно секретируют Мн-Мф, активированные Т-хелперы. IL-10 ингибирует продукцию INF- γ Т-лимфоцитами, продукцию всех провоспалительных цитокинов макрофагами, экспрессию рецепторов TNF- α и IL-12 на естественных киллерах. При назначении терапии уровень IL-10 повышался во всех группах. Отмечено превалирование выработки IL-4 у детей от 1 до 6 лет. Возрастных особенностей по содержанию INF- γ не было зарегистрировано. На фоне лечения IL-4 и INF- γ снижались во всех возрастных группах ($p=0,001$), (таблица 80). Соотношение INF- γ /IL-4, определяющее направленность иммунного ответа по Th1 или Th2 пути, было следующим: за счет повышения уровня IL-4 в возрастных группах до 6 лет, по сравнению с детьми старше 7 лет, коэффициент INF- γ /IL-4 составил 0,2 в группе детей до 3 лет и 0,6 у детей в возрасте с 4 до 6 лет. Через 1 год наблюдения БГД соотношение INF- γ /IL-4 у детей этих возрастных групп изменилось до 1,3; 2,5, соответственно, за счет снижения продукции Т-лимфоцитами IL-4, что формировало иммунный ответ в направлении Th 1 типа. Следовательно, при манифестации Ц преобладает Th2 путь иммунного ответа, что объясняет частоту кожных аллергических поражений у пациентов. В нашем исследовании у 16% детей имел место атопический дерматит. При назначении БГД отмечается снижение уровня IL-4, что согласуется с купированием кожных проявлений

атопии у больных с Ц через 1 год после терапии диетой. Коэффициент $INF-\gamma/IL-10$ в 1 возрастной группе составил 0,09; во 2 - 0,4; в 3 - 0,1; в 4 - 0,09. Снижение коэффициента $INF-\gamma/IL-10$ на фоне БГД отмечается во всех возрастных группах обследованных больных (0,07; 0,02; 0,02; 0,02, соответственно для 1, 2, 3 и 4 групп) за счет повышения уровня $IL-10$, что отражает активные регенеративные процессы в СОТК.

Проведен анализ данных цитокинового профиля у пробандов с Ц, имеющих осложнения в виде дефицитных состояний. В таблице 82 отражены данные по содержанию цитокинов только с достоверными отличиями при межгрупповом сравнении. Были выявлены следующие особенности. В группе пациентов без осложнений содержание $IL-1\beta$ и его антагониста ($IL-1Ra$) было ниже, чем в группе детей с дефицитными состояниями ($p=0,000$), (таблица 82).

В группе детей со снижением МПКТ абсолютные значения $IL-1\beta$ и $IL-1Ra$ были выше до и после лечения, чем в группе детей с анемией, ЗФР, но без достоверной разницы. В динамике наблюдения отмечено достоверное уменьшение содержания $IL-1\beta$ и $IL-1Ra$ во всех группах ($p=0,000$). Очевидно, при Ц развитие дефицитных состояний ассоциировано с изменениями продукции цитокинов семейства $IL-1$ ($IL-1\beta$ и $IL-1Ra$).

Таблица 82

Содержание про- и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови у пробандов с целиакией в зависимости от наличия осложнений, Ме (Q_1-Q_3)

Показатель пг/мл	Без осложнений, (n=8)	Анемия, (n=48)	Снижение МПКТ, (n=19)	ЗФР, (n=51)	p
	1	2	3	4	
$IL-1\beta$ до лечения	73,4 (51,59-135,0)	235,05 (104,2-275,0)	307,8 (173,4-409,0)	274,5 (73,8-409,0)	$p_{1-2,3,4}=0,000$
$IL-1\beta$ после лечения	11,96 (0,44-34,01) ***	20,62 (0,25-56,33) ***	34,35 (0,19-51,07) ***	21,63 (0,26-45,56) ***	$p^{***}=0,0001$

Продолжение таблицы 82

IL-1Ra до лечения	39,7 (5,56-268,3)	83,49 (10,9-306,15)	122,0 (39,0-484,9)	69,23 (14,04-269,0)	p _{1-2,3,4} =0,000
IL-1Ra после лечения	6,06 (0,24-21,19) ***	13,68 (0,45-55,8) ***	19,19 (0,3-79,8) ***	13,63 (0,41-75,0) ***	p ^{***} =0,0001

Примечание: p_{1-2,3,4} – достоверность различия показателей до лечения между группой больных без осложнений с осложненными формами целиакии; p^{***} – достоверность различия показателей до и после лечения.

Таким образом, для Ц в детском возрасте характерно повышение про- и противовоспалительных цитокинов, которое зависит от возраста и пола ребенка, а также отражает активность воспалительного процесса в организме.

Максимальная активность воспаления у больных с Ц приходится на период до 7 лет (повышение TNF- α), это же подтверждает увеличение содержания IL-10 в группе пациентов с 15 до 17 лет. Известно, что с возрастом уменьшается активность иммунного реагирования в ответ на поступление в организм глютенсодержащих продуктов. Физиологические особенности становления иммунного ответа тоже вносят свой вклад в характер иммунного ответа на воспаление. Для больных Ц характерно позднее переключение с Th2 на Th1 тип иммунного ответа.

В целом, выраженность клинических проявлений заболевания в разные возрастные периоды определяется уровнем и соотношением про- и противовоспалительных цитокинов. При Ц, протекающей с осложнениями (анемия, ЗФР, снижение МПКТ) имеются особенности продукции цитокинов. БГД ведет к восстановлению равновесия в системе IL-1 и соотношения про- и противовоспалительных цитокинов.

4.5. Иммунологические показатели родственников I степени родства пробандов с целиакией

Исследование цитокинового статуса проведено у родственников 1 степени родства пробандов с целиакией. Определена концентрация про- и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови (таблица 83).

Таблица 83

Уровни цитокинов сыворотки крови у матерей и отцов пробандов с целиакией, Me (Q₁-Q₃)

Показатель, пг/мл	Член семьи, (n)	Референтные значения ¹ (пг/мл)	Общая группа, пг/мл
IL-1β	мать, (n=62)	До 50,0 (p=0,0001)	90,19 (28,42-311,6)
	отец, (n=46)	До 50,0 (p ₁ =0,579)	54,04 (18,4-156,9)
IL-1Ra	мать, (n=62)	50,0-100,0 (p=0,0001)	25,19 (1,85-118,0)
	отец, (n=46)	50,0-100,0 (p ₁ =0,063)	64,1 (15,13-225,6)
IL-10	мать, (n=62)	3,0-70,0 (p=0,0001)	213,2 (76,23-597,3)
	отец, (n=46)	3,0-70,0 (p ₁ =0,0001)	330,05 (91,9-675,4)
IL-4	мать, (n=62)	5,0-50,0 (p=0,317)	3,0 (0,29-13,1)
	отец, (n=46)	5,0-50,0	11,35 (0,62-47,0)
INF-γ	мать, (n=62)	5,0-50,0 (p=0,239)	7,76 (0,30-50,43)
	отец, (n=46)	5,0-50,0 (p ₁ =0,020)	0,98 (0,62-48,59)
TNF-α	мать, (n=62)	5,0-50,0	37,1 (23,56-98,11)
	отец, (n=46)	5,0-50,0 (p ₁ =0,273)	33,3 (24,5-146,0)

Примечание: ¹ – референтные значения уровня цитокинов, предложенные производителем тест-систем; p - достоверность различий между референтными значениями и уровнем цитокинов в общей группе матерей; p₁ - достоверность различий между референтными значениями и уровнем цитокинов в общей группе матерей в общей группе отцов.

Для матерей пробандов с Ц характерен высокий уровень IL-1β, IL-10 (p=0,0001), пониженное содержание IL-4 и IL-1Ra (p=0,0001), концентрация INF-γ

и TNF- α соответствовала референтным значениям, предложенным для данных цитокинов. Среди отцов пробандов с Ц зарегистрировано высокое содержание IL-10 ($p=0,0001$), напротив, низким был уровень INF- γ ($p=0,0209$), значения остальных цитокинов не отличались от референтных. Исследование цитокинового статуса у сибсов пробанда выявило однонаправленные с больными Ц изменения в виде значительного повышения концентрации IL-1 β ($p=0,0001$). Значения уровней других исследуемых цитокинов были в пределах референтных значений (таблица 84).

Таблица 84

Уровни цитокинов у сибсов пробандов с целиакией, Ме (Q_1 - Q_3)

Показатель, пг/мл	Контроль (пг/мл), (n=20)	Общая группа (сибсы), (n=26), (пг/мл)	p
IL-1 β	6,95 (1,24-15,92)	219,15 (87,66-409,8)	p=0,0001
TNF- α	35,38 (22,93-50,85)	31,09 (13,07-60,56)	-
IL1-Ra	12,72 (10,85-13,04)	13,91 (13,8-19,8)	-
IL-10	2,55 (0,00-11,41)	3,06 (2,41-15,7)	-
IL-4	0,3 (0,1-5,15)	0,54 (0,21-5,11)	-
INF- γ	50,87 (50,25-52,46)	47,45 (44,17-49,5)	-

Примечание: ¹ – референтные значения уровня цитокинов в сыворотке крови, предложенные производителем тест – систем; p- достоверность различий между референтными значениями и уровнем цитокинов в общей группе сибсов пробандов с целиакией; n – количество сибсов.

Исследования гуморального звена иммунитета (определение сывороточных иммуноглобулинов) выявило у всех членов семьи пробанда с Ц гипергаммаглобулинемию, показатели IgA и IgM не отличались от контрольных значений (таблица 85).

Показатели гуморального иммунитета у родственников 1 степени родства пробандов с целиакией, ($X \pm m$)

Члены семьи	IgA, г/л	IgM, г/л	IgG, г/л
Группа	1	2	3
Контроль (взрослые)	2,15±0,18	1,50±0,08	13,20±0,60
Отец, (n=46)	2,02±0,30	0,91±0,09	20,82±1,83*
Мать, (n=62)	2,13±0,32	1,28±0,15	20,14±1,22*
Сибсы, (контроль)	1,31±0,05	1,29±0,04	10,09±0,12
Сибс, (n=18)	1,36±0,56	1,33±0,21	20,60±1,04*

Примечание: * - $p \leq 0,01$ достоверность различий между контрольной группой и уровнем IgG у родственников; n - количество обследованных

Таким образом, у матерей и сибсов пробанда с Ц выявлен высокий уровень провоспалительного цитокина IL-1 β , причем у сибсов это повышение было значительным, гипергаммаглобулинемия отмечена у членов семьи пробанда с Ц.

4.6. Структурно-метаболический статус и функциональная активность моноцитов-макрофагов сыворотки крови пациентов с целиакией

Иммунологическое исследование, включающее оценку функциональной активности Мн-Мф, их структурно-метаболического статуса проведено у 25 пациентов с Ц. В группе обследованных ЦТ была у 19 (76%) детей, у 6 (24%) - ЦА.

При оценке функциональной активности Мн-Мф и их рецепторного аппарата в сыворотке крови больных целиакией отмечено снижение экспрессии С₃b- и Fc γ -рецепторов ($p < 0,001$; $p < 0,008$) по сравнению со здоровыми детьми (таблица 86).

Таблица 86

Характеристика показателей структурного статуса и функциональной активности моноцитов-макрофагов в крови у больных с целиакией, Me (Q₁-Q₃)

Показатели	Целиакия, (n=25)	Здоровые, (n=20)	p
C _{3b} , %	9,0 (5,0-23,0)	21 (19-24)	0,001
Fcγ, %	8,0 (4,0-11,0)	13 (11-16)	0,008
СПЛ, ед	27,0 (23,0-30,0)	26 (12-31)	0,054
Макрофагальный фагоцитоз (ед. опт. пл.)	540,0 (440,0-620,0)	460 (320-510)	0,003

Примечание: p–достоверность различия показателей между группами пациентов

При этом макрофагальный фагоцитоз был выше у пациентов с Ц. У детей с ЦТ снижение экспрессии C_{3b}- и Fcγ-рецепторов было сопряжено с нарушениями макрофагального фагоцитоза. Средний показатель люминесценции (СПЛ) не отличался от нормы. У детей с ЦА изменения выявлены только относительно C_{3b}-рецепторов, p=0,050, (таблица 87).

Таблица 87

Характеристика показателей структурного статуса и функциональной активности моноцитов-макрофагов в крови у больных с целиакией типичной и атипичной, Me (Q₁-Q₃)

Показатели	Целиакия типичная, (n=19)	Целиакия атипичная, (n=6)	Здоровые, (n=20)	P
	1	2	3	
C _{3b} , %	15,0 (5,0-24,0)	7,5 (5,0-14,0)	21 (19-24)	p ₁₋₃ =0,003 p ₂₋₃ =0,050
Fcγ, %	7,0 (3,0-11,0)	10,0 (5,0-16,0)	13 (11-16)	p ₁₋₃ =0,012 p ₂₋₃ =0,448

Продолжение таблицы 87

СПЛ, ед	27,0 (23,0-30,0)	26,0 (20,0-32,0)	26 (12-31)	$p_{1-3}=0,097$ $p_{2-3}=0,393$
Макрофагальный фагоцитоз (ед. опт. пл.)	520,0 (440,0-590,0)	580,0 (410,0-650,0)	460 (320-510)	$p_{1-3}=0,024$ $p_{2-3}=0,067$

Примечание: p_{1-3} – достоверность различия показателей детей с ЦТ и здоровыми пациентами; p_{2-3} – достоверность различия показателей детей с ЦА и здоровыми детьми; p_{1-2} - достоверность различия показателей больных ЦТ и ЦА

Сравнительная характеристика показателей структурного статуса и функциональной активности Мн-Мф в крови в зависимости от осложнений Ц выявил следующее: у пациентов с Ц, осложненной ЗФР, снижением МПКТ и ассоциированной с селективным дефицитом IgA, была ниже экспрессия C_3b -рецепторов ($p=0,001$; $p=0,012$; $p=0,008$), был снижен макрофагальный фагоцитоз ($p=0,02$; $p=0,012$; $p=0,048$) и количество лизосом ($p=0,003$; $p=0,01$; $p=0,001$) относительно показателей здоровых детей, экспрессия $Fc\gamma$ -рецепторов Мн-Мф при перечисленных состояниях достоверно не изменялась (таблица 88).

Таблица 88

Характеристика показателей структурного статуса и функциональной активности моноцитов-макрофагов в крови в зависимости от осложнений целиакии, Me (Q_1-Q_3)

Показатели	Целиакия					p
	ЗФР, (n=15)	Снижение МПКТ, (n=10)	Дефицит IgA, (n=9)	Анемия, (n=18)	Здоровые, (n=20)	
	1	2	3	4	5	
$C_3b\%$	7,0 (4,0-23,0)	7,0 (4,0-23,0)	9,0 (5,0-23,0)	7,0 (4,0-19,0)	21 (19-24)	$p_{1-5}=0,001$ $p_{2-5}=0,012$ $p_{3-5}=0,008$ $p_{4-5}=0,001$

Fcγ%	8,0 (2,0-18,0)	8,5 (3,0-14,0)	8,0 (3,0-11,0)	8,0 (3,0-14,0)	13 (11-16)	p ₄₋₅ =0,049
СПЛ, ед	28,0 (24,0-33,0)	29,0 (22,0-32,0)	30,0 (24,0-33,0)	25,0 (20,0-30,0)	26 (12-31)	p ₁₋₅ =0,003 p ₂₋₅ =0,001 p ₃₋₅ =0,001 p ₄₋₅ =0,033
Макрофагальный фагоцитоз (ед. опт. пл.)	540,0 (440-620)	555,0 (490-620)	490,0 (420-560)	490,0 (420-560)	460,0 (320-510)	p ₁₋₅ =0,020 p ₂₋₅ =0,012 p ₃₋₅ =0,048 p ₄₋₅ =0,029

Приложение: p₁₋₅ – достоверность различия показателей между группами целиакией, осложненная ЗФР и здоровой группой; p₂₋₅ – достоверность различия показателей между группами пациентов целиакия, осложненная нарушениями МПКТ и здоровые пациенты; p₃₋₅ – достоверность различия показателей между группами пациентов целиакия сочетанная с дефицитом IgA и здоровой группой; p₄₋₅ – достоверность различия показателей между группами пациентов целиакия, осложненная анемией и здоровыми пациентами

При Ц, осложненной анемией, отмечалось нарушение всех изучаемых показателей структурного статуса и функциональной активности Мн-Мф относительно показателей здоровых детей (таблица 89). При анализе показателей структурного статуса и функциональной активности Мн-Мф крови больных Ц ассоциации с полиморфными вариантами изучаемых генов цитокинов не получено, таблицы в силу этого не приводятся. Итак, у детей с Ц отмечено снижение экспрессии рецепторного аппарата C₃b- и Fcγ-рецепторов Мн-Мф и повышение макрофагального фагоцитоза. Для Ц, ассоциированной с дефицитом IgA, осложненной ЗФР, снижением МПКТ, анемией характерны нарушения структурно-метаболического статуса Мн-Мф.

Резюме

Таким образом, в нашем исследовании при определении уровня АГА в сыворотке крови у детей с Ц преимущественно были повышены АГА G. Скрининговые исследования выявили достоверно высокий уровень АГА при

неспецифических воспалительных заболеваниях вирусной и бактериальной этиологии, аллергопатологии, у больных с аутоиммунными заболеваниями, родственников 1 степени родства. Это обстоятельство следует учитывать при диагностике и, наряду с определением уровня АГА, использовать более специфичные для заболевания тесты, в частности, определение антител к tTG. Среди пациентов с СД 1 типа не получено высокой частоты выявляемости целиакии. При Ц повышена продукция как про-, так и противовоспалительных медиаторов. ЦТ, в отличие от ЦА, характеризуется более высокой продукцией провоспалительных цитокинов. Максимальная активность хронического воспалительного процесса приходится на период до 16 лет. Пробанды с Ц и их родственники 1 степени родства имеют однонаправленные изменения иммунитета в виде повышения уровня провоспалительных цитокинов, а также гуморальных факторов, что свидетельствует о генетической обусловленности выявленных нарушений в изучаемых семьях. При Ц отмечено снижение экспрессии рецепторного аппарата C_3b - и $Fc\gamma$ -рецепторов Мн-Мф и повышение макрофагального фагоцитоза.

ГЛАВА 5. ЦЕЛИАКИЯ – ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЗАБОЛЕВАНИЯ

5.1. Влияние наследственности на течение целиакии

В среднем у 14% пробандов с Ц родители сами страдают целиакией в скрытой форме. Конкордантность между монозиготными близнецами при Ц достигает 70%, а конкордантность у HLA-идентичных лиц – 30%. Это пока самое высокое соответствие, известное для мультифакториального заболевания. Все вышеперечисленное подтверждает генетическую предрасположенность к Ц.

Семейный анамнез (99 семей детей больных Ц, проживающих в Томске и Томской области) был изучен с использованием метода родословных в условиях ФГБУ НИИ медицинской генетики СО РАМН. Общее количество родственников составило 739 человек, из них родственников 1 поколения 244 человека, 2 поколения 370 человек. Под наблюдением находились 60 семей и 37 семей - пара мать - ребенок. Анализ состояния здоровья родственников 1 степени родства показал, что Ц у сибсов чаще регистрировалась в тех семьях, где пробанд был с ЦТ (3 (15,8%) против 1 (14,2%) случая с ЦА). Аллергические, аутоиммунные заболевания встречались среди сибсов с одинаковой частотой и не зависели от формы заболевания пробанда. Частота заболеваний ЖКТ среди сибсов пробандов с ЦТ и ЦА достоверно не отличалась (таблицы 89, 90).

Поражение ЖКТ, аллергические заболевания, аутоиммунная патология отмечались достоверно чаще по отношению к другим членам семьи у матерей пробандов, как с ЦТ, так и с ЦА. Патология сердечно-сосудистой системы у матерей пробандов с ЦА выявлялась чаще ($p=0,0001$), чем у отцов. Среди отцов отягощенность по хронической патологии не зависела от формы заболевания (ЦТ, ЦА) пробанда.

Состояние здоровья родственников в семьях детей с типичной целиакией, n (%)

Нозологическая форма	1 поколение			2 поколение			
				По линии матери		По линии отца	
	Мать, (n=63)	Отец, (n=63)	Сибс, (n=19)	Бабушка, (n=52)	Дедушка, (n=52)	Бабушка, (n=52)	Дедушка, (n=52)
	1	2	3	4	5	6	7
Целиакия	0 (0,0)	0 (0,0)	3 (15,8)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Аутоиммунные заболевания	14 (22,2) $p_{1-2,3}=0,0001$	3 (4,8)	2 (3,2)	14 (26,9) $p_{4-5}=0,0001$	5 (9,6)	12 (23,1) $p_{6-7}=0,01$	6 (11,6)
Аллергические заболевания	14 (22,4) $p_{1-2}=0,04$ $p_{1-3}=0,0001$	9 (14,4) $p_{2-3}=0,01$	4 (6,4)	3 (5,8)	3 (5,8)	8 (15,4) $p_{6-7}=0,0035$	3 (5,8)
Онкологические заболевания	2 (3,2)	0 (0,0)	0 (0,0)	10 (19,2)	10 (19,2)	12 (23,1)	13 (25,0)
Заболевания ЖКТ	55 (87,3) $p_{1-2,3}=0,0001$	26 (41,2)	23 (36,8)	19 (36,5)	32 (61,5) $p_{4-5}=0,001$	28 (50,9)	34 (65,4)
Сердечно-сосудистые заболевания	33 (52,8) $p_{1-2}=0,17$	38 (60,3)	0 (0,0)	42 (80,8)	44 (53,7)	45 (86,5)	42 (80,8)

Примечание: p – достоверность различий между группами; n – общее количество обследованных

Состояние здоровья родственников в семьях детей с атипичной целиакией, n (%)

Нозологическая форма	1 поколение			По линии матери		По линии отца	
	Мать, (n=34)	Отец, (n=34)	Сибс, (n=7)	Бабушка, (n=28)	Дедушка, (n=28)	Бабушка, (n=28)	Дедушка, (n=28)
	1	2	3	4	5	6	7
Целиакия	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (14,2)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Аутоиммунные заболевания	4 (11,8) $p_{1-2,3}=0,04$	2 (5,8)	2 (5,8)	9 (32,1) $p_{4-5}=0,01$	4 (14,4)	6 (21,6) $p_{6-7}=0,001$	2 (7,2)
Аллергические заболевания	7 (20,6) $p_{1-2,3}=0,03$	4 (11,8)	4 (11,6)	2 (7,2)	1 (3,6)	2 (7,1)	2 (7,2)
Онкологические заболевания	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (7,2)	11 (39,3) $p_{4-5}=0,0001$	10 (35,5) $p_{6-7}=0,0002$	6 (21,6)
Заболевания ЖКТ	24 (70,6) $p_{1-2,3}=0,001$	16 (47,2)	6 (17,4)	13 (46,4)	19 (67,9) $p_{4-5}=0,002$	19 (55,1)	20 (71,4)
Сердечно-сосудистые заболевания	21 (61,8) $p_{1-2}=0,0001$	18 (52,2)	0 (0,0)	25 (89,32)	26 (92,9)	26 (92,9)	27 (96,4)

Примечание: p – достоверность различий между группами; n – общее количество обследованных

Состояние здоровья родственников 2 степени родства имело следующие особенности: у бабушек по линии матери и по линии отца достоверно чаще регистрировались аутоиммунные заболевания, независимо от формы заболевания у пробанда.

По линии матери у дедушек доминировала патология органов ЖКТ независимо от формы Ц у пробанда. По линии отца у бабушек достоверно чаще диагностировалась аутоиммунная патология вне зависимости от формы Ц. Аллергические заболевания встречались чаще у бабушек по линии отца ($p=0,0035$) при ЦТ у пробанда, онкологические заболевания ($p=0,0002$) наблюдались среди бабушек пробандов с ЦА. Максимальная частота (11,2%) аллергических заболеваний обнаружена у бабушек по линии отца в семьях пробандов с ЦТ. Аутоиммунная патология наблюдалась чаще у лиц женского пола и не зависела от формы Ц у пробанда. Случаев Ц у родственников 2 поколения не выявлено (таблицы 89, 90).

Был проведен анализ показателей роста у родителей с учетом того, что пациенты с Ц имели высокую частоту ЗФР. Средний рост отцов был ниже в семьях пробандов с ЦА (173 см) против 176 см у отцов пробандов с ЦТ ($p=0,052$), средний рост матерей, а также родственников 2 степени родства не отличался в зависимости от формы заболевания у пробанда (таблица 91). В целом случаев низкорослости среди родственников детей с Ц выявлено не было.

Таблица 91

Характеристика ростовых показателей родственников
1 и 2 степени родства пробандов с целиакией, (см), ($X \pm m$)

Члены семьи	Рост, (см)			p
	Общая группа	Целиакия типичная	Целиакия атипичная	
	1	2	3	
Отец	(n=97) 175,0±5,88	(n=63) 176,0±0,72	(n=34) 173,5±1,13	$p_{1-3}<0,020$ $p_{2-3}<0,052$
Мать	(n=97) 164,0±5,88	(n=64) 163,5±0,76	(n=33) 164,0±0,97	-

Продолжение таблицы 91

Бабушка (1)	(n=80) 160,0±4,34	(n=52) 160,0±6,2	(n=28) 160,0±5,07	-
Дедушка (1)	(n=80) 170,0±4,34	(n=52) 170,0±5,46	(n=28) 170,0±7,51	-
Бабушка (2)	(n=80) 160,0±8,11	(n=52) 163,00±1,16	(n=28) 160,0±10,61	$p_{1-2}<0,005$ $p_{1-3}<0,06$
Дедушка (2)	(n=80) 170,0±3,8	(n=52) 170,0±11,58	(n=28) 170,0±9,27	$p_{1-2}<0,0017$

Примечание: n – общее количество обследованных; 1 – родственники по линии матери пробанда; 2 – родственники по линии отца пробанда, p – различия при сравнении показателей между группами; p_{1-2} – различия при сравнении показателей общей группы и ЦТ; p_{1-3} – различия при сравнении показателей общей группы и ЦА; p_{2-3} – различия при сравнении показателей группы ЦТ и ЦА

Таким образом, анализ данных наследственного анамнеза выявил высокуюотягощенность по аутоиммунным заболеваниям (чаще по женской линии, независимо от формы Ц у пробанда), онкологическим заболеваниям (преимущественно при ЦА), аллергическим заболеваниям, поражению ЖКТ.

5.2. Распространенность HLA-генотипов и аллелей в популяции больных целиакией и в их семьях

5.2.1. Распространенность HLA-генотипов и аллелей у пробандов с целиакией

Популяционные генетические исследования, проведенные в Европе, продемонстрировали высокую частоту встречаемости гаплотипов HLA-DQ2/DQ8 у больных Ц. У 90-95% пациентов выявляется гетеродимер DQ2 [DQA1*0501 (0505)/DQB1*0201 (202)], а у остальных 5-10% - DQ8 (DQA1*301/DQB1*302) [251]. Данные исследования указывают на самостоятельную роль в развитии Ц молекулы DQ2, представленной сочетанием аллелей DQA1*201/DQB1*202, отдельных аллелей гетеродимера DQ2 [253], также молекулы DQ7, образованной

сочетанием аллелей DQA1*501 (505)/DQB1*301 [250]. Отмечается ассоциация Ц с антигенами В8 и DR3 [13]. Указывается, что именно комбинация антигенов дает более сильную ассоциацию с Ц [318].

По данным литературы в группе детей с Ц выявлены положительные ассоциации заболевания с HLA-специфичностями: HLA-B*08, HLA-DRB1*03, HLA-DRB1*07, HLA-DQB1*02.

Генетическими факторами предрасположенности к Ц являются сочетания специфичностей в генотипе пациентов (HLA-B*08; HLA-DRB1*03; HLA-DQB1*02 и HLA-DRB1*07; HLA-DQB1*02/HLA-DQB1*03), каждое из которых является самостоятельным генетическим маркером Ц. Отмечена отрицательная ассоциация с Ц по группе аллелей HLA-DQB1*06 [72].

В нашей работе была поставлена задача изучить частоту HLA-генотипов и аллелей у пробандов с Ц в Томской области и родственников 1 степени родства, а также у пациентов с Ц из популяции Краснодарского края. Поскольку специфическую чувствительность или резистентность к заболеванию формируют не отдельные антигены, а весь иммуногенетический комплекс, целесообразно использовать всю информацию о HLA-генотипе каждого больного.

HLA ассоциированная предрасположенность к развитию заболевания определяется комбинацией конкретных аллелей HLA DQ локусов, присутствующих в генотипе индивидуумов [137].

В работе проведен сравнительный анализ как отдельных аллельных вариантов генов *HLA-DQA1*, *HLA-DQB1*, *HLA-DRB1*, так и их межлокусных сочетаний у больных и в контрольной группе. Для анализа ассоциаций был привлечен семейный материал и выполнено молекулярно-генетическое исследование генов HLA 76 пробандам с Ц и 71 родственникам 1 степени родства (родители - 61, сибсы - 10 человек), популяционный контроль составили 300 человек, жителей Москвы и Московской области [6].

Распределение аллелей HLA класса II DQA1, DQB1 и DRB1 по сравнению с контролем отражено в таблице 92.

Частота аллелей генов *HLA-DQA1*, *HLA-DQB1*, *HLA-DRB1* у больных целиакией Томской области

Ген	Аллель	Целиакия, (n=76)	Контроль, (n=300)	p
<i>HLA-DQA1</i>	*0101	0,164	0,130	0,248
	*0102	0,204	0,190	0,391
	*0103	0,105	0,107	0,480
	*0201	0,053	0,143	0,016
	*0301	0,105	0,122	0,341
	*0401	0,026	0,015	0,255
	*0501	0,336	0,290	0,217
	*0601	0,007	0,003	0,307
<i>HLA-DQB1</i>	*0201	0,243	0,195	0,177
	*0202	-	-	-
	*0301	0,145	0,240	0,038
	*0302	0,079	0,083	0,455
	*0303	0,092	0,033	0,014
	*0304	0,007	0,002	0,239
	*0305	-	0,017	0,127
	*0401/2	0,020	0,022	0,500
	*0501	0,125	0,108	0,337
	*0502/4	0,007	0,032	0,115
	*0503	0,013	0,068	0,033
	*0601	0,007	0,000	0,074
	*0602/8	0,257	0,200	0,139
<i>HLA-DRB1</i>	*01	0,123	0,095	0,235
	*04	0,132	0,115	0,341
	*07	0,198	0,143	0,118
	*08	0,028	0,018	0,289
	*09	0,028	0,007	0,048
	*10	0,019	0,013	0,347
	*11	0,104	0,142	0,193

Продолжение таблицы 92

<i>HLA-DRB1</i>	*12	0,047	0,028	0,200
	*13	0,085	0,142	0,094
	*14	0,009	0,023	0,219
	*15	0,170	0,132	0,197
	*16	0,000	0,067	0,011
	*17	0,057	0,075	0,293

При анализе установлено, что аллели HLA, связанные с заболеванием, такие как DQA1*0501, встречались в 33,6% случаев, DQB1*0201 - в 24,3%, DQA1*0301-10,5%, DQB1*0302 - 7,9 % случаев, без достоверной разницы с популяционным контролем. Аллели DQB1*0303, DRB1*09 достоверно чаще выявлялись при Ц (9,2% и 2,8% относительно контроля 3,3% и 0,7%, соответственно), можно предположить, что оба аллеля являются предрасполагающими к заболеванию в выборке больных Томской области.

Проведенное исследование показало, что частота аллеля DQA1*0201 составила 5,3% у пациентов с Ц, в контроле - 14,3 %, ($p=0,016$); для аллеля DQB1*0301 установлена частота 14,5 %, в контроле - 24,0% ($p=0,038$); для аллеля DQB1*0503 - 1,3 % , в контроле - 6,8% ($p=0,033$); DRB1*16 у пациентов с Ц не регистрировалась, в контрольной выборке составила 6,7% ($p=0,011$). С учетом преобладания выявленных аллелей DQA1*0201, DQB1*0301, DQB1*0503, DRB1*16 в контрольной выборке можно предположить их протективное значение в развитии заболевания.

Для дальнейшего анализа связи аллелей HLA с Ц был произведен подсчет показателя OR (отношение шансов возникновения заболевания), (таблица 93). Вычислялся доверительный интервал, $p<0,05$.

Как видно из данных, представленных в таблице 93, отношения шансов были меньше единицы для аллеля DQA1*201 (OR=0,33, ($p=0,004$)) и для аллеля DQB1*0301 (OR=0,54, ($p=0,016$)), DQB1*0503 (OR=0,27, ($p=0,042$)). В данной ситуации можно говорить, что эти аллели снижают риск развития Ц. Аллели

DQB1*0303 (OR=2,94, (p=0,004)), DRB1*09 (OR=4,48, (p=0,050)) повышают риск развития заболевания.

Таблица 93

Риск развития Ц в зависимости от носительства аллелей генов *HLA-DQA1*,
HLA-DQB1, *HLA-DRB1*

Ген	Аллель	OR	CI	χ^2	p
<i>HLA-DQA1</i>	*0201	0,33	0,15–0,73	8,31	0,004
<i>HLA-DQB1</i>	*0301	0,54	0,32–0,89	5,86	0,016
	*0303	2,94	1,37–6,28	8,39	0,004
	*0503	0,27	0,07–1,00	4,13	0,042
<i>HLA-DRB1</i>	*09	4,48	1,09–18,40	3,84	0,050

Таким образом, исследование позволило определить предрасполагающие аллели (DQB1*0303, DRB1*09) и предохраняющие (DQA1*201, DQB1*0301, DQB1*0503) к развитию Ц в изученной выборке.

5.2.2. Распространенность HLA генотипов и аллелей у родственников 1 степени родства больных целиакией

Проанализировано распределение аллелей HLA класса II DQA1, DQB1 и DRB1 по сравнению с популяционным контролем у членов семьи (сibsы, родители) больных Ц (таблицы 95-98).

Анализ распределения частот аллелей у сибсов показал, что связанные с заболеванием аллели DQA1*0501, DQB1*0201 регистрировались у сибсов в 10,0% и 20,0%, аллели DQA1*0301, DQB1*0302 выявлены в 20,0% и 10,0%, соответственно, не отличаясь от показателей популяционной выборки. Аллель DQB1*301 у сибсов пробанда с Ц не регистрировался, в контрольной выборке его частота составила 24,0% (p=0,000). Аллель DQB1*0501, DRB1*13 встречался у сибсов с достоверной разницей чаще по сравнению с популяционным контролем, (p=0,033; p=0,015, соответственно), (таблица 94).

Частота аллелей генов *HLA-DQA1*, *HLA-DQB1*, *HLA-DRB1* у сибсов больных целиакией

Ген	Аллель	Сибсы, (n=10)	Контроль, (n=300)	p
<i>HLA-DQA1</i>	-	-	-	-
<i>HLA-DQB1</i>	*0301-101	0	0,240	0,039
	*0501	0,300	0,108	0,033
<i>HLA-DRB1</i>	*13	0,389	0,142	0,015

Примечание: в таблице представлены частоты аллелей с достоверным отличием от контроля

С учетом малочисленной группы сибсов подсчет показателя OR не приводится.

В группе обследованных родителей больных Ц связанные с заболеванием аллели *DQA1*0501*, *DQB1*0201* выявлялись в 21,8% и 15,5%, аллели *DQA1*0301*, *DQB1*0302* - в 15,5% и 7,7%, соответственно, достоверно не отличаясь от показателей популяционного контроля. Аллель *DQB1*0601* встречался с достоверной разницей чаще по сравнению с популяционной выборкой, $p < 0,000$. При подсчете отношения шансов в группе обследованных родителей OR был меньше единицы для аллеля *DQB1*0301* ($OR=0,58$, ($p=0,038$)). Для других аллелей достоверных отличий не получено, в связи с этим таблица не приводится. Аллель *DQB1*0301* для родителей является предохраняющим в развитии заболевания.

При сравнении частот аллелей и подсчета отношения шансов для аллелей HLA в группе пробандов с Ц из томской популяции и их родителей получены отличия по частоте встречаемости аллеля *DQA1*0201*, ($p=0,035$) и *DQA1*0502/4*, ($p=0,038$), достоверно чаще эти аллели встречались у родителей (таблица 95).

Таблица 95

Отношение шансов для аллелей *HLA-DQA1*, *HLA-DQB1*, *HLA-DRB1* пробандов с целиакией и их родителей

Ген	Аллель	Целиакия, (n=76)	Родители, (n=61)	p	OR	CI	χ^2	p
<i>HLA-DQA1</i>	*0201	0,053	0,141	0,035	0,34	0,13–0,85	5,65	0,017
<i>HLA-DQB1</i>	*0502/4	0,007	0,063	0,038	0,14	0,02–0,79	5,58	0,018
<i>HLA-DRB1</i>	-	-	-	-	-	-	--	-

Таблица 96

Отношение шансов для аллелей *HLA-DQA1*, *HLA-DQB1*, *HLA-DRB1* пробандов с целиакией из популяции
Томской области и сибсов

Ген	Аллель	Целиакия, (n=76)	Сибсы, (n=10)	p	OR	CI	χ^2	p
<i>HLA-DQA1</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>HLA-DQB1</i>	*0501	0,125	0,300	0,072	0,33	0,12 – 0,92	3,86	0,050
<i>HLA-DRB1</i>	*13	0,085	0,389	0,004	0,15	0,04 – 0,54	10,09	0,001

При сравнении частот аллелей и подсчете отношение шансов для аллелей HLA в группе пробандов с Ц из популяции Томской области и их сибсов получены отличия по частоте встречаемости аллеля DQB1*0501 (OR=0,33 (p=0,050)) DRB1*13(OR=0,15, (p=0,001)), (таблица 96). Сводные данные по выявленным предрасполагающим и протективным аллелям HLA у пробандов и представлены в таблице 97.

Таблица 97

Предрасполагающие и протективные аллели генов *HLA-DQA1*, *HLA-DQB1*, *HLA-DRB1* у пробандов с целиакией

Ген	Аллель	Пробанд
Предрасполагающие аллели		
<i>HLA-DQB1</i>	*0303	+
<i>HLA-DRB1</i>	*09	+
Протективные аллели		
<i>HLA-DQA1</i>	*0201	^
<i>HLA-DQB1</i>	*0301	^

Примечание: + - предрасполагающие аллели, ^ - протективные аллели

Таким образом, для пробандов с Ц выявлено 2 предрасполагающих аллеля: HLA-DQB1*0303 (OR=2,94, (p=0,004)), HLA-DRB1*09 (OR=4,48, (p=0,050)). Протективными аллелями для пробандов с целиакией из популяции Томской области были 2 аллеля - DQA1*0201 и DQB1*0301. Как у родителей, так и у пациентов с Ц, аллель DQB1*0301 оказался протективным.

5.2.3. Сравнительный анализ распределения аллелей генов *HLA-DQA1*, *HLA-DQB1* и *HLA-DRB1* у больных целиакией из популяции Томской области и Краснодарского края

В Краснодарском крае на диспансерном наблюдении в 2010 г. находилось 32 пациента с Ц, в Томске - 99 детей. Распространенность верифицированного

диагноза Ц у детей Томской области на 01.01.2011 составила 49,98 на 100 000 детского населения, в Краснодарском крае - 7,4 на 100 000 детского населения, что значительно ниже европейских показателей [117]. Для анализа распределения аллелей генов *HLA-DQA1*, *HLA-DQB1*, *HLA-DRB1* обследованы больные с Ц Краснодарского края, которым было проведено генотипирование, группа составила 32 человека. Распределение аллелей HLA класса II DQA1, DQB1, DRB1 в изучаемой выборке больных Ц по сравнению с популяционным контролем отражено в таблице 98. Анализ распределения аллелей HLA показал, что среди больных Ц детей Краснодарского края чаще из предрасполагающих аллелей встречались DQB1*0201 - 37,5%, ($p=0,009$), DQB1*0303 - 9,4%, ($p=0,045$), DQB1*0601 - 4,7%, ($p=0,000$), DRB1*17 - 23,4%, ($p=0,002$). Аллель DQB1*0601 (4,7%) регистрировался в краснодарской популяции, в группе контроля не выявлялся ($p<0,000$). При анализе аллелей HLA-DRB1 получено отличие только по одному аллелю DRB1*17, при Ц - 23,4% против 7,5% в контроле, ($p<0,002$). В свою очередь для аллелей DQA1-*0301 и DQB1-*0302, формирующих генотип DQ8, достоверных различий не получено. Также не получено достоверных различий с популяционным контролем по частоте встречаемости полиморфного аллеля DRB1*04.

Таблица 98

Частота аллелей генов *HLA-DQA1*, *HLA-DQB1* и *HLA-DRB1*
у пациентов с целиакией Краснодарского края

Ген	Аллель	Целиакия, (n=32)	Контроль, (n=300)	P
<i>HLA-DQA1</i>	*0101	0,063	0,130	0,137
	*0102	0,125	0,190	0,184
	*0103	0,078	0,107	0,305
	*0201	0,218	0,143	0,130
	*0301	0,094	0,122	0,321
	*0401	0,016	0,015	0,482
	*0501	0,406	0,290	0,087
	*0601	0,000	0,003	0,378

Продолжение таблицы 98

<i>HLA-DQB1</i>	*0201	0,375	0,195	0,009
	*0202	0,000	0,000	–
	*0301	0,141	0,240	0,104
	*0302	0,078	0,083	0,461
	*0303	0,094	0,033	0,045
	*0304	0,000	0,002	0,400
	*0305	0,000	0,017	0,229
	*0401/2	0,000	0,022	0,199
	*0501	0,063	0,108	0,214
	*0502/4	0,047	0,032	0,327
	*0503	0,016	0,068	0,125
	*0601	0,047	0,000	-
	*0602/8	0,141	0,200	0,212
<i>HLA-DRB1</i>	*01	0,031	0,095	0,114
	*04	0,203	0,115	0,076
	*07	0,125	0,143	0,391
	*08	0,000	0,018	0,222
	*09	0,000	0,007	0,318
	*10	0,000	0,013	0,259
	*11	0,094	0,142	0,227
	*12	0,063	0,028	0,141
	*13	0,109	0,142	0,304
	*14	0,016	0,023	0,340
	*15	0,109	0,132	0,357
	*16	0,016	0,067	0,128
	*17	0,234	0,075	0,002

Подсчет показателя OR (отношение шансов возникновения заболевания) в группе пробандов Ц Краснодарского края показал (таблица 99), что с аллелями DQB1*0201 (OR=2,48, (p=0,001)), DQB1*0303 (OR =3,00, (p=0,042)), DRB1*17 (OR =3,78, (p=0,000)) получена ассоциация с заболеванием.

Отношение шансов для аллелей HLA больных целиакией
Краснодарского края

Ген	Аллель	OR	CI	χ^2	P
<i>HLA-DQB1</i>	*0201	2,48	1,39–4,41	10,15	0,001
	*0303	3,00	1,03–8,31	4,12	0,042
<i>HLA-DRB1</i>	*17	3,78	1,86–7,58	15,98	0,000

Таким образом, для пробандов с Ц из популяции Краснодарского края предрасполагающим аллелем, кроме известных DQB1*0201 (OR=2,48), DRB1*17 (OR=3,78), является аллель DQB1*0303 (OR =3,00). Аллель DQB1*0303 можно рассматривать, как вновь выявленный предрасполагающий аллель для больных из популяций Томской области и Краснодарского края. Сравнение частот аллелей генов *HLA-DQA1*, *HLA-DQB1* и *HLA-DRB1* у пациентов с Ц в изучаемых популяциях выявил достоверные различия по частоте аллелей DQA1*0201 (p=0,006), HLA-DRB1*17 (p=0,009), (таблица 100).

Таблица 100

Сравнение частот аллелей генов *HLA-DQA1*, *HLA-DQB1* и *HLA-DRB1*
у больных целиакией Томской области и Краснодарского края

Ген	Аллель	Целиакия, Томск, (n=76)	Целиакия, Краснодар, (n=32)	p
<i>HLA-DQA1</i>	*0201	0,053	0,218	0,006
<i>HLA-DRB1</i>	*17	0,057	0,234	0,009

Примечание: приведены аллели, частоты которых достоверно отличались в сравниваемых группах

Проведенный нами анализ распространенности HLA-генотипов в сравниваемых популяциях выявил, что генотип HLA-DQ2 (DQ2/DQ2; DQ2/X*) в популяции больных Томской области встречался в 31,6% случаев, генотип DQ2 и отдельные его аллели (DQA1*0501, DQB1*0201) – у 43 (56,6% больных), HLA-

DQ8 - (DQ8/DQ8; DQ8/X*) - в 11,8% случаев, гетеродимер DQ8 и отдельные его аллели - у 16 (21,0%) пробандов, в целом носителями патологических аллелей было 77,6% больных Ц. В популяции больных Краснодарского края носителями HLA-DQ2 (DQ2/DQ2; DQ2/X*) было 46,9% больных, HLA-DQ8 - (DQ8/DQ8; DQ8/X*) - 2,5% больных, другие варианты сочетаний аллелей выявлены в 40,6% случаев (таблица 101). Полученные данные частот HLA-DQ2, HLA-DQ8 в выборке больных Ц Томской области и Краснодарского края отличаются от показателей частоты HLA-DQ2, HLA-DQ8 в европейских популяциях.

Таблица 101

Сочетание генотипов HLA- DQ2, HLA-DQ8 у пробандов с целиакией из популяций Томской области и Краснодарского края

Сочетание генотипов	Целиакия, Томская область, (n=76)	Целиакия, Краснодарский край, (n=32)
DQ2/X*	29%	37,5%
DQ2/DQ2	2,6%	9,4%
DQ8/X*	10,5%	12,5%
DQ8/DQ8	1,3%	-
X*/X*	56,6%	40,6%

Проведенный анализ распространенности HLA-генотипов и аллелей у больных Ц Томской области и Краснодарского края выявил новые предрасполагающие аллели; для популяции Томской области - DRB1*09, DQB1*0303, для популяции Краснодарского края - DQB1*0303. Аллель DQB1*0303 общий для обеих популяций. Больные Ц из популяции Краснодарского края чаще являлись носителями аллелей DQA1*0201, ($p=0,006$), DRB1*17 ($p=0,009$), что, очевидно, связано с особенностями популяции Краснодарского края и немногочисленной выборкой больных. Выявлены 2 протективных аллеля для пробандов с Ц из популяции Томской области (DQA1*0201 и DQB1*0301). Высокой частоты распространенности генов HLA-

DQ2 и *HLA-DQ8*, как в Европе (более, чем у 90% больных), в сравниваемых популяциях российских больных Ц не получено.

5.2.4. Анализ распределения аллелей генов *HLA-DQA1*, *HLA-DQB1* и *HLA-DRB1* при целиакии и СД 1 типа в популяциях Томской области и Краснодарского края

В настоящее время установлена высокая ассоциация СД 1 типа и Ц с генами II класса главного комплекса гистосовместимости, что доказывает участие иммунной системы в развитии данных заболеваний [6, 123, 205, 206]. Сравнительный анализ распределения аллелей генов HLA при Ц и СД 1 типа в популяции Томской области представлен в таблице 102. Выявлена разная частота в сравниваемых группах аллеля *HLA-DQA1*0102*, данный аллель в 3 раза чаще встречался при Ц, чем при СД 1 типа ($p < 0,017$).

Таблица 102

Распределение аллелей HLA класса II *DQA1*, *DQB1* и *DRB1* при целиакии и СД 1 типа в популяции Томской области

Ген	Аллель	СД 1 типа, Томск, (n=50)	Целиакия, Томск, (n= 76)	P
<i>HLA-DQA1</i>	*0101	0,094	0,164	0,136
	*0102	0,063	0,204	0,017
	*0103	0,021	0,105	0,041
	*0201	0,031	0,053	0,282
	*0301	0,490	0,105	0,000
	*0401	0,021	0,026	0,430
	*0501	0,281	0,336	0,261
	*0601	0,000	0,007	0,281
<i>HLA-DQB1</i>	*0201	0,340	0,243	0,122
	*0202	0,000	0,000	–
	*0301	0,011	0,145	0,007

Продолжение таблицы 102

<i>HLA-DQB1</i>	*0302	0,287	0,079	0,001
	*0303	0,021	0,092	0,059
	*0304	0,043	0,007	0,088
	*0305	0,000	0,000	–
	*0401/2	0,053	0,020	0,158
	*0501	0,138	0,125	0,417
	*0502/4	0,043	0,007	0,088
	*0503	0,000	0,013	0,215
	*0601	0,000	0,007	0,088
	*0602/8	0,064	0,257	0,004
<i>HLA-DRB1</i>	*01	0,104	0,123	0,374
	*04	0,448	0,132	0,000
	*07	0,031	0,198	0,004
	*08	0,031	0,028	0,462
	*09	0,021	0,028	0,405
	*10	0,000	0,019	0,169
	*11	0,021	0,104	0,042
	*12	0,010	0,047	0,131
	*13	0,021	0,085	0,074
	*14	0,010	0,009	0,478
	*15	0,031	0,170	0,010
	*16	0,010	0,000	0,192
	*17	0,229	0,057	0,003

Аллель HLA-DQA1*0301 являлся предрасполагающим для развития СД 1 типа и Ц. Он чаще регистрировался при СД 1 типа, таким образом был предохраняющим в развитии Ц у больных СД ($p < 0,000$). Достоверных отличий в частоте аллеля HLA-DQA1*0501 в сравниваемых группах больных не получено.

Аллель HLA-DQB1*0301 достоверно чаще встречался в группе больных Ц ($p = 0,007$). Предрасполагающий к СД 1 типа HLA-DQB1*0302 ($p < 0,001$) в 3 раза чаще наблюдался при СД 1 типа, чем при целиакии. В то же время, HLA-DQB1 0602/8 ($p < 0,004$) чаще выявлялся у больных с Ц и играл защитную роль в

отношении развития СД 1 типа. Выявлен ряд отличий распространенности аллелей HLA-DRB1 при СД 1 типа и Ц. При СД 1 типа частота HLA-DRB1*04 и *17 была в 3 и 4 раза соответственно выше, чем при целиакии. В отношении HLA-DRB1*07, *11 и *15 частота аллелей была в 5 раз выше при целиакии.

Сравнительный анализ распределения аллелей генов HLA при Ц и СД 1 типа в популяции Краснодарского края представлена в таблице 103. Исследование проведено на выборке 100 пациентов с СД 1 типа (материал представлен Глиф А.И.) и 32 больных Ц Краснодарского края. Разная частота аллелей зарегистрирована для HLA-DQA1*0201 ($p<0,004$), он в 4 раза чаще встречался при Ц, чем при СД 1 типа, аналогично, как и для томской популяции больных, аллель HLA-DQA1*0301 ($p<0,001$) чаще определялся при СД 1 типа. Аллель HLA-DQB1*0301 достоверно чаще встречался в группе больных Ц ($p=0,007$). Предрасполагающий к СД 1 типа HLA-DQB1*0302 ($p<0,001$) в 4 раза чаще наблюдался при СД 1 типа, чем при целиакии.

Таблица 103

Сравнительный анализ распределения аллелей HLA класса II DQA1, DQB1 и DRB1 при целиакии и СД 1 типа в популяции Краснодарского края

Ген	Аллель	СД 1 типа, Краснодар, (n=100)	Целиакия, Краснодар, (n=32)	p
<i>HLA-DQA1</i>	*0101	0,130	0,063	0,150
	*0102	0,095	0,125	0,313
	*0103	0,020	0,078	0,059
	*0201	0,055	0,218	0,004
	*0301	0,385	0,094	0,001
	*0401	0,025	0,016	0,384
	*0501	0,290	0,406	0,11
	*0601	0,000	0,000	–
<i>HLA-DQB1</i>	*0201	0,330	0,375	0,321
	*0202	0,000	0,000	–
	*0301	0,040	0,141	0,023

<i>HLA-DQB1</i>	*0302	0,315	0,078	0,004
	*0303	0,020	0,094	0,023
	*0304	0,045	0,000	0,112
	*0305	0,010	0,000	0,286
	*0401/2	0,020	0,000	0,211
	*0501	0,120	0,063	0,182
	*0502/4	0,025	0,047	0,264
	*0503	0,000	0,016	0,104
	*0601	0,000	0,047	0,016
	*0602/8	0,075	0,141	0,130
<i>HLA-DRB1</i>	*01	0,115	0,031	0,080
	*04	0,415	0,203	0,016
	*07	0,065	0,125	0,139
	*08	0,015	0,000	0,244
	*09	0,005	0,000	0,345
	*10	0,005	0,000	0,345
	*11	0,025	0,094	0,046
	*12	0,000	0,063	0,066
	*13	0,065	0,109	0,207
	*14	0,000	0,016	0,104
	*15	0,020	0,109	0,015
	*16	0,030	0,016	0,335
	*17	0,230	0,234	0,481

Частота регистрации этих аллелей была сопоставима с группой пациентов из популяции Томской области. Предрасполагающий к СД 1 типа HLA-DQB1*0302 ($p < 0,001$) в 4 раза чаще наблюдался при СД 1 типа, чем при целиакии. В то же время аллель HLA-DQB1*0303 ($p < 0,023$) чаще выявлялся в группе больных Ц. Аллель HLA-DQB1*0601 не регистрировался у пациентов с СД 1 типа, отмечен только у пациентов с Ц ($p < 0,016$). Зафиксированы отличия распространенности аллелей HLA-DRB1 при СД 1 типа и Ц, при СД 1 типа

частота HLA-DRB1*04 была в 2 раза выше, чем при целиакии. В отношении HLA-DRB1*11 и *15 ситуация была противоположная.

Аналогичные изменения имели пациенты в группах больных томской популяции. В отношении аллеля HLA-DRB1*17 отличий в частоте не получено.

Таким образом, вклад ряда известных предрасполагающих и защитных аллелей генов *HLA-DQA1*, *HLA-DQB1* и *HLA-DRB1* в развитие аутоиммунных заболеваний с разной мишенью аутоиммунной агрессии (при СД 1 – β -клетки, при Ц - эпителий тонкой кишки) различен. Получены различия по частоте ряда аллелей генов *HLA-DQA1*, *HLA-DQB1* и *HLA-DRB1* при Ц и СД 1 типа. Важность полученных данных сводится к возможности прогнозирования развития Ц при СД 1 типа.

5.2.5. Особенности клинических проявлений целиакии в зависимости от полиморфных маркеров генов *HLA-DQA1*, *HLA-DQB1*

В дальнейшем нами был проведен анализ течения Ц у пациентов из популяции Томской области в зависимости от полиморфных маркеров генов HLA II класса. В группе обследованных больных с Ц генотип DQ2 регистрировался чаще, чем генотип DQ8 ($p^*=0,000$), при этом генотип DQ2, также, как и его аллель DQA1*0501, достоверно чаще встречался у пациентов с ЦТ ($p=0,003$ и $p=0,029$, соответственно), (таблица 104).

Дефицитные состояния (снижение МПКТ, анемия, селективный дефицит IgA, ЗФР) встречались достоверно чаще у обладателей аллелей DQA1*0501, DQB1*0201 (таблица 105).

Надо отметить, что при таких состояниях, как анемия и селективный дефицит IgA, у большинства детей (18 из 32 больных и 14 из 28 человек, соответственно) регистрировался генотип *HLA-DQ2*. У пациентов с генотипом DQA1*0301, DQB1*0302 реже формировались тиреопатии.

Клиническое течение целиакии в зависимости от аллелей генов

HLA-DQA1, HLA-DQB1, (n), (%)

HLA– генотипы, аллели	Гаплотипы	Общая группа, (n=76), (%)	ЦТ, (n=48), (%)	ЦА, (n=28), (%)
		1	2	3
DQ2/DQ2 DQ2/X*	<i>HLA DR3-DQ2</i>	24 (31,6)	18 (37,5) $p_{2-3}=0,003$	6 (21,4)
DQ8/DQ8 DQ8/X*	<i>HLA DR4-DQ8</i>	9 (11,8) $p^*=0,000$	5 (10,4)	4 (14,3)
X*/X*	<i>DR3-DQ2</i> <i>DR4-DQ8</i>	43 (56,6)	25 (52,1)	18 (64,3) $p_{2-3}=0,07$
DQA1*0501	<i>DR3-DQ2</i>	15 (34,9)	10 (40,0)	5 (27,8) $p_{2-3}=0,029$
DQB1*0201	<i>DR3-DQ2</i>	4 (9,3)	2 (8)	2 (7,1)
A1*0301	<i>DR4-DQ8</i>	6 (13,9)	3 (6,3)	3 (10,7)
B1*0302	<i>DR4-DQ8</i>	1 (2,3)	1 (2,0)	-

Примечание: p^* – достоверность различий внутри группы; p_{2-3} – достоверность различий между группами целиакия типичная и атипичная

Характеристика осложнений целиакии в зависимости от аллелей

HLA-DQA1, HLA-DQB1, (n), (%)

HLA–аллели	Общая группа, (n=76)	Снижение МПКТ, (n=21)	Анемия, (n=47)	Дефицит IgA, (n=48)	ЗФР, (n=43)	Тиреопатии, (n=13)
Группа	1	2	3	4	5	6
DQA1*0301 DQB1*0302	16 (21,0) $p^*=0,000$	4 (19,0) $p^*=0,000$	5 (10,6) $p^*=0,000$	11 (22,9) $p^*=0,000$	10 (23,3) $p^*=0,001$	2 (15,4) $p^*=0,001$
DQA1*0501 DQB1*0201	43 (56,6)	14 (66,7)	32 (66,1)	28 (58,3)	20 (46,5)	9 (61,5)
X*/X*	17 (22,4)	3 (14,3)	10 (21,3)	9 (18,8)	13 (30,2)	2 (15,4)

Примечание: p^* – достоверность различий внутри группы.

Следовательно, генотип DQ2, аллель DQA1*501 как в гомозиготном, так и в гетерозиготном состоянии, чаще выявляются при Ц, типичной форме заболевания, и связаны с развитием дефицитных состояний. При обработке данных морфометрических показателей биоптата СОТК до соблюдения БГД в зависимости от аллелей DQA1*0301, DQB1*0302; DQA1*0501, DQB1*0201 достоверных отличий не выявлено, в силу этих причин таблица не приводится.

5.2.6. Связь аллелей HLA II класса DQA1, DQB1 с иммунологическими показателями при целиакии

Одним из этапов диагностики Ц и оценки эффективности лечения является определение серологических маркеров заболевания [95, 167]. В нашей работе использовалось определение АГА классов IgA и IgG. Проанализирован уровень АГА в зависимости от аллелей HLA класса II DQA1, DQB1 (таблица 106).

Значения АГА класса А и G до назначения БГД не отличались в группах с разными комбинациями аллелей, однако в динамике наблюдения уровень АГА класса А был достоверно выше у носителей гаплотипа DQ2 (A1*0501, B1*0201) по сравнению с носителями гаплотипа DQ8 (A1*0301, B1*0302), ($p=0,042$). Получены достоверные отличия по уровню АГА класса IgG в динамике наблюдения во всех группах, кроме группы носителей аллеля DQB1*0201, что объясняется малой ее численностью. Таким образом, обладатели гаплотипа DQ8 (A1*0301, B1*0302) лучше отвечали на БГД, согласно динамике уровня АГА.

Сравнительный анализ уровней цитокинов (IL-1 β , IL-1Ra, IL-10, IL-4, INF- γ , TNF- α) в сыворотке крови пробандов с Ц обладателей разных аллелей показал следующее. Пробанды с Ц носители аллелей *HLA-DQA1*, *HLA-DQB1* не имели достоверных отличий в уровне изучаемых интерлейкинов, кроме IL-1Ra, содержание которого было достоверно выше в группе детей, обладателей аллеля DQA1*0301, по сравнению с носителями DQA1*0501 ($p=0,035$), (таблица 107).

Характеристика уровня антиглиадиновых антител при целиакии в зависимости
от аллелей HLA класса II DQA1, DQB1

Сочетание аллелей	DQ2/X* DQ2/DQ2, (n=24)	DQ8/X* DQ8/ DQ8, (n=9)	X*/X* (n=43)			
			DQ A1*0501, (n=15)	DQ B1*0201, (n=4)	DQA1*0301, (n=6)	Остальные из XX, (n=18)
	1	2	3	4	5	6
АГА А до лечения	26,45 (5,65-57,90) p*=0,210	10,50 (7,30-17,60) p*=0,377	13,25 (11,50-24,00) p*=0,804	34,35 (17,40-44,60) p*=0,059	7,90 (3,70-59,00) p*=0,143	17,60 (6,60-27,40) p*=0,848
АГА А после лечения	13,00 (3,205-52,10) p ₁₋₂ =0,042	5,50 (3,70-10,90)	8,05 (3,50-20,90)	8,50 (5,75-19,65)	2,10 (0,50-4,50)	10,35 (2,30-45,00)
АГА G до лечения	155,00 (71,05-287,05) p*=0,002	57,80 (47,10-99,00) p*=0,017	98,15 (78,80-222,70) p*=0,018	79,50 (72,75-211,75) p*=0,142	82,10(25,00- 104,70) p*=0,030	92,65 (59,0-193,20) p*=0,012
АГА G после лечения	56,00 (16,95-76,05)	6,70 (4,50-72,90)	35,40 (9,90-73,80)	38,85 (4,45-91,95)	9,90 (5,10-55,20)	29,40 (7,80-75,00)

Примечание: АГА – антитела к глютену; p*- различия показателей до и после лечения; p₁₋₂ и т.д.- различия показателей между обладателями разных аллелей и гаплотипов

Уровень цитокинов в группе пробандов с целиакией в зависимости
от аллелей HLA класса II DQA1, DQB1 до лечения, (M ± m)

Сочетание аллелей	DQ2/X* DQ2/DQ2, (n=24)	DQ8/X* DQ8/ DQ8, (n=9)	X*/X* (n=43)			
			DQ A1*0501, (n=15)	DQ B1*0201, (n=4)	DQA1*0301, (n=6)	Остальные из XX, (n=18)
	1	2	3	4	5	6
IL-1 β	226,95 (18,40-260,30) p*=0,000	258,23 (27,44-209,20) p*=0,079	254,85 (57,77-322,12) p*=0,002	265,35 (238,99-374,40) p*=0,056	166,13 (53,01-314,05) p*=0,152	235,19 (99,39-394,0) p*=0,031
IL4	7,97 (0,14-28,90) p*=0,024	2,40 (0,69-28,10) p*=0,080	3,96 (0,61-33,80) p*=0,367	8,50 (0,07-35,50) p*=0,174	13,80 (0,62-34,00) p*=0,832	2,02 (0,26-33,60) p*=0,040
IL-10	11,30 (0,53-188,0) p*=0,007	14,10 (1,04-156,0) p*=0,878	13,60 (0,91-215,80) p*=0,930	10,28 (0,59-200,10) p*=0,568	13,35 (0,98-215,80) p*=0,869	13,93 (0,91-151,90) p*=0,184
TNF α	25,27 (15,60-153,87) p*=0,066	36,00 (16,30-187,20) p*=0,144	49,04 (17,72-213,90) p*=0,045	47,11 (15,98-277,58) p*=0,180	44,54 (15,10-91,00) p*=0,146	41,59 (13,56-272,90) p*=0,162
INF- γ	11,02 (0,56-55,12) p*=0,000	16,03 (0,23-56,42) p*=0,265	17,57 (0,62-51,31) p*=0,055	16,33 (3,66-48,53) p*=0,408	10,50 (0,45-57,10) p*=0,275	15,00 (0,30-52,57) p*=0,997
IL-1Ra	82,65 (14,42-378,75) p*=0,000	67,20 (14,30-373,00) p*=0,088	118,50 (11,70-244,09) p*=0,044 p _{3-5 и т.д.} =0,035	164,30 (16,46-265,35) p*=0,241	275,80 (35,55-564,0) p*=0,193	147,0 (14,04-317,82) p*=0,001

Примечание: p*- различия показателей до и после лечения; p_{3-5 и т.д.} - различия показателей между обладателями разных аллелей

Уровень цитокинов в группе пробандов с целиакией в зависимости от аллелей HLA класса II DQA1, DQB1 после лечения, (M ± m)

Сочетание аллелей	DQ2/X* DQ2/DQ2, (n=24)	DQ8/X* DQ8/ DQ8, (n= 9)	X*/X* (n=43)			
			DQ A1*0501, (n=15)	DQ B1*0201, (n=4)	DQA1*0301, (n=6)	Остальные из XX, (n=18)
	1	2	3	4	5	6
IL-1 β	11,57 (0,30-40,05)	16,04 (0,98-56,33)	14,53 (0,19-42,40)	21,02 (6,73-44,47)	11,55 (0,96-52,40)	14,63 (0,18-48,17)
IL4	0,37 (0,21-20,97) p ₁₋₅ =0,036	0,40 (0,30-18,52) p ₂₋₅ =0,034	0,95 (0,35-13,40)	0,19 (0,35-29,75)	5,75 (2,89-33,7)	0,85 (0,30-29,89)
IL-10	213,25 (90,8-591,25)	135,04 (48,31-517,60)	193,01 (98,01-429,80)	97,06 (52,30-97,21)	134,95 (98,01-496,00)	180,40 (69,21-738,03)
TNFα	7,46 (0,12-119,09)	1,75 (0,84-28,80)	23,72 (1,1-171,0)	14,77 (0,59-339,94)	5,07 (0,05-111,50)	32,05 (0,76-163,70)
INF-γ	6,12 (0,05-2,94)	5,40 (0,05-7,00)	52,31 (0,08-14,15)	4,20 (0,06-8,55)	8,65 (0,03-13,19)	5,96 (0,05-13,21)
IL-1Ra	11,78 (35,31-55,51) p ₁₋₃ =0,039	14,42 (0,20-47,0)	22,96 (0,17-75,0)	15,82 (0,37-52,06)	9,13 (1,72-63,10)	6,06 (1,23-57,11)

Примечание: p*- различия показателей до и после лечения; p₁₋₃, p₁₋₅, p₂₋₅ - различия показателей между обладателями разных аллелей

На фоне лечения более высокий уровень противовоспалительного цитокина имели пробанды носители аллеля DQA1*0501, как в гомо-, так и в гетерозиготном состоянии, по сравнению с носителями генотипа DQ2 (DQA1*0501, DQB1*0201) ($p_{1-3}=0,039$), (таблица 108).

Достоверных различий между уровнем цитокинов у родителей пробандов с Ц, носителей предрасполагающих аллелей генов *HLA-DQB1*, *HLA-DQA1*, *HLA-DRB1*, не выявлено, в связи с этим табличные данные не приводятся.

Резюме

Таким образом, в ходе исследования впервые установлена частота HLA аллелей DQ2 и DQ8 при Ц в популяциях больных Томской области и Краснодарского края. Выявлена более низкая частота HLA аллелей DQ2 и DQ8 у больных Ц в изучаемых популяциях.

Гетеродимер DQ2 (DQA1*0501, DQB1*0201) и отдельные его аллели выявлены в 56,6%, гетеродимер DQ8 (DQA1*0301, DQB1*0302) и отдельные его аллели - в 21,0%, в целом носителями патологических аллелей было 77,6% больных Ц из популяции детей Томской области.

К предрасполагающим аллелям, кроме известных, можно отнести DRB1*09 (OR=4,48, ($p=0,050$)), DQB1*0303 (OR=2,94, ($p=0,004$)); к протективным аллелям - DQA1*0201 (OR=0,33, ($p=0,004$)); и DQB1*0301 (OR=0,54, ($p=0,016$)). Протективный аллель аллель DQB1*0301 достоверно чаще встречался у родителей пробанда. В популяции больных Краснодарского края гетеродимер DQ2 встречался в 46,9% случаев, DQ8 - в 2,5% случаев. Предрасполагающими аллелями для популяции больных Краснодарского края оказались аллели DQB1*0201 (OR=2,48), DQB1*0303 (OR=3,00), DRB1*17 (OR=3,78). Предрасполагающим аллелем для обеих популяций был аллель DQB1*0303. Получены достоверные отличия по частоте аллеля DQA1*0201, DRB1*17 чаще регистрировался у пациентов из популяции Краснодарского края. Показано, что низкая частота Ц при СД 1 типа у пациентов из 2 российских популяций связана с высокой частотой протективных аллелей. В ходе исследования отмечено, что у детей с различными генотипами HLA-DQA1 и HLA-DQB1 имеются особенности

течения заболевания. Пациенты с ЦТ чаще являются носителями аллеля DQA1*501, как в гомозиготном, так и в гетерозиготном состоянии. Генотип DQ2 и аллель DQA1*501 чаще связаны с развитием дефицитных состояний в течение заболевания у больных Ц. Для носителей гаплотипа HLA-DQ8 (DQA1*0301 DQB1*0302) характерен лучший ответ на БГД (по уровню АГА). В группе детей обладателей аллеля DQA1*0301 по сравнению с носителями DQA1*0501 был выше уровень противовоспалительного цитокина IL-1Ra, что явно влияет на течение заболевания.

Следовательно, определение аллелей HLA-системы у пробандов с Ц имеет значение не только для диагностики, но и для прогноза и течения заболевания.

5. 3. Характеристика генов-модификаторов иммунного ответа у больных целиакией

Проведено генотипирование по 6 полиморфным вариантам генов-модификаторов иммунного ответа: *IL1B* (rs1143634), *IL1RN* (VNTR), *IL4* (rs2243291), *IL4RA* (rs1805010), *VDR* (rs2228570, rs144410) в семьях пробандов с Ц (78 семей: 53 полные семьи, в которых проживают оба родителя, 25 – неполные семьи, где проживает один из родителей, общее количество обследованных - 215 человек).

На первом этапе осуществлялась оценка полиморфизма изученных маркеров генов *VDR*, *IL1B*, *IL1RN*, *IL4*, *IL4RA* в исследуемых контрольных выборках (таблица 25, глава 2), выполнялся поиск ассоциации полиморфных маркеров с Ц, вариантами ее клинического течения и осложнениями методом случай-контроль, и ассоциаций полиморфизмов с целиакией и ее клиническими формами на семейном материале с использованием TDT метода.

При изучении полиморфизма генов в исследованных выборках жителей Томской области (больные целиакией, дети группы контроля) распределение генотипов всех изученных полиморфных вариантов соответствовало ожидаемому при равновесии Харди-Вайнберга (РХВ), (таблицы 109, 110).

Полиморфизм генов интерлейкинов у больных и в группе контроля

Выборка	Гено тип	N.O.	N.E.	χ^2 d.f.=1	Частота аллеля	$h_{obs} \pm s.e.$ $h_{exp} \pm s.e.$	D
VNTR полиморфизм гена <i>IL1RN</i>							
Целиакия	11	49	47,62	0,202 p =0,653	1=0,7820	$h_{obs}=0,308 \pm 0,052$ $h_{exp}=0,442 \pm 0,056$	-0,303
	12	24	26,76		2=0,2179		
	22	5	3,62				
Контроль	11	87	73,73	0,857 p=0,355	1=0,826	$h_{obs}=0,178 \pm 0,001$ $h_{exp}=0,287 \pm 0,032$	-0,492
	12	21	17,80		2=0,174		
	22	10	8,47				
Полиморфизм rs1143634 гена <i>IL1B</i>							
Целиакия	A1A1	45	46,93	0,488 p=0,485	1=0,7756	$h_{obs}=0,397 \pm 0,055$ $h_{exp}=0,455 \pm 0,056$	-0,126
	A1A2	31	27,15		2=0,2243		
	A2A2	2	3,93				
Контроль	A1A1	75	64,10	0,151 p=0,698	1=0,799	$h_{obs}=0,316 \pm 0,002$ $h_{exp}=0,321 \pm 0,031$	-0,015
	A1A2	37	31,62		2=0,026		
	A2A2	5	4,27				
Полиморфизм rs2243291 гена <i>IL4</i>							
Целиакия	CC	4	3,93	0,000 p=0,994	C=0,2243	$h_{obs}=0,346 \pm 0,054$ $h_{exp}=0,445 \pm 0,056$	-0,238
	GC	27	27,15		G=0,7756		
	GG	47	46,93				
Контроль	CC	5	4,07	0,269 p=0,604	C=0,256	$h_{obs}=0,431 \pm 0,002$ $h_{exp}=0,381 \pm 0,027$	0,131
	GC	53	43,09		G=0,744		
	GG	65	52,85				
Полиморфизм rs1805010 гена <i>IL4RA</i>							
Целиакия	II	32	30,66	0,057 p=0,811	I=0,6282	$h_{obs}=0,436 \pm 0,056$ $h_{exp}=0,753 \pm 0,049$	-0,421
	IV	34	36,67		V=0,3717		
	VV	12	10,66				
Контроль	II	40	32,79	0,323 p=0,647	I=0,590	$h_{obs}=0,525 \pm 0,002$ $h_{exp}=0,484 \pm 0,011$	0,084
	IV	64	52,46		V=0,410		
	VV	18	14,75				
Полиморфизм rs2228570 гена <i>VDR</i>							

Продолжение таблицы 109

Целиакия	FF	30	26,42	1,332	F=0,5833	$h_{obs}=0,397\pm 0,055$	-0,529
F/f гена	Ff	31	38,16	p=0,249	f=0,4166	$h_{exp}=0,844\pm 0,041$	
VDR	ff	17	13,42				
Контроль	FF	42	37,17	0,00	F=0,611	$h_{obs}=0,478\pm 0,002$	0,005
F/f гена	Ff	54	47,79	p=1,0	f=0,389	$h_{exp}=0,476\pm 0,014$	
VDR	ff	17	15,04				
Полиморфизм rs144410 гена VDR							
Целиакия	BB	15	10,66	2,563	B=0,3717	$h_{obs}=0,359\pm 0,054$	-0,718
B/b гена	Bb	28	36,67	p=0,109	b=0,6282	$h_{exp}=1,273\pm 0,001$	
VDR	bb	35	30,66				
Контроль	BB	11	11,22	1,171	B=0,316	$h_{obs}=0,408\pm 0,002$	-0,056
B/b гена	Bb	40	40,82	p=0,279	b=0,684	$h_{exp}=0,433\pm 0,024$	
VDR	bb	47	47,96				

Примечание. N.O.- наблюдаемая численность генотипов; N.E. - ожидаемая численность генотипов; критерий χ^2 использован для оценки соответствия наблюдаемого распределения генотипов ожидаемому, исходя из равновесия Харди-Вайнберга; d.f. – число степеней свободы; $h_{obs}\pm s.e.$ и $h_{exp}\pm s.e.$ - соответственно наблюдаемая и ожидаемая гетерозиготность с ошибкой; D - относительное отклонение наблюдаемой гетерозиготности от ожидаемой

При сравнении частот аллелей изученных полиморфизмов между контрольной группой и выборкой больных целиакией ассоциаций не выявлено ни для одного из полиморфных маркеров генов VDR, IL1B, IL1RN, IL4, IL4RA (таблица 110).

Таблица 110

Анализ «случай – контроль» полиморфных маркеров генов у больных целиакией и в контрольной группе

Ген/ Полиморфизм	Генотипы / аллели	Контроль		Целиакия		χ^2	p	OR
		N	%	N	%			
IL1RN (VNTR)	A1A1	87	73	49	63	4,509	0,105	0,75 (0,44<OR<1,29)
	A1A2	21	17	24	31			
	A2A2	10	10	5	6	0,918	0,338	
	A1	195	83	122	78			

	A2	41	17	34	22			
<i>IL1B</i> (rs1143634)	A1A1	75	64	45	58	1,578	0,454	0,87 (0,52<OR<1,47)
	A1A2	37	32	31	40			
	A2A2	5	4	2	2	0,186	0,666	
	A1	187	80	121	78			
	A2	47	20	35	22			
<i>IL4</i> (rs2243291)	GG	65	53	47	60	1,452	0,484	1,19 (0,72<OR<1,96)
	GC	53	43	27	35			
	CC	5	4	4	5			
	G	183	74	121	78	0,364	0,546	
	C	63	26	35	22			
<i>IL4RA</i> (rs1805010)	II	40	33	32	41	1,674	0,433	1,17 (0,76<OR<1,81)
	IV	64	52	34	44			
	VV	18	15	12	15			
	I	144	59	98	63	0,428	0,513	
	V	100	41	58	37			
<i>VDR</i> (rs2228570)	FF	42	34	30	38	1,873	0,392	0,89 (0,58<OR<1,13)
	Ff	54	44	31	40			
	ff	17	22	17	22			
	F	138	61	91	58	0,184	0,668	
	f	88	39	65	42			
<i>VDR</i> (rs144410)	BB	11	11	15	19	2,245	0,325	1,28 (0,80<OR<2,04)
	Bb	40	41	28	36			
	bb	47	48	35	45			
	B	62	32	58	37	0,955	0,328	
	b	134	68	98	63			

Примечание: N – абсолютное число наблюдаемых генотипов; p - приведено для теста χ^2

При сравнении частот аллелей и генотипов исследуемых маркеров генов-модификаторов иммунного ответа при типичной и атипичной формах заболевания обнаружено, что частота алеля V и генотипа VV полиморфизма

rs1805010 гена *IL4RA* была выше при атипичной форме Ц (6% и 32%, соответственно, $p=0,006$) (таблица 111).

Таблица 111

Анализ частоты аллелей и генотипов полиморфных маркеров генов у
больных типичной и атипичной целиакией

Ген/ Полиморфизм	Генотипы/ аллели	ЦТ		ЦА		χ^2	p	OR
		N	%	N	%			
<i>IL1RN</i> (VNTR)	A1A1	34	68	15	54	2,204	0,332	1,82 (0,79<OR<4,23)
	A1A2	14	28	10	36			
	A2A2	2	4	3	10			
	A1	82	82	40	71	1,774	0,183	
	A2	18	18	16	29			
<i>IL1B</i> (rs1143634)	A1A1	29	58	16	57	1,229	0,541	0,91 (0,38<OR<2,15)
	A1A2	19	38	12	43			
	A2A2	2	4	0	0			
	A1	77	77	44	79	0,001	0,980	
	A2	23	23	12	21			
<i>IL4</i> (rs2243291)	GG	31	62	16	57	0,431	0,806	1,25 (0,54<OR<2,90)
	GC	17	34	10	36			
	CC	2	4	2	7			
	G	79	78	42	75	0,140	0,780	
	C	21	22	14	25			
<i>IL4RA</i> (rs1805010)	II	21	42	11	39	10,26 6	0,006	1,84 (0,89<OR<3,82)
	IV	26	52	8	29			
	VV	3	6	9	32			
	I	68	68	30	54	2,612	0,106	
	V	32	32	26	46			
	II +IV	47	94	19	67	7,520	0,006	
	VV	3	6	9	33			
<i>VDR</i> (rs2228570)	FF	22	44	8	29	2,138	0,343	1,70 (0,83<OR<3,49)
	Ff	19	38	12	42			
	ff	9	18	8	29			

Продолжение таблицы 111

<i>VDR</i> (rs2228570)	F	63	63	28	50	1,990	0,158	
	f	37	37	28	50			
<i>VDR</i> (rs144410)	BB	10	20	5	18	0,936	0,626	0,87 (0,42<OR<1,80)
	Bb	16	32	12	43			
	bb	24	48	11	39			
	B	36	36	22	39	0,055	0,814	
	b	64	64	34	61			

Примечание: ЦТ - целиакия типичная, ЦА - целиакия атипичная; N – абсолютное число наблюдаемых генотипов, p - приведено для теста χ^2

При сравнении частот аллелей генов цитокинов при типичной и атипичной форме заболевания с контролем также получена связь VV генотипа с развитием ЦА (таблица 112).

Таблица 112

Анализ «случай – контроль» изучаемых полиморфных маркеров генов у больных атипичной целиакией

Ген/ Полиморфизм	Гено- типы/ аллели	Контроль		ЦА		χ^2	p	OR
		N	%	N	%			
<i>IL1RN</i> (VNTR)	A1A1	87	73	15	54	4,865	0,088	0,53 (0,26<OR<1,09)
	A1A2	21	17	10	36			
	A2A2	10	10	3	10			
	A1	195	83	40	71	2,935	0,087	
	A2	41	17	16	29			
<i>IL1B</i> (rs1143634)	A1A1	75	64	16	57	2,215	0,330	0,92 (0,43<OR<2,01)
	A1A2	37	32	12	43			
	A2A2	5	4	0	0			
	A1	187	80	44	79	0,002	0,968	
	A2	47	20	12	21			
<i>IL4</i> (rs2243291)	GG	65	53	16	57	0,842	0,656	1,03 (0,51<OR<2,13)
	G	53	43	10	36			

<i>IL4</i> (rs2243291)	CC	5	4	2	7	0,006	0,940	
	G	183	74	42	75			
	C	63	26	14	25			
<i>IL4RA</i> (rs1805010)	II	40	33	11	39	6,816	0,033	0,80 (0,43<OR<1,50)
	IV	64	52	8	29			
	VV	18	15	9	32			
	I	144	59	30	54	0,353	0,552	
		V	100	41	26			
	II +IV	104	85	19	68	3,560	0,059	0,37 (0,13<OR<1,03)
	VV	18	15	9	32			
<i>VDR</i> (rs2228570)	FF	42	34	8	29	2,900	0,235	0,64 (0,34<OR<1,20)
	Ff	54	44	12	42			
	ff	17	22	8	29			
	F	138	61	28	50	1,834	0,176	
	f	88	39	28	50			
<i>VDR</i> (rs144410)	BB	11	11	5	18	1,132	0,568	1,40 (0,72<OR<2,70)
	Bb	40	41	12	43			
	bb	47	48	11	39			
	B	62	32	22	39	0,829	0,362	
	b	134	68	34	61			

Примечание: ЦА - целиакия атипичная, N – абсолютное число наблюдаемых генотипов, p - приведено для теста χ^2

Генотип VV встречался в 32% случаев у пациентов с ЦА в группе контроля в 15 %, (OR=0,80(95% CI 0,43 -1,50; $\chi^2=6,816$; p=0,033). При ЦТ ассоциаций не выявлено, в связи с этим данные не приводятся.

Сравнение частот аллелей генов цитокинов проведено среди пациентов с Ц в зависимости от осложнений: ЗФР, анемия, снижение МПКТ, и наличия ассоциированных с Ц синтропных заболеваний (тиреопатии). Не выявлено ассоциации исследуемых маркеров генов-модификаторов иммунного ответа с

неосложненным течением Ц и Ц, осложнившейся ЗФР. В виду отсутствия ассоциаций таблицы не приводятся.

Выявлена высокая частота встречаемости аллеля V полиморфизма rs1805010 гена *IL4RA* (у больных целиакией без осложнений), по сравнению с детьми, у которых заболевание сопровождалось развитием анемии (таблица 113).

Показано отсутствие связи аллеля V с исследуемым дефицитным состоянием, возможно это обстоятельство играет протективную роль в развитии данного осложнения (OR=0,03 (95% CI: 0,00-0,14 $\chi^2=71,95$; p=0,000)).

Аллель I50V повышает сродство рецептора к STAT6, усиливая эффект IL-4, чем, вероятно, и обусловлена ассоциация с осложнениями Ц. С другими полиморфизмами ассоциации не получено, в связи с чем данные не приводятся.

Поиск ассоциаций изучаемых генов-модификаторов иммунного ответа со снижением минеральной плотности костной ткани показал, что среди носителей генотипа CC полиморфизма rs2243291 гена *IL4* реже наблюдается снижение МПКТ по сравнению с обладателями генотипов GG, OR=0,70 (95% CI: 0,31- 1,59; $\chi^2=6,366$; p=0,041), (таблица 113).

Таблица 113

Анализ «случай – контроль» изучаемых полиморфных маркеров генов у больных целиакией без осложнений и целиакией с осложнениями

		Анемия							
Ген/ Полиморфизм	Гено- типы/ аллели	Целиакия без анемии		Целиакия с анемией		χ^2	p	OR	
		N	%	N	%				
		<i>IL4RA</i> (rs1805010)	II	1	8				32
IV	0		0	34	52				
VV	12		92	0	0				
I	2		8	98	74	38,592	0,000		
V	24		92	34	26				

Снижение минеральной плотности костной ткани								
Ген/ Полиморфизм	Гено- типы/ аллели	Целиакия без снижения МПКТ		Целиакия со снижением МПКТ		χ^2	p	OR
		n	%	N	%			
<i>IL4</i> (rs2243291)	GG	20	61	28	61	6,366	0,041	0,70 (0,31<OR<1,59)
	GC	9	27	18	39			
	CC	4	12	0	0			
	G	49	74	74	80	0,533	0,465	
	C	17	26	18	20			

Примечание: снижение МПКТ - снижение минеральной плотности костной ткани; n – абсолютное число наблюдаемых генотипов, p- приведено для теста χ^2

Установлено, что у обладателей генотипа A2A2 полиморфизма VNTR гена *IL1RN* целиакия протекала без развития тиреопатии - OR=0, 69 (95% CI: 0,27-1,71; $\chi^2=16,62$; p=0,001)), (таблица 114). Показано, что аллель С полиморфизма rs2243291 гена *IL4* связан с формированием тиреопатий у наблюдаемых пациентов (OR=4,11 (95% CI: 1,71-9,92; $\chi^2=11,33$; p=0,001)), (таблица 114).

Таблица 114

Анализ «случай – контроль» изучаемых полиморфных маркеров генов у больных целиакией с тиреопатией

Ген/ Полиморфизм	Генотипы/ аллели	Целиакия без тиреопатии		Целиакия с тиреопатией		χ^2	p	OR
		N	%	N	%			
<i>IL1RN</i> (VNTR)	A1A1	39	66	11	55	16,620	0,001	0,69 (0,27<OR<1,71)
	A1A2	5	8	9	45			
	A2A2	15	26	0	0			
	A1	83	70	31	78	0,448	0,503	
	A2	35	30	9	22			
<i>IL1B</i> (rs1143634)	A1A1	33	56	13	65	1,438	0,487	0,84 (0,32<OR<2,20)
	A1A2	25	42	6	30			
	A2A2	1	2	1	5			

Продолжение таблицы 114

<i>IL1B</i> (rs1143634)	A1	91	77	32	80	0,025	0,874	
	A2	27	23	8	20			
<i>IL4</i> (rs2243291)	GG	45	76	3	15	30,824	0,001	4,11 (1,71<OR<9,92)
	GC	10	17	17	85			
	CC	4	7	0	0	11,328	0,001	
	G	100	84	23	58			
C	18	16	17	42				
<i>IL4RA</i> (rs1805010)	II	28	47	5	25	3,802	0,149	2,11 (0,95<OR<4,66)
	IV	24	41	10	50			
	VV	7	12	5	25			
	I	80	68	20	50	3,342	0,068	
	V	38	32	20	50			
<i>VDR</i> (rs2228570)	FF	27	46	3	15	11,830	0,003	4,43 (1,89<OR<10,55)
	Ff	20	34	5	25			
	ff	12	20	12	60			
	F	74	63	11	28	13,519	0,001	
	f	44	37	29	72			
<i>VDR</i> (rs144410)	BB	13	22	2	10	4,728	0,094	2,53 (1,04<OR<6,32)
	Bb	24	41	5	25			
	bb	22	37	13	65			
	B	50	42	9	23	4,229	0,040	
	b	68	58	31	77			

Примечание: N – абсолютное число наблюдаемых генотипов, p - приведено для теста χ^2

Генотип GC у больных с тиреопатией встречался в 85% случаев против 17% у детей без тиреопатий. Аллель F полиморфизма rs2228570 гена *VDR* (OR=4,43 (95% CI: 1,89-10,55; $\chi^2=13,52$; p=0,001)), а также аллель B полиморфизма rs144410 гена *VDR* (OR=2,53 (95% CI: 1,04-6,32; $\chi^2=4,229$; p=0,040)) чаще встречались у пациентов без тиреопатии.

Таким образом, при сравнении частот аллелей исследуемых маркеров генов-модификаторов иммунного ответа в группах Ц - контроль обнаружена ассоциация для аллеля V полиморфизма rs1805010 гена *IL4RA* с атипичной формой Ц.

В исследовании выявлено, что у обладателей аллеля V полиморфизма rs1805010 гена *IL4RA* заболевание не сопровождалось развитием анемии; CC полиморфизма rs2243291 гена *IL4* реже наблюдалось снижение МПКТ, по сравнению с обладателями генотипов GG; у обладателей генотипа A2A2 полиморфизма VNTR гена *IL1RN* целиакия протекала без развития тиреопатии. Аллель F полиморфизма rs2228570 гена *VDR*, а также аллель B полиморфизма rs144410 гена *VDR* чаще встречались у пациентов без тиреопатии.

5.4. Семейный анализ ассоциации изучаемых генетических маркеров с заболеванием и его осложнениями

Поиск ассоциации изучаемых генетических маркеров с заболеванием и его осложнениями был продолжен на семейном уровне с помощью TDT-теста. Одним из наиболее распространенных подходов к картированию генов является анализ сцепления – метод, основанный на прослеживании косегрегации генов при передаче от родителей к потомкам в ряду поколений. Тест на неравновесие при переносе (Transmission/Disequilibrium Test, TDT-тест) - также один из методов анализа сцепления. Этот тест имеет ряд существенных преимуществ: обладает высокой статистической мощностью, устойчив к эффектам популяционной структуры, практически безотносителен к типу наследования и т.д. Даже если исходные доказательства при анализе методом «случай – контроль» о наличии ассоциации отсутствуют, TDT-тест может быть использован для проверки сцепления любого маркера (или набора маркеров) с геном болезни, при наличии данных о родителях и хотя бы одном больном ребенке.

При анализе семейного материала обнаружена ассоциация Ц с аллелем A1 полиморфизма rs1143634 гена *IL1B* (TDT=5,823; p=0,016) и аллелем G полиморфизма rs2243291 гена *IL4* (TDT=12,00; p=0,001), а также ассоциация последнего с типичной формой заболевания (TDT=7,848; p=0,005), (таблица 115). IL-4 является ключевым цитокином Th2 иммунного ответа, индуцируя дифференцировку CD4 Т-лимфоцитов в Th2-хелперные клетки. Исследованный

полиморфизм rs2243291 гена *IL4* локализован вне кодирующей области, поэтому его эффект может быть связан с изменением уровня экспрессии IL-4. Известно, что полиморфизм rs2243291 G/C находится в тесном неравновесии по сцеплению ($p < 0,0001$) с полиморфизмом C-590T (сцеплены аллели G и C). Аллель 590T (rs2243291 C) ассоциирован с пониженным уровнем экспрессии IL-4, тогда как аллель C-590 (или сцепленный с ним rs2243291 G) ассоциирован с нормальным или повышенным уровнем экспрессии. Таким образом, выявленные в настоящем исследовании ассоциации аллеля G полиморфизма rs2243291 гена *IL4* могут быть связаны с повышенной активацией гуморального звена иммунитета, что приводит к развитию патологического фенотипа.

В нашем исследовании у больных Ц отмечалось повышение IL-4 достоверно при ЦА (33,19 (0,35-103,7) пг/мл по сравнению с контролем $5,15 \pm 2,72$ (0,11-5,97) пг/мл, $p = 0,001$), (таблица 115)

Таблица 115

Число аллелей, унаследованных больными целиакией, потомками
от гетерозиготных родителей

Ген /полиморфизм	Патология	Аллели	Количество перенесенных аллелей	TDT	p (d.f.=1)
<i>IL1B</i> (rs1143634)	Целиакия	A1	41	5,823	0,016
		A2	21		
	Типичная форма	A1	25	3,184	0,074
		A2	13		
	Атипичная форма	A1	16	2,042	0,153
		A2	8		
<i>IL1RN</i> (VNTR)	Целиакия	A1	22	0,000	1,000
		A2	21		
	Типичная форма	A1	12	0,000	1,000
		A2	11		
	Атипичная форма	A1	10	0,000	1,000
		A2	10		

<i>IL4</i> (rs2243291)	Целиакия	G	53	12,000	0,001
		C	22		
	Типичная форма	G	33	7,848	0,005
	C	13			
	Атипичная форма	G	20	3,448	0,063
		C	9		
	<i>IL4RA</i> (rs1805010)	Целиакия	I	49	1,684
		V	36		
Типичная форма		I	38	3,213	0,073
	V	23			
	Атипичная форма	I	11	0,042	0,838
		V	13		
	<i>VDR</i> (rs2228570)	Целиакия	F	33	0,000
		f	34		
Типичная форма		F	20	0,735	0,391
	f	14			
	Атипичная форма	F	13	1,091	0,296
		f	20		
	<i>VDR</i> (rs144410)	Целиакия	B	42	0,049
		b	39		
Типичная форма		B	24	0,078	0,779
	b	27			
	Атипичная форма	B	18	0,833	0,361
		b	12		

Примечание: p – достигнутый уровень значимости; d.f. – число степеней свободы

Пробанды с Ц, осложненной ЗФР, в 85% случаев наследуют аллель A1 полиморфизма rs1143634 гена *IL1B* (TDT=3,841; p=0,050) и в 70% случаев пробандам от родителей происходит передача аллеля G полиморфизма rs2243291 гена *IL4* (TDT=8,491; p=0,004), (таблица 116).

Частоты аллелей исследуемых полиморфизмов генов, унаследованных
больными целиакией с задержкой физического развития
от гетерозиготных родителей

Ген	Полиморфизм	Аллели	Количество перенесенных аллелей	TDT	p (d.f.=1)
<i>IL1B</i>	(rs1143634)	A1	29	3,841	0,050
		A2	15		
<i>IL1RN</i>	(VNTRa/b)	A1	16	0,033	0,855
		A2	14		
<i>IL4</i>	(rs2243291)	G	40	8,491	0,004
		C	17		
<i>IL4RA</i>	(rs1805010)	I	36	2,017	0,156
		V	24		
<i>VDR</i>	(rs2228570)	F	24	0,089	0,766
		f	21		
<i>VDR</i>	(rs144410)	B	27	0,327	0,568
		b	22		

Примечание: p – достигнутый уровень значимости; d.f. – число степеней свободы

При дальнейшем поиске взаимосвязи с осложненными формами заболевания на семейном материале, ассоциация была выявлена для VNTR полиморфизма гена *IL1RN* с развитием анемии на фоне Ц (TDT=6,113; p=0,013), а также для аллеля I полиморфизма rs1805010 гена *IL4RA* (TDT=7,841; p=0,006).

Таким образом, выявленная взаимосвязь аллеля I полиморфизма rs1805010 гена *IL4RA* с развитием анемии подтверждена 2 методами. Для аллеля G полиморфизма rs2243291 гена *IL4* (TDT=11,860; p=0,001) отмечена достоверно значимая связь с формированием анемии (таблица 117).

Частоты аллелей исследуемых полиморфизмов генов, унаследованных больными целиакией с анемией от гетерозиготных родителей

Ген	Полиморфизм	Аллели	Количество перенесенных аллелей	TDT	p (d.f.=1)
<i>IL1B</i>	(rs1143634)	A1	16	0,000	1,000
		A2	15		
<i>IL1RN</i>	(VNTRa/b)	A1	36	6,113	0,013
		A2	17		
<i>IL4</i>	(rs2243291)	G	42	11,860	0,001
		C	15		
<i>IL4RA</i>	(rs1805010)	I	51	7,841	0,006
		V	26		
<i>VDR</i>	(rs2228570)	F	27	0,180	0,671
		f	23		
<i>VDR</i>	(rs144410)	B	33	0,015	0,902
		b	33		

Примечание: p – достигнутый уровень значимости; d.f. – число степеней свободы

Отмечено, что пациенты с Ц со снижением МПКТ наследуют аллель A1 VNTR полиморфизма гена *IL1RN* (TDT=4,225; p=0,040), и аллель G полиморфизма rs2243291 гена *IL4* (TDT=12,023; p=0,001), (таблица 118).

Поиск ассоциаций Ц в сочетании с тиреопатией не выявил статистически значимых результатов, в связи с чем данные не приводятся.

Частоты аллелей исследуемых полиморфизмов генов, унаследованных больными целиакией со сниженной МПКТ от гетерозиготных родителей

Ген	Полиморфизм	Аллели	Количество перенесенных аллелей	TDT	P (d.f.=1)
<i>IL1B</i>	(rs1143634)	A1	15	0,346	0,556
		A2	11		
<i>IL1RN</i>	(VNTRa/b)	A1	27	4,225	0,040

		A2	13		
<i>IL4</i>	(rs2243291)	G	34	12,023	0,001
		C	10		
<i>IL4RA</i>	(rs1805010)	I	39	2,215	0,137
		V	26		
<i>VDR</i>	(rs2228570)	F	26	0,340	0,560
		f	21		
<i>VDR</i>	(rs144410)	B	22	0,500	0,480
		b	28		

Примечание: p – достигнутый уровень значимости; d.f. – число степеней свободы

Резюме

Таким образом, в ходе проведенного исследования наибольшая связь с Ц и его фенотипическими проявлениями установлена для изученных полиморфизмов генов *IL4*, *IL4RA*, а также генов локуса *IL1* и *IL1RN*. На семейном материале с использованием TDT-метода обнаружена ассоциация аллеля A1 полиморфизма rs1143634 гена *IL1B* и аллеля G полиморфизма rs2243291 гена *IL4* с Ц, а также ассоциация последнего с ЦТ. Установлена ассоциация аллеля V полиморфизма rs1805010 гена *IL4RA* с ЦА. Получены ассоциации полиморфных вариантов генов иммунного ответа с осложнениями заболевания. Следовательно, гены-модификаторы иммунного ответа влияют на тип Ц, а также развитие осложнений и ассоциированных с Ц заболеваний.

5.5. Внутрисемейный корреляционный анализ и оценка наследуемости количественных признаков

Для проведения внутрисемейного корреляционного анализа иммунологических показателей по генеалогическим данным были составлены списки родственников 1 степени родства, которые послужили основой при

формировании матриц для расчета семейных корреляций. Проведен внутрисемейный корреляционный анализ наследуемости уровня цитокинов.

Вклад наследственных факторов в изменчивость исследованных иммунологических показателей в семьях больных Ц оказался различен (таблица 119).

Получены корреляционные связи в парах между родителями относительно IL-4, INF- γ и IL-1Ra, в парах мать-дети и мать-пробанд установлены положительные корреляции для значений основных провоспалительных цитокинов TNF- α ($r=0,303$, $p\leq 0,008$), INF- γ ($r=0,255$, $p\leq 0,027$), и противовоспалительного IL-1Ra ($r=0,247$, $p\leq 0,032$), в паре мать-сibs корреляций не получено. В парах отец-пробанд зарегистрированы корреляции для IL-4 ($r=0,296$, $p=0,020$), INF- γ ($r=0,368$, $p=0,003$).

Отрицательные корреляции для IL-10 ($r=-0,358$, $p\leq 0,004$). При рассмотрении коэффициентов корреляций в парах родители-дети статистически значимые оценки были получены для наибольшего числа показателей: для IL-4 ($r=0,248$, $p\leq 0,001$), IL-10 ($r=0,247$, $p\leq 0,001$), TNF- α ($r=0,270$, $p=0,001$), INF- γ ($r=0,285$, $p\leq 0,001$), IL-1Ra ($r=0,184$, $p=0,018$), (таблица 119). Установленные корреляционные связи могут свидетельствовать об определенном вкладе генетических факторов в изменение иммунологического статуса у пробандов с Ц.

Оценки коэффициентов наследуемости (h^2) иммунологических показателей в семьях больных Ц варьировали в пределах от 49,49% до 57,17%. Максимальные оценки коэффициента наследуемости были получены для INF- γ (57,17%) и TNF- α (54,18%), достаточно высокий уровень коэффициента наследуемости характерен для IL-4 (49,65%). Среди других показателей следует отметить средние по величине значения h^2 для IL-10 – 49,49%.

Показано, что наследование пробандами выработки цитокинов идет по обеим линиям: от матерей дети наследуют выработку провоспалительных цитокинов (TNF- α , INF- γ), от отцов чаще противовоспалительную (IL-4, IL-10) направленность цитокинового каскада. Высокий коэффициент наследуемости IL-

4, INF- γ свидетельствует об участии в развитии хронического аутоиммунного воспаления на СОТК как Th1, так и Th2 путей иммунного ответа.

Таблица 119

Внутрисемейные корреляции наследуемости цитокинов до лечения

Группа	Параметры	IL-1 β	IL-4	IL-10	TNF- α	INF- γ	IL-1Ra
	C*	1	2	3	4	5	6
мать-отец	rS	0,133	0,285	0,073	0,059	0,304	0,337
	p	0,327	0,032	0,590	0,663	0,022	0,004
	N	56	56	56	56	56	56
мать-дети	rS	0,090	0,105	-0,174	0,274	0,242	0,280
	p	0,393	0,319	0,980	0,008	0,020	0,007
	N	90	90	90	90	90	90
мать-пробанд	rS	0,046	0,449	-0,191	0,303	0,255	0,247
	p	0,688	0,682	0,100	0,008	0,027	0,032
	N	75	75	75	75	75	75
мать-сибс	rS	0,353	0,572	-0,147	0,253	0,058	0,440
	p	0,179	0,020	0,586	0,344	0,828	0,088
	N	16	16	16	16	16	16
отец-дети	rS	0,167	0,330	-0,337	0,241	0,377	0,065
	p	0,159	0,003	0,003	0,040	0,001	0,586
	N	72	72	72	72	72	72
отец-пробанд	rS	0,229	0,296	-0,358	0,201	0,368	0,025
	p	0,075	0,020	0,004	0,119	0,003	0,845
	N	61	61	61	61	61	61
отец-сибс	rS	0,186	0,698	0,346	0,227	0,273	0,259
	p	0,582	0,016	0,296	0,500	0,416	0,440
	N	11	11	11	11	11	11
пробанд-сибс	rS	0,048	0,418	0,641	0,515	0,580	0,264
	p	0,848	0,083	0,004	0,028	0,011	0,289
	N	18	18	18	18	18	18
родители-дети	rS	0,133	0,248	0,247	0,270	0,285	0,184
	p	0,089	0,001	0,001	0,001	<0,001	0,018
	N	163	163	163	163	163	163

Продолжение таблицы 119

родители-пробанд	rS	0,142	0,196	-0,264	0,263	0,267	0,170
	p	0,104	0,026	0,002	0,002	0,002	0,052
	N	130	130	130	130	130	130
родители-сибс	rS	0,228	0,645	-0,208	0,278	0,149	0,402
	p	0,251	0,002	0,295	0,160	0,457	0,037
	N	27	27	27	27	27	27
Наследуемость (h^2), %		26,68	49,65	49,49	54,18	57,17	36,92

Примечание: С* - статистические параметры; rS - коэффициент корреляции Спирмена

Таким образом, в семьях детей с Ц установлены коэффициенты корреляции для параметров цитокинового статуса между родителями и детьми и получены коэффициенты наследуемости в отношении количества изучаемых медиаторов воспаления, вовлеченных в развитие патологического процесса в СОТК.

ГЛАВА 6. КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МУКОВИСЦИДОЗА

Целиакия и муковисцидоз имеют много общих клинических симптомов. Описаны случаи сочетанного течения этих заболеваний. Обследование 790 пациентов (жителей Скандинавии) с МВ на наличие у них Ц выявило заболевание у 10 (1,2%) пациентов с муковисцидозом [217, 243]. Проведено исследование в Польше (обследовано 230 больных с МВ), целиакия диагностировалась в 2,13% случаев [337]. В 2006 году, в связи с введением неонатального скрининга на территории РФ, изменились представления о частоте МВ в мире [37, 87, 102, 150, 152, 235, 326]. В диагностике остаются актуальными и другие методы исследования, в том числе определение разности назальных потенциалов [104].

В нашем исследовании мы поставили задачу на основании изучения клинико-иммунологической и генетической характеристики МВ провести сравнительный анализ Ц и МВ по характеру иммунологического воспаления и ассоциации заболевания с аллелями изученных полиморфизмов генов.

6.1. Клиническая характеристика больных муковисцидозом

Проведен анализ 82 клинических случаев МВ у детей: 26 пациентов наблюдавшихся на базе НИИ медицинской генетики СО РАН г. Томска, 56 анкет больных МВ из других регионов страны (Астрахань, Москва, Барнаул) в период 2005 – 2009 гг. Средний возраст пробандов с МВ составил $11,2 \pm 4,58$ (0,2-18,0) лет, девочек - 45, мальчиков – 37, соотношение мальчиков к девочкам 1:1,1. До 3 лет было 7 детей (8,5%), с 3 до 15 лет – 50 (61%), в возрасте старше 15 лет – 25 (30,5%) детей с МВ. Диагноз МВ устанавливался согласно стандартам диагностики заболевания [89]. Смешанная форма МВ была диагностирована у 75 (91%) пациентов, у 7 (9%) была преимущественно легочная. Легкое течение заболевания отмечено у 7, среднее - тяжелое - у 37, тяжелое – у 38 больных

(таблица 120). Из случаев средне-тяжелого и тяжелого течения заболевания 71 (87%) больных были со смешанной формой МВ.

Таблица 120

Характеристика больных с муковисцидозом

Форма МВ	Количество больных, n	Пол		Тяжесть заболевания		
		М	Ж	Легкое	Средней тяжести	Тяжелое
Легочная	7	4	3	3	3	1
Смешанная	75	32	43	4	34	37
Всего	82	37	45	7	37	38

Варианты выявленных мутаций в гене *CFTR* представлены в таблице 121.

Таблица 121

Варианты и относительная частота мутаций в гене *CFTR* у больных муковисцидозом, (%)

Мутации	Количество случаев, n=82	Относительная частота	Частота мутаций у больных МВ в России по данным ГУ МГНЦ РАМН [90]
F508del	36	43,9	51,9
N1303K	2	2,4	2,4
3944delTG	1	1,2	0,1
3849+10kbC-T	1	1,2	1,5
CFTRdele2,3(21кв)	7	8,5	6,1
G551D/W1282X	1	1,2	0,1/2,7
R334W	1	1,2	0,7
2184insA	1	1,2	1,8
Неидентифицированные	32	39	24

В группе обследованных детей чаще выявлялись мутации F508del и CFTRdele2,3(21кв). Мутация F508del гена *CFTR* в гомозиготном состоянии обнаружена у 19(23%) пациентов, всего в гомо- и гетерозиготном состоянии - у 36 больных (43,9%). Полученные данные встречаемости делеционной мутации совпадают с результатами в томской популяции [100], и несколько ниже данных по России [53] в отношении делеции F508del. Так называемая «славянская» мутация CFNRdele2,3(21kb) выявлена у 7(8,5%) больных МВ, что соответствует распространенности этой мутации по России. Не идентифицированы мутации в 32 (39 %) случаях, это связано с возможностями диагностики в регионах, так как дети с МВ были из разных регионов страны (таблица 121).

Анализ данных анамнеза 82 больных МВ показал, что в 41 (50%) случае заболевание манифестировало поражением бронхо-легочной системы (в виде обструктивного бронхита, острой пневмонии, рецидивирующей пневмонии, длительного кашля), это были пациенты, выявленные до введения неонатального скрининга в нашей стране. Заболевание проявлялось у 21 (26%) пациента в виде признаков мальдигестии и мальабсорбции (полифекалия, жирный, частый стул, низкие прибавки в массе тела) с первых месяцев жизни, из них у 2 пациентов отмечалось выпадение прямой кишки. Мекониальный илеус был выявлен у 3 (3%) детей в дебюте заболевания. В 17 (21%) случаях дебют МВ проявлялся сочетанием кишечного и респираторного синдромов. Верификация клинического диагноза МВ запаздывала относительно первых проявлений болезни. Средний возраст пациентов при постановке диагноза составил $3,8 \pm 3,2$ (0,1-15,0) лет. В возрасте до 1 года диагноз установлен у 7 больных (8,5%): у 3 пациентов заболевание манифестировало мекониальным илеусом, у 4 – респираторными проявлениями. При этом только 3 больных из этой группы были выявлены по неонатальному скринингу, что свидетельствует об актуальности последнего.

Бронхоэктазы имели 26 (32%) пациентов, кровохарканье отмечалось у 1 больного. Цирроз печени был диагностирован у 28 (34%) детей, полипоз носа – у 12 (15%) больных. Нутритивная недостаточность выявлена у 37 (45%) детей с

МВ. Редко встречались (в 2,3% случаев) сахарный диабет, холецистолитиаз, дизметаболическая нефропатия, у одного больного наблюдался пневмоторакс.

Изучение микрофлоры бронхиального тракта показало следующие результаты. Высев из мокроты синегнойной палочки (*Ps. aeruginosa*) отмечен в 34%, золотистого стафилококка (*St. aureus*) – в 38%. Сочетанный высев *Ps. aeruginosa* и *St. aureus* имел место в 2 % случаев, *Burkholderia cepacia* выделена у 21% обследуемых. Высокий процент детей с данной инфекцией обусловлен тем, что часть детей находились на лечении в РДКБ (Москва) в специализированном отделении. Не было роста патогенной микрофлоры у 5% больных раннего возраста, (рисунок 11).

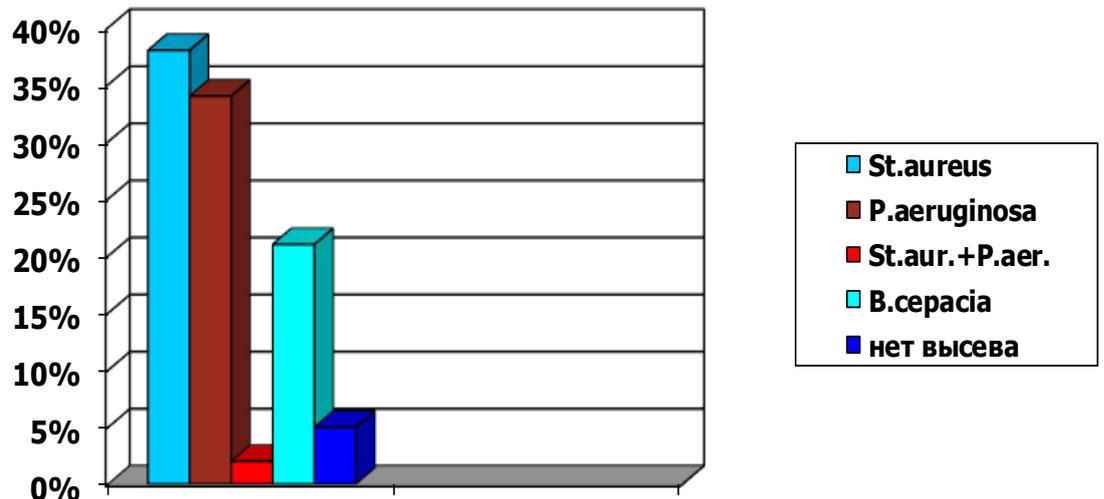


Рисунок 11. Микрофлора мокроты больных муковисцидозом

Развитие хронической синегнойной инфекции нижних дыхательных путей сопровождалось нарастанием респираторной симптоматики и, соответственно, частоты обострений заболевания. Базисная терапия больным с МВ проводилась согласно стандарта медицинской помощи (приказ МЗ и СР РФ от 14 ноября 2007 г. № 703) и включала назначение дорназы – альфа (пульмозим), высокоактивных микросферических ферментов (креон), препаратов урсодезоксихолевой кислоты (урсофальк, урсосан), витаминов, кинезитерапии. Выбор антибактериального препарата определялся видом микроорганизмов, выделяемых из бронхиального

секрета больных МВ, и их чувствительностью к антибиотикам, периодом заболевания и тяжестью. Для антибактериальной терапии синегнойной инфекции использовалась комбинация цефтазидима с тобрамицином для внутривенного введения (26% больных). 7 пациентов с хронической синегнойной инфекцией в возрасте старше 6 лет получали ингаляции Тоби в дозе 300 мг дважды в день курсами по 28 дней, 6 раз в год. Длительные курсы пероральной терапии азитромицином получали 44 пациента (54%). Ципрофлоксацин получали 7 (8,5%) больных с МВ. Гормональная терапия преднизолоном была назначена 16 (19,5%) детям с тяжелым течением МВ.

Ингаляционная терапия включала назначение селективного β_2 – адреномиметика сальбутамола 24 (29%) больным; серетида, в состав которого входит β_2 –адреномиметик селективный (сальметерол) и местный глюкокортикоид (флутиказон) – 5 (6%) больным. Расширение лекарственной терапии зависело от имеющихся осложнений в течение заболевания и результатов микробиологического посева мокроты.

За последний год наблюдения частота обострения заболевания была следующей: 1-2 раза - в 30 (37%) случаях; 3-4 раза - 28 (34%) пациентов; 5-6 раз - 10 (12%) случаях; 6-8 раз - 9 (11%) случаях. Не отмечалось обострений за последний год у 2 (2%) больных, тяжелый непрерывно-рецидивирующий микробно-воспалительный процесс в бронхо-легочной системе со снижением функции легких отмечался у 3 (4%) детей МВ. Среднее число госпитализаций для проведения лечения составило $3,3 \pm 1,6$ (0 - 7,0).

Таким образом, несмотря на то, что заболевание манифестировало классическими симптомами, имела место поздняя постановка диагноза. Частота встречаемости делеции F508del составила 43,9%.

Доминировала смешанная форма муковисцидоза, отмечался высокий процент высева *Ps. aeruginosa* и *Burkholderia cepacia*, *St. aureus*. Частым осложнением в течение заболевания были: бронхоэктазы, дыхательная недостаточность (43%), фиброз печени (34%), нутритивная недостаточность (45%).

6.2. Структурно-метаболический статус и функциональная активность моноцитов–макрофагов сыворотки крови пациентов с муковисцидозом

Важную информацию о механизмах иммунного ответа можно получить на основе изучения рецепторного аппарата клеток и ферментативного статуса фагоцитов на разных этапах развития патологического процесса. Иммунологическое исследование, включающее оценку функциональной активности моноцитов–макрофагов (Мн-Мф), их структурно-метаболического статуса с определением экспрессии C_3b - и $Fc\gamma$ -рецепторов, цитокинового профиля (про- и противовоспалительные цитокины), проведено у 21 пациента с МВ в возрасте от 5 до 17 лет, находившихся под наблюдением в ФГБУ НИИ медицинской генетики СО РАМН и ОГАУЗ «Детская больница №1» г. Томска. В контрольную группу для иммунологических исследований вошли 20 практически здоровых детей того же возраста, не имеющих ОРЗ в течение последних 2 месяцев перед обследованием. В группе обследованных детей с МВ преимущественно легочная форма МВ была отмечена у 4 (19%) пациентов, смешанная форма у 17 (81%) пациентов. Легкое течение заболевания выявлено у 6 детей, средне-тяжелое – 10; тяжелое – у 5 больных МВ. Установлено, что бронхоэктазы сформировались у 4 (19,5%) детей, дыхательная недостаточность выявлена у 5 (24%), патология печени (фиброз печени) – у 7 (33%) больных, нутритивная недостаточность у 4 (19,5%) детей.

При оценке функциональной активности Мн-Мф и их рецепторного аппарата у больных с МВ (21 пациент) отмечено снижение экспрессии C_3b - и $Fc\gamma$ -рецепторов ($p < 0,001$) по сравнению с клетками здоровых детей (таблица 122). Суммарный показатель люминесценции (СПЛ) макрофагов не отличался от нормы, а в некоторых случаях (38%) превышал контрольные значения. Фагоцитарная активность Мн-Мф в целом имела тенденцию к повышению ($p = 0,087$), при этом у 7 (33%) больных была выше показателей контрольной группы. Дети с высокими значениями фагоцитоза (7 пациентов) имели легкое (3 случая) и средней тяжести (4 случая) течение заболевания, у 5 пациентов была

смешанная форма МВ, у 2 – легочная, у всех больных из бронхиального секрета высеивался *St. aureus*.

Таблица 122

Характеристика показателей структурного статуса и функциональной активности моноцитов-макрофагов крови больных муковисцидозом, Me (Q₁-Q₃)

Показатели	Больные муковисцидозом, (n=21)	Здоровые, (n=20)	p
C ₃ b, %	3 (0-7)	21 (19-24)	<0,001
F _{cγ} , %	2 (0-4)	13 (11-16)	<0,001
СПЛ, ед.	35 (20-49)	26 (12-31)	0,065
Макрофагальный фагоцитоз (ед. опт. пл.)	610 (420-750)	460 (320-510)	0,087

Примечание: p - достоверный уровень значимости при межгрупповом сравнении

Анализ показателей структурного статуса и функциональной активности Мн-Мф в крови больных МВ в зависимости от тяжести заболевания показал следующие результаты. Для детей с тяжелым течением заболевания была характерна низкая экспрессия C₃b-рецепторов Мн-Мф (p=0,043), по сравнению с показателями при средне-тяжелом течении заболевания, что, возможно, способствует прогрессирующему, волнообразному течению хронического процесса (таблица 123). Для других показателей статистически значимой разницы в зависимости от тяжести заболевания не получено.

Анализ показателей в зависимости от формы заболевания у детей выявил снижение количества рецепторов C₃b Мн-Мф (p=0,054) при легочной форме заболевания на фоне общей тенденции к повышению макрофагального фагоцитоза (таблица 124).

Характеристика показателей структурного статуса и функциональной активности моноцитов-макрофагов крови больных муковисцидозом в зависимости от тяжести заболевания, Ме (Q₁-Q₃)

Показатели	Тяжесть заболевания			р межгрупповые различия	р парные
	Легкое течение	Средней тяжести	Тяжелое течение		
	(1)	(2)	(3)		
C _{3b} %	2,0 (0,0-3,5)	5,5 (2,5-8,75)	1,0 (0,0-2,75)	0,033	p ₁₋₂ =0,054; p ₂₋₃ =0,043
F _{сγ} %	2,0 (0,5-3,5)	2,0 (0,0-3,0)	2,0 (0,25-5,25)	0,968	–
СПЛ, ед.	20 (17-45,5)	35,5 (30,25-51)	43 (9,25-52,75)	0,509	–
Макрофагальный фагоцитоз (ед. опт. пл.)	615 (392,5-750)	400 (350-690)	400 (290-630)	0,557	–

Примечание: p₁₋₂ – достоверность различий показателей между легкой и средней тяжести течения заболевания; p₂₋₃ - достоверность различий показателей между средней тяжести и тяжелым течением заболевания

Таблица 124

Характеристика показателей структурного статуса и функциональной активности моноцитов-макрофагов крови больных муковисцидозом, в зависимости от формы заболевания, Ме (Q₁-Q₃)

Показатели	Форма заболевания		р
	Легочная	Смешанная	
	1	2	
C _{3b} %	0,0 (0,0-3,0)	4,0(2,0-8,0)	p ₁₋₂ =0,054

Fcγ%	2,0 (0,0-3,5)	2,0 (0,0-3,0)	–
СПЛ, ед.	25(17-69)	36(30-49)	–
Макрофагальный фагоцитоз (ед. опт. пл.)	510 (350-750)	480 (380-710)	-

Примечание: p₁₋₂ – достоверность различий показателей между легочной и смешанной формой заболевания

Таким образом, у больных с МВ понижена экспрессия C_{3b}- рецепторов на мембране Мн-Мф, особенно при легочной форме и тяжелом течении заболевания. Снижение количества Fcγ- рецепторов Мн-Мф не зависело от тяжести и формы МВ. При этом фагоцитарная функция Мн-Мф и СПЛ макрофагов были повышены у 33% и 38% больных, соответственно, что отражало реакцию на хронический инфекционный процесс. Нарушение функциональной активности Мн-Мф в виде снижения экспрессии C_{3b}-рецепторов вносит вклад в течение заболевания.

6.3. Роль генов–модификаторов иммунного ответа при муковисцидозе

В последние годы появилась возможность идентифицировать гены, продукты экспрессии которых участвуют в развитии патологических состояний. Концепция генов подверженности к мультифакториальным заболеваниям (МФЗ) направляет генетические исследования в русло поиска возможных кандидатных генов и изучение их вклада в развитие МВ и его клинических проявлений [47]. В данной главе будут рассмотрены результаты анализа взаимосвязи полиморфных вариантов генов-модификаторов иммунного ответа: *IL1B* (rs1143634), *IL1RN* (VNTR), *IL4* (rs2243291), *IL4RA* (rs1805010), *IFN-G* (rs2069705), выбранных в качестве кандидатных, с

патологическим фенотипом МВ и его клиническими проявлениями.

6.3.1. Характеристика взаимосвязи полиморфизма генов цитокинов с муковисцидозом

В работе нами выполнялся поиск ассоциации полиморфизмов гена *IL1B* (rs1143634), *IL1RN* (VNTR), *IL4* (rs2243291), *IL4RA* (rs1805010), *IFN-G* (rs2069705) с МВ, вариантами клинического течения и осложнениями заболевания с помощью метода случай-контроль.

Частоты аллелей, распределение генотипов генов интерлейкинов, а также оценка их соответствия РХВ в группе больных МВ и контрольной группе представлены в таблице 125.

Таблица 125

Полиморфизм генов интерлейкинов у больных муковисцидозом и в группе контроля

Выборка	Генотип	N.O.	N.E.	χ^2 d.f.=1	Частота аллеля	hobs \pm s.e. hexp \pm s.e.	D
VNTR полиморфизм гена <i>IL1RN</i>							
МВ	A1A1	50	47,28	1,055 p=0,304	1=0,732	hobs=0,330 \pm 0,050 hexp=0,540 \pm 0,053	-0,390
	A1A2	29	34,45		2=0,267		
	A2A2	9	6,28				
Контроль	A1A1	87	73,73	0,857 p=0,355	1=0,826	hobs=0,178 \pm 0,001 hexp=0,287 \pm 0,032	-0,492
	A1A2	21	17,80		2=0,174		
	A2A2	10	8,47				
МВ	A1A1	50	48,75	0,076 p=0,752	1=0,744	hobs=0,352 \pm 0,051 hexp=0,517 \pm 0,053	-0,319
	A1A2	31	33,49		2=0,256		
	A2A2	7	5,75				
Контроль	A1A1	75	64,10	0,151 p=0,698	1=0,799	hobs=0,316 \pm 0,002 hexp=0,321 \pm 0,031	-0,015
	A1A2	37	31,62		2=0,210		
	A2A2	5	4,27				
Полиморфизм rs2243291 гена <i>IL4</i>							

Продолжение таблицы 125

МВ	CC	4	6,01	0,376 p=0,540	C=0,261 G=0,738	hobs=0,432 ±0,053 hexp=0,494±0,036	-0,711
	GC	38	33,98				
	GG	46	48,01				
Контроль	CC	5	4,07	0,269 p=0,604	C=0,256 G=0,744	hobs=0,431 ±0,002 hexp=0,381±0,027	0,131
	GC	53	43,09				
	GG	65	52,85				
Полиморфизм rs1805010 гена <i>IL1RA</i> *							
МВ	II	33	34,38	0,476 p=0,490	I=0,625 V=0,375	hobs=0,409 ±0,052 hexp=0,759±0,046	-0,461
	IV	35	41,25				
	VV	13	12,38				
Контроль	II	40	32,79	0,323 p=0,647	I=0,590 V=0,410	hobs=0,525 ±0,002 hexp=0,484±0,011	0,084
	IV	64	52,46				
	VV	18	14,75				
Полиморфизм rs2069705 гена <i>IFN-G</i> *							
МВ	TT	21	17,50	1,342 p=0,247	T=0,500 C=0,500	hobs=0,400 ±0,059 hexp=0,140±0,046	-0,606
	TC	28	35,00				
	CC	21	17,50				
Контроль	TT	36	35,80	1,655 p=0,198	T=0,639 C=0,360	hobs=0,442 ±0,054 hexp=0,729±0,048	-0,394
	TC	38	47,40				
	CC	12	11,06				

Примечание. N.O. - наблюдаемая численность генотипов; N.E. - ожидаемая численность генотипов; критерий χ_2 использован для оценки соответствия наблюдаемого распределения генотипов ожидаемому исходя из равновесия Харди-Вайнберга; d.f. – число степеней свободы; hobs±s.e. и hexp±s.e. - соответственно наблюдаемая и ожидаемая гетерозиготность с ошибкой; D - относительное отклонение наблюдаемой гетерозиготности от ожидаемой

Для всех полиморфных вариантов генов распределение генотипов соответствовало равновесию Харди-Вайнберга.

При сравнении частот аллелей изученных полиморфизмов между контрольной группой и выборкой больных МВ (таблица 125) выявлена ассоциация заболевания с аллелем A2 полиморфизма VNTR гена *IL1RN* и полиморфизмом rs2069705 гена *IFN-G*.

Анализ распределения генотипов A1A1, A1A2 и A2A2 VNTR полиморфизма гена *IL1RN* в группе больных МВ и контроле выявил достоверно значимое отклонение у носителей генотипа A1A2 ($p < 0,029$). Частота аллеля A2 у детей с МВ составила 27% и была выше частоты ее в популяции г. Томска (17%) со статистически значимой разницей ($p = 0,030$).

При сравнении частот аллелей VNTR полиморфизма гена *IL1RN* A1 против A2 выявлена ассоциация заболевания с аллелем A2 (OR=1,73 (95% CI: 1,05-2,86; $\chi^2 = 4,686$; $p = 0,030$)) в отношении заболевания (таблица 126).

Возможно, что прогрессирование хронического воспалительного процесса при МВ связано с VNTR полиморфизмом гена *IL1RN*, выполняющего функцию специфического блокатора биологического действия провоспалительного цитокина IL-1, что способствует прогрессированию патологического процесса.

Примечательно, что в ряде исследований ассоциация аллеля A2 данного гена продемонстрирована на примере заболеваний, сопровождающихся хроническим прогрессирующим воспалительным процессом (сепсис, хронический синусит, хронический гепатит). При анализе генотипов A1A2+A2A2 выявлена ассоциация с заболеванием, подтверждающая предрасполагающую роль аллеля A2 к заболеванию (OR=2,13 (95% CI: 1,14-4,01; $\chi^2 = 5,730$, $p = 0,016$)).

Анализ распределения генотипов TT, TC и CC полиморфизма rs2069705 гена *IFN-G* в группе больных МВ и контроле выявил достоверно значимое отклонение у носителей генотипа CC ($p < 0,042$).

Частота аллеля C у детей с МВ составила 50% и была выше частоты его в популяции Томска (36%) со статистически значимой разницей ($p = 0,018$). При анализе генотипов TT+TC полиморфизма rs2069705 гена *IFN-G* выявлена ассоциация с заболеванием, подтверждающее предрасполагающую роль аллеля C к заболеванию (OR=1,77 (95% CI: 1,12-6,33; $\chi^2 = 5,030$; $p = 0,025$)), (таблица 126).

Таким образом, выявлена ассоциация МВ с полиморфизмом VNTR гена *IL1RN* (аллель A2) и полиморфизмом rs2069705 гена *IFN-G* (аллель C).

Анализ «случай – контроль» полиморфных маркеров генов у больных муковисцидозом и в контрольной группе

Ген/ Полиморфизм	Гено- типы/ аллели	Контроль		МВ		χ^2	p	OR
		N	%	N	%			
<i>IL1RN</i> (VNTR)	A1A1	87	73	50	56	7,107	0,029	1,73 (1,05<OR<2,86)
	A1A2	21	17	29	32			
	A2A2	10	10	9	10			
	A1	195	83	129	73	4,686	0,030	
	A2	41	17	47	27			
	A1A1	87	73	50	56	5,730	0,016	
A1A2+ A2A2	31	27	38	42				
<i>IL1B</i> (rs1143634)	A1A1	75	64	50	57	1,796	0,407	1,37 (0,84<OR<2,24)
	A1A2	37	32	31	35			
	A2A2	5	4	7	8			
	A1	187	80	131	74	1,434	0,231	
	A2	47	20	45	26			
<i>IL4</i> (rs2243291)	GG	65	53	46	52	0,031	0,985	1,03 (0,65<OR<1,64)
	GC	53	43	38	43			
	CC	5	4	4	5			
	G	183	74	130	74	0,001	0,993	
	C	63	26	46	26			
<i>IL4RA</i> (rs1805010)	II	40	33	37	42	1,764	0,414	0,86 (0,57<OR<1,51)
	IV	64	52	36	40			
	VV	18	15	15	17			
	I	144	59	110	63	0,384	0,536	
	V	100	41	66	37			
<i>IFN-G</i> (rs2069705)	TT	36	42	21	30	6,343	0,042	1,77 (1,10<OR<2,87)
	TC	38	44	28	40			
	CC	12	14	21	30			
	T	110	64	70	50	5,598	0,018	

<i>IFN-G</i> (rs2069705)	C	62	36	70	50	5,030	0,025	2,64 (1,12<OR<6,33)
	CC	12	14	21	30			
	TT+ TC	74	86	49	70			

Примечание: МВ – муковисцидоз; N – абсолютное число наблюдаемых генотипов; p - приведено для теста χ^2

6.3.2. Анализ количественных признаков у больных муковисцидозом в зависимости от изучаемых генов-модификаторов иммунного ответа

Изучение особенностей иммунного ответа при хроническом воспалительном процессе у больных с МВ является актуальным и поможет прогнозировать течение заболевания, развитие осложнений, что в конечном итоге открывает новые возможности для разработки подходов к терапии МВ [47, 48].

Анализ содержания цитокинов у больных МВ в зависимости от генотипов изучаемых генов-модификаторов иммунного ответа показал, что носители генотипа A1A1 гена *IL1RN* (VNTR) характеризуются высокими показателями IL-1 β (p=0,017), (таблица 127).

Уровень изучаемых цитокинов в общей группе больных МВ в зависимости от генотипов гена *IL1B* (rs1143634) достоверно не отличался. Уровень TNF- α был максимальным у лиц с генотипом IV гена *IL4RA* (rs1805010) по сравнению с обладателями II генотипа (p₁₋₂=0,027), (таблица 128).

Носители генотипа TC гена *INF-G* (rs2069705) характеризуются высокой активностью провоспалительного цитокина IL-1 β по сравнению с носителями генотипа CC (p₁₋₂=0,042). В проведенном исследовании было показано, что аллель A1 VNTR полиморфизма гена *IL1RN* в гомозиготном состоянии многократно усиливает секрецию кодируемого продукта IL-1 β . Концентрация TNF- α была максимальной у носителей аллеля V полиморфизма rs1805010 гена *IL4RA* в гетерозиготном состоянии. Носители аллеля G полиморфизма rs2069705 гена *INF-*

G в гетерозиготном состоянии характеризуется высокой активностью провоспалительных цитокинов (IL-1 β).

Таблица 127

Уровень цитокинов у больных муковисцидозом в зависимости от генотипов гена *IL1RN* (VNTR), Me (Q₁-Q₃)

Показатель, нг/мл	A1A1, (n=8)	A1A2, (n=11)	p
	1	2	
IL-1 β	122,81 (6,24-836,75)	7,41 (3,43-9,65)	p ₁₋₂ =0,017
TNF- α	47,3 (28,07-92,53)	57,18 (29,81-142,4)	p ₁₋₂ =0,123
IL-1Ra	2,10 (0,89-3,21)	1,91 (1,46-6,46)	p ₁₋₂ =0,575
IL-10	9,52 (1,05-162,3)	9,87 (4,01-146,9)	p ₁₋₂ =0,575
INF- γ	13,68 (11,75-17,43)	16,39 (11,14-29,60)	p ₁₋₂ =0,674
IL-4	0,694 (0,33-0,69)	0,94 (0,37-1,11)	p ₁₋₂ =0,483

Примечание: p₁₋₂ – достоверность различия показателей между группами пациентов с генотипами A1A1 и A1A2

Таблица 128

Уровень цитокинов у больных муковисцидозом в зависимости от генотипов полиморфизма rs1805010 гена *IL4RA*, Me (Q₁- Q₃)

Показатель, нг/мл	II, (n=7)	IV, (n=9)	VV, (n=3)	P
	1	2	3	
TNF- α	45,19 (29,81-57,18)	92,53 (49,4-142,4)	46,58 (49,4-142,4)	p ₁₋₂ =0,027

Примечание: p₁₋₂ - достоверность различия показателей между группами пациентов с генотипами II и IV; p₁₋₃ - достоверность различия показателей между группами пациентов с генотипами II и VV; p₂₋₃ - достоверность различия показателей между группами пациентов с генотипами VV и IV

Носители генотипа TC полиморфизма rs2069705 гена *INF-G* характеризуются высокой активностью провоспалительного цитокина IL-1 β по сравнению с носителями генотипа CC (p₁₋₂=0,042).

Таким образом, уровень $IL-1\beta$ в плазме крови скоординирован и регулируется геном *IL1RN*, а носительство аллеля A1 полиморфизма VNTR гена *IL1RN* ответственно за повышенный уровень циркулирующего $IL-1\beta$.

6.3.3. Ассоциация изучаемых полиморфных генов с клиническими проявлениями муковисцидоза

В задачи настоящего исследования входил поиск ассоциации исследуемых генов-модификаторов иммунного ответа с особенностями клинического течения МВ. Проведено сравнение частот аллелей генов цитокинов среди пациентов с МВ в зависимости от характера генетического статуса (мутация F508del), микробиологического статуса пациента (хроническая синегнойная инфекция) и осложнений заболевания (дыхательная недостаточность (ДН), фиброз печени).

Сравнение частот аллелей исследуемых маркеров генов-модификаторов иммунного ответа у больных МВ с наличием мутации F508del и с иными мутациями ассоциаций не выявило, в связи с этим таблица с результатами не приводится.

Ассоциации изучаемых полиморфизмов с МВ в сочетании с ДН не получено для полиморфизмов rs1143634 гена *IL1B* и rs2243291 гена *IL4*.

Генотип A1A2 VNTR полиморфизма гена *IL1RN* реже выявлялся у больных МВ с таким осложнением течения заболевания, как ДН (16% против 36%), ($p=0,012$). Можно говорить о протективной роли аллеля A1 в гетерозиготном состоянии (A1A2 генотипе), (таблица 129).

Получена ассоциация сочетания генотипов VV+IV полиморфизма rs1805010 гена *IL4RA* ($OR=3,13$ (95% CI: 1,06-9,46; $\chi^2=4,340$; $p=0,037$)) с МВ, осложненным развитием ДН, следовательно, генотип II выполняет протективную роль в отношении развития ДН у пробандов с МВ, (таблица 129).

Распределение маркерных аллелей и генотипов генов *IL1RN* (VNTR),
IL4RA (rs1805010) среди больных МВ с дыхательной недостаточностью

Ген/ Полиморфизм	Генотипы /аллели	МВ	МВ	χ^2	P	χ^2	P	OR
		с ДН N	без ДН %	N	%			
<i>IL1RN</i> (VNTR)	A1A1	20	65	28	61	8,865	0,012	1,45 (0,64<OR<3,29)
	A1A2	5	16	17	36			
	A2A2	6	19	1	3			
	A1	45	73	73	79	0,610	0,435	
	A2	17	27	19	21			
<i>IL4RA</i> (rs1805010)	II	8	25	24	51	5,376	0,068	2,00 (1,00<OR<4,07)
	IV	17	53	16	34			
	VV	7	22	7	15			
	I	33	52	64	68	3,716	0,050	
	V	31	48	30	32			
	II	8	75	24	51	4,340	0,037	3,13 (1,06<OR<9,46)
	VV+IV	24	75	23	49			

Примечание: МВ- муковисцидоз, ДН – дыхательная недостаточность, N – абсолютное число наблюдаемых генотипов, p - приведено для теста χ^2 .

Существует мнение о генетической предрасположенности больных МВ к развитию синегнойной инфекции, в том числе обсуждается связь инфекции с геном *CFTR*. Поиск взаимосвязи генов-модификаторов иммунного ответа с микробиологическим статусом пациентов обнаружил ассоциацию генотипа ТТ полиморфизма rs2069705 гена *INF-G* с МВ, протекающим на фоне хронической синегнойной инфекции, (таблица 130).

Исследуемый генотип ТТ был выявлен у 53% пациентов с хронической синегнойной инфекцией против 28% больных без синегнойной инфекции (OR=2,97 (95% CI: 1,06-8,47; $\chi^2=4,360$; p=0,036)).

В результате проведенного исследования было показано, что аллель Т полиморфного варианта rs2069705 гена *INF-G* ассоциирован с хронической

инфекцией *Ps. aeruginosa* в 67% случаев, против 47% в группе пациентов без высева *Ps. aeruginosa* (OR= 2,24 (95% CI: 1,13 - 4,45; $\chi^2=5,44$; p=0,02)), (таблица 130).

Таблица 130

Распределение маркерных аллелей и генотипов генов *IL1RN* (VNTR),
INF-G (rs2069705) среди больных МВ с синегнойной инфекцией

Ген/ Полиморфизм	Генотипы / аллели	МВ и синегнойная инфекция		МВ без синегнойной инфекции		χ^2	P	OR
		N	%	N	%			
<i>IL1RN</i> (VNTR)	A1A1	28	65	20	56	-	-	1,05 (0,47<OR<2,32)
	A1A2	9	21	15	42			
	A2A2	6	14	1	2			
	A1	65	76	55	76	0,000	0,945	
	A2	31	24	17	24			
<i>INF-G</i> (rs2069705)	CC	9	20	12	33	5,414	0,067	2,24 (1,13<OR<4,45)
	TC	12	27	14	39			
	TT	24	53	10	28			
	C	30	33	38	53	5,437	0,019	
	T	60	67	34	47			
	CC+TC	21	47	26	72	4,360	0,036	
	TT	24	53	10	28			

Примечание: МВ - муковисцидоз; N - абсолютное число наблюдаемых генотипов; p - приведено для теста χ^2

Сочетание генотипов CC+CT были выявлены у 72% больных МВ без синегнойной инфекции против 47% с синегнойной инфекцией (p=0,036), в данном случае аллель С выполняет протективную роль в отношении колонизации *Ps. aeruginosa*.

Поражение гепатобилиарной системы (в виде билиарного или мультилобулярного цирроза печени) - частое осложнение при МВ. Поиск ассоциации исследуемого VNTR полиморфизма гена *IL1RN* в зависимости от

наличия у больных МВ фиброза печени показал, что носители аллеля А1 имеют риск развития фиброза больше, чем носители А2 (таблица 131).

Таблица 131

Распределение маркерных аллелей и генотипов генов *IL1RN* (VNTR),
IFN-G (rs2069705) среди больных МВ с фиброзом печени

Ген/ Полиморфизм	Генотипы/ аллели	МВ с фиброзом		МВ без фиброза		χ^2	P	OR
		N	%	N	%			
<i>IL1RN</i> (VNTR)	A1A1	48	80	0	0	36,930	-0,000	11,52 (4,65<OR<29,11)
	A1A2	9	15	15	71			
	A2A2	3	5	6	29			
	A1	96	88	15	36			
	A2	15	12	27	64	21,13	0,000	0,07 (0,02<OR<0,26)
	A1A2	9	15	15	71			
	A1A1+A2A2	51	85	6	29	6,530	0,010	7,6 (1,44<OR<44,74)
	A1A1+A1A2	57	95	15	71			
A2A2	3	5	6	29				
<i>IFN-G</i> (rs2069705)	CC	12	20	9	43	4,246	0,120	2,59 (1,18<OR<5,74)
	TC	21	35	5	24			
	TT	27	45	7	33			
	C	35	38	23	55	5,840	0,016	
	T	75	62	19	45			
	CC	12	20	9	43	3,130	0,077	3,00 (0,91<OR<10,03)
TT+TC	48	80	12	57				

Примечание: N – абсолютное число наблюдаемых генотипов, p приведено для теста χ^2

Установлено, что при отсутствии осложнений со стороны гепато-билиарной системы у пациентов с МВ доминировал аллель А2 (64% против 12% у пациентов с фиброзом) над аллелем А1 (36% против 88%), p=0,000 (таблица 131).

Следует отметить, что пациенты с генотипом А1 А1 имели высокие значения IL-1 β . Поиск ассоциации МВ, осложненного фиброзом печени, с полиморфизмом rs2069705 гена *INF-G* выявил следующее. Отмечено

преобладание аллеля Т при МВ, осложненном фиброзом печени, OR= 2,59 (95% CI: 1,18- 5,74; $\chi^2=5,840$; p=0,016), (таблица 131). Данный раздел исследования проведен совместно с Сергиенко Д.Ф. (Астраханский государственный медицинский университет).

На сегодняшний день известно, что определенную роль в формировании некрозов гепатоцитов играют иммунологические нарушения, обусловленные дисфункцией купферовских клеток, синтезирующих провоспалительные цитокины (TNF- α , IL-1 β , IL-6 и др.).

Установлены корреляционные взаимосвязи между уровнями TNF- α , INF- γ и содержанием цитолитических ферментов, морфологическими изменениями печени. В нашем случае пациенты с генотипом A1A1 VNTR полиморфизма гена *IL1RN* имели достоверно более высокие значения IL-1.

Таким образом, выявлена ассоциация МВ с полиморфизмом VNTR гена *IL1RN* (аллель A2) и полиморфизмом rs2069705 гена *INF-G* (аллель C). Генотип A1A2 VNTR полиморфизма гена *IL1RN* реже выявлялся у больных МВ, осложненным развитием ДН, (p=0,012).

Получена ассоциация сочетания генотипов VV+IV полиморфизма rs2243291 гена *IL4* (OR=3,13 (95% CI: 1,06-9,46; $\chi^2=4,340$; p=0,037)) с МВ, осложненным развитием ДН. Обнаружена ассоциация генотипа TT полиморфизма rs2069705 гена *INF-G* с МВ, протекающим на фоне хронической синегнойной инфекции. Носители аллеля A1 VNTR полиморфизма гена *IL1RN* имеют высокий риск развития фиброза печени. Отмечено преобладание аллеля Т полиморфизма rs2069705 гена *INF-G* при МВ, осложненном фиброзом печени, OR= 2,59 (95% CI: 1,18- 5,74; $\chi^2=5,840$; p=0,016).

6.4. Клинико-иммунологические и генетические особенности воспалительного процесса при муковисцидозе и целиакии

Развитие синдрома мальабсорбции, системность поражения, полиморфизм клинических проявлений характерны для таких заболеваний, как целиакия и муковисцидоз. Их объединяет ряд общих клинических проявлений в виде энтерального синдрома, хронического воспалительного процесса, сопутствующего нутритивного дефицита и задержки физического развития, развития эндокринной недостаточности со стороны поджелудочной железы в виде сахарного диабета и инсулинопотребности [48, 89, 166, 337].

Заболевания могут сочетаться, что значительно затрудняет их диагностику и лечение [333]. Однако природа общих проявлений может значительно отличаться. При МВ дефицит экзокринной функции обусловлен обструкцией протоков поджелудочной железы густым секретом, аутолизом ее ткани с последующим замещением ацинарной ткани фиброзной [89, 337, 342], при Ц поджелудочная железа поражается вторично, снижение ее функции связано с нарушением паракринной регуляции, с нарушением ее трофики, и нельзя исключить локальный аутоиммунный механизм повреждения (воспаления) [9]. Заместительная ферментная терапия при МВ носит пожизненный характер и лишь в случаях наличия «мягких» мутаций (R347P, R117H, R334W, T338I, G551S, 3849+10KbC-T) больные могут обходиться без ферментов в течение многих лет [110, 242]. При Ц терапия ферментами необходима на период выраженных клинических проявлений с явлениями вторичной относительной недостаточности панкреатических ферментов, и в дальнейшем необходимость в ней отпадает. Хронический микробно-воспалительный процесс при МВ обуславливает тяжесть течения МВ и полиорганность поражения. При Ц воспалительный процесс аутоиммунной природы чаще ограничен областью всасывания глютена.

Различия в характере воспаления при данных заболеваниях не изучались. В настоящее время во всем мире ведется активный поиск генов, оказывающих влияние на клинические проявления как МВ, так и Ц. Изучается ряд генов,

белковые продукты которых могут быть вовлечены в патогенетические механизмы воспаления, в иммунную защиту организма (в частности, генов интерлейкина 1 и его рецептора, генов интерлейкина-4 и его рецептора [328, 332].

Существует устоявшаяся точка зрения, что хронический воспалительный процесс при МВ поддерживается за счет дисбаланса про- и противовоспалительных цитокинов [121]. Роль ряда цитокинов в развитии аутоиммунного процесса при целиакии также известна [332], однако особенности воспаления требуют уточнения, как и состояние про- и противовоспалительных цитокинов. В сравнительном аспекте особенности регуляции аутоиммунного воспаления, развивающегося при Ц, и хронического воспалительного процесса при МВ, не представлены в литературе, хотя описаны случаи сочетанного течения Ц и МВ.

Нами проведено исследование ассоциаций генов-модификаторов иммунного ответа: интерлейкина 1 (*IL1B* (rs1143634)), антагониста рецептора интерлейкина 1 (*IL1RA* (VNTR)), интерлейкина 4 (*IL4* (rs2243291)), рецептора интерлейкина 4 (*IL4 RA* (rs1805010)), интерферона- γ (*IFN-G* (rs2069705)) с МВ и Ц, с клиническими проявлениями заболеваний; а также особенности цитокинового воспаления и функционального состояния Мн-Мф крови у 99 пациентов с Ц и у 82 пациентов с МВ.

При оценке функциональной активности Мн-Мф и их рецепторного аппарата у больных с МВ отмечено снижение экспрессии C_3b - и $Fc\gamma$ -рецепторов ($p < 0.001$), по сравнению со здоровыми детьми и больными Ц (таблица 132).

Воспаление при МВ характеризуется снижением экспрессии C_3b - и $Fc\gamma$ -рецепторов ($p < 0,001$) по сравнению с клетками здоровых детей, что было достоверно ниже по сравнению с их экспрессией клетками больных Ц. В тоже время суммарный показатель люминесценции (СПЛ) Мф не отличался от нормы, а в некоторых случаях (38%) превышал контрольные значения. Фагоцитарная активность Мн-Мф имела тенденцию к повышению ($p = 0,087$), что отражало реакцию на хронический инфекционный процесс.

Характеристика показателей структурного статуса и функциональной активности моноцитов-макрофагов в крови у больных с целиакией и муковисцидозом, Ме (Q₁-Q₃)

Показатели	Здоровые, (n=20)	Целиакия, (n=25)	Муковисцидоз, (n= 21)	p
Группа	1	2	3	
C _{3b} , %	21 (19-24)	9,0 (5,0-23,0)	3 (0-7)	p ₁₋₂ =0,041 p ₁₋₃ =0,001 p ₂₋₃ =0,045
Fcγ, %	13 (11-16)	8,0 (4,0-11,0)	2 (0-4)	p ₁₋₂ =0,072 p ₁₋₃ =0,001 p ₂₋₃ =0,001
СПЛ, ед	26 (12-31)	27,0 (23,0-30,0)	35 (20-49)	p ₁₋₂ =0,919 p ₁₋₃ =0,613 p ₂₋₃ =0,623
Макрофагальный фагоцитоз (ед. опт. пл.)	460 (320-510)	540,0 (440,0-620,0)	610 (420-750)	p ₁₋₂ =0,048 p ₁₋₃ =0,024 p ₂₋₃ =0,072

Примечание: p - достоверность различий при межгрупповом сравнении больных;

p_{1-2,3} – достоверность различий между группой контроля с общей группой больных Ц и МВ;

p₂₋₃ – достоверность различий между Ц и МВ

Исследование показало, что для больных с Ц было характерно высокое содержание провоспалительных цитокинов IL-1β (p=0,001), TNF-α (p=0,001) в сыворотке крови, а также повышение уровня противовоспалительных цитокинов, особенно IL-1Ra (p=0,001) по сравнению со здоровыми детьми (таблица 133). Изучение показателей цитокинового воспаления при МВ выявило высокое содержание провоспалительных цитокинов IL-1β, TNF-α по сравнению с контролем, что было характерно и для Ц. В то же время уровень TNF-α превышал его содержание при Ц (p=0,001).

Сравнительная характеристика цитокинового профиля при целиакии и муковисцидозе, Ме (Q₁-Q₃)

Показатель, пг/мл	Целиакия, (n=40)	Муковисцидоз, (n=21)	Контроль, (n=20)	P
Группа	1	2	3	4
IL-1β	247,8 (109,08-391,3)	29,64 (4,21-107,6)	6,95 (1,24-15,92)	p ₁₋₂ =0,001 p ₁₋₃ =0,001 p ₂₋₃ =0,01
TNF-α	49,03 (16,9-139,5)	77,18 (45,19-112,4)	35,38 (22,93-50,85)	p ₁₋₂ =0,001 p ₁₋₃ =0,01 p ₂₋₃ =0,001
IL-1Ra	83,49 (14,06-300,0)	2,57 (1,46-6,46)	12,72 (10,85-13,04)	p ₁₋₂ =0,001 p ₁₋₃ =0,001 p ₂₋₃ =0,001
IL-10	12,09 (0,58-214,9)	7,41 (1,77-149,3)	2,55 (0,00-11,41)	p ₁₋₂ =0,01 p ₁₋₃ =0,001 p ₂₋₃ =0,001
IL-4	4,08 (0,23-33,7)	3,9 (3,6-9,6)	0,3 (0,1-5,15)	p ₁₋₃ =0,01 p ₂₋₃ =0,001 p ₁₋₃ =0,01
INF-γ	18,15 (0,56-50,07)	17,1 (10,98-23,29)	50,87 (50,25-52,46)	p _{1-2,3} =0,01 p ₁₋₂ =0,05

Примечание: p - достоверное различие между группами

Если при Ц было отмечено высокое содержание IL-1Ra, (p=0,001) по сравнению с контрольными значениями, то при МВ отмечено снижение IL-1Ra как относительно показателей группы контроля, так и Ц. При этом в сыворотке крови у больных МВ уровень противовоспалительных цитокинов IL-10, IL-4 был ниже, так же, как и INF-γ по сравнению с пациентами с Ц (таблица 133).

Таким образом, воспаление при Ц и МВ отличается разной функциональной активностью Мф и содержанием про- и противовоспалительных цитокинов. Воспаление при Ц характеризуется высоким содержанием про- и противовоспалительных цитокинов. За счет последних происходит «нивелирование» высокого содержания провоспалительных цитокинов. При МВ активность воспаления выражена за счет дефицита противовоспалительных цитокинов, что определяет соответствующие клинические проявления. Повышение TNF- α и IL-1 β на фоне снижения противовоспалительных цитокинов: рецепторного антагониста IL-1 и IL-10, характеризует МВ. При целиакии отмечаются высокая активность цитокинов семейства IL-1: IL-1 β и IL-1Ra.

Поиск ассоциаций заболевания с аллелями изученных полиморфизмов генов у больных МВ и Ц также выявил различия, (таблица 134).

Таблица 134

Ассоциация заболевания с аллелями изученных полиморфизмов генов у больных муковисцидозом и целиакией

Муковисцидоз	P	OR
VNTR полиморфизм гена <i>IL1RN</i>		
Аллель А2	0,03	1,73 (1,05-2,86)
Полиморфизм rs2069705 гена <i>IFNG</i>		
Аллель С	0,025	1,77 (1,12-6,33)
Целиакия атипичная		
Полиморфизм rs1805010 гена <i>IL1RA</i>		
VV против остальных генотипов (II+IV)	p=0,017	5,6 (3,27-28,37)
TDT-тест		
<i>IL1B</i> (rs1143634)	TDT=5,823; p=0,016	
<i>IL4</i> (rs2243291)	TDT=12,00; p=0,001	

С развитием МВ связаны аллель А2 полиморфизма VNTR гена *IL1RN*, аллель С полиморфизма rs2069705 гена *IFN-G*. При этом обращал на себя внимание низкий уровень противовоспалительного цитокина IL-1Ra. Результаты

показали, что с развитием ЦА связан генотип VV полиморфизма rs1805010 гена *IL4RA*. Методом TDT выявлена ассоциация полиморфизма rs1143634 гена *IL1B* (TDT=5,823; p=0,01) и полиморфизма rs2243291 гена *IL4* (TDT=12,00; p=0,001).

Полученные ассоциации подтвердили, что, несмотря на общие закономерности цитокинового воспаления, при данных заболеваниях вклад генетического контроля за воспалением отличается, как и сам характер воспаления. Различия воспаления определяют разные подходы к контролю за воспалением при муковисцидозе и целиакии.

ГЛАВА VII. СТРАТЕГИЯ РЕАБИЛИТАЦИИ БОЛЬНЫХ ЦЕЛИАКИЕЙ

На этапе реабилитации пациентов с Ц нами была поставлена цель: поиск современных методов получения знаний больными о целиакии для повышения мотивации к лечению; разработка алгоритма реабилитации детей с белково – энергетическим дефицитом и задержкой роста при целиакии.

7.1. Создание «Школы управления целиакией», оценка эффективности обучения

Нами была разработана программа «Школы управления целиакией», включающая 4 занятия. Тема первого занятия: Физиология пищеварения. Целиакия, определение, причины, механизм развития и проявления заболевания. На занятии рассматривается физиология пищеварения, обсуждаются причины, механизм развития и проявления заболевания. Диагностика целиакии: проблемы и возможности – тема второго занятия. В рамках 2 занятия предлагается информация о диагностике Ц. Третье занятие: Актуальные вопросы диетотерапии. Проблема «скрытого глютена». Во время 3 занятия обсуждаются вопросы диетотерапии, проблема «скрытого глютена». Оценка эффективности терапии заболевания. Вопросы диспансеризации и реабилитации, медико-психосоциальная реабилитация больных с Ц и их семей – тема 4 занятия.

Для занятий был подготовлен наглядный материал в виде таблиц, схем, рисунков. К каждому занятию прилагаются вопросы «входного контроля», а к окончанию обучения – «выходной тестовый контроль». Кроме того, каждый раздел обучения сопровождается рекомендациями психолога, который принимал участие в работе «Школы управления целиакией». Для проведения занятий разработаны методические рекомендации для врачей (Школа управления целиакией. Методические рекомендации для врачей. Утверждено начальником Департамента здравоохранения Томской области Заюковым М.Н., 2010 г.). Для

лучшего усвоения материала разработано пособие для родителей и детей (Что нужно знать о целиакии? Информация о том как, несмотря на непереносимость злаковых, активно жить. Пособие для родителей и детей. Утверждено начальником Департамента здравоохранения Томской области Заюковым М.Н., 2010 г.).

Результаты работы «Школы управления целиакией».

В «Школе управления целиакией» прошел обучение 51 пациент. Дети школьного возраста (31 человек) обучались самостоятельно, в семьях пациентов младше 7 лет занятия посещали родители пробанда (20 детей). Для оценки эффективности работы «Школы управления целиакией» группу сравнения составили дети, не посещавшие занятия (30 детей), таблица 135. Группы были сопоставимы по возрасту, полу и форме заболевания.

Таблица 135

Характеристика групп наблюдения в оценке работы
«Школы управления целиакией», n, (%)

Признак		Посещали «Школу», (n=51)	Не посещали «Школу», (n=300)	p
		1	2	
Возраст		7,8±3,6	8,4±0,97	$p_{1-2}>0,05$
Пол	девочки	27 (53%)	18 (60%)	$p_{1-2}>0,05$
	мальчики	24 (47%)	14 (46%)	$p_{1-2}>0,05$
Целиакия типичная		36 (71%)	21 (70%)	$p_{1-2}>0,05$
Целиакия атипичная		15 (29%)	9 (30%)	$p_{1-2}>0,05$

Примечание: p – достоверность различия между группами

Динамика уровня знаний пациентов, обучающихся в «Школе управления целиакией», представлена в таблице 136.

Динамика уровня информированности о заболевании и приверженности к терапии при обучении в «Школе управления целиакией»

Обсуждаемые вопросы	Информированность (n, %.)		P
	До занятий, (n=51)	По окончании занятий, (n=51)	
Причины развития целиакии	10 (20%)	44 (86,3%)	0,001
Методы диагностики целиакии	17 (33%)	46 (90%)	0,001
Характер и причины развития осложнений	40 (78%)	6 (11,7%)	0,0001
Необходимость симптоматической терапии	13 (25%)	44 (86%)	0,0001
Критерии компенсации заболевания	10 (20%)	42 (82%)	0,0001
Необходимость контроля серологических маркеров	11 (22%)	43 (84%)	0,001
Необходимость контрольной биопсии	7 (14%)	43 (84%)	0,001
Приверженность к соблюдению строгой безглютеновой диеты	10 (20%)	47 (92%)	0,0001
Недостаточная информированность о продуктах, содержащих скрытый глютен	41 (80%)	10 (20%)	0,0001

Примечание: p - достоверность различий уровней знаний до проведения занятий и по окончании занятий

При первом тестировании было выяснено, что о причине развития заболевания информированы лишь 10 пациентов (20%), после проведения занятий

их количество возросло до 44 человек (86,3%; $p=0,001$). Осведомленность о методах диагностики Ц увеличилась с 33% (17 пациентов) до 90% (46 детей, $p=0,001$). После обучения знания о характере и причинах развития осложнений Ц имели 40 (78%) пациентов против 6 (11,7%; $p=0,0001$) человек до проведения занятий. О необходимости проведения симптоматической терапии, касающейся коррекции дефицитных состояний, знали лишь 13 (25%) человек, в процессе посещения занятий их количество увеличилось до 44 (86%; $p=0,0001$). Знаниями о критериях компенсации заболевания владели 10 (20%) человек, в динамике количество возросло до 42 (82%; $p=0,0001$) пациентов. Сведения о необходимости контроля над заболеванием по уровню серологических маркеров (в частности, уровню антител к глютену) и контрольной биопсии на фоне соблюдения БГД имели 22% (11 человек) и 14% (7 детей), соответственно, после обучения процент увеличился до 84% (43 ребенка) по обоим критериям компенсации. Несмотря на то, что все пациенты были информированы о необходимости соблюдения строгой БГД, уровень знаний о продуктах, содержащих так называемый скрытый глютен, оказался недостаточным. До обучения в «Школе управления целиакией» приверженность к соблюдению строгой БГД имели 10 (20%) детей, после – 47 (92%) пациентов. То есть, из числа опрошенных 41 (80%) пациент нарушали диету, как выяснилось, употребляли в пищу продукты, содержащие скрытый глютен, после проведения занятий - 10 (20%, $p=0,001$) человек.

С целью контроля всем больным через 6 месяцев после обучения в «Школе управления целиакией» определены антитела к глютену в сыворотке крови. Для пациентов, посещавших занятия, характерна положительная динамика значений АГА, значительно снижалась концентрация антител как АГА IgA ($p=0,009$), так и АГА IgG ($p=0,000$), (таблица 137). В группе больных, не посещавших «Школу управления целиакией», выявлено нарастание уровня АГА IgA ($p=0,053$), уровень которого при соблюдении БГД, как правило, снижается в первые 6 мес., значения АГА IgG также оставались высокими ($p=0,002$). Полученные результаты свидетельствовали о сохраняющемся иммуновоспалительном процессе в тонкой кишке, что связано, очевидно, с поступлением с пищей глютена (таблица 137).

Динамика уровня антиглиадиновых антител у пациентов, прошедших обучение в «Школе управления целиакией», Me (Q₁-Q₃)

Показатели (ед/мл)	Посещали «Школу», (n=51)	Не посещали «Школу», (n=30)	P
	1	2	
АГА А, (1 визит)	16,3 (7,3-61,8)	18,3 (5,4-27,8)	p ₁₋₂ =0,103
АГА А, (2 визит, через 6 мес.)	8,0 (3,4-15,9) p*=0,009	36,9 (6,3-56,0) p*=0,053	p ₁₋₂ =0,000
АГА G, (1 визит)	94,5 (51,4-222,7)	116,45 (72,0-203,3)	p ₁₋₂ =0,447
АГА G, (2 визит, через 6 мес.)	21,0 (6,7-72,8) p*=0,000	66,95 (27,3-80,0) p*=0,002	p ₁₋₂ =0,115

Примечание: p* – достоверность различий внутри группы пациентов в динамике наблюдения; p₁₋₂ - достоверность различий показателей между группами пациентов, посещавшими и не посещавшими «Школу целиакии»

Через 6 месяцев пациентам, не посещавшим «Школу управления целиакией», были проведены дополнительные занятия. Через 1 год наблюдения пациентам с Ц, у которых показатели АГА находились в пределах референтных значений, проводилась ФГДС и выполнялась биопсия. Морфометрическое исследование показало восстановление СОТК в группе больных, посещавших занятия. В группе пациентов, не прошедших обучение в начале наблюдения, сохранялись морфологические признаки заболевания (таблица 138). Таким образом, если в лечебном процессе уделялось достаточное внимание медицинскому просвещению пациентов, увеличивалась их информированность о Ц, что в свою очередь позволило улучшить контроль за течением заболевания.

Характеристика морфометрических показателей у пациентов, прошедших обучение в «Школе управления целиакией», Me (Q₁-Q₃)

Показатель	Дети, прошедшие обучение, 1 визит, (n=51)	Дети, прошедшие обучение, через 1 год, (n=51)	Дети, не прошедшие обучение, 1 визит, (n=30)	Дети, не прошедшие обучение через 1 год, (n=30)	p
	1	2	3	4	
Толщина СОТК (мкм)	491,0 (450,0-520,0)	617,5 (595,0-630,0)	480,0 (449,0-500,0)	523,0 (500,0-555,0)	p ₁₋₂ =0,0001 p ₃₋₄ =0,548 p ₂₋₄ =0,0001
Высота ворсинок (мкм)	145,0 (120,0-157,0)	515,5 (507,0-550,0)	124,0 (116,0-140,0)	150,0 (140,0-180,0)	p ₁₋₂ =0,0001 p ₃₋₄ =0,263 p ₂₋₄ =0,0001
Глубина крипт (мкм)	358,0 (306,0-380,0)	100,0 (80,0-111,0)	355,0 (326,0-370,0)	316,0 (300,0-340,0)	p ₁₋₂ =0,0001 p ₃₋₄ =0,332 p ₂₋₄ =0,0001
МЭЛ (%)	60,0 (52,0-75,0)	18,0 (17,0-38,0)	61,0 (51,0-67,0)	55,0 (44,0-66,0)	p ₁₋₂ =0,0001 p ₃₋₄ =0,430 p ₂₋₄ =0,0001
Соотношение ворсинка/крипта	0,404 (0,355-0,475)	2,33 (1,58-2,37)	0,367 (0,305-0,388)	0,430 (0,360-0,440)	p ₁₋₂ =0,0001 p ₃₋₄ =0,160 p ₂₋₄ =0,0001

Примечание: p₁₋₂ - достоверность различий показателей в группе пациентов, прошедших обучение в «Школе» при 1 визите и через 1 год; p₂₋₄ - достоверность различий показателей между детьми, прошедших и не прошедших обучение в «Школе», p₃₋₄ - достоверность показателей в группе пациентов, не прошедших обучение в «Школе» при 1 визите и через 1 год

7.2. Алгоритм коррекции белково-энергетического дефицита и задержки роста при целиакии у детей

Частота выявляемых дефицитных состояний, в том числе дефицита массы тела, требует адекватной нутритивной поддержки пациента. В нашем исследовании белково-энергетический дефицит при диагностике Ц имели 64% больных, задержку роста (ниже 5-го перцентиля) - 45% пациентов. Особую группу составляют дети со ЗВУР, среди детей с Ц доля детей со ЗВУР в анамнезе составила 17,1%. Ассоциация Ц с инвазией *H. pylori* (55,5%), лямблиозом (34,3%) также сопровождалась нутритивным дефицитом. Диспансеризация и реабилитация данного контингента детей должны носить дифференцированный характер. В связи с этим был разработан алгоритм обследования и терапии детей с дефицитом массы тела и роста (рисунок 14).

7.2.1. Опыт применения специализированной смеси для детей с нутритивным дефицитом

Применение элементных или модульных смесей является перспективным при нутритивной недостаточности [162]. На первом этапе оценивали эффективность коррекции нутритивного статуса больных Ц с помощью дополнительного энтерального питания (смесь «Нутризон») на фоне БГД. Смесь «Нутризон» (Нутриция, Голландия) принимали 22 ребенка, в возрасте от 2 до 14 лет (средний возраст – 6 лет). Группу сравнения составили 14 детей, сопоставимые по возрасту, которые получали стандартную терапию (БГД, дополнительное питание и панкреатические ферменты без применения специализированных смесей для нутритивной поддержки). Критериями включения в исследование были: масса тела ниже 5 перцентили, наличие БЭН, а для назначения энтерального питания – отсутствие прибавок массы тела в течение последних 6 месяцев. Группы были сопоставимы по выраженности БЭН (1-2 ст.).

В качестве энтерального питания применялась сухая сбалансированная безлактозная смесь «Нутризон». Выбор смеси определялся ее составом. Протеины в смеси представлены молочным белком (100% казеин), содержание энергии – 4.62 ккал/1 г сухой смеси. Использовали стандартное (изокалорическое) разведение смеси (1 ккал/1 мл), к 21,5 г сухой смеси добавлялось 90 мл воды. В состав смеси входят незаменимые аминокислоты, содержатся только растительные жиры, незаменимые жирные кислоты, соотношение жирных кислот омега 6/омега 3 составляет 5/1. Углеводы представлены мальтодекстрином, глюкозой.

Смесь «Нутризон» назначали в зависимости от возраста: детям 2-5 лет 100,0 мл в сутки, пациентам старше 5 лет 200,0 мл в сутки; продолжительность курса составила 1 месяц. Кроме того, все пациенты получали курсы энерготропной (левокарнитин (элькар 20% раствор для приема внутрь)) в течение 1 месяца, ферментной терапии (панкреатин (креон 10 000 ЕД)) в возрастной дозировке. Продолжительность курсов ферментной терапии определялась индивидуально (в частности, у пациентов с Ц, в анамнезе которых было указание на ЗВУР) и составляла от 1 до 3 месяцев. Оценка эффективности терапии проводилась через 3 и 6 месяцев. Динамика массо-ростовых показателей в группах наблюдения была следующей (таблица 139).

Скорость роста у детей, принимающих смесь «Нутризон», за 3 месяца составила 3 см (Ме) (Q_1 -1, 0 см; Q_3 -6 см), прибавка в массе - 1750 гр. (Ме) (Q_1 -500 гр.; Q_3 -2000 гр.). Через 6 месяцев зарегистрировано увеличение роста на 7 см (Ме) (Q_1 -4, 0 см; Q_3 -10 см), массы на 3000 гр. (Ме) (Q_1 -1000 гр.; Q_3 -5000 гр.). Скорость роста у детей, не получавших нутритивную поддержку смесью «Нутризон», статистически значимо не отличалась от значений в группе с нутритивной поддержкой. Прибавки в массе были достоверно выше в группе детей, получавших смесь «Нутризон», в динамике наблюдения (через 3 мес., 6 мес., 1 год; $p=0,041$; $p=0,027$; $p=0,004$, соответственно).

Динамика массо-ростовых показателей у больных целиакией на фоне стандартной терапии и нутритивной поддержки, Me (Q₁-Q₃)

Показатели	СТ, (n=14)			СТ+НП, (n=22)		
	3 мес.	6 мес.	1 год	3 мес.	6 мес.	1 год
Группа	1	2	3	4	5	6
Скорость роста, см	2,0 (1,0-4,0)	5,0 (3,0-8,0)	8,0 (4,0-10,0)	3 (1,0-6,0)	7,0 (4,0-10)	10,0 (7,0-15,0)
Прибавка в массе, кг	0,9 (0,3-1,4)	1,8 (0,75-3,0)	3,0 (1,27-3,5)	1,75 (0,5-2,0) p ₂₋₅ =0,041	3,0 (1,0-5,0) p ₂₋₅ =0,027	5,7 (2,3-7,5) p ₃₋₆ =0,004

Примечание: СТ – стандартная терапия; НП – нутритивная поддержка; p - достоверность различий показателей между группами пациентов, находящимися на СТ и НП

Следующим этапом исследования эффективности применения специализированной смеси явилось определение содержания кальция (Ca) и 5 микроэлементов: хрома (Cr), железа (Fe), кобальта (Co), цинка (Zn), селена (Se), в сыворотке крови. В группе больных Ц (22 человека) выявлено исходно низкое содержание кальция, железа, хрома и кобальта, что связано с синдромом мальабсорбции (таблица 140). На фоне приема смеси «Нутризон» наблюдалась нормализация содержания кальция в сыворотке крови (p=0,0127). Уровень хрома в динамике лечения увеличивался (p=0,1644) и приближался к значениям группы контроля (p=0,0001). Низкое содержание железа среди наблюдаемых пациентов (p=0,0001) не изменялось на фоне приема смеси «Нутризон», (p=0,5568). Анемия имела место у 67% детей и корригировалась назначением препаратов железа. Для пациентов с Ц характерен низкий уровень кобальта (p=0,0386), по сравнению с группой контроля.

Содержание элементов в сыворотке крови у детей на фоне нутритивной поддержки, Me (Q₁-Q₃)

Элемент, мг/кг	До лечения, (n=22)	После лечения, (n=22)	Контрольная группа, (n=68) [Барановская Н.В., 2008] (мг/кг)* [140]	P
	1	2	3	
Ca	38,64 (35,0-43,0)	55,00 (55,0-55,0)	68,5±0,38	p ₁₋₂ =0,0127 p ₁₋₃ =0,0019
Cr	0,20 (0,20-0,20)	1,35 (0,20-2,1)	1,07±0,4	p ₁₋₂ =0,1644 p ₁₋₃ =0,0001
Fe	2381,81 (2100,0-2500,0)	2463,63 (2400,0-2600,0)	3280±127	p ₁₋₂ =0,5568 p _{1, 2-3} =0,0001
Co	0,033 (0,014-0,05)	0,04 (0,013-0,07)	0,046±0,004	p ₁₋₂ =0,6988 p ₁₋₃ =0,0001 p ₂₋₃ =0,0386
Zn	29,24 (20,6-30,0)	32,82 (23,5-40,6)	16,2±1,1	p ₁₋₂ =0,4900 p _{1, 2-3} =0,0001
Se	1,60 (1,4-1,8)	1,60 (1,5-2,0)	0,6±0,02	p ₁₋₂ =0,2734 p _{1, 2-3} =0,0026

Примечание: * - исследование проводилось в условно чистом районе г. Томска; p - достоверность различий между группами; p₁₋₂ - достоверность различий между пациентами до и после проведения терапии; p_{1, 2-3} - достоверность различий между пациентами до и после проведения терапии по сравнению с контрольной группой; p₁₋₃ - достоверность различий между пациентами до проведения терапии по сравнению с контрольной группой

Уровень цинка достоверно не изменялся на фоне терапии (p=0,49), хотя значения превосходили таковые в контрольной группе (p=0,0001). Концентрация

селена была высокой среди обследуемых ($p=0,0026$) и не изменялась в динамике лечения ($p=0,2734$), (таблица 140).

Высокий уровень цинка и селена в сравнении с нормами объясняется очевидно особенностями территории проживания. Известно, что в отдельных районах промышленных городов формируются особые геоэкологические зоны с высоким уровнем определенных микроэлементов в почве. Так, для г. Томска зарегистрировано повышение уровня цинка и селена [140].

Сравнение показателей про- и противовоспалительных цитокинов, а также гуморального звена иммунитета у детей до и после назначения дополнительного энтерального питания смесью «Нутризон» выявило снижение концентрации провоспалительных цитокинов IL-1 β , TNF- α ($p=0,0001$ и $p=0,0106$) и IL-4 на фоне увеличения содержания противовоспалительного IL-10 ($p=0,005$). В динамике наблюдения отмечена нормализация показателей гуморального звена иммунитета, в частности IgA и IgG ($p=0,0001$), (таблица 141).

Таблица 141

Характеристика цитокинового статуса и гуморального звена иммунитета у детей с целиакией, находившихся на нутритивной поддержке и стандартной терапии, Me (Q_1 - Q_3)

Показатель, пг/ мл	До НП, (n=12)	После НП, (n=12)	До СТ, (n=14)	После СТ, (n=14)
IL-1 β	212,49 (77,29-284,3)	15,64 (0,19-41,07) $p_{1-2}=0,0001$	199,35 (55,51-391,93)	21,56 (0,38-57,97) $p_{3-4}=0,0001$
TNF- α	41,47 (16,1-223,34)	15,88 (0,54-26,7) $p_{1-2}=0,002$	46,84 (18,90-187,02)	17,08 (0,45-63,34) $p_{3-4}=0,048$
INF- γ	15,3 (3,15-31,1)	6,9 (0,11-10,55) $p_{1-2}=0,043$	17,82 (0,34-35,7)	7,34 (0,04-15,98) $p_{3-4}=0,021$
IL-4	4,9 (0,18-32,13)	0,17 (0,12-17,3)	20,00 (0,20-37,55)	0,45 (0,23-19,63)

Продолжение таблицы 141

		$p_{1-2}=0,0027$		$p_{3-4}=0,001$
IL-1Ra	94,47 (2,4-331,9)	11,16 (0,24-56,3) $p_{1-2}=0,062$	85,90 (1,59-379,0)	14,36 (0,20-77,39) $p_{3-4}=0,001$
IL-10	16,93 (0,88-252,0)	100,09 (75,0-716,8) $p_{1-2}=0,0053$	10,53 (3,04-237,9)	225,55 (68,77-646,7) $p_{3-4}=0,001$
Ig A (г/л)	0,72 (0,49-0,91)	1,28 (1,11-1,49) $p_{1-2}=0,01$	0,56 (0,34-0,87)	1,11 (0,98-1,63) $p_{3-4}=0,01$
Ig G (г/л)	6,46 (5,16-7,71)	10,12 (9,82-10,35) $p_{1-2}=0,01$	7,76 (4,43-9,33)	10,65 (8,77-11,18) $p_{3-4}=0,33$
IgM (г/л)	1,35 (1,08-1,56)	1,27 (1,12-1,39) $p_{1-2}=0,4169$	1,25 (1,14-1,25)	1,14 (1,08-1,47) $p_{3-4}=0,57$

Примечание: НП – нутритивная поддержка; СТ – стандартная терапия; p – достоверность различий между группами; p_{1-2} – достоверность различий показателей до и после назначения НП; p_{3-4} – достоверность различий показателей до и на фоне СТ

Полученные данные, очевидно, связаны с присутствием в составе смеси «Нутризон» незаменимых полиненасыщенных (омега-3, омега-6) жирных кислот и каротиноидов. Известны эффекты метаболитов омега-3 незаменимых полиненасыщенных жирных кислот в иммунно–воспалительном ответе, в частности, их влияние на уровень противовоспалительного цитокина IL-10 [58]. Исследователи отмечают роль омега-3 ПНЖК в поддержании нормального роста детей [97, 162]. Каротиноиды оказывают антиоксидантный эффект. Различные диетические компоненты, включая длинноцепочечные омега-3 жирные кислоты, растительные флавоноиды, каротиноиды, могут модулировать окислительный стресс, экспрессию генов и продуцирование воспалительных медиаторов. Однако при сопоставлении показателей цитокинового статуса в зависимости от вида

лечения (нутритивная поддержка и стандартная терапия) достоверных отличий не получено, таблица 141. В целом, терапия больных Ц с нутритивным дефицитом с использованием специализированных продуктов для энтерального питания более эффективна, чем стандартная терапия в течение 1 месяца. Перспективным является пролонгированное применение нутритивной поддержки.

7.2.2. Тактика ведения детей с сохраняющимся нутритивным дефицитом на фоне стандартной терапии

В процессе наблюдения за пациентами обозначилась категория детей: 36 (36,3%) из 99 больных Ц, с неудовлетворительным ответом на терапию в течение 6-12 месяцев, у которых на фоне купирования энтерального синдрома сохранялись низкие массо-ростовые прибавки, а также повышенный уровень АГА. При отсутствии эффекта пациентам рекомендовали обследование для исключения инвазии *H. pylori* и лямблиями.

При наличии инвазии проводили этиотропное лечение. Для эрадикации *H. pylori* инфекции применялась трехкомпонентная схема (клацид, амоксициллин, нифуратель (макмирор)), в лечении лямблиоза назначался нифуратель из расчета 15 мг/кг в сутки, курсом 7 дней.

При отсутствии инвазии назначали ретаболил. Инъекции ретаболила (№ 2-3) в возрастной дозировке 1 раз в месяц получали 12 пациентов с Ц в возрасте от 1 года 11 месяцев до 5 лет. Критерии включения пациентов для терапии ретаболилом: рост и масса тела ниже 5 перцентили, недостаточное влияние диеты и дополнительного энтерального питания на нутритивный статус (отсутствие прибавок массы тела в течение последних 3-6 месяцев и скорость роста менее 2,5-3 см в год), задержка костного возраста более 2 лет. Длительность наблюдения составила 6 месяцев.

Эффективность оценивалась по скорости увеличения роста и массы через 3-6 месяцев после начала терапии, уровню цитокинов и элементного состава крови больных Ц. Скорость роста в течение 6 месяцев составила 5 см (Me) (Q_1 -1,5 см,

Q₃-10 см), прибавка массы - 1700 гр. (Me) (Q₁-700 гр., Q₃-2200 гр.). В динамике наблюдения зарегистрировано уменьшение активности уровня АГА: (АГА А 16,45 (Q₁-6,65; Q₃-33,6) ед/мл; АГА G 103,4 (Q₁-67,9; Q₃-224,45) ед/мл и в динамике (АГА А 8,0 (Q₁-3,3; Q₃-30,3) ед/мл; АГА G 45,5 (Q₁-14,0; Q₃-77,8) ед/мл, при норме до 40 ед/мл (p=0,02 и p=0,001, соответственно).

При отсутствии эффекта от лечения (СТ, дополнительного энтерального питания и ретаболила) проводили пробу для исключения соматотропной недостаточности. Показанием для пробы были клинические рекомендации [36]. Из 99 пациентов, находившихся под наблюдением в период 2003-2010 г.г., соматотропная недостаточность диагностирована у 3 детей (3%). В нашем исследовании в одном случае Ц была ассоциирована с СД 1 типа, во втором - с болезнью Крона [179]. Всем детям были назначены современные препараты гормона роста согласно рекомендациям и получен клинический эффект.

Резюме

Внедрение «Школы управления целиакией» позволяет уже в течение 1 года получить медицинскую эффективность этой формы профилактической деятельности. Диспансеризация детей с Ц на фоне белково-энергетического дефицита и задержки роста требует дифференцированного подхода к диагностическим и реабилитационным мероприятиям. Назначение дополнительной нутритивной поддержки и коротких курсов ретаболила положительно влияет на нутритивный статус больных Ц и их рост. Предложенный алгоритм обследования и терапии детей с Ц с дефицитом массы тела и роста даст возможность оптимизировать подходы к лечению пациентов с целиакией.

ГЛАВА VIII. ОБСУЖДЕНИЕ

Целиакия - хроническая генетически детерминированная аутоиммунная Т-клеточно опосредованная энтеропатия, характеризующаяся стойкой непереносимостью специфических белков эндосперма зерна некоторых злаковых культур с развитием атрофической энтеропатии и связанного с ней синдрома мальабсорбции [11]. Распространенность Ц колеблется в пределах 0,5-1% в общей популяции населения, о чем свидетельствуют проведенные эпидемиологические исследования в Европе и США [211, 212]. Родственники 1 степени родства пробанда с Ц составляют особую группу риска по развитию данного заболевания.

Целиакия в большинстве случаев манифестирует в раннем возрасте, сопровождается развитием дефицитных состояний [127, 166, 250]. Трудности диагностики заболевания определяются его клиническим полиморфизмом, системностью поражения, а также неясностью некоторых деталей патогенеза [231, 237, 274]. При Ц повышен риск развития ассоциированных с ней аутоиммунных заболеваний, таких, как СД 1 типа, АИТ, склеродермия, ревматоидный артрит, аутоиммунный гепатит [30, 114, 331, 332]. Гистологический метод остается «золотым стандартом» в диагностике Ц [11, 43, 285], несмотря на предложенные новые методологические подходы [256].

Доказана связь Ц с HLA-антигенами класса II, в частности с локусом DQ. Генотип HLA-DQ2 в Северной Европе выявляется почти у 95% пациентов с Ц, остальные пациенты имеют HLA-DQ8 [137, 256]. Исследование антигенов HLA класса II имеет важное значение при обследовании, но география изучения распространенности генетически маркеров Ц в России ограничена [21; 59, 72, 103, 117]. В настоящее время перспективным направлением в современной молекулярной генетике заболеваний является поиск полиморфных маркеров в генах-кандидатах и выявление их ассоциации с наследственными заболеваниями.

Основной метод лечения Ц и профилактики возникновения осложнений в течение заболевания сводится к соблюдению строгой пожизненной БГД [9, 40, 98, 125]. Однако отсутствие компенсации заболевания на фоне длительного

соблюдения БГД требует анализа вклада сопутствующей патологии на течение Ц, в частности таких, как хеликобактерная инфекция, лямблиоз. Данный раздел не освещен в литературе, не разработаны варианты нутритивной поддержки, обучение больных. Особую роль в ведении больных с Ц занимают образовательные программы. Потребность в безглютеновых продуктах, а также распространенность заболевания, характеристику ее осложнений, потребность в лекарственных препаратах можно обосновать, просчитать при наличии регистра больных Ц.

Заболевания, протекающие с синдромом мальабсорбции, такие, как целиакия и муковисцидоз, приобретают в последние годы медико-социальную значимость. Для обоих заболеваний характерна наследственная предрасположенность, дефицитные состояния, наличие хронического воспалительного процесса [89, 166]. Для разделения вклада каждого из генов регуляторов иммунного воспаления в состояние организма возникает необходимость ранней дифференциальной диагностики.

Исходя из изложенного, учитывая последние достижения генетики и смежных с ней областей медицинской науки, представляется актуальным изучение целиакии с учетом вклада генетических факторов и воздействия окружающей среды.

В связи с этим целью нашего исследования явилось изучение клинико-генетической и иммуно-морфологической характеристик целиакии у детей, для разработки критериев диагностики, прогноза заболевания и стратегии реабилитации больных.

В соответствии с поставленной целью нами было обследовано 99 пациентов с целиакией г. Томска и Томской области (65 детей - с типичной формой заболевания, 34 – с атипичной формой целиакии), средний возраст детей составил $8,59 \pm 0,59$ лет (мальчиков - 50, девочек - 49), и их родственников 1 степени родства в 99 семьях. Общее количество родственников составило 640 человек: родственники 1 поколения - 244 человека, 2 поколения - 370 человек. В рамках экспедиционного гранта РФФИ № 10-04-10126-к «Организация и проведение

экспедиционных работ в Краснодарском крае» (2010 г.) обследовано 32 больных с целиакией Краснодарского края.

В работе методы исследования были объединены в соответствующие блоки: клинический, биохимический, иммунологический, генетический. На первом этапе исследования проводилось комплексное обследование пробанда с Ц, родителей и здоровых сибсов, изучение родословных. На последующих этапах осуществлялась оценка наследуемости цитокинового статуса, поиск полиморфных маркеров в генах-кандидатах и оценка их ассоциации с целиакией, осложнениями заболевания и количественными признаками.

Клинический блок основывался на обследовании пробанда с Ц и родственников 1 степени родства с использованием скрининговых методов исследования. Морфологические методы исследования включали выполнение фиброгастродуоденоскопии для получения фрагментов СОТК с последующим проведением морфометрии, а также диагностики хеликобактерной инфекции.

Иммунологический блок состоял из методов определения уровня антиглиадиновых антител (АГА класса IgA, АГА класса IgG), оценки гуморального иммунитета (концентрации сывороточных иммуноглобулинов IgA, IgG, IgM), показателей цитокинового статуса (IL-1, IL-1Ra, IL-10, IL-4, IFN- γ , TNF- α) и исследования структурно-функционального статуса моноцитов-макрофагов в сыворотке крови.

Биохимический блок включал определение содержания элементного состава крови: кальция (Ca), хрома (Cr), железа (Fe), кобальта (Co), цинка (Zn), селена (Se) в сыворотке крови (полученные данные использовались для оценки эффективности реабилитационных мероприятий), также показателей ремоделирования костной ткани в сыворотке крови (общая щелочная фосфатаза, костная щелочная фосфатаза, общая кислая фосфатаза, тартрат резистентная кислая фосфатаза, кальций, фосфор, креатинин, остеокальцин, С-телопептиды), и моче (кальций, фосфор).

Генетический блок исследования был основан на использовании метода родословных; изучении наследуемости количественных признаков на основе

внутрисемейного корреляционного анализа; выделении ДНК и амплификации участков генов-модификаторов иммунного ответа *IL1B* (rs1143634), *IL1RN* (VNTR), *IL4* (rs2243291), *IL4RA* (rs1805010), *VDR* (rs2228570, rs144410) и HLA-системы у пробандов с Ц и родственников 1 степени родства (локусы *DQA1*, *DQB1*, *DRB1*) с помощью ПЦР.

Диагноз Ц устанавливали согласно критериев ESPGHAN (1990) и «Рабочего протокола диагностики и лечения целиакии у детей», принятого на XI Конгрессе детских гастроэнтерологов России в 2004 г. (координатор проекта профессор Бельмер С.В.) [11].

Использовались различные дизайны исследования в зависимости от поставленных задач.

Эпидемиологический блок состоял из базы данных 99 детей томского региона и 32 больных Краснодарского края, внесенных в регистр больных Ц (регистрационный номер свидетельства о государственной регистрации программы для ЭВМ «Регистр целиакия», сертификат № 2009615739; свидетельство о государственной регистрации базы данных «Регистр целиакия», сертификат № 2009620392).

Распространенность верифицированного диагноза целиакии среди детей Томской области составила 49,98 на 100 000 детского населения (1:2000) на 01.01.2011 г. В 2008 г. данный показатель был 40,83 на 100 000 детского населения (1:2450). Распространенность заболевания среди детей г. Томска оказалась выше (54,12:100 000), чем для сельской местности (35,56:100 000). В группе детей от 5 до 9 лет (52,09 на 100 000) заболевание, как и среди подростков (69,32 на 100 000 подростков), регистрировалось чаще. В первом случае показатель отражает, очевидно, позднюю диагностику заболевания, во втором случае, возможно, связан с численностью населения данной возрастной группы.

В работе использовались и данные регистра больных Ц Краснодарского края. Распространенность верифицированного диагноза целиакии в Краснодарском крае составила 7,4 на 100 000 (1:13500) детского населения, что значительно ниже европейских показателей. Проведенные популяционные

исследования во многих странах показали высокую частоту Ц, которая в настоящее время составляет в среднем по Европе 1:200–1:300 [250]. В США частота Ц среди взрослых 1:111, в детской популяции 1:167 [245]. На сегодняшний день Ц достаточно часто регистрируется в странах Азии, Африки и Латинской Америки [180, 191, 194]. В российских популяциях и странах ближнего зарубежья распространенность Ц находится в стадии изучения, в частности, в Казахстане она составляет 1:268 человек [174], в Республика Саха, г. Якутск – 1: 893 [134] (таблица 142).

Таблица 142

Распространенность целиакии по данным сероэпидемиологических исследований в регионах России и странах ближнего зарубежья

Страна / Регион	Распространенность
Казахстан [Шарипова М.Н., 2008]	1:268 (дети);
Узбекистан, Ташкентский регион [Камилова А.Т., 2006]	1:366 (дети)
Россия, Рязань [Стройкова М.В., 2007]	1:85 дети (1,56%) 1:39 взрослые (2,6%)
Россия, Нижегородская область [Репин А.А и др., 2008]	1:133 (0,75%) 1:7,6 (взрослые группы риска)
Россия, г. Челябинск [Турчина В.Н., Табак Т.А., 2004]	1:6000
Россия, Свердловская область [Климин В.Г., Малямова Л.Н., Чередниченко А.М. с соавт., 2009]	0,3 % 3:1000
Россия, Архангельская область [Смирнова Г.П., 2005]	1:5000
Республика Саха (Якутия), г. Якутск [Саввина А. Д., 2009]	1:893
Россия, Томская область [собственные данные, 2011]	49,98:100 000 (дети), или 1:2000 Группы риска сибсы 1:6
Россия, Краснодарский край [собственные данные, 2010]	7,4:100 000 (дети), или 1:13500

В популяции детей Томской области, Краснодарского края высокой распространенности верифицированного диагноза Ц не зарегистрировано по

сравнению с европейскими странами, США, странами ближнего зарубежья, что можно объяснить, с одной стороны, особенностью популяции, с другой – недостаточной осведомленностью врачей о данной патологии. В городской черте заболевание выявлялось чаще, что связано, очевидно, и с диагностическими возможностями, и с уровнем осведомленности врачей. Тем не менее, полученная частота согласуется с данными ряда регионов РФ, как Свердловская и Архангельская области, что может свидетельствовать об особенностях российской популяции.

Таким образом, в настоящее время данные эпидемиологических исследований указывают на значительную распространенность Ц, что предполагает активное внедрение новых подходов к диагностике и лечению. Оценить распространенность Ц в России возможно после проведения скрининговых популяционных исследований. Важную роль в изучении распространенности заболевания, а также в планировании финансовых расходов на приобретение лекарственных средств и лечебного питания (безглютеновых хлебо-булочных изделий и др.) должен сыграть регистр больных целиакией. Внедрение регистра больных целиакией позволит сравнивать все параметры с другими регионами страны.

Особенности клинических проявлений Ц у детей были следующие: из 99 больных с Ц в 65,7% случаев была диагностирована ЦТ, соотношение ЦТ: ЦА составило 2:1. Соотношение диагностированных случаев целиакии к не диагностированным случаям выглядит, как 1:5 – 1:13 [212]. Полученные нами данные свидетельствуют как о гиподиагностике атипичных форм Ц, так и об особенностях изучаемой популяции. Выявлено, что диагностика ЦА осуществлялась позже ЦТ в среднем на 2 года ($7,81 \pm 0,88$ лет против $9,72 \pm 0,95$ лет). Это связано, с одной стороны, с многообразием клинических проявлений болезни, с другой - меньшей настороженностью врачей на возможность начала проявлений болезни и в старшем возрасте [109, 239].

В нашей выборке больных соотношение мальчиков и девочек было 1:1 (мальчиков 49, девочек 50). Средний возраст больных Ц на момент обследования

составил $8,59 \pm 0,59$ лет. Следует отметить, что средний возраст диагностики заболевания в общей группе больных Ц ($6,58 \pm 0,52$ лет), ($p=0,028$), свидетельствует о поздней диагностике Ц; возраст мальчиков на момент обследования и на момент постановки диагноза превышал возраст девочек ($9,96 \pm 0,80$ лет, ($p=0,012$) и $7,58 \pm 0,72$ лет, ($p=0,036$) и $7,26 \pm 0,76$ лет и $5,40 \pm 0,70$ лет, соответственно), в среднем на 2 года. Возможно, на диагностике сказывается то, что мальчики позднее вступают в пубертатный период, следовательно, и манифестация дефицитных состояний (в частности, ЗФР) проявляется позже.

Большинство пациентов с Ц (73 человека (74%)) находились на грудном вскармливании, оно было более продолжительным (в абсолютных цифрах) в группе пациентов с ЦА: $7,07 \pm 0,86$ мес. против $6,2 \pm 0,72$ мес. при ЦТ. Возможно, атипичная симптоматика болезни развивается у детей, длительно находящихся на грудном вскармливании, за счет протективной роли защитных факторов грудного молока на состояние местного иммунитета СОТК.

Заболевание чаще диагностировалось у детей с типичным симптомокомплексом болезни в возрастной группе до 3 лет и от 7 до 16 лет ($p=0,002$; $p=0,02$, соответственно). Это объясняется тем, что Ц чаще всего манифестирует в раннем возрасте в виде энтерального синдрома и развитием вследствие его дефицита массы тела, а в возрасте 7-16 лет, очевидно, в силу развития дефицитных состояний и /или осложнений, которые сопровождают течение заболевания.

Анализ особенностей перинатального периода больных Ц и манифестации заболевания выявил, что дети с ЦТ чаще имели такое осложнение в перинатальном периоде, как угроза прерывания беременности во 2-ой половине ($p=0,035$), возможно, это способствовало рождению детей с симптомокомплексом ЗВУР, (рисунок 12). Перинатальная энцефалопатия чаще отмечена у пациентов с ЦА ($p=0,003$).

Выявлено, что ЗВУР в 2 раза чаще встречалась среди пациентов с ЦТ (71% с ЦТ и 29% с ЦА). У детей, имевших в анамнезе указание на ЗВУР, Ц манифестировала в более ранние сроки ($p=0,004$), что, возможно, связано с

повышенной проницаемостью СОТК для белковых молекул, несостоятельностью ферментных систем, сниженными компенсаторными возможностями организма. Следовательно, детей, имеющих указание на ЗВУР в анамнезе, можно рассматривать как группу риска по развитию ЦТ, и при наличии у пациентов клинических симптомов Ц, таких, как энтеральный симптом или дефицитные состояния, необходимо проводить серологическую диагностику заболевания.

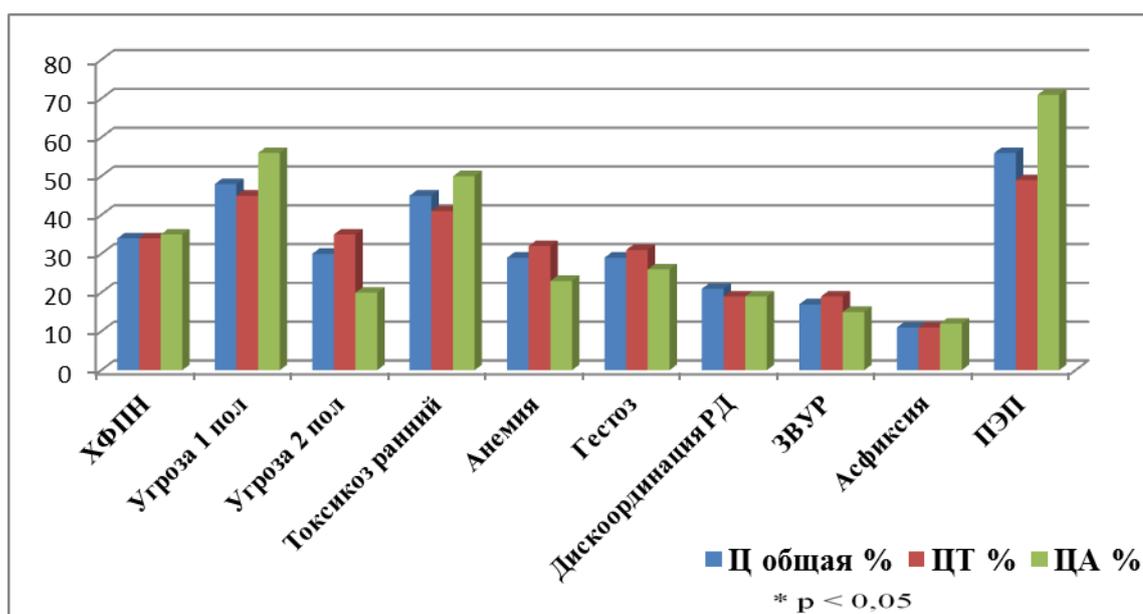


Рисунок 12. Особенности перинатального периода детей с целиакией n, (%)

Это важная составляющая в диагностике заболевания, так как поздняя постановка диагноза заболевания, отсутствие целенаправленного поиска в группах риска влияет на течение Ц, способствует развитию осложнений [38, 113, 178].

В последующем было обследовано 17 детей с Ц (из них 12 - с ЦТ и 5 - с ЦА), имеющих указание на ЗВУР в анамнезе, среди них 6 мальчиков и 11 девочек. При анализе особенностей течения Ц среди детей, рожденных с ЗВУР, отмечено, что продолжительность естественного вскармливания была статистически значимо короче ($p=0,05$), заболевание манифестировало в более ранние сроки ($p=0,004$), и постановка диагноза ($p=0,05$) осуществлялась раньше по сравнению с общей группой. Полученные данные объясняются выраженностью клинических

симптомов и развитием дефицитных состояний в раннем возрасте. Такие заболевания, как лактазная недостаточность (88% против 19%), пищевая аллергия (71% против 18%), рахит (71% против 15%), анемия (71% против 28%), чаще регистрировались в группе детей с ЗВУР. Наследование патологических гаплотипов и аллелей HLA-системы (DQA1*501*201), отвечающих за предрасположенность к заболеванию, выявлено у всех пациентов с ЗВУР.

Уровень как провоспалительных цитокинов (TNF- α , (p=0,020), IL-1 β (p=0,031)), так и противовоспалительных цитокинов (IL-1Ra (p=0,004), IL-10 (p=0,009)), был выше у пациентов, имеющих в анамнезе ЗВУР. Содержание сывороточного IgA у пациентов с Ц, в анамнезе которых есть указание на ЗВУР, было снижено по сравнению с общей группой больных (1,15 \pm 0,14 г/л против 0,57 \pm 0,08 г/л, p=0,048, соответственно). Морфометрические показатели пациентов (n=17) анализируемой группы не отличались от больных, не имевших ЗВУР в анамнезе.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что дети с Ц, в анамнезе которых есть указание на ЗВУР, имеют фенотипические и иммуногенетические особенности (рисунок 13).



Рисунок 13. Характеристика больных с целиакией, имеющих ЗВУР в анамнезе

Очевидно, что отягощенный преморбидный фон вносит свой вклад в задержку становления иммунной системы, в дисбаланс выработки про- и

противовоспалительных цитокинов, способствуя ранней манифестации заболевания и определяя фенотипические и иммуногенетические особенности Ц у детей, рожденных со ЗВУР [70].

Клиническая картина Ц очень разнообразна, что позволяет многим авторам называть ее «Великий Мим» [237]. Анализ диспепсических жалоб у 99 детей с Ц показал, что в 65,7% случаев начало заболевания было типичным. Снижение аппетита (43 (64,2%) против 24 (35,8%), $p=0,0001$), рвота (10 (15%) против 2 (6%), $p=0,005$), метеоризм (у 48 больных (74%) против у 15 (44%), $p=0,0001$) регистрировались чаще, и были выражены при ЦТ, чем при ЦА.

Боль в животе как основной симптом Ц отмечалась у 64% детей с Ц, и в основном при ЦТ ($p=0,001$). В школьном возрасте болевой синдром встречался чаще у девочек ($p=0,03$) и при ЦА ($p=0,001$). Причины болевого синдрома при Ц многообразны, наиболее частая - это растяжение петель кишечника газами и каловыми массами. Боль в мезогастррии отмечена в 85,7% случаев у обследованных нами детей, что является характерным проявлением заболевания, большинство случаев боли были связаны с актом дефекации, ($p=0,001$). Причем боли носили разный характер, приступообразные боли имели место у больных с ЦТ, монотонные (ноющие) - у пациентов с ЦА, ($p=0,001$).

Одним из кардинальных симптомов течения Ц является патологический характер стула, у пациентов с ЦТ стул был чаще (от 3 и более 10 раз), чем при ЦА ($p=0,001$). Необходимо отметить, что запоры встречались в 16,2% случаев, выявлялись чаще у девочек ($p=0,04$) и у пациентов с ЦА ($p=0,005$), (рисунок 14). В литературе также есть указание на то, что у 16,6% обследованных пациентов стул абсолютно нормальный, что значительно усложняет диагностику заболевания, которая в большинстве случаев базируется на нарушении стула как основном симптоме Ц [166, 114].

Оценивая выраженность синдрома мальдигестии в течение заболевания по данным копроскопии, выявлено, что стеаторея 1 типа встречалась чаще (57,6%), чем стеаторея смешанного типа (36,4%), $p=0,001$. Это указывает на изменения в поджелудочной железе преимущественно функционального характера [10].

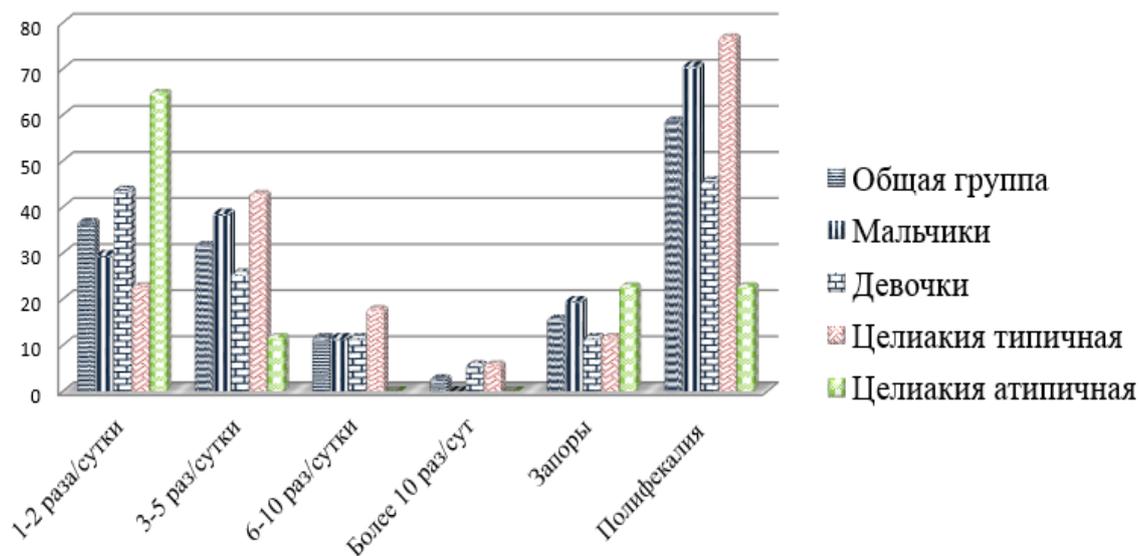


Рисунок 14. Характеристика стула у больных целиакией n, (%)

Поражение желудочно-кишечного и билиарного тракта характерно для больных Ц. В основном у пациентов наблюдалось сочетанное поражение желудка и ДПК (в 60,6% случаев) в виде экссудативно-эритематозного гастрита, дуоденита, и встречалось с одинаковой частотой при различных формах заболевания. Гиперпластические процессы на слизистой оболочке желудка, ДПК были свойственны мальчикам ($p=0,05$ и $p=0,001$, соответственно), субатрофический процесс – девочкам ($p=0,001$) и преимущественно при ЦТ ($p=0,001$). ГЭРБ имела место у 2% детей с ЦТ. Результаты эндоскопического исследования согласуются с данными литературы и указывают на преобладание экссудативно-эритематозного (поверхностного) характера поражения желудка и ДПК [142]. В нашем исследовании чаще регистрировалось сочетанное их поражение. Анализ морфометрических критериев СОТК показал, что в общей группе больных в 57,5% были выявлены изменения СОТК, соответствующие ША-ШВ стадии по Marsh M.N. При ЦТ подобные изменения (стадии ША-ШВ) встречались достоверно чаще (36,9%, против 23,5% и 29,2% против 17,6% ($p=0,01$, $p=0,02$)), чем при ЦА. Патологические изменения, соответствующие I стадии по классификации Marsh M.N., чаще встречались при ЦА (44,1% против 20,0% при ЦТ, $p=0,001$), при назначении БГД до проведения биопсии и

морфометрии. В нашем исследовании морфометрия, проведенная обследованным детям, показала, что у пациентов с ЦТ иммунопатологический процесс более выражен, о чем свидетельствовали минимальная толщина СОТК, высота ворсинок, максимальная глубина крипт по сравнению с группой детей с ЦА, что согласуется с данными литературы [127]. При ЦА через 1 год на фоне БГД быстрее нормализуется цитоархитектоника СОТК, зарегистрировано достоверное увеличение толщины СО ($p=0,02$), высоты ворсинок ($p=0,002$), уменьшение глубины крипт ($p=0,002$), снижение интенсивности лимфоплазмочитарной инфильтрации ($p=0,048$). Выявленные изменения СОТК не зависели от пола ребенка. В литературе есть указания на то, что гистологические изменения при Ц различаются по степени выраженности, могут быть неоднородными, у некоторых пациентов атрофия слизистой может отмечаться только в луковице двенадцатиперстной кишки. Повреждение СОТК при Ц не является специфичным и может отмечаться при других заболеваниях, поэтому гистологические изменения должны расцениваться в комплексе с клинической картиной и результатами серологического и гистологического исследований, а также с учетом количества ежедневно употребляемого пациентом глютена [119]. Известно, что лишь у небольшой части больных развивается классическая атрофия СОТК и тяжелый СМА. Напротив, у большинства больных изменения в СОТК могут ограничиваться поражением короткого участка кишки, некоторым углублением крипт и/или повышением количества МЭЛ [236]. Клиническую картину в этом случае определяют гиперчувствительность к глютену и особенности аутоиммунного воспаления с образованием антител к собственным тканям организма. В этих случаях Ц может протекать без СМА в атипичной форме [189]. Единственными проявлениями Ц могут быть внекишечные поражения аутоиммунного генеза, многообразные дефицитные состояния.

При Ц наблюдается поражение не только тонкой кишки, но и других органов пищеварительного тракта [142]. Это показало и наше исследование. Выявлено, что хронический гастрит, дуоденит одинаково часто встречались при ЦТ и ЦА, дисфункция билиарного тракта - достоверно чаще при ЦТ ($p=0,01$).

Изолированное повышение активности печеночных трансаминаз в сыворотке крови в период манифестации болезни и при нарушении диеты зарегистрировано у 11,1% детей, одинаково часто, как при ЦТ, так и ЦА. По данным литературы повышение трансаминаз свойственно для пациентов с Ц в 31,7% случаев, у больных с впервые выявленной Ц наблюдается чаще и прямо зависит от степени тяжести СМА [133]. Полученные данные показывают, что при Ц в результате действия комплекса патогенетических механизмов нарушается функциональное состояние печени, желчевыделение, что также усугубляет имеющиеся нарушения процессов кишечного пищеварения и всасывания. Дисбактериоз кишечника в виде снижения нормофлоры и повышения содержания условно-патогенных микроорганизмов регистрировался у большинства (95,9%) пациентов и не зависел от формы Ц и пола ребенка. В группе обследованных детей 1 пациент имел сочетание Ц с болезнью Крона и соматотропной недостаточностью. Данную ассоциацию заболеваний связывают с общностью иммунопатологического процесса [182]. Достоверно чаще при ЦТ выявлялся лямблиоз ($p=0,001$).

В исследовании мы попытались выявить особенности течения Ц у пациентов с НР-инфекцией и лямблиозом.

НР-инфекция выявлена в 55,5% случаев, в группе детей с НР-инфекцией доминировали мальчики ($p=0,004$). Полученная частота НР при Ц согласуется с литературными данными [53, 78]. В клинической картине у пациентов с Ц и НР-инфекцией достоверно чаще регистрировались моторные нарушения со стороны верхних отделов пищеварительного тракта, анемия, что необходимо учитывать при организации лечения пациентов с Ц. Не получено статистически значимых отличий в показателях гуморального звена иммунитета в группах детей с НР-инфекцией и без таковой. Оценка цитокинового профиля сыворотки крови в сравниваемых группах больных показала, что у детей с Ц без НР-инфекции уровень провоспалительного цитокина IL-1 β в динамике наблюдения быстрее снижался до значений контрольной группы (таблица 46). Данное обстоятельство косвенно подтверждает вклад НР-инфекции в воспаление [16].

Лямблиоз диагностирован у 34,3% больных целиакией. Лямблиоз наблюдался преимущественно при ЦТ ($p=0,0001$), что, вероятно, обусловлено нарушением нормофлоры кишечника, частотой дисфункций билиарного тракта у пациентов. У детей с Ц, инвазированных лямблиями, чаще встречается снижение аппетита ($p=0,01$), ЗФР, резистентность к терапии, стеаторея смешанного типа (преимущественно у мальчиков), ($p=0,000$), и головная боль (преимущественно у девочек). Полученные данные по частоте лямблиоза можно объяснить тем, что у обследованных детей мы не встретили тотальной атрофии СОТК, а также тем, что СОТК быстро реагирует на БГД, тем самым улучшаются процессы пищеварения и всасывания.

Не получено статистически значимых отличий в показателях гуморального звена иммунитета в группах детей с Ц с наличием лямблий и без лямблиоза. Однако уровень АГА класса А снижался более значимо в группе детей без лямблиоза ($p=0,026$), следовательно, факт присутствия лямблий задерживает репаративные процессы на СОТК. Не получено статистически значимых отличий по уровню исследуемых цитокинов в группах детей с Ц и лямблиозом и неинвазированных.

Сравнительные, достоверно различимые клинико-иммунологические характеристики типичной и атипичной целиакии приведены в таблице 143.

Таблица 143

Клинико-иммунологическая характеристика типичной и атипичной целиакии у больных томской популяции n, (%)

Показатель	Целиакия типичная, (n=65), (%)	Целиакия атипичная, (n=34), (%)	P
Постановка диагноза в раннем возрасте (до 3 лет)	26 (40)	10 (29)	0,044
Снижение аппетита	43 (64,2)	24 (35,8)	0,000
Частота задержки внутриутробного развития в анамнезе	12 (70,5)	5 (29,5)	0,000

Продолжение таблицы 143

Возраст манифестации абдоминального болевого синдрома (до года)	23 (48)	3 (20)	-
Возраст манифестации абдоминального болевого синдрома (старше 7 лет)	4 (8,3)	8 (53,3)	0,000
Характер боли в животе (ноющая боль)	18 (37,5)	12 (80,0)	0,000
Характер болей в животе (приступообразная боль)	30 (62,5)	3 (20)	-
Связь болей в животе с дефекацией	15 (31,2)	2 (13,3)	-
Атопический дерматит	14 (21,5)	2 (5,8)	-
Сухость кожных покровов	33 (50,7)	13 (38,2)	0,036
Кратность стула (1-2 раза в сутки)	15 (23)	22 (64,7)	0,000
Кратность стула (3-5 раз в сутки)	28 (43)	4 (11,8)	0,000
Объемный характер стула	50 (76,9)	23 (46,0)	0,000
Зловонный характер стула	56 (86,1)	32 (64)	0,008
«Жирный» стул	55(84,6)	31(62,0)	0,005
Серый цвет стула	43 (66,1)	6 (17,65)	0,000
Запоры	8 (12,3)	8 (23,5)	0,005
Агрессивность	7 (10,8)	2 (5,9)	-
Дисфункция билиарного тракта	32 (49,2)	12 (35,2)	0,022
Лямблиоз	27 (41,5)	7 (20,5)	0,000
Задержка роста (показатели ниже 5 перцентиля)	29 (42)	20 (58)	0,014
IL-1 β	277,7 (99,39-409,0)	233,99 (118,0-311,0)	0,05
TNF- α	49,8 (16,9-272,9)	27,56 (15,2-109,0)	0,001

Продолжение таблицы 143

IL-1Ra	67,51 (13,54-262,1)	142,0 (39,7-515,11)	0,001
IL-4	2,02 (0,18-33,7)	15,19 (0,35-33,7)	0,001
Ассоциация аллеля V полиморфизма rs1805010 гена <i>ILRA</i>	-	метод «случай-контроль»	p=0,017
Ассоциация аллеля G полиморфизма rs2243291 гена <i>IL4</i>	TDT=12,00	-	p=0,001

Примечание: p – достоверность различия показателей при целиакии типичной и целиакии атипичной

При определении чувствительности и специфичности сравниваемых показателей ЦТ и ЦА чувствительность более 50% пришлась на такие характеристики, как приступообразные боли в животе (чувствительность 54%, специфичность 91%); сухость кожных покровов (чувствительность 51%, специфичность 62%); серый цвет стула (чувствительность 66%, специфичность 82%), которые статистически значимо чаще отмечались при ЦТ. В нашем исследовании установлена низкая выявляемость Ц в двух популяциях Российской Федерации. Уточнены клинико-лабораторные особенности ЦТ и ЦА на примере томской популяции больных. Впервые показано, что дети, рожденные с ЗВУР, составляют группу риска по развитию ЦТ. Определена высокая частота, клинические и лабораторные особенности течения Ц в сочетании с лямблиозом и с НР-инфекцией. Атопический дерматит встречался в 16,1% случаев в общей группе больных, преимущественно при ЦТ (88%), характеризовался изолированным дефицитом IgA, и в 31,3% случаев сочетанием с лямблиозом. Снижение МПКТ установлено у 34% больных с Ц, сочетание жалоб на боли в костях и снижение МПКТ были характерны для больных с ЦТ. При этом установлено повышение костной резорбции по уровню С-концевых телопептидов

и повышению КЩФ на фоне кальциурии. При диагностике и лечении больных с Ц следует учитывать установленные особенности.

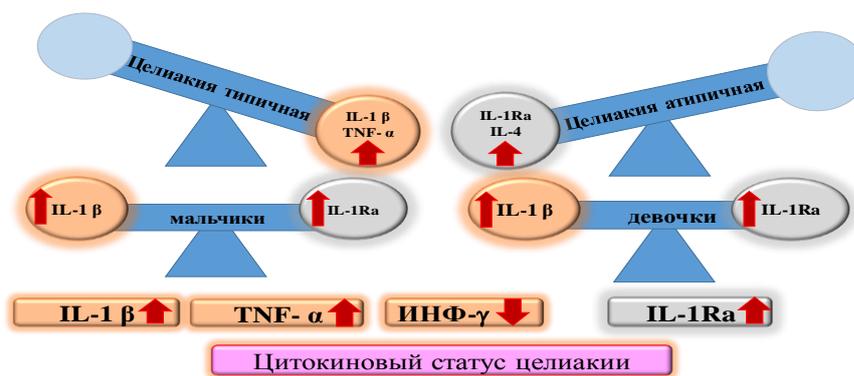
Результаты иммунологического обследования выявили низкие значения сывороточного IgA в общей группе детей с Ц ($p < 0,019$), статистически значимое по сравнению с референтными значениями при ЦТ ($p < 0,001$). Также для обследованных больных с Ц была характерна гипергаммаглобулинемия, ($p < 0,001$).

В общей группе больных достоверно были повышены АГА класса IgG ($p = 0,005$). На фоне соблюдения БГД отмечена положительная динамика в снижении уровня АГА, однако антитела класса G продолжают циркулировать, в абсолютных цифрах значения АГА G несколько выше при ЦА, но без достоверной разницы (таблица 76). Возможно, это связано с меньшей приверженностью к соблюдению рекомендаций по лечению, так как при ЦА у пациентов отсутствуют признаки энтерального синдрома. Высокий уровень АГА класса IgG по отношению к референтным значениям зафиксирован среди родственников 1 степени родства пробандов с Ц (отцы и матери, $p = 0,0004$; сибсы, $p = 0,0001$). Таким образом, родственники 1 степени родства – группа иммунологического риска по Ц. В ситуации, когда популяционный скрининг выполнить маловероятно, проведение скрининга в группах риска по Ц, в частности в группе родственников 1 степени родства и сибсов в частности, необходимо. В дальнейшем среди обследованных сибсов в 17% случаев был верифицирован диагноз Ц. Гипергаммаглобулинемия характерна для всех членов семьи пробанда с Ц.

Результаты обработки данных цитокинового профиля больных с Ц выявили, что при ЦТ достоверно выше уровень провоспалительных цитокинов IL-1 β ($p = 0,001$), TNF- α ($p = 0,001$) по сравнению с группой больных с ЦА (таблица 76). При ЦА, напротив, высока концентрация противовоспалительных (IL-1Ra ($p = 0,001$), IL-4 ($p = 0,001$)) медиаторов.

Уровень цитокинов в сыворотке крови у детей с Ц зависел от пола и формы заболевания. В общей группе больных Ц показатель такого значимого

провоспалительного цитокина IL-1 β был выше у девочек, $p=0,03$; у мальчиков, напротив, были выше значения противовоспалительного цитокина IL-1Ra, $p=0,05$. При ЦТ уровень провоспалительного цитокина ИЛ-1 β , как и противовоспалительного IL-1Ra, был высоким среди мальчиков ($p=0,0001$), при ЦА подобная ситуация была свойственна для девочек, повышен уровень ИЛ-1 β , TNF- α , ($p=0,001$) и IL-1Ra, ($p=0,001$), (рисунок 15).



Примечание: указаны цитокины с уровнем достоверности менее 0,01

Рисунок 15. Роль цитокинов в формировании фенотипа целиакии

Клиническая картина Ц у детей младшего возраста протекает с более выраженными клиническими проявлениями (энтеральный синдром, дефицитные состояния), в дальнейшем она сглаживается и может нивелироваться к подростковому возрасту, или на первый план выступают внекишечные проявления болезни. Развитие клинических симптомов находит свое патогенетическое отражение в характере цитокинового воспаления. При Ц развитие дефицитных состояний ассоциировано с изменениями продукции цитокинов семейства IL-1 (IL-1 β и IL-1Ra).

Отмечено, что максимальная активность хронического воспалительного процесса приходится на период до 17 лет. Высокий уровень IL-1 β был отмечен для детей в группе с 7 до 14 лет, TNF- α - для пациентов до 6 лет ($p=0,001$). Уровень IL-1Ra был минимальным в возрасте до 3 лет, максимальным - у пациентов в возрасте с 4 до 6 лет ($p=0,001$) и далее уменьшался с возрастом

($p=0,001$), (таблица 80, 81). В подобных реакциях иммунного ответа отражается как вклад физиологических особенностей становления иммунного ответа, так и, возможно, особенность иммунного ответа на прием глютена. В настоящее время известно, что с возрастом уменьшается активность иммунного реагирования в ответ на поступление в организм глютенсодержащих продуктов [287].

Для родственников 1 степени родства (матери, сибсы) пробандов с Ц характерно увеличение продукции провоспалительного (IL-1 β) медиатора. Повышение противовоспалительного цитокина IL-10 отмечено у матерей и отцов больных с Ц. Уровень такого противовоспалительного цитокина, как IL-1Ra был снижен у матерей ($p=0,0001$). Следовательно, в семьях пробанда с Ц вклад наследственных факторов в изменчивость исследованных иммунологических показателей оказался различен.

Оценки коэффициентов наследуемости (h^2) иммунологических показателей в семьях больных Ц варьировали в пределах от 49,49% до 57,17% (рисунок 16).

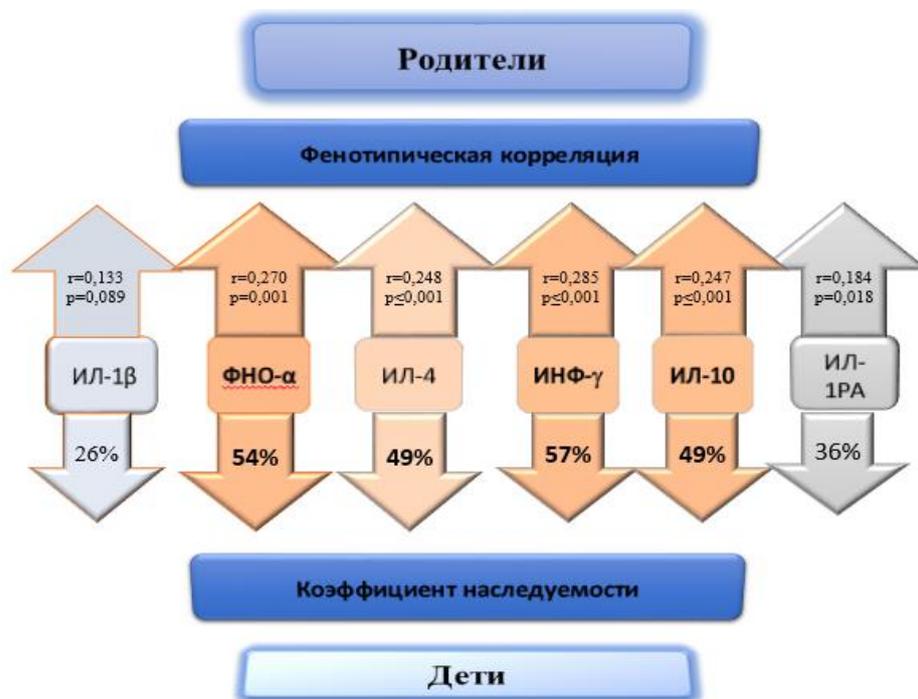


Рисунок 16. Корреляционные связи и наследуемость показателей цитокинового статуса в семьях пробандов с целиакией

Максимальные оценки коэффициента наследуемости были получены для INF- γ (57,17%) и TNF- α (54,18%), достаточно высокий уровень коэффициента наследуемости характерен для IL-4 (49,65%). Среди других показателей следует отметить средние по величине значения h^2 для IL-10 – 49,49% (таблица 119). Показано, что наследование пробандами выработки цитокинов идет по обеим линиям, при этом следует отметить, что от матерей дети наследуют чаще выработку провоспалительных цитокинов (TNF- α , INF- γ), а от отцов более противовоспалительную (IL-4, IL-10) направленность цитокинового каскада. Высокий коэффициент наследуемости IL-4, INF- γ свидетельствует об участии в развитии хронического аутоиммунного воспаления на СОТК как Th1, так и Th2 путей иммунного ответа.

Установленные корреляционные связи могут свидетельствовать об определенном вкладе генетических факторов в характер иммунного ответа у пробандов с целиакией.

Распространенность HLA генотипов и аллелей в популяции больных целиакией. Аутоиммунные заболевания, к которым относится и целиакия, это заболевания с выраженной генетической основой, они носят системный характер. Гены иммунного ответа - HLA класса II - одни из главных генов, для которых установлена выраженная связь с развитием аутоиммунной патологии. Установлена связь Ц с такими HLA-антигенами, как B8, DR7, DR3 DQ2 (DQA1*501,DQB1*201) и DQ8 (DQB1*302,DQA1*301) [282]. Пациенты с упомянутыми комбинациями *HLA-DR*, *HLA-DQ* обладают генетической информацией, предрасполагающей к развитию заболевания. Открыто несколько генетических локусов на хромосомах, предрасполагающих к Ц, в частности, обнаружено месторасположение локуса CELIAC1 на хромосоме 6p21.3, который содержит HLA молекулы класса II. Есть мнение, что в этом локусе находятся гены, связанные с определенными HLA генами II класса, известными как *HLA-DQ2*, *HLA-DQ8*. Более поздние исследования показали, что у больных Ц выявляются гены, не связанные с HLA-системой, в частности локус CELIAC2 был обнаружен на хромосоме 5q31-33, CELIAC3 – на хромосоме 2q33 [22].

В соответствии с задачами исследования был проведен анализ ассоциации полиморфизма генов HLA-системы с Ц, ее клиническими проявлениями и количественными признаками, характеризующими иммунопатологический процесс в организме и на СОТК, а также распределение генов HLA II класса у родственников 1 степени родства пробандов из популяции Томской области, больных группы риска – при СД 1 типа.

При анализе HLA-антигенов у 76 пробандов с Ц из популяции Томской области установлено, что частоты известных предрасполагающих аллелей DQA1*0501, DQB1*0201, DQA1*0301, DQB1*0302 достоверно не отличались от контрольной группы (таблица 93). Выявлено, что у пробандов с Ц из томской популяции предрасполагающими аллелями были DRB1*09 (OR=4,48, (p=0,050), DQB1*0303 (OR=2,94, (p=0,004)). Протективными аллелями у больных Ц выступали аллель DQA1*201 (OR=0,33, (p<0,004) и аллель DQB1*0301 (OR=0,54, (p<0,016)). Отмечена протективная роль аллеля DQB1*0301 у пациентов с Ц в Белоруссии [31].

Аналогичное исследование проведено у больных Ц Краснодарского края. Для пробандов с Ц из популяции Краснодарского края предрасполагающими аллелями являются DQB1*0201 (OR=2,48, (p=0,001)), DQB1*0303 (OR=3,00 (p=0,042)), DRB1*17 (OR=3,78, (p=0,002)). Общим предрасполагающим аллелем для больных из популяций Томской области и Краснодарского края оказался аллель DQB1*0303. Полученные отличия при сравнении частот аллелей генов DQA1*0201 (p=0,006), DRB1*17 (p=0,009) у пациентов с Ц популяций Томской области и Краснодарского края, вероятно, связаны с особенностью популяции и размером выборки больных Краснодарского края.

В томской популяции больных Ц (n=76) генотип HLA-DQ2 (DQ2/DQ2; DQ2/X*) выявлен в 31,6% случаев, генотип DQ2 и отдельные его аллели (DQA1*0501, DQB1*0201) – у 43 (56,6% больных), HLA-DQ8 – (DQ8/DQ8; DQ8/X*) - в 11,8% случаев, генотип DQ8 и отдельные его аллели - у 16 (21,0%) больных Ц, в целом носителями патологических аллелей было 77,6% пробандов с целиакией.

Полученные данные отличаются от данных о распространенности генов *HLA-DQ2* и *HLA-DQ8* в Европе (где 90-95% больных несут *HLA-DQ2* и только 5-10% - молекулу *DQ8*) [253, 254]. Однако исследования последних лет показывают, что в различных регионах мира распространенность генов *HLA-DQ2* и *HLA-DQ8* имеет свои особенности и изменяется от 50% до 97% (таблица 148). В популяции Краснодарского края (n=32) генотип *DQ2* выявлен у 32,1% пациентов, генотип *DQ8* – у 16% больных. В популяции детей с Ц г. Санкт-Петербурга генотип *DQ8* выявлен у 62,7% пациентов, *DQ2* - у 33,8%; *DQ8/DQ2* - у 3,4% [97]. Данные, полученные в работе отечественных авторов показали, что у 97,2% российских больных выявлены ассоциированные с Ц молекулы *DQ2/DQ8*, установлена самостоятельная роль в развитии Ц отдельных аллелей молекулы *DQ2*, гаплотипов *DQ2,2* и *DQ7*, показано преобладание у больных Ц сочетания аллелей *DQA1*501, 501/B1*201, 301, DQA1*501, 301/B1*201, 302, DQA1*501, X0X/B1*201, X0X, DQA1*201, 201/B1*201, 201, DQA1*201, 301/B1*201, 302, DQA1*301, 301/B1*302, 302*, обеспечивающих низкий риск развития заболевания, что, вероятно, сказывается на более низкой частоте Ц в нашей стране [59]. В казахской популяции детей выявлен предрасполагающий аллель *DRB1*10* [51].

Таблица 144

Распространенность HLA гаплотипов в различных популяциях

Популяция	Гаплотипы	Частота встречаемости
Финляндия [Polvi et al., 1998]	<i>DQ2</i> и/или <i>DQ8</i>	97%
Израиль [Thorsby E., 1994]	<i>DQA1*0501, DQB1*0201</i>	80%
Северная Европа [Margaritte-Jeannin P., 2004]	<i>DQA1*0501, DQB1*0201</i>	98,9%
Россия, Москва [Касаткина Е.Н., 2012]	<i>DQ2/DQ8</i>	97,2%
Казахстан [Исабекова Т.К., 2007]	<i>DQA1*0501, DQB1*0201</i>	62%
Узбекистан [Камилова А.Т., 2007]	<i>DQA1*0501, DQB1*0201</i>	69,2%
Россия, Санкт-Петербург [Пирогова З.И., Рябчук Ф.Н., 2006]	<i>DQA1*0501, DQB1*0201</i>	33,8%

Россия, Томская область [собственные данные, 2011]	DQA1*0501, DQB1*0201	56,6%
	DQ2 и/ DQ8	77,6%
Россия, Краснодарский край [собственные данные, 2010]	DQA1*0501, DQB1*0201 (DQ2)	36,5%

В Северной Европе генотип HLA-DQ2 выявляется почти у 95% пациентов с Ц, остальные пациенты имеют HLA-DQ8 [137]. Специалисты Всемирной организации гастроэнтерологов считают, что «отсутствие аллелей, кодирующих DQ2 и DQ8, делает Ц маловероятной» [211].

Таким образом, полученные данные распространенности генотипа HLA-DQ2, HLA-DQ8 в выборке больных Ц Томской области и Краснодарского края ниже, чем в европейских странах, и, возможно, отражают особенности исследованных нами популяций. В ходе исследования отмечено, что у детей с различными генотипами HLA-DQA1 и HLA-DQB1 имеются особенности течения заболевания. Статистически значимо чаще генотип DQ2, как и его аллель DQA1*0501, регистрировались при Ц ($p=0,000$) и преимущественно при ЦТ ($p=0,003$ и $p=0,029$, соответственно). У обладателей аллелей DQA1*0501, DQB1*0201 высока частота развития дефицитных состояний ($p=0,000$). При генотипе DQA1*0301, DQB1*0302 реже формируются тиреопатии ($p=0,001$).

По современным представлениям система HLA обеспечивает регуляцию иммунного ответа, контролируя такие важнейшие физиологические функции, как взаимодействие иммунокомпетентных клеток организма, распознавание клеток, запуск и реализацию иммунного ответа. Нарушения в системе регуляции иммунного ответа приводят к развитию ряда заболеваний, в том числе целиакии.

При сравнении значений АГА в зависимости от гаплотипа больного получены данные о том, что антитела к глютену зависят от носительства аллелей HLA-системы. Дети с Ц, носители гаплотипа DQA1*0301 DQB1*0302, лучше отвечали на патогенетическую терапию (по уровню снижения АГА класса IgA). Уровень противовоспалительного цитокина IL-1Ra изначально был выше у детей

с гаплотипом DQA1*0301, по сравнению с DQA1*0501, что может влиять на течение заболевания.

Таким образом, впервые установлена встречаемость Ц, частота генов HLA-системы при Ц в двух российских регионах, рассчитаны показатели риска развития заболевания, выявлены новые предрасполагающие и протективные аллели HLA для российских больных Ц на примере двух регионов. Следовательно, кроме диагностического значения, определение аллелей генов DQA, DQB, DR HLA класса II имеют значение для прогноза и течения заболевания.

Группами риска по развитию Ц в нашем исследовании являлись родственники 1 степени родства, пациенты с СД 1 типа, АИТ. Общее количество родственников составило 739 человек, из них родственники 1 поколения составили 244 человека, 2 поколения 370 человек. Ц подтверждена у 4 (17%) sibсов, среди родителей пробанда с Ц заболевание выявлено не было. Отмечена высокая отягощенность наследственного анамнеза по аутоиммунным заболеваниям (чаще по женской линии), онкологическим заболеваниям (преимущественно при ЦА), аллергической патологии, поражению ЖКТ. Анализ уровня АГА, проведенный у 111 человек родственников 1 степени родства пробанда с Ц: отцы – 44, матери - 44, sibсы – 23 человека, показал высокую выявляемость антителоносительства, в частности, среди sibсов. Гипергаммаглобулинемия отмечена у всех членов семьи пробанда с Ц, повышение активности провоспалительного цитокина IL-1 β выявлено у матерей и sibсов. Из групп риска по Ц (АИТ, СД 1 типа) частота выявляемости высоких значений АГА была 9,2%; 1,4%, соответственно. Приведенные данные еще раз подчеркивают, что родственники 1 степени родства, sibсы в частности, пациенты с СД 1 типа и АИТ составляют группу риска по Ц.

Проанализировано распределение аллелей HLA класса II DQA1, DQB1 и DRB1 по сравнению с популяционным контролем у членов семьи больных Ц томской популяции. Молекулярно-генетическое исследование HLA-гаплотипов

проведено 71 родственнику 1 степени родства (61 родителю, 10 сибсам). Среди родителей отмечена высокая частота аллеля DQB1*0301.

Целиакия и другие аутоиммунные заболевания. В Томской области из 142 больных СД 1 типа, находящихся на диспансерном учете в 2010 г., Ц была диагностирована у 1 (0,7%, или 1:142). Тиреопатия в виде диффузного нетоксического зоба была диагностирована у 13 детей с целиакией.

В детской популяции Краснодарского края (данные предоставлены Глиф А.И.) СД 1 типа среди больных Ц был диагностирован в 3,6 % случаев. Сочетание Ц и АИТ отмечено у 3 (5,6%) больных. По данным литературы пациенты с АИТ страдают Ц в 4 раза чаще, чем здоровые лица; частота Ц при СД 1 типа составляет от 1 до 16 %, аутоиммунные заболевания щитовидной железы встречаются приблизительно у 7,8% детей с Ц [201, 203]. У детей с СД 1 типа серологические маркеры целиакии (АГА и/или антитела tTG) встречались в 7,4% случаев. Комбинация антител АГА и tTG встречалась в 2,2% случаев. Гаплотипы DQ2 и/или DQ8 HLA регистрировались в 78,8% случаев серопозитивных пациентов, частота встречаемости этих гаплотипов была одинакова [160] Имеющиеся на настоящий момент данные не позволяют четко определить, какая из теорий объясняет связь между Ц и другими аутоиммунными заболеваниями [326].

В целом, сочетание АИТ с Ц и СД 1 типа согласовывалось с данными литературы для изучаемых популяций, но сочетание СД 1 типа и Ц в описанных российских популяциях было значительно реже, что обусловлено генетическими особенностями популяции, как и невысокой распространенностью Ц, в отличие от эпидемиологических данных европейских стран (таблица 145).

По данным литературы высокая частота Ц среди пациентов с СД 1 типа, заболеваниями щитовидной железы обусловлена общим генетическим фоном - связью с HLA-системой, и однотипными иммунными механизмами развития заболеваний. Кроме того, встречаемость этих заболеваний в общей популяции на порядок ниже. В связи с предполагаемой общностью патогенеза перечисленных аутоиммунных заболеваний и выявленной низкой частотой Ц при СД 1 типа

представляет интерес поиск объяснений данных особенностей в российских популяциях.

Таблица 145

Заболевания, ассоциированные с целиакией

Заболевания	Частота (%)
СД 1 типа* [Cronin C.C., Shanahan F., 1997]	2-7,8
СД 1 типа, Томская область [Кондратьева Е.И., Янкина Г.Н., 2011]	0,7
Тиреотоксикоз* [Midhagen G., Jarnerot G., Kraaz W., 1988; Collin P., Reunala T., Pukkala E. et al. , 1994]	5-5.8
Аутоиммунный тиреоидит Краснодарский край [Тлиф А.И. с соавт, 2012]	5,6

* Источник: Conleth Feighery Coeliac disease.// BMJ. 1999 .Vol. 319.-P. 236-2239.

Проведен анализ распределения аллелей генов *HLA-DQA1*, *-DQB1*, *-DRB1* у больных Ц и СД 1 типа в популяции детей Томской области и Краснодарского края. Разная частота зарегистрирована для аллеля *HLA-DQA1*0301*, характеризующегося предрасполагающими свойствами для развития СД 1 типа и Ц. Данный аллель чаще регистрировался при СД 1 типа у детей Томской области и Краснодарского края.

Предрасполагающий к СД 1 типа *HLA-DQB1*0302* ($p < 0,001$) в 3 раза чаще отмечен при СД 1 типа, чем при целиакии в томской популяции, и в 4 раза чаще ($0,004$) в популяции Краснодарского края. В то же время, *HLA-DQB1 0602/8* ($p < 0,004$) чаще выявлялся у больных с Ц и играл защитную роль в отношении развития СД 1 типа. Подобное значение, вероятно, имеет аллель *DQB1*0601* ($p = 0,016$) у пациентов в выборке Краснодарского края. Выявлен ряд отличий распространенности аллелей *HLA-DRB1* при СД 1 типа и Ц. При СД 1 типа частота *HLA-DRB1*04* и *DRB1*17* была в 3 и 5 раз соответственно выше, чем при Ц. Известный предрасполагающий к развитию Ц аллель *DRB1*17* выполнял протективную роль в развитии заболевания в группе СД 1 типа. В популяции

Краснодарского края отличий по частоте аллеля DRB1*17 не получено. В отношении HLA-DRB1*07, DRB1*11 и DRB1*15 частота аллелей была в 5 раз выше при целиакии.

Таким образом, вклад ряда предрасполагающих и защитных аллелей HLA генов *DQA1*, *DQB1* и *DRB1* в развитие данных аутоиммунных заболеваний с разной мишенью аутоиммунной агрессии (при СД 1 типа – β -клетки, при Ц - эпителий тонкого кишечника) различен. Вероятно, с этим связана невысокая частота Ц при СД 1 типа в томской и краснодарской популяциях в отличие от европейских.

Этапы диагностического обследования в группах риска без клинических проявлений целиакии

Вызывает дискуссию диагностика Ц в группах риска. Группу **генетического риска** составляют лица с HLA маркерами заболевания. Эта группа формируется из родственников пробанда с Ц, и в первую очередь сибсов. В группе генетического риска следует разрабатывать мероприятия первичной профилактики. В настоящее время рассчитаны риски возникновения Ц у носителей определенных аллелей DQ2/DQ8. Так, при наличии аллелей HLA-DQ риск развития Ц при носительстве DQ2/2 составляет 21,8, а при DQ2/другой аллель – 1,5 [250, 253, 323]. Однако развитие Ц не является фатальным, так как существуют протективные HLA аллели.

На основе проведенного исследования в группу **иммунологического риска** следует включать индивидуумов с аутоиммунными и ассоциированными с Ц заболеваниями, у которых выявлены серологические маркеры, и пациентов других групп риска (например, дети с задержкой роста, белково-энергетической недостаточностью, анемией и др.). У лиц этой группы отмечается повышение уровня антител к tTG, антител к эндомизию, АГА, при этом отсутствуют атрофические изменения в тонкой кишке. Повышение антител может быть ассоциировано с наличием генетических маркеров заболевания. Родственники 1 степени родства больного с Ц переходят в эту группу при повышенном уровне

антител. Однако прогностической ценностью обладают только повышенные титры к tTG - 91-99% [333].

Для пациентов с аутоиммунными заболеваниями на первом этапе нами было рекомендовано исследование серологических маркеров заболевания (АГА, антител к тканевой трансглутаминазе) - для выявления лиц с высокими титрами антител (группа иммунологического риска). Генетический этап предлагался как второй этап диагностики. На этом этапе пациентов делили на 2 группы: носителей предохраняющих и предрасполагающих аллелей и генотипов. Морфологическое исследование СОТК (третий, основной этап диагностики) было показано пациентам с предрасполагающим генотипом и наличием клинических проявлений. Для родственников генетический этап предложено проводить первым, а серологические исследования – при наличии патологических аллелей или гаплотипов.

Для подтверждения предложенной схемы диагностики Ц в группах риска в течение 6 лет (2004-2010 г. г.) в томской популяции мы наблюдали 514 детей и взрослых из групп риска (284 человек - с СД 1 типа, 119 пациентов с АИТ, 111 родственников 1 степени родства пробандов с Ц).

Среди родственников больных с Ц в 49% случаев выявлялись HLA гаплотипы и аллели, определяющие предрасположенность к развитию заболевания. Повышенные значения серологических маркеров выявлены у 20 %. При этом в абсолютных значениях уровень антител класса G у sibсов был выше, чем у родителей. В последующем гистологическое исследование СОТК позволило верифицировать диагноз Ц у 4 sibсов (17%) при проведении пролонгированного наблюдения. Результаты исследования позволили рекомендовать проведение HLA-типирования на первом этапе при формировании групп риска среди родственников больных целиакией.

Анализ предложенной этапности диагностики показал, что в группе пациентов с СД 1 типа имело место повышение уровня АГА в 1,4% случаев (4 пациента). В группе с АИТ были повышены АГА в 9,2% случаев (11 пациентов). В группе больных СД 1 типа выявлялись маркеры HLA, как предрасполагающие к

Ц, так и протективные аллели. Однако заболевание манифестировало у 1 ребенка с СД 1 типа, что составляет 0,7% (или 1:142) в группе наблюдения.

Наши данные совпадают с другими исследованиями, где частота Ц в группах риска в среднем составляла 5–10%. Риск Ц особенно высок у родственников 1 линии родства 1:10, 2 линии – 1:39; у лиц с так называемой «ассоциированной» патологией 1:56 [228]. Наше наблюдение показало, что заболевание чаще встречается у родственников 1 степени родства, а именно у сибсов (17% (1:6 среди сибсов)), что подтвердило необходимость обследования родственников 1 степени родства пробанда с Ц по предложенной схеме. Среди СД 1 типа соотношение составило 1:142 и было реже, чем в других популяциях.

Таким образом, предложенная схема этапности для изучаемых групп риска является целесообразной и более экономичной и позволяет выделить пациентов из групп риска с латентным течением болезни и с клиническими проявлениями.

Проведенный анализ содержания уровня антиглиадиновых антител в случайной выборке, включающей 731 ребенка, выявило, что показатели Q₃ (75 перцентиль) для АГА IgA отличались от верхней границы референтных значений, возможно, это связано с течением воспалительного процесса у пациентов. Следовательно, при воспалительных заболеваниях различной локализации может отмечаться повышение АГА, что необходимо учитывать при проведении серологического скрининга пациентов групп риска по Ц.

Полученные данные и современные протоколы по диагностике Ц указывают на необходимость использовать более специфичные методы: определение антител к tTG [138], с последующим проведением еноскопии с биопсией. Полученные результаты позволяют использовать серологические тесты в группах риска.

В литературе описаны случаи сочетанного течения Ц и МВ [329]. Для МВ и Ц характерно развитие СМА, системность поражения, полиморфизм клинических проявлений, что значительно затрудняет их диагностику и лечение. В таблице 146 представлена сравнительная характеристика заболеваний с результатами нашего исследования иммунологических и генетических особенностей Ц и МВ.

Анализ вклада функциональной активности МН-Мф, роли цитокинов, влияния полиморфизма генов-модификаторов иммунного ответа *IL1B* (rs1143634), *IL1RN* (VNTR), *IL4* (rs2243291), *IL4RA* (rs1805010) на развитие заболевания и варианты его течения показал, что у больных с МВ снижена экспрессия C_3b - и Fc γ -рецепторов по сравнению со здоровыми детьми и больными с Ц, ($p < 0,001$). Результаты исследования выявили у больных с Ц повышенный уровень как провоспалительных (IL-1 β , ФНО- α), так и противовоспалительных цитокинов (IL-1Ra), при МВ повышение провоспалительного медиатора (TNF- α), снижение уровня IFN- γ и противовоспалительных цитокинов IL-10, IL-1Ra, IL-4, по сравнению с пациентами с Ц.

Таблица 146

Сравнительная характеристика целиакии и муковисцидоза

Критерии	Целиакия	Муковисцидоз
Физическое развитие	Чаще дефицит массы	Чаще дефицит массы
Энтеральный синдром	Атрофические процессы на СОТК, развивающиеся под воздействием глютена у генетически предрасположенных лиц	Экзокринная недостаточность поджелудочной железы
Потребность в ферментной терапии	Интермиттирующие курсы	Постоянный прием с рождения
Характер воспаления	Аутоиммунное воспаление	Микробно-воспалительный процесс
Непереносимость глютена	Да	Нет/Может быть
Сопутствующая патология	Аутоиммунные процессы	Фиброз
Сахарный диабет	Аутоиммунной природы с абсолютной недостаточностью и склонностью к ацидозу	За счет фибротических процессов, средние дозы инсулина, редко диабетический кетоацидоз
Функциональная активность МН-Мф	Снижение экспрессии C_3b - и Fc γ -рецепторов, повышение	Снижение экспрессии C_3b - и Fc γ -рецепторов, тенденция к

	макрофагального фагоцитоза	повышению макрофагального фагоцитоза
Провоспалительные и противовоспалительные цитокины	Повышение IL-1 β , ФНО- α , IL-1Ra	Повышение IL-1 β , ФНО- α , снижение IFN- γ и IL-10, IL-1Ra
Гены-модификаторы иммунного ответа	Полиморфизм rs1805010 гена <i>IL4RA</i> VV против остальных генотипов (II+IV) (OR=5,6 (p=0,017))	VNTR полиморфизм гена <i>IL1RN</i> * Аллель A2 (OR=1,73 (p=0,03)); Полиморфизм rs2069705 гена <i>IFN-G</i> аллель C (OR=1,77 (p=0,0253))
TDT тест	TDT тест Полиморфизм rs1143634 гена <i>IL1B</i> с целиакией (TDT=5,823; p=0,016), Полиморфизм rs2243291 гена <i>IL4</i> с целиакией (TDT=12,00; p=0,001)	—

Следовательно, воспаление при Ц и МВ отличается разной функциональной активностью макрофагов, уровнем про- и противовоспалительных цитокинов. Если при Ц активность воспалительного процесса регулируется высоким уровнем противовоспалительных цитокинов, то при МВ дефицит противовоспалительных цитокинов (IL-1Ra и IL-10) способствует поддержанию воспаления.

Поиск ассоциаций заболевания с аллелями изученных полиморфизмов генов у больных МВ и Ц показал, что с развитием МВ связаны аллель A2 полиморфизма VNTR гена *IL1RN*, аллель C полиморфизма rs2069705 гена *IFN-G*; с развитием ЦА связан генотип VV полиморфизма rs1805010 гена *IL4RA*. Методом TDT выявлена ассоциация полиморфизма rs1143634 гена *IL1B* (TDT=5,823; p=0,01) и полиморфизм rs2243291 гена *IL4* (TDT=12,00; p=0,001).

Полученные результаты показывают различия как в самом характере воспаления, так и генетическом контроле развития воспаления.

Классификация целиакии и критерии компенсации

Анализ клинического материала, представленного выше, позволил предложить классификацию Ц (таблица 147) [69]. Общепринятой классификации Ц не существует. На XI Конгрессе детских гастроэнтерологов России (Москва, 2004) была принята рабочая классификация, выделяющая три формы заболевания и два периода: формы - типичная, атипичная (малосимптомная), скрытая (латентная); периоды - активный (период клинической манифестации), ремиссия. Предложенная нами классификация обсуждалась на XVI–XVII Конгрессах детских гастроэнтерологов России и стран СНГ (2009, 2010), на 12 международном Славяно-Балтийском научном форуме «Санкт-Петербург – Гастро-2010».

Предложено выделять формы Ц: типичную, атипичную. Статистический анализ различий указанных форм и специфичность и чувствительность признаков был представлен в работе. О типичном течении целиакии врачи информированы больше, сложности возникают в постановке диагноза, когда заболевание протекает в виде атипичной формы. Это подтверждают и данные регистров больных Томской области и Краснодарского края, где преобладали пациенты с ЦТ.

В настоящее время целесообразно сохранить определение степеней тяжести заболевания: легкая, средняя, тяжелая. Хроническое течение заболевания предполагает наличие фаз (периодов).

Предлагаем выделять: латентный период и период клинической манифестации, период компенсации (ремиссии), период декомпенсации. Следует подразделять период клинической компенсации (ремиссии) на клинко-иммунологическую компенсацию (неполная), клинко-иммунологическую и гистологическую компенсацию (полная).

Клинко-иммунологическую компенсацию можно констатировать не ранее, чем через 6 месяцев от момента назначения БГД, она характеризуется регрессом основных симптомов заболевания, нормальным уровнем АГА, АТ-tTG, при

сохранении отдельных морфофункциональных нарушений в СОТК, как показало наше исследование и ранее проведенные.

Таблица 147

Проект рабочей классификации целиакии у детей

Целиакия			
Форма			
Типичная		Атипичная	
Степень тяжести			
Легкая		Средняя	Тяжелая
		Периоды	
Латентный	Клинической манифестации	Компенсации (ремиссии) -Клинической компенсации (ремиссии), -Клинико-иммунологической компенсации (неполной), -Клинико-иммунологической и гистологической компенсации (полной)	Декомпенсации
Генотип			
Течение			
Осложненное		Неосложненное	
Осложнения целиакии			
Гипотрофия, анемия, остеопороз, задержка роста, задержка полового развития, кровотечения, нейропатия			
Группы риска по целиакии			
Группа генетического риска (HLA-DQ2 и DQ8)			
Группа иммунологического риска			

Ассоциированные с целиакией заболевания	
Герпетиформный дерматит	Системная красная волчанка
Сахарный диабет 1 типа	Склеродермия
Аутоиммунный тиреоидит	Ревматоидный артрит
Аутоиммунный гепатит	Миастении
Первичный билиарный цирроз печени	Алопеция
Хроническая надпочечниковая недостаточность	Атаксия
	Кардиомиопатии
	Витилиго

О полной компенсации заболевания (клинико-серологическая, морфологическая ремиссия) может идти речь не ранее, чем через 1 год от начала соблюдения строгой БГД, она характеризуется: отсутствием клинических проявлений заболевания (клиническая компенсация); нормальным уровнем АГА, антиэндомизийных (АЕМА) антител, anti-tTG (клинико-иммунологическая компенсация); восстановлением нормальной гистологической картины СОТК (полная компенсация заболевания).

В осложнения заболевания мы предлагаем относить: снижение минеральной плотности костной ткани в детском возрасте, задержку роста ниже 5 перцентили (так как меньшее отставание в росте может быть проявлением самого заболевания), дефицит массы тела, задержку полового развития, анемию, кровотечения, нейропатию.

Особое внимание следует уделять ассоциированным с Ц заболеваниям аутоиммунной природы, онкологическим заболеваниям, алопецией и витилиго. Пациенты с перечисленными состояниями одновременно составляют группу риска по развитию Ц. Селективную недостаточность IgA следует, по-нашему мнению, рассматривать в ассоциированных заболеваниях, а не в клинических вариантах течения Ц, так как данные иммунологические нарушения могут протекать и изолированно [276].

Предлагается в диагнозе указывать дату установления заболевания, что облегчит определение стадии заболевания, тип маркера DQ2 и/или DQ и другие для прогнозирования течения заболевания.

Пример формулировки диагноза:

1. Целиакия типичная, средней степени тяжести (СНВ 2 ст.), период клинической манифестации.

Осложнения: Задержка роста. Гипотрофия 2 степени. Анемия 1 степени, железодефицитная.

2. Целиакия атипичная, средней степени тяжести. Период неполной ремиссии (клинической). Диагностирована в 2009 г.

Ассоциирована: Сахарный диабет 1 типа, тяжелое течение, декомпенсированный. Давность заболевания 10 лет (2000 г.). Аутоиммунный тиреоидит, зуб 2 степени, приобретенный первичный гипотиреоз, декомпенсированный.

Осложненная: Задержка физического и полового развития. Остеопороз

3. Целиакия типичная, период полной компенсации. Диагностирована в 2003 г.

Реабилитации больных с целиакией

Вопросы разработки методов реабилитации с учетом социальной значимости Ц весьма актуальны в настоящее время. В работе, проведенной в Якутске, предложена организационная модель наблюдения больных детей с целиакией в системе муниципального здравоохранения городского округа, включающая в себя взаимодействие 4 направлений проводимых мероприятий (организационного, медицинского, психосоциального и образовательного) [134].

В рамках нашего исследования применены методы повышения уровня знаний больных о целиакии путем обучения в «Школе управления целиакией», психологическая поддержка больного и членов его семьи, коррекция дефицита массы тела путем дополнительного энтерального питания смесью «Нутризон», коррекция нарушений минеральной плотности костной ткани у детей с целиакией. Для пациентов, посещавших занятия в «Школе управления целиакией»,

характерна положительная динамика по уровню снижения антител как АГА класса А ($p=0,009$), так и АГА класса G ($p=0,000$). Для детей, не посещавших «Школу управления целиакией», подобной динамики не было, что свидетельствует о сохраняющемся иммуновоспалительном процессе в тонкой кишке (очевидно, связанном с недостаточно строгим соблюдением БГД). Через 6 месяцев для пациентов, не посещавших «Школу управления целиакией», были проведены дополнительные занятия. Через 1 год наблюдения пациентам с Ц проводилась ФГДС и выполнялась биопсия, после определения АГА, показатели которых находились в пределах референтных значений. Морфометрическое исследование показало восстановление СОТК в группе больных, посещавших занятия в «Школе управления целиакией», в группе пациентов, не прошедших данный этап реабилитации, сохранялись признаки гиперрегенераторной атрофии СОТК. Таким образом, внедрение «Школы управления целиакией» в повседневную врачебную практику является эффективным методом реабилитации.

Целиакия и состояние минеральной плотности костной ткани

Пациентам с Ц и сниженной МПКТ были разработаны реабилитационные мероприятия, которые включали коррекцию рациона питания с оптимальным соотношением минералов и витамина Д, устранение дефицита кальция с помощью фармакологических препаратов карбоната кальция с витамином Д₃ с учетом потребляемого пищевого кальция. Оценку эффективности приема карбоната кальция с витамином Д₃ (Кальций Д₃ Никомед, Норвегия) проводили через 6 месяцев. Полученные результаты исследования показали, что на фоне проведения реабилитационных мероприятий и приема препаратов кальция в группе детей с Ц статистически значимо повысился уровень КЩФ, остеокальцина и отмечено снижение уровня С-концевых телопептидов коллагена 1 типа ($p<0,05$). Снижение резорбции (снижение уровня С-концевых телопептидов) и повышение остеосинтеза (повышение КЩФ, остеокальцина) свидетельствует о стабилизации процессов костного метаболизма. Это также указывает на необходимость

обследования пациентов с Ц с целью выявления снижения МПКТ для последующей коррекции выявленных нарушений.

Белково-энергетическая недостаточность при целиакии
Диспансеризация детей с Ц на фоне БЭН и задержки роста требует дифференцированного подхода к диагностическим и реабилитационным мероприятиям (рисунок 18). Назначение дополнительной нутритивной поддержки («Нутризон») и коротких курсов ретаболила положительно влияет на нутритивный статус больных целиакией и рост.

Использование дополнительного энтерального питания снижает содержание провоспалительных медиаторов и оптимизирует содержание гуморальных факторов защиты организма. На фоне терапии нутритивной недостаточности увеличивается уровень кальция, положительная динамика наблюдается в содержании хрома и кобальта. Только при отсутствии эффекта от лечебных и диагностических мероприятий рекомендуется проба на соматотропную недостаточность [36] (в нашей выборке – 2 детей (2%)).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результатом исследования явилось описание особенностей воспалительного процесса при целиакии, где органом - мишенью аутоиммунного процесса является слизистая оболочка тонкой кишки. Показан вклад HLA-системы и генов-модификаторов иммунного ответа в развитие фенотипов заболевания.

На рисунке 17 представлена рецепция основными клетками иммунного ответа (макрофаги, Т- и В-лимфоциты) биологически активных молекул (IL-1 β , IL-4, IL-10, IL1-Ra, INF- γ , TNF- α), регулируемые генетическими системами (HLA и система генов-модуляторов иммунного ответа) и зависящих от наследуемости, что приводит к миграции интраэпителиальных лимфоцитов в собственную пластинку слизистой тонкой кишки с развитием локального воспаления и повреждения эпителиального барьера кишечника [313].

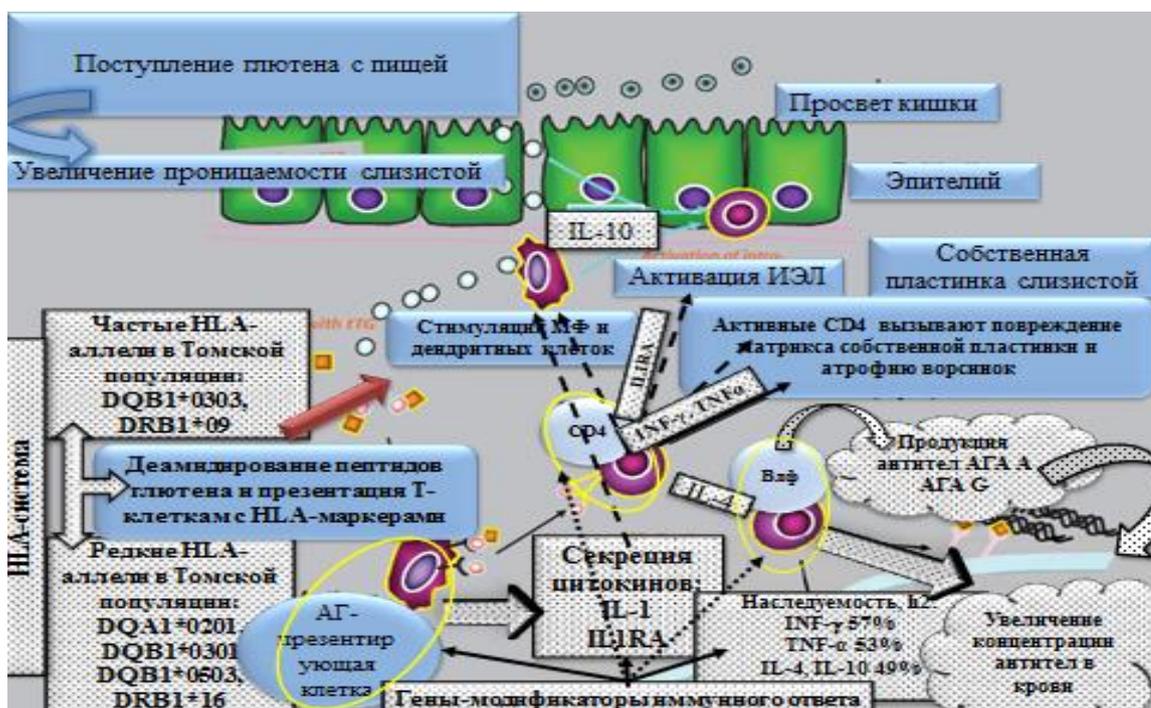


Рисунок 17. Механизмы развития целиакии по D. Schuppan, (2009), дополненные собственными данными (выделены серым цветом)

Таким образом, результатом работы стало определение распространенности верифицированного диагноза целиакии у детей Томской области и Краснодарского края, определение случаев заболевания в группах риска и вклада иммунологических и молекулярно-генетических маркеров заболевания в формирование фенотипов заболевания (типичная и атипичная), что послужило основой для разработки дифференциально-диагностических критериев фенотипов заболевания и подходов к реабилитации.

ВЫВОДЫ

1. Распространенность верифицированного диагноза целиакии среди детей Томской области составила 49,98 на 100 000 детского населения (1:2000 детского населения), в Краснодарском крае - 7,4 на 100 000 детского населения (1:13513 детского населения). Частота целиакии среди sibсов составила 17%, среди родителей пробанда с целиакией больные не выявлены. Сочетание целиакии с сахарным диабетом 1 типа зарегистрировано в 0,7% случаев.

2. На основании разработанной программы для ЭВМ «Регистр целиакия» установлены клинические особенности заболевания у детей Томской области: преобладание типичной формы заболевания, высокая частота дефицитных состояний (белково-энергетическая недостаточность (64%), задержка роста (60%), снижение минеральной плотности костной ткани (37,4%)), сочетанное поражение слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки (60,6%).

3. Хеликобактерная инфекция диагностируется у 1/2 больных целиакией и сопровождается симптомами моторных нарушений верхнего отдела пищеварительного тракта. Лямблиоз встречается у 1/3 детей с целиакией, преимущественно при типичной форме заболевания, для которой характерны снижение аппетита, головная боль, задержка физического развития, стеаторея смешанного типа, резистентность к безглютеновой диете.

4. Больные целиакией, рожденные с симптомокомплексом задержки внутриутробного развития, имеют особенности течения заболевания в виде ранней классической манифестации, высокой частоты формирования дефицитных состояний на фоне повышения уровня провоспалительных (TNF- α , IL-1 β), противовоспалительных (IL-10) цитокинов и их рецепторов (IL1Ra), снижения сывороточного IgA.

5. Для детей с целиакией характерно повышение уровня провоспалительных (TNF- α , IL-1 β) цитокинов и их рецепторов (IL1Ra), иммуноглобулинов G, которые определяют формирование типа целиакии,

развитие осложнений, выраженность морфологических изменений слизистой оболочки тонкой кишки и эффективность патогенетической терапии.

6. В томской популяции больных целиакией носителями предрасполагающих аллелей гена *HLA-DQ2* и *HLA-DQ8* являются 77,6% больных (в краснодарской популяции—48,1%). Генотип DQ2 (DQA1*0501, DQB1*0201) и отдельные его аллели выявлены у 56,6%, генотип DQ8—(DQA1*0301, DQB1*0302) и отдельные его аллели - 21,0% больных томской популяции, установлены новые предрасполагающие (HLA-DRB1*09, HLA-DQB1*0303) и протективные (HLA-DQA1*0201 и HLA-DQB1*0301) аллели.

7. Полиморфные варианты генов семейства *IL1* (TDT=5,823; p=0,016), *IL4* (TDT=12,000; p=0,001), *IL4RA* (OR=7,42, p=0,006) ассоциированы с целиакией. Установлена ассоциация аллеля G полиморфизма rs2243291 гена *IL4* (TDT=12,00; p=0,001) с типичной формой заболевания, задержкой физического развития (TDT=8,491; p=0,004), снижением минеральной плотности костной ткани (TDT=12,023; p=0,001). Обнаружена связь гена *IL1RN* со снижением минеральной плотности костной ткани (TDT=4,225; p=0,040), а *IL1B* с задержкой физического развития (TDT=3,841; p=0,050).

8. Среди родственников пробандов с целиакией установлены однонаправленные изменения гуморального иммунитета (гипергаммаглобулинемия), цитокинового статуса, высокий коэффициент наследуемости пробандом количественных признаков: INF- γ (57,17%), TNF- α (54,18%), IL-4 (49,65%), IL-10 (49,49%), среди sibсов в 72% случаев отмечалось повышение уровня антиглиадиновых антител класса Ig G.

9. Воспалительный процесс при целиакии и муковисцидозе характеризуется повышением провоспалительных цитокинов и различается направленностью вектора содержания противовоспалительных цитокинов в сторону его снижения при муковисцидозе и повышения при целиакии. Фенотипы заболеваний ассоциированы с разными полиморфными маркерами генов-модификаторов иммунного ответа. С развитием муковисцидоза связаны аллель A2 полиморфизма VNTR гена *IL1RN*, аллель C полиморфизма rs2069705 гена *IFN-*

G, а с целиакией ассоциирован аллель A1 полиморфизма rs1143634 гена *IL1B*, аллель G полиморфизма rs2243291 гена *IL4* и генотип VV полиморфизма rs1805010 гена *IL4RA*.

10. Обучение в «Школе управления целиакией» приводит к увеличению информированности пациентов, снижению уровня антиглиадиновых антител и компенсации заболевания в более короткие сроки. Назначение дополнительного энтерального питания улучшает нутритивный статус пациентов, нивелирует дисбаланс микроэлементов. Применение препаратов кальция и витамина D3 благоприятно влияет на минеральную плотность костной ткани.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Диагностика. 1. Разработан алгоритм диагностики целиакии у пациентов с наличием симптомов заболевания (энтерального синдрома) и в группах высокого риска. Генетический этап диагностики у лиц с энтеральным синдромом показан в случаях: а) необоснованного назначения БГД до проведения морфологического исследования; б) затруднении интерпретации данных морфологического исследования. **Последовательность этапов диагностики целиакии: 1 этап.** Серологическое исследование (АГА (АГА А, АГА G), антитела к tTG и др.); **2 этап.** Морфологическое исследование слизистой оболочки тонкой кишки с проведением морфометрии; **3 этап.** Генетическое исследование HLA-специфичностей. **Группу генетического риска** составляют лица с HLA маркерами целиакии. Эта группа формируется из родственников больного, в первую очередь сибсов. В группе генетического риска следует разрабатывать мероприятия первичной профилактики. К ним можно отнести длительное грудное вскармливание, введение безглютеновых прикормов, профилактику вирусных заболеваний и контроль за уровнем антител к tTG и АГА. **Последовательность этапов диагностики целиакии в группе генетического риска: 1 этап.** Генетическое исследование HLA-специфичностей; **2 этап.** Серологическое исследование (АГА (АГА А, АГА G), антитела к tTG и др.); **3 этап.** Морфологическое исследование слизистой оболочки тонкой кишки с проведением морфометрии.

Группу иммунологического риска составляют родственники 1 степени родства пробанда с целиакией, а также пациенты с аутоиммунными и ассоциированными с целиакией заболеваниями. У лиц этой группы отмечается повышение уровня АГА или АТ к tTG на фоне отсутствия атрофических изменений в тонкой кишке. Повышение антител может быть ассоциировано с наличием генетических маркеров заболевания. **Лицам из группы иммунологического риска** может быть предложена вторичная профилактика, включающая те же мероприятия, что и у лиц генетического риска, им также представляется перспективным назначения безглютеновую диету сроком на 3-6 месяцев, с последующим повторным определением уровня антител, при необходимости - проведением морфологического исследования. Последовательность этапов диагностики целиакии в группе **иммунологического риска**: **1 этап.** Серологическое исследование (АГА (АГА А, АГА G), антитела к tTG и др.); **2 этап.** Генетическое исследование HLA-специфичностей; **3 этап.** Морфологическое исследование слизистой оболочки тонкой кишки с проведением морфометрии.

2. Рассчитаны показатели специфичности и чувствительности различных клинико-лабораторных показателей для дифференциальной диагностики типичной и атипичной форм целиакии.

Реабилитация. 1. Разработана и внедрена «Школа управления целиакией», показана ее клиническая эффективность

2. Предложен алгоритм обследования и терапии детей с целиакией и дефицитом массы тела ростом, рисунок 18.

Детям с целиакией, имеющих дефицит массы тела, показано дополнительное питание смесью «Нутризон». Коррекция нутритивной недостаточности смесью «Нутризон» назначается в ситуации: а) рост и масса тела ниже 5 перцентиля; б) наличие белково-энергетической недостаточности; в) отсутствие прибавок массы тела в течение последних 6 месяцев. Детям в возрасте от 2 до 5 лет по 100,0 мл в сутки, пациентам старше 5 лет 200,0 мл в сутки,

продолжительность курса 1 месяц. Перспективным является пролонгированное применение нутритивной поддержки.

3. В комплексной терапии для пациентов с целиакией, осложненной задержкой физического развития, целесообразно использование коротких курсов ретаболила. Назначение ретаболила показано в случае: а) рост и масса тела ниже 5 перцентиля; б) недостаточное влияние диеты на нутритивный статус (отсутствие прибавок массы тела в течение последних 6 месяцев и скорость роста менее 2,5-3 см в год); в) задержка костного возраста более 2 лет; г) нормальные значения общего белка в сыворотке крови. Схема терапии - 0,1 мл на год жизни, 1 инъекция в месяц, № 3.

4. Все пациенты с целиакией должны получать препараты кальция и витамина D₃ в физиологических дозах для профилактики снижения минеральной плотности костной ткани и при ее снижении.

5. Пациентам с целиакией следует исключать хеликобактерную инфекцию, лямблиоз при недостаточной эффективности БГД.

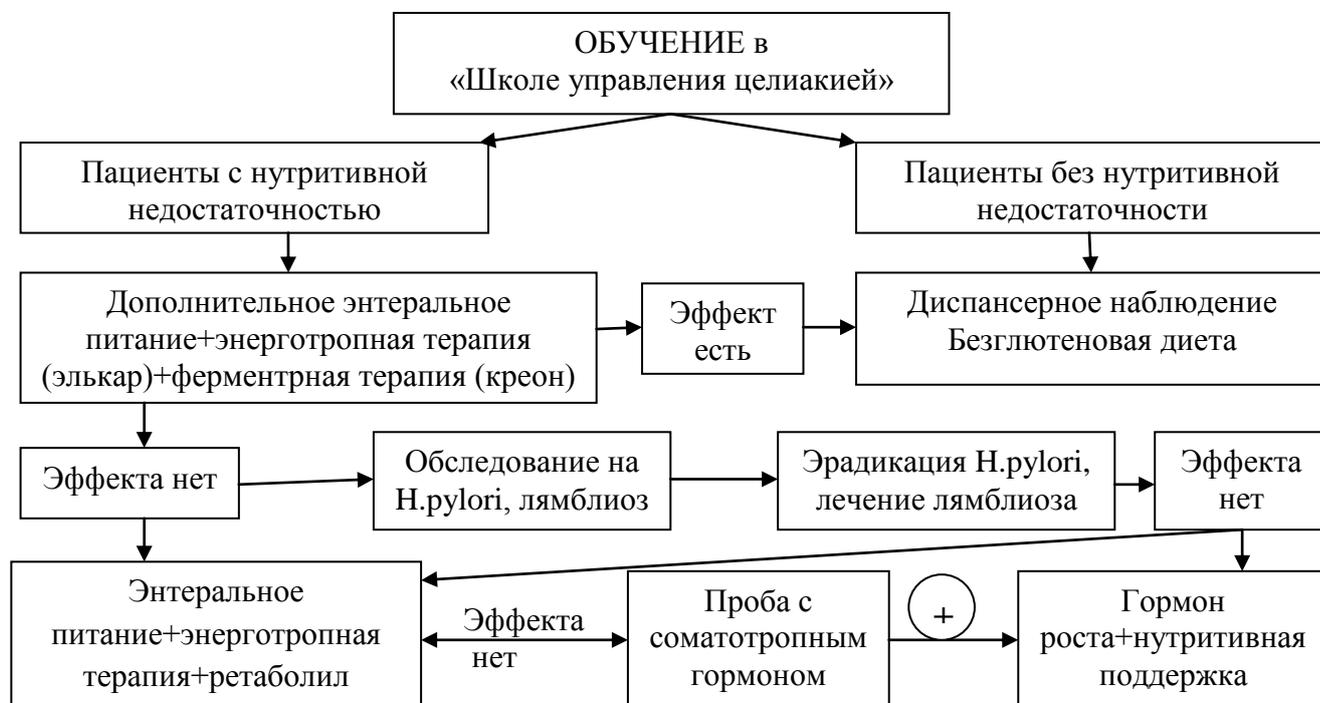


Рисунок. 18. Алгоритм обследования и терапии детей с целиакией с дефицитом массы тела и роста

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

АГА – антиглиадиновые антитела

АИТ – аутоиммунный тиреоидит

АЭА – антиэндомизимальные антитела

БГД – безглютеновая диета

БК – болезнь Крона

ГАГ – гликозаминогликаны

ДБТ – дисфункция билиарного тракта

ДПК – двенадцатиперстная кишка

ЖДА – железодефицитная анемия

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

ЗВУР – задержка внутриутробного развития

ИЭЛ – интраэпителиальные лимфоциты

МВ – муковисцидоз

Мн – моноциты

МПКТ – минеральная плотность костной ткани

Мф - макрофаги

МФЗ – мультифакториальные заболевания

МЭЛ – межэпителиальные лимфоциты

НЯК – неспецифический язвенный колит

ОРВИ – острые респираторные заболевания

РХВ – равновесие Харди-Вайнберга

СД 1 типа – сахарный диабет 1 типа

СМА – синдром мальабсорбции

СО - слизистая оболочка

СОТК – слизистая оболочка тонкой кишки

ТТГ – тиреотропный гормон

ФР – физическое развитие

ХГ – хронический гастрит

Ц – целиакия

ЦТ – целиакия типичная

ЦА – целиакия атипичная

ЮРА – ювенильный ревматоидный артрит

HLA – главный комплекс гистосовместимости

НР - *Helicobacter pylori*

IL – интерлейкин

IFN – интерферон

TDT – критерий оценки отклонения передачи исследуемого

аллеля от гетерозиготных родителей потомкам (Transmission/Disequilibrium Test)

tTG– тканевая трансглутаминаза

VNTR – полиморфизм по числу tandemных повторов (variable number of tandem repeats)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аверкина, Н.А. Особенности течения целиакии у детей при длительной патогенетической терапии : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Н.А. Аверкина. – М., 2007. – 24 с.
2. Алгоритм диагностики болезней тонкой кишки / Н.И. Полева, И.Н. Ручкина, Е.А. Сабельникова, Б.З. Чикунова // Терапевтический архив. – 2008. – Т. 80, № 4. – С. 46–51.
3. Аллергия у детей: от теории – к практике / под ред. Л.С. Намазовой. – Барановой. – М. : Союз педиатров России, 2010-1011. – 668 с.
4. Аллергология и иммунология. Клинические рекомендации для педиатров / под ред. А.А. Баранова, Р.М. Хаитова. – М. : Союз педиатров России, 2008. – 248 с.
5. Аруин, Л.И. Морфологическая диагностика болезней желудка и кишечника / Л.И. Аруин, Л.Л. Капуллер, В.А. Исаков. – М. : Триада - X, 1998. – 483 с.
6. Ассоциация сахарного диабета 1 типа с полиморфными аллелями HLA-DR и DQ-генов в двух русских популяциях – московской и вологодской / М.Н. Кураева, М.Н. Кашенин, Н.М. Болдырева и др. // Сахарный диабет. – 2009. – №2. – С. 28–32.
7. Бандурина, Т.Ю. Лямблиоз у детей / Т.Ю. Бандурина, В.Н. Самарина. – М., 2002. – 40 с.
8. Банина, Т.В. Костная минеральная плотность у детей с целиакией в зависимости от выраженности морфологических изменений : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Т.В. Банина. – М., 2007. – 24 с.
9. Безглютеновая диета: проблема лабораторного контроля / Р.М. Шилина, А.А. Милюкова, И.А. Смирнов, И.Я. Конь // Вопросы детской диетологии. – 2005. – Т. 3, № 1. – С. 97–99.
10. Бельмер, С.В. Пищеварительная недостаточность поджелудочной железы у детей. Дифференцированный подход / С.В. Бельмер, Т.В. Гасилина // Русский медицинский журнал. – 2007. – Т. 15, № 1. – С. 57–60.

11. Бельмер, С.В. Проект рабочего протокола диагностики и лечения целиакии у детей / С.В. Бельмер // Вопросы детской диетологии. – 2004. – № 2. – С. 87–103.
12. Бельмер, С.В. Целиакия: исходы и новые подходы к диагностике / С.В. Бельмер, Т.В. Гасилина // Лечащий врач. Педиатрия. – 2012. – № 8. – С. 56–60.
13. Болдырева, М.Н. HLA (класс II) и естественный отбор. «Функциональный» генотип, гипотеза преимущества «функциональной» гетерозиготности : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / М.Н. Болдырева. – М., 2007. – 47 с.
14. Боярский, С.Н. Необычная частота встречаемости целиакии у больных муковисцидозом / С.Н. Боярский, Г.В. Павлов, Н.В. Никитина // VII Национальный конгресс по муковисцидозу : сборник статей и тезисов. – Воронеж, 2005. – С. 32.
15. Бушина, М.Г. Распространенность и клинико-лабораторные особенности муковисцидоза у детей и подростков Оренбургского региона : автореф. дис. ... канд. мед. наук / М.Г. Бушина. – Оренбург, 2009. – 34 с.
16. Варюшина, Е.А. Провоспалительные цитокины в регуляции процессов воспаления и репарации : автореф. дис. ... д-ра биол. наук / Е.А. Варюшина. – СПб., 2012. – 45 с.
17. Взаимоотношение генотип-фенотип как проблема молекулярной генетики наследственных болезней человека / В.С. Гайцхоки, В.И. Иванов, Н.В. Барышникова и др. // Соросовский образовательный журнал. – 1998. – № 8. – С. 336–341.
18. Влияние полиморфизма генов *IL1B*, *IL1RN*, *IL4*, *ILRA* на развитие синтропных аутоиммунных заболеваний у детей: сахарного диабета 1 типа, аутоиммунного тиреоидита, целиакии / Е.И. Кондратьева, В.П. Пузырев, А.А. Рудко и др. // Медицинская иммунология. – 2006. – Т. 8, № 2. – С. 226–227.
19. Волошина, Л.Г. К вопросу о распространенности целиакии у детей / Л.Г. Волошина, И.Г. Солодовниченко // Материалы 13 конгресса детских гастроэнтерологов России «Актуальные проблемы абдоминальной патологии у детей». – М., 2006. – С. 282–283.

20. Волчкова, Е.В. Глютенчувствительная целиакия. Описание клинического случая / Е.В. Волчкова, С.Г. Терещенко // Фарматека. – 2009. – № 2. – С. 59–63.
21. Вохмянина, Н.В. Опыт HLA-генотипирования больных целиакией. Диагностическая значимость HLA-DQ2 и HLA-DQ8. / Н.В. Вохмянина // Медицинская генетика. – 2010. – Т. 9, № 7. – С. 33–41.
22. Вохмянина, Н.В. Современное представление о целиакии / Н.В. Вохмянина. – СПб. : Изд-во СПбГМУ ; Тверь : Триада, 2009. – 152 с.
23. Гаприндашвили, Е.Г. Факторы риска нарушений костного метаболизма у детей : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Е.Г. Гаприндашвили. – Томск, 2010. – 23 с.
24. Генетика / В.И. Иванов, Н.В. Барышникова, Д.С. Билева и др. – М. : Академкнига, 2006. – С. 378–407.
25. Генетические и иммунологические маркеры воспалительного процесса при муковисцидозе у детей / Е.И. Кондратьева, Г.Н. Янкина, А.А. Рудко и др. // Муковисцидоз у детей и взрослых : сборник статей и тезисов VIII национального конгресса. – Ярославль, 2007. – С. 93–97.
26. Генетические и иммунологические параллели при сахарном диабете, аутоиммунном тиреоидите и целиакии / Е.И. Кондратьева, В.П. Пузырев, А.А. Рудко и др. // Вопросы современной педиатрии. – 2006. – № 5. – С. 732.
27. Геппе, Н.А. Причины бронхиальной обструкции у детей и направления терапии / Н.А. Геппе, Н.А. Селиверстова, В.С. Малышев и др. // Русский медицинский журнал. – 2011. – № 22. – С. 1371–1375.
28. Гланс, С. Медико-биологическая статистика / С. Гланс. – М.: Практика, 1999. – 495 с.
29. Глинкина, И.В. Обучение больных сахарным диабетом второго типа / И.В. Глинкина, Т.И. Романцова, О.В. Роик // Лечащий врач. – 2001. – № 9. – С. 10–15.
30. Глютенчувствительная целиакия и профилактика аутоиммунных и онкологических заболеваний / А.И. Парфенов, Е.А. Сабельникова, Л.М. Крумс, Р.Б. Гудкова // Терапевтический архив. – 2007. – Т. 79, № 2. – С. 5–11.

31. Горгун, Ю.С. HLA 1-го и 2-го классов при целиакии у жителей Беларуси / Ю.С. Горгун, Г.В. Семенов, А.С. Портянко // Клиническая медицина. – 2010. – № 3. – С. 35–40.
32. Горинова, Ю.В. Остеопения при муковисцидозе у детей / Ю.В. Горинова, О.И. Симонова, Л.А. Щеплягина // Муковисцидоз у детей и взрослых: сборник статей и тезисов VIII национального конгресса. – Ярославль, 2007. – С. 59.
33. Громова, А.Ю. Полиморфизм генов семейства IL-1 человека / А.Ю. Громова, А.С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2005. – Т. 4, № 2. – С. 3–12.
34. Губская, Е.Ю. Целиакия – клиника, диагностика, лечение / Е.Ю. Губская // Внутрішня медицина. – 2008. – № 3. – С. 26–31.
35. Данилов, Л.Н. Влияние рецепторного антагониста IL -1 на развитие оксидативного стресса в легких / Л.Н. Данилов, Е.С. Лебедева, И.В. Двораковская и др. // Цитокины и воспаление. – 2003. – № 4. – С. 14–20.
36. Дедов, И.И. Соматотропная недостаточность / И.И. Дедов, А.Н. Тюльпаков, В.А. Петеркова. – М.: Индекс-Принт, 1998. – 312 с.
37. Диагностика муковисцидоза на современном этапе / В.Д. Толстова, Н.И. Капранов, Н.Ю. Каширская, Ю.И. Васильева // Российский педиатрический журнал. – 2006. – № 3. – С. 40–45.
38. Диагностика целиакии: рекомендации Американской гастроэнтерологической ассоциации / American Gastroenterological Association (AGA) Institute Medical Position Statement and Technical Review on the Diagnosis and Management of Celiac Disease // Gastroenterology. – 2006. – Vol. 131. – P. 1977–2002.
39. Диетическая коррекция дефицита кальция у детей с целиакией / А.З. Назарова, Л.М. Карсыбекова, М.Н. Шарипова и др. // Материалы XIII конгресса детских гастроэнтерологов России «Актуальные проблемы абдоминальной патологии у детей» / под ред. В.А. Таболина. – М. : Медпрактика-М, 2006. – С. 295–296.

40. Диетотерапия целиакии: роль безглютеновых продуктов / М.О. Ревнова, М.Н. Шилина, А.А. Милюкова, И.Б. Владимиров // Вопросы детской диетологии. – 2005. – Т. 3, № 1. – С. 48–51.
41. Железникова, Г.Ф. Цитокины как предикторы течения и исхода инфекций / Г.Ф. Железникова // Цитокины и воспаление. – 2009. – № 1. – С. 10–17.
42. Зак, К.П. Хемокины при сахарном диабете 1-го типа у человека / К.П. Зак, В.В. Попова // Украинський медичний часопис. – 2008. – Т. 6, № 68. – С. 69–78.
43. Заключение группы экспертов США, 2004
<http://consensus.nih.gov/cons/118/118celiac.htm>
44. Захарова, И.Н. Целиакия и сахарный диабет I типа у детей / И.Н. Захарова, Е.Н. Андрюхина // Вопросы детской диетологии. – 2011. – Т. 9, № 2. – С. 68.
45. Захарова, И.Н. Целиакия у детей: решенные и нерешенные вопросы этиопатогенеза / И.Н. Захарова, Т.Э. Боровик, Е.А. Рославцева и др. // Вопросы современной педиатрии. – 2011. – № 4. – С. 30–34.
46. Земсков, В.М. Количественный биохимический анализ макрофагов мышечной ткани, стимулированных нуклеинатом натрия / В.М. Земсков, С.Р. Родионов, В.И. Пантин // Иммунология – 1985. – № 6. – С. 53–56.
47. Значение некоторых генов-модификаторов в клиническом течении и исходах муковисцидоза / Н.А. Келембет, Т.Е. Гембицкая, Т.Э. Иващенко и др. // Пульмонология. – 2006. – Прил. – С. 57–60.
48. Иващенко, Т.Э. Биохимические и молекулярно-генетические основы патогенеза муковисцидоза / Т.Э. Иващенко, В.С. Баранов. – СПб. : Интермедика, 2002. – 256 с.
49. Изачик, Ю.А. Синдром мальабсорбции у детей / Ю.А. Изачик. – М.: Корона-принт, 1991. – 304 с.
50. Ильина, Н.И. Иммуноопосредованные воспалительные заболевания. Объединяющая концепция / Н.И. Ильина, Г.О. Гудима // Российский аллергологический журнал. – 2005. – № 1. – С. 3–6.
51. Исследование генетических маркеров HLAII класса у детей казахской национальности, больных целиакией / Т.К. Исабекова, М.Н. Шарипова, А.К.

Машкеев и др. // Материалы юбилейного XV Международного Конгресса детских гастроэнтерологов России и стран СНГ «Актуальные проблемы абдоминальной патологии у детей». – М., 2008. – С. 278–279.

52. К вопросу о дифференциальной диагностики целиакии и аллергической энтеропатии у детей / Е.А. Рославцева, Ю.А. Лысиков, Т.Э.Боровик и др. // Вопросы современной педиатрии. – 2004. – Т. 3, № 5. – С. 24–29.

53. Каганов, Б.С. Н. pylori – инфекция у детей / Б.С. Каганов, В.А. Исаков, С.И. Эрдес. – М. : Династия, 2012. – 140 с.

54. Камалова, А.А. Эволюция подходов к диагностике и терапии целиакии / А.А. Камалова, М.О. Пирогова // Вестник современной клинической медицины. – 2013. – Т. 6, вып 3. – С. 40–48.

55. Камилова, А.Т. Эффективность использования полуэлементной смеси в коррекции энтеральной недостаточности у детей / А.Т. Камилова, Д.Х. Юлдашева // Материалы XVI конгресса детских гастроэнтерологов России и стран СНГ «Актуальные проблемы абдоминальной патологии у детей» / под ред. Ю.Г. Мухиной, С.В. Бельмера. – М. : Медпрактика-М, 2009. – С. 308–310.

56. Капранов, Н.И. Муковисцидоз – национальная приоритетная программа в Российской Федерации / Н.И. Капранов // VIII национальный конгресс «Муковисцидоз у детей и взрослых» : сборник статей и тезисов. – Ярославль, 2007. – С. 3–7.

57. Капранов, Н.И. Муковисцидоз. Достижения и проблемы на современном этапе / Н.И. Капранов, Н.Ю. Каширская, Н.В. Петрова // Клиническая генетика. – 2004. – № 9. – С. 398–412.

58. Капранов, Н.И. Перспективы ранней диагностики и адекватного лечения детей, больных муковисцидозом, в РФ / Н.И. Капранов, Н.Ю. Каширская, В.Д. Шерман // Материалы IX национального конгресса по муковисцидозу «Муковисцидоз у детей и взрослых – 2009» / под ред. Н.И. Капранова, Н.Ю. Каширской. М. : МегаПро, 2009. – С. 9–12.

59. Касаткина, Е.Н. Клинико-лабораторная характеристика различных форм целиакии в зависимости от генетических маркеров заболевания : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Е.Н. Касаткина. – М., 2012. – 25 с.
60. Келембет, Н.А. Значение полиморфных вариантов генов нейрональной и эндотелиальной синтаз оксида азота при хронической колонизации *Ps. Aeruginosa* у больных муковисцидозом / Н.А. Келембет, Т.Е. Гембицкая, Т.Э. Иващенко // Материалы VII национального конгресса по муковисцидозу. – Воронеж, 2005. – С. 55–57.
61. Ким, О.В. Новые подходы в лечении целиакии у детей / О.В. Ким // Вопросы детской диетологии / О.В. Ким // Вопросы детской диетологии. – 2005 – Т. 3, № 1. – С. 76.
62. Киселева, А.Л. Возможности ультрасонометрии в оценке костной прочности у детей: автореф. дис. ... канд. мед. наук / А.Л. Киселева. – Томск, 2010. – 23 с.
63. Киселева, Е.С. Длинноцепочечные полиненасыщенные жирные кислоты в питании детей первого года жизни / Е.С. Киселева // Педиатрия. – 2008. – Т. 87, № 2. – С. 75–81.
64. Клинико-генетические параллели при целиакии у детей Томска / Е.И. Кондратьева, В.П. Пузырев, Л.П. Назаренко и др. // Педиатрическая фармакология. – 2007. – Т. 4, № 5. – С. 25–32.
65. Клиническая аллергология: руководство для практических врачей / под ред. Р.М. Хаитова. – М.:МЕДпресс-информ, 2002. – 624 с.
66. Коваленко, А.А. Целиакия / А.А. Коваленко // Практика педиатра. – 2007. – Март. – С. 6–12.
67. Кокиашвили, В.С. Значение определения остеокальцина как маркера остеопороза у детей с целиакией и вторичным синдромом мальабсорбции / В.С. Кокиашвили, П.В. Новиков // Материалы XVI конгресса детских гастроэнтерологов России и стран СНГ «Актуальные проблемы абдоминальной патологии у детей» / под ред. Ю.Г. Мухиной, С.В. Бельмера. – М. : Медпрактика-М, 2009. – С. 320–321.

68. Комплексная реабилитация детей, больных сахарным диабетом: методические рекомендации / И.И. Дедов, В.Л. Лисс, А.С. Стройкова и др. – М., 1999. – 248 с.
69. Кондратьева, Е.И. К вопросу о классификации целиакии у детей / Е.И. Кондратьева, Г.Н. Янкина // Вопросы детской диетологии. – 2008. – Т. 6, № 2. – С. 81–82.
70. Кондратьева, Е.И. Особенности течения целиакии у больных с задержкой внутриутробного развития / Е.И. Кондратьева, Г.Н. Янкина, Е.В. Лошкова // Материалы XVI Конгресса детских гастроэнтерологов России и стран СНГ «Актуальные проблемы абдоминальной патологии у детей». – М., 2009 – С. 336–338.
71. Кондратьева, Е.И. Целиакия у детей как медико-социальная проблема / Е.И. Кондратьева, Г.Н. Янкина // ГастроNews Лайн. – 2007. – № 3. – С. 31–34.
72. Контроль качества HLA-генов в развитии глютенчувствительной целиакии у детского населения Московского региона / Т.В. Пухликова, Л.Л. Лебедева, Т.А. Астрелина и др. // Вестник Росздравнадзора. – 2011. – № 3. – С. 55–60.
73. Корниенко Е.А. Клиника, диагностика и лечение лямблиоза у детей / Е.А. Корниенко, С.Н. Минина, С.А. Фадина // Педиатрическая фармакология. – 2009. – Т. 6, № 4. – С. 2–7.
74. Корниенко, Е.А. Проблемные вопросы эрадикационной терапии в условиях высокой антибиотикорезистентности / Е.А. Корниенко // Вопросы детской диетологии. – 2007. – Т. 5, № 1. – С. 77–78.
75. Корниенко, Е.А. Синдром мальабсорбции / Е.А. Корниенко. – СПб., 2004. – 36 с.
76. Корытина, Г.Ф. Частоты полиморфных вариантов генов CYP1B1 и CYP2F1 в трех этнических группах жителей Республики Башкортостан и у больных хронической обструктивной болезнью легких / Г.Ф. Корытина, Л.З. Ахмадишина, Т.В. Викторова // Молекулярная биология. – 2010. – Т. 44, № 1. – С. 33–41.
77. Крумс, Л.М. Коррекция нарушений белкового обмена у больных с синдромом нарушенного всасывания / Л.М. Крумс, Е.А. Сабельникова //

- Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2009. – Т. 6, № 6. – С. 21–26.
78. Курилович, С.А. Некоторые итоги и перспективы изучения helicobacter pylori-инфекции в Западной Сибири / С.А. Курилович, О.В. Решетников, Л.Г. Шлыкова // Педиатрия. – 2002. – № 2. – С. 65–71.
79. Куропатенко, М.В. Влияние паразитарных инфекций на иммунный статус в период беременности / М.В. Куропатенко, З.Ш. Азамова, Т.И. Шпилевая // Сибирский медицинский журнал. – 2008. – № 7. – С. 62–64.
80. Лазарева, Т.С. Нутритивная поддержка детей с заболеваниями желудочно-кишечного тракта / Т.С. Лазарева // Трудный пациент. – 2009. – Т. 7, № 1-2. – С. 45–49.
81. Лысиков, Ю.А. Достоверность эндоскопической диагностики. Сообщение 2. Заболевания тонкой кишки / Ю.А. Лысиков, Т.А. Малицына, Е.А. Рославцева и др. // Вопросы детской диетологии. – 2006. – Т. 4, № 5. – С. 17–21.
82. Лямблиоз / Т.И. Авдюхина, Т.Н. Константинова, Т.В. Кучеря, Ю.П. Горбунова. – М., 2003. – 32 с.
83. Мальков, П.Г. Целиакия: современные представления о патогенезе и классификация (обзор) / П.Г. Мальков, Л.В. Москвина, Н.В. Данилова // Успехи современного естествознания. – 2008. – № 8. – С. 27–31.
84. Махмудов, О.С. Метаболические остеопатии при хронических заболеваниях тонкой кишки у детей / О.С. Махмудов, З.М. Абдужаббарова, А.Т. Камилова // Материалы XIII конгресса детских гастроэнтерологов России «Актуальные проблемы абдоминальной патологии у детей» / под ред. В.А. Таболина – М. : Медпрактика-М, 2006. – С. 299–302.
85. Международные согласительные документы по муковисцидозу Европейские консенсусы [Электронный ресурс]. – Режим доступа: : <http://mukoviscidoz.org/26-soglasdoc.html>
86. Методы исследования активности моноцитов периферической крови человека : методическое письмо. – Новосибирск, 1990. – 15 с.

87. Михальчук, В.В. Опыт расширенного скрининга новорожденных по югу Тюменской области за 2003-2005 гг. / В.В. Михальчук, Л.П. Назаренко, О.В. Хуснутдинова // Молекулярно-биологические технологии в медицинской практике / под ред. А.Б. Масленникова. – Новосибирск : Альфа Виста, 2006. – Вып. 9. – С. 131–135.
88. Морфометрические показатели тонкой кишки у детей с целиакией в катамнезе / Н.А. Аверкина, Е.А. Рославцева, А.С. Потапов и др. // Материалы XIII конгресса детских гастроэнтерологов России «Актуальные проблемы абдоминальной патологии у детей» / под ред. В.А. Таболина. – М.: Медпрактика-М, 2006. – С. 289–290.
89. Муковисцидоз (современные достижения и актуальные проблемы): методические рекомендации / под ред. Н.И. Капанова, Н.Ю. Каширской. – М., 2011. – 124 с.
90. Капанов, Н.И. Муковисцидоз. Достижения и проблемы на современном этапе / Н.И. Капанов, Н.Ю. Каширская, Н.В. Петрова // Медицинская генетика. – 2004. – № 9. – С. 398–412.
91. Мухина, Ю.Г. Метаболические изменения при болезнях тонкой кишки и энтеральное питание / Ю.Г. Мухина, О.А. Майорова, Т.А. Боровик // Педиатрия. – 2000. – № 3. – С. 64–66.
92. Мухина, Ю.Г. Современные аспекты проблемы лактазной недостаточности у детей раннего возраста / Ю.Г. Мухина, А.И. Чубарова, В.П. Гераськина // Вопросы детской диетологии. – 2003. – Т. 1, № 1. – С. 50–56.
93. Мухина, Ю.Г. Стадийность активности ферментов тонкой кишки и вегетативного тонуса при гипотрофии у детей с перинатальным поражением ЦНС / Ю.Г. Мухина, А.И. Чубарова, Е.В. Неудахин // Педиатрия. – 2002. – № 3. – С. 30–34.
94. Нарушенное кишечное всасывание у детей / под ред. В.А. Таболина. – М. : СДГ РГА, 1999. – 168 с.
95. Необходимость длительного наблюдения детей с целиакией / Н.А. Аверкина, А.С. Потапов, Т.Э. Боровик, Е.А. Рославцева // Материалы IX

Конгресса педиатров России «Актуальные проблемы педиатрии». – М., 2004. – С. 343.

96. Непереносимость глютена у детей / Ю.Г. Мухина, А.Н. Шумилов, А.Н. Пампура и др. // Вестник педиатрической фармакологии и нутрициологии. – 2006. – Т. 3, № 3. – С. 41–50.

97. Нетребенко, О.К. Иммунонутриенты в питании детей / О.К. Нетребенко, Л.А. Щеплягина // Педиатрия. – 2006. – № 2. – С. 61–65.

98. Новые технологии питания детей, больных целиакией и лактазной недостаточностью: пособие для врачей / А.А. Баранов, Т.Э. Боровик, В.А. Скворцова и др. – М., 2004. – 88 с.

99. О регистре больных целиакией / Е.И. Кондратьева, П.Л. Щербаков, С.В. Бельмер, Г.Н. Янкина // Сибирский вестник гепатологии и гастроэнтерологии. – 2006. – № 20. – С. 67–68. .

100. Одинокова, О.Н. ДНК-диагностика и медико-генетическое консультирование при муковисцидозе в сибирском регионе / О.Н. Одинокова, Л.П. Назаренко // Генетика человека и патология : сборник научных трудов / под ред. В.П. Пузырева. – Томск : Печатная мануфактура, 2007. – Вып. 8. – С. 173–178.

101. Опыт организации медицинской помощи больным целиакией / Е.И. Кондратьева, Т.А. Тухватулина, Л.П. Назаренко и др. // Сибирский вестник гепатологии и гастроэнтерологии. – 2006. – № 20. – С. 73–76.

102. Организация неонатального скрининга муковисцидоза в рамках Приоритетного национального проекта «Здоровье» в Приморском крае / С.В. Воронин, Ф.Ф. Антоненко, С.В. Егорова и др. // VIII Национальный конгресс «Муковисцидоз у детей и взрослых»: сборник статей и тезисов. – Ярославль, 2007. – С. 57.

103. Орешко, Л.С. Целиакия взрослых: особенности патогенеза, клинических проявлений, диагностики, лечения и профилактики осложнений: автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Л.С. Орешко. – СПб., 2008. – 44 с.

104. Орлов, С.Н. Внутриклеточные системы сигнализации и патологии легких. Транспорт ионов в клетках эпителия дыхательных путей / С.Н. Орлов, И.А. Баранова, А.Г. Чучалин // Пульмонология. – 1999. – № 1. – С. 77–84.
105. Особенности развития острофазного ответа и цитокинемии при системной воспалительной реакции инфекционного и неинфекционного генеза / Д. Левит, И.Н. Лейдерман, Е.Ю. Гусев, А.Л. Левит // Инфекции в хирургии. – 2007. – № 1. – С. 33–37.
106. Остеопороз и заболевания желудочно-кишечного тракта – руководство всемирной гастроэнтерологической организации (OMGE) / A.V.R. Thomson, K. Siminoski, M. Fried, R. Saenz и др. // Фарматека. – 2007. – № 6. – С. 67–72.
107. Оценка иммунологических показателей в мокроте больных муковисцидозом / Т.П. Сесь, Е.А. Суркова, Т.Е. Гембицкая и др. // Пульмонология. – 2006. – Прил. – С. 68–71.
108. Палагина, Н.В. Влияние объединения родителей детей, больных целиакией, на качество диетотерапии / Н.В. Палагина // Материалы XIII конгресса детских гастроэнтерологов России «Актуальные проблемы абдоминальной патологии у детей» / под ред. В.А. Таболина. – М.: Медпрактика-М, 2006. – С. 303.
109. Парфенов, А.И. Глютеночувствительная энтеропатия. Целиакия взрослых / А.И. Парфенов // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 1997. – № 3. – С. 25–29.
110. Парфенов, А.И. Диагностика и терапия глютенчувствительной целиакии / А.И. Парфенов, П.Л. Щербаков // Трудный пациент. – 2010. – Т. 8, № 11. – С. 52–56.
111. Парфенов, А.И. Мальабсорбция / А.И. Парфенов // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 1999. – № 1. – С. 62–66.
112. Парфенов, А.И. Современная концепция, дефиниция и классификация целиакии / А.И. Парфенов, Л.М. Крумс, Е.А. Сабельникова // Материалы V съезда научного общества гастроэнтерологов России. – М.: Анахарсис, 2005. – С. 473–475.

113. Парфенов, А.И. Целиакия и эндокринные болезни / А.И. Парфенов // *Consilium medicum. Гастроэнтерология.* – 2009. – № 2. – С. 31–35.
114. Парфенов, А.И. Целиакия. Эволюция представлений о распространенности, клинических проявлений и значимости этиотропной терапии / А.И. Парфенов. – М.: Анахарсис, 2007. – 378 с.
115. Передерий, В.Г. Диагностическая ценность определения антиглиадиновых антител при целиакии / В.Г. Передерий, С.М. Ткач, Е.А. Перекрестова // *Сучасна гастроентерол.* – 2003. – № 2. – С. 7–11.
116. Петрова, Н.В. Молекулярно-генетические и клинико-генотипические особенности муковисцидоза в Российских популяциях: автореф. дис. ... д-ра биол. наук / Н.В. Петрова. – М., 2009. – 41 с.
117. Пирогова, З.И. Современные проблемы диагностики целиакии у детей / З.И. Пирогова, Ф.Н. Рябчук // *Материалы 13 конгресса детских гастроэнтерологов России «Актуальные проблемы абдоминальной патологии у детей».* – М., 2006. – С. 281–282.
118. Полиморфизм гена маннозосвязывающего лектина-2 у больных муковисцидозом, гомозиготных по мутации/ Н.В. Петрова, Е.Е. Тимковская, Е.И. Шаронова и др. // *Медицинская генетика.* – 2007. – Т. 6, № 6. – С. 31–38.
119. Проблемы и успехи программы массового неонатального скрининга на муковисцидоз в России / В.Д. Толстова, Н.И. Капранов, Н.Ю. Каширская и др. // *Муковисцидоз у детей и взрослых: сборник статей и тезисов VIII национального конгресса.* – Ярославль, 2007. – С. 153–159.
120. Пузырев, В.П. Феном и гены-синтропии / В.П. Пузырев // *Генетика человека и патология : сборник научных трудов / под ред. В.П. Пузырева.* – Томск: Печатная мануфактура, 2004. – Вып. 7.– С. 180–191.
121. Пухальский, А.Л. Особенности воспаления при муковисцидозе – мифы и реальность / А.Л. Пухальский, Г.В. Шмарина // *VII Нац. конгресс по муковисцидозу.* – Воронеж, 2005. – С. 69–71.

122. Распространенность полиморфных вариантов генов HLA DQA1 и DQB1 у больных целиакией г. Томска и г. Краснодара / Е.И. Кондратьева, Г.Н. Янкина, О.В. Долбнева // Вопросы детской диетологии. – 2012. – № 2. – С. 11–14.
123. Распространенность полиморфных вариантов генов HLA-DQA1 и HLA-DQB1 у детей с сахарным диабетом 1-го типа Краснодарского края / Е.И. Кондратьева, Н.В. Тарасенко, И.Ю. Черняк и др. // Сибирский медицинский журнал. – 2011. – Т. 26, № 4-2. – С. 56–61.
124. Распространенность целиакии в Нижегородской области среди пациентов группы риска / А.А. Репин, Ю.А. Богдарин, Б.В. Саранцев и др. // Терапевтический архив. – 2008. – № 2. – С. 38–44.
125. Ревнова, М.О. Принципы современного подхода к диетотерапии у больных целиакией / М.О. Ревнова, И.Б. Владимиров // Клиническое питание. – 2004. – № 2. – С. 50–51.
126. Ревнова, М.О. Целиакия у детей / М.О. Ревнова. – СПб., 2005. – 26 с.
127. Ревнова, М.О. Целиакия у детей. Клинические проявления, диагностика, эффективность безглютеновой диеты : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / М.О. Ревнова. – СПб., 2005. – 39 с.
128. Ревнова, М.О. Целиакия: болезнь или образ жизни? / М.О. Ревнова, И.Э. Романовская. – СПб. : Ольга, 2003. – 156 с.
129. Рославцева, Е.А. Особенности лечебного питания при непереносимости углеводов и целиакии у детей / Е.А. Рославцева // Труды XVII Российского национального конгресса «Человек и лекарство». – М., 2010. – Т. 2. – С. 397–402.
130. Российский регистр больных муковисцидозом / Т.Ю. Капустина, С.В. Чесноков, Н.Ю. Каширская, Н.И. Капранов // Пульмонология. 2006. – Прил. – С. 78–80.
131. Рудко, А. А. Аллельные варианты генов подверженности к туберкулезу у тувинцев : автореф. дис. ... канд. мед. наук / А.А. Рудко. – Томск, 2004. – 20 с.
132. Рукавичкин, Д.В. Клинико-генетический полиморфизм муковисцидоза среди населения Краснодарского края : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Д.В. Рукавичкин. – М., 2007. – 21 с.

133. Сабельникова, Е.А. Глютенчувствительная целиакия / Е.А. Сабельникова // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2008. – № 4. – С. 39–49.
134. Саввина, А.Д. Качество жизни и пути совершенствования медико-социальной помощи детям с целиакией : автореф. дис. ... канд. мед. наук / А. Д. Саввина. – Якутск, 2009. – 24 с.
135. Семькин, С.Ю. Анаэробы участвуют и доминируют в бронхиальном секрете детей, больных муковисцидозом / С.Ю. Семькин, Г.А. Осипов // Муковисцидоз у детей и взрослых: сборник статей и тезисов VIII национального конгресса. – Ярославль, 2007. – С. 137–138.
136. Сероклинов, В.Н. Частота, распространенность и клинико-генетическая характеристика муковисцидоза у детей Алтайского края : автореф. дис. ... канд. мед. наук / В.Н. Сероклинов. – Барнаул, 2004. – 22 с.
137. Система HLA и патология человека / под ред. А.А. Баранова, Б.С. Каганова, С.А. Шер, А.Е. Богорад. – М. : Династия, 2003. – 152 с.
138. Скальный, А.В. Химические элементы в физиологии и экологии человека / А.В. Скальный. – М., 2001. – Т. 2, вып. 1. – С. 36–41.
139. Современные подходы к терапии синдрома мальабсорбции у детей / Ю.Г. Мухина, П.В. Шумилов, М.И. Дубровская и др. // Фарматека. – 2006. – № 12. – С. 127.
140. Состояние компонентов природной среды Томской области по данным эколого-геохимического мониторинга и здоровье населения / Н.В. Барановская, Л.П. Рихванов, Е.Г. Языков и др. // Безопасность жизнедеятельности. – 2008. – № 1. – С. 29–37.
141. Состояние медико-социальной реабилитации детей инвалидов в Узбекистане на примере детей с целиакией / А.Т. Камилова, М.Н. Ахмедов, З.М. Абдужаббарова и др. // Материалы XIII конгресса детских гастроэнтерологов России «Актуальные проблемы абдоминальной патологии у детей» / под ред. В.А. Таболина. – М. : Медпрактика-М, 2006. – С. 313–314.
142. Состояние слизистой желудка у детей с целиакией / Ю.А. Лысиков, Е.А. Рославцева, Н.А. Аверкина и др. // Материалы XIII конгресса детских

гастроэнтерологов России «Актуальные проблемы абдоминальной патологии у детей» / под ред. В.А. Таболина. – М.: Медпрактика-М, 2006. – С. 288–289.

143. Специфический иммунный ответ в диагностике целиакии при хронической диарее / Р.Б. Гудкова, Л.М. Крумс, В.Б. Потапова и др. // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2009. – Т. 5, № 5. – С. 47–52.

144. Сравнительная активность антибиотиков в отношении *Pseudomonas aeruginosa* – ведущего возбудителя респираторной инфекции у больных муковисцидозом и пациентов отделения реанимации и интенсивной терапии / Т.С. Сологуб, Т.Н. Суборова, Т.Е. Гембицкая и др. // Пульмонология. – 2006. – Прил. – С. 64–68.

145. Стройкова, М.В. Скрининг населения центрального региона России на антитела класса IgA к тканевой трансглутаминазе и применение данного метода обследования для диагностики целиакии у детей : автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Рязань, 2007. – 29 с.

146. Тимковская, Е.Е. Анализ полиморфизма генов TNFA, LTA, MBL2 и HFE1 у больных муковисцидозом / Е.Е. Тимковская, Н.В. Петрова, Н.Ю. Каширская // VII Национальный Конгресс по муковисцидозу : сборник статей и тезисов. – М., 2005. – С. 78–79.

147. Тимковская, Е.Е. Анализ ряда генов как возможных генов модификаторов клинической картины муковисцидоза у больных из России : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Е.Е. Тимковская. – М., 2007. – 28 с.

148. Тиреоидная дисфункция у детей с целиакией / А.Л. Салпынова, А.К. Машкеев, М.Н. Шарипова и др. // Материалы 13 конгресса детских гастроэнтерологов России «Актуальные проблемы абдоминальной патологии у детей». – М., 2006. – С. 297–298.

149. Ткач, С.М. Целесообразность и клиническая эффективность ферментной терапии у больных целиакией / С.М. Ткач, Е.Ю. Губская // Здоровье Украины. – 2008. – № 6/1. – С. 13.

150. Толстова, В.Д. Массовый скрининг новорожденных на муковисцидоз в России / В.Д. Толстова, Н.Ю. Каширская, Н.И. Капранов // Фарматека. – 2008. – № 1. – С. 38–41.
151. Турчина, В.Н. Целиакия у детей / В.Н. Турчина, Т.А. Табак. – Челябинск, 2004. – 30 с.
152. Ульянова, Л.В. Анализ динамики распространенности муковисцидоза в Воронежском регионе / Л.В. Ульянова, А.Ф. Неретина, В.С. Леднева // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2008. – Т. 7, № 2. – С. 327–330.
153. Урсова, Н.И. Хеликобактерная инфекция у детей: проблема. Анализ обобщенных данных : учебное пособие / Н.И. Урсова. – М., 2009. – 78 с.
154. Успенская, И.Д. К вопросу обоснования выделения периода ранней и поздней ремиссии целиакии / И.Д. Успенская // Вопросы детской диетологии. – 2007. – Т. 5, № 2. – С. 78–79.
155. Успенская, И.Д. Клинико-патогенетическое значение нарушений системы защиты организма при болезнях с синдромом мальабсорбции у детей : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / И.Д. Успенская. – Н. Новгород, 2007. – 41 с.
156. Фенотипические признаки целиакии у детей Узбекской популяции / А.Т. Камилова, З.М. Абдужаббарова, С.А. Пазылова, Н.А. Бахтиярова // Материалы XVI конгресса детских гастроэнтерологов России и стран СНГ «Актуальные проблемы абдоминальной патологии у детей» / под ред. Ю.Г. Мухиной, С.В. Бельмера. – М., 2009. – С. 333–335.
157. Фрейдин, М.Б. Вклад полиморфизма генов интерлейкинов в изменчивость количественных факторов риска атопической бронхиальной астмы / М.Б. Фрейдин, Л.М. Огородова, В.П. Пузырев // Медицинская генетика. – 2003. – Т. 2, № 3. – С. 130–135.
158. Фрейдлин, И.С. Иммунная система и ее дефекты : руководство для врачей / И.С. Фрейдлин. – СПб., 1998. – 113 с.
159. ХЕЛПИЛ-тест и ХЕЛИК-тест для диагностики хеликобактериоза : пособие для врачей / Е.А. Корниенко, В.Л. Эммануэль, М.А. Дмитриенко и др. – СПб. : Изд-во СПбГМУ, 2005. – 20 с.

160. Хеннеси, Е.О. Серологические маркеры целиакии и нарушение моторно-эвакуаторной функции желудка у детей и подростков с сахарным диабетом 1 типа : автореф.дис. ... канд. мед. наук / Е.О. Хеннеси. – М., 2012. – 26 с.
161. Хомерики, С.Г. Патогенетические особенности и морфологические проявления целиакии / С.Г. Хомерики // *Consilium medicum. Гастроэнтерология.* – 2007. – Т. 9, № 1. – С. 34–35.
162. Хорошилов, И.Е. Энтеральное питание в гастроэнтерологии: вчера, сегодня, завтра / И.Е. Хорошилов // *Фарматека.* – 2005. – № 14. – С. 32.
163. Царегородцева, Т.М. Цитокины в гастроэнтерологии / Т.М. Царегородцева, Т.И. Серова. – М: Анахарсис, 2003. – 96 с.
164. Целиакия в XXI веке: взгляд детского невролога (часть 1) / В.М. Студеникин, С.Ш. Турсунхужаева, Т.Э. Боровик и др. // *Вопросы детской диетологии.* – 2010. – Т. 8, № 4. – С. 24–28.
165. Целиакия в XXI веке: взгляд детского невролога (часть 2) / В.М. Студеникин, С.Ш. Турсунхужаева, Т.Э. Боровик и др. // *Вопросы детской диетологии.* – 2010. – Т. 8, № 5. – С. 28–32.
166. Целиакия у детей / под ред. С.В. Бельмера, М.О. Ревновой. – М. : Медпрактика-М, 2010. – 392 с.
167. Целиакия у детей Архангельской области / Г.П. Смирнова, А.В. Тюриков, Т.А. Шкулева, Н.В. Барушева // *Вопросы детской диетологии.* – 2005. – Т. 3, № 1. – С. 87.
168. Целиакия у детей: диагностика и лечение / И.Н. Захарова, Н.А. Коровина, Т.Э. Боровик и др. // *Педиатрия. Consilium medicum.* – 2008. – № 1. – С. 20–25.
169. Целиакия у детей: решенные и нерешенные вопросы организации диагностики и наблюдения / В.Г. Климин, Л.Н. Малямова, А.М. Чередниченко, С.В. Татарева // *Материалы XVI конгресса детских гастроэнтерологов России и стран СНГ «Актуальные проблемы абдоминальной патологии у детей»* / под ред. Ю.Г. Мухиной, С.В. Бельмера. – М.: Медпрактика-М, 2009. – С. 321–322.

170. Целиакия у детей: современный взгляд на проблему: учебно-методическое письмо для врачей / И.Н. Захарова, Т.Э. Боровик, Н.А. Коровина и др. – М., 2011. – 66 с.
171. Чесноков, С.В. Медицинские регистры: опыт и проблемы разработки и внедрения / С.В. Чесноков // Информационные технологии в медицине. – М., 2002. – С. 58–60.
172. Чиковани, И.В. Клинико-морфологические особенности глютенной энтеропатии у взрослых : автореф. дис. ... канд. мед. наук / И.В. Чиковани. – СПб., 2006. – 21 с.
173. Численность и половозрастной состав населения в Томской области : стат. сб. / Томскстат. – Томск, 2012 . – 43 с.
174. Шарипова, М.Н. Клинико-эпидемиологические и генетические особенности целиакии у детей Казахстана / М.Н. Шарипова // Педиатрия. – 2009. – Т. 87, № 1. – С. 105–108.
175. Шарова, Н.И. Выработка интерферона G и интерферона 4 тимоцитами человека *invitro* / Н.И. Шарова, М.М. Литвина, С.В. Шевелев и др. // Цитокины и воспаление. – 2002. - № 4. – С. 10–15.
176. Щеплягина, Л.А. Остеопороз у детей: проблемы и решения / Л.А. Щеплягина, И.В. Круглова, Т.Ю. Моисеева и др. // Российский педиатрический журнал. – 2007. – № 2. – С. 4–8.
177. Щербаков, П.Л. Лечение заболеваний, ассоциированных с инфекцией *Helicobacter pylori* / П.Л. Щербаков, Е.А. Корниенко, В.С. Кашников // Лечащий врач. Симпозиум. – 2010. – № 7. – С.
178. Эмануэль, В.Л. Лабораторная диагностика целиакии / В.Л. Эмануэль, Н.В. Вохмянина, М.О. Ревна // Клиническая лабораторная диагностика. – 2000. – № 5. – С. 37–40.
179. Этиологическая характеристика основных типов хронического гастрита у детей / Г.В. Волынец, Т.А. Гаранжа, А.И. Сперанский и др. // Русский медицинский журнал. – 2005. – Т. 13, № 18. – С. 1208–1214.

180. Янкина, Г.Н. Сочетание целиакии с болезнью Крона и соматотропной недостаточностью / Г.Н. Янкина, Е.И. Кондратьева, В.М. Перельмутер // Бюллетень сибирской медицины. – 2005. – Прил. 2. – С. 69–73.
181. Ярилин, А.А. Иммунология / А.А. Ярилин. – М. : ГЭОТАР–Медиа, 2010. – 752 с.
182. A meta-analysis of genome-wide association scans identifies IL18RAP, PTPN2, TAGAP, and PUS10 as shared risk loci for Crohn's disease and celiac disease / E.A. Festen, P. Goyette, T. Green et al. // PLoS Genet. – 2011. – Vol. 7. – e1001283.
183. A pilot study of recombinant human interleukin-10 in adults with refractory coeliac disease / C.J. Mulder, P.J. Wahab, J.W. Meijer, E. Metselaar // Eur. J. Gastroenterol. Hepatol. – 2010. – Vol. 13. – P. 1183–1188.
184. Abdulkarim, A.S. Review article: The diagnosis of coeliac disease / A.S. Abdulkarim, J.A. Murray // Aliment. Pharmacol. Ther. – 2003. – Vol. 17. – P. 987–995.
185. Activation of TLR-9 induces IL.8 secretion through peroxynitrite signaling in human neutrophils / J. Levent, K. Tarek, E. Driss et al. // J. Immunol. – 2006. – Vol. 176. – P. 1195–1202.
186. Akobeng, A.K. Effects of breastfeeding on risk of CD: a systematic review and meta analysis of observational studies / A.K. Akobeng, AV. Ramanan, I. Buchan et al. // Arch. Dis. Child. – 2006. – Vol. 91. – P. 39–43.
187. Allelic distribution and the effect of haplotype combination for HLA type II loci in the celiac disease population of the Valencian community (Spain) / E. Donat, D. Planelles, A. Capilla-Villanueva et al. // Tissue Antigens. – 2009. – Vol. 73. – P. 255–261.
188. Allison, D.P. Transmission/Disequilibrium Test for quantitative traits / D.P. Allison // Am. J. Hum.Genet. – 1997. – Vol. 60. – P. 676–690.
189. American Gastroenterological Association (AGA) Institute Medical Position Statement and Technical Review on the Diagnosis and Management of Celiac Disease // Gastroenterology. – 2006. – Vol. 131. – P. 1977–2002.

190. Analysis of HLA and non-HLA alleles can identify individuals at high risk for celiac disease / J. Romanos, C.C. van Diemen, I.M. Nolte et al. // *Gastroenterology*. – 2009. – Vol. 137. – P. 834–840.
191. Anthropometric, Serologic, and Laboratory Correlation With Villous Blunting in Pediatric Celiac Disease: Diabetics are Different / M. Jatla, A. Bokhari, P. Bierly et al. // *J. Clin. Gastroenterol.* – Vol. 43. – P. 622–626.
192. Anti-inflammatory cytokines in cystic fibrosis lung disease / V. Starosta, F. Ratjen, E. Rietschel et al. // *Eur. Respir. J.*– 2006. – Vol. 28. – P. 581–587
193. Arthur, J.R. Selenium in the immune system / J.R. Arthur, R.C. McKenzie, G.J. Beckett // *J. Nutr.* – 2003. – Vol. 133. – P. 1457–1459.
194. Association of -1087 IL10 and -308 TNFA gene polymorphisms with serological markers of coeliac disease / M. Hahn-Zoric, A.M. Hytonen, L.A. Hanson et al. // *J. Clin. Immunol.* – 2003. – Vol. 23. – P. 291–296.
195. Aziz, I. Are we diagnosing too many people with coeliac disease? / I. Aziz, D. S. Sanders // *Proceedings of the Nutrition Society*. – 2012. – Vol. 71. – P. 538–544.
196. Bardella M.T. Coeliac disease: a histological follow-up study / M.T. Bardella, P. Velio, BM. Cesana // *Histopatology*. – 2007. –Vol. 50. – P. 465–471.
197. Bernardo, D. Decreased circulating iNKT cell numbers in refractory coeliac disease /D. Bernardo, I.M. Hoogstraten, W.H. Verbeek // *Clin. Immunol.* – 2007. – Vol. 30. – P. 1124–1128.
198. Boat, T.F. Phenotypic diagnosis of CF: Symposium Session Summaries / T.F. Boat // *Pediatr. Pulmonol.* – 1994. – Vol. 10. – P. 135.
199. Bourgey, M. HLA related genetic risk for coeliac disease. / M. Bourgey, G Calcagno, N. Tinto et al. // *Gut*. – 2007. – Vol. 56. – P. 1054–1059.
200. Buri, C. Cytotoxic T cells are preferentially activated in the duodenal epithelium from patients with florid coeliac disease / C. Buri, P. Burri, P. Bähler // *Pathol.* – 2005. – Vol. 206. – P. 178–178.
201. Bush, A. Cystic fibrosis / A. Bush, M. Gotz // *Respiratory Diseases in Infants and Children*. – 2006. – Vol. – P. 234–289.

202. Catassi, C. Celiac disease / C. Catassi, A. Fasano // *Curr. Opin. Gastroenterol.* – 2008. – Vol. 24. – P. 687–691.
203. Catassi, C. Celiac disease diagnosis: simple rules are better than complicated algorithms / C. Catassi, A. Fasano // *Am. J. Med.* – 2010. – Vol. 123. – P. 691–693.
204. Celiac Disease / P.H. Green, Ch. Cellier // *N. Engl. J. Med.* – 2007. – Vol. 357. – P. 1731–1743
205. Celiac disease and type I (insulin-dependent) diabetes mellitus in childhood: follow-up study / R. Lorini, M.S. Scotta, L. Cortona et al. // *J. Diabetes Complications.* – 1999. – Vol. 10. – P. 154–159.
206. Celiac disease in an adult Turkish population with type 1 diabetes mellitus / C. Aygun, S. Uraz, T. Damci, Z. Osar et al. // *Dig. Dis. Sci.* – 2005. – Vol. 50, N 8. – P. 1462–1466.
207. Celiac Disease Pathophysiology / S.S. Kupfer, B. Jabri // *Gastrointest. Endosc. Clin. N. Am.* – 2012. – Vol. 22. – P. 639–660.
208. Celiac Disease, Inflammation and Oxidative Damage: A Nutrigenetic Approach / G. Ferretti, T. Bacchetti, S. Masciangelo, L. Saturni // *Nutrients* – 2012. – Vol. 4. – P. 243–257.
209. Celiac disease: from inflammation to atrophy: a long-term follow-up study / M.L. Lahdeaho, K. Kaukinen, P. Collin et al. // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* – 2005. – Vol. 41. – P. 44–48.
210. Celiac disease: Prevalence, diagnosis, pathogenesis and treatment / N. Gujral, H. J. Freeman, B.R. Thomson // *World. J. Gastroenterol.* – 2012. – Vol. 18. – P. 6036–6059.
211. Celiac Disease: WGO-OMGE Practice Guideline // World Gastroenterology Organisation [Electronic resource]. – 2005. – Mode of access: <http://www.omge.org/globalguidelines/guide13/guideline13.htm>
212. Celiac Disease: WGO-OMGE Practice Guideline // World Gastroenterology Organisation [Electronic resource]. – 2007. – Mode of access: http://www.worldgastroenterology.org/assets/downloads/en/pdf/guidelines/04_celiac_disease.pdf

213. Characterization of IL-17A-Producing Cell in coeliac disease Mucosa / I. Montelione, M. Sarra, G. del Vecchio Blanco et al. // *J. Immunol.* – 2010. – Vol. 184. – P. 2211–2218.
214. Clinical Benefit of a Gluten-Free Diet in Type 1 Diabetic Children With Screening-Detected Celiac Disease: A population-based screening study with 2 years' follow-up / D. Hansen, B. Brock-Jacobsen, E. Lund et al. // *Diabetes Care.* – 2006. – Vol. 29. – P. 2452–2456.
215. Collin, P. Should adults be screened for celiac disease? What are the benefits and harms of screening? / P. Collin // *Gastroenterology.* – 2005. – Vol. 128, 4 Suppl. 1. – P. 104–108.
216. Combination enzyme therapy for gastric digestion of dietary gluten in patients with celiac sprue / J. Gass, M.T. Bethune, M. Siegel et al. // *Gastroenterology.* – 2007. – Vol. 133. – P. 472–480.
217. Co-morbidity of cystic fibrosis and celiac disease in Scandinavian cystic fibrosis patients / G. Fluge, H.V. Olesen, M. Gilljam et al. // *J. Cyst. Fibros.* – 2009. – Vol. 8. – P. 198–202.
218. Concannon, P. Type 1 diabetes: evidence for susceptibility loci from four genome-wide linkage scans in 1, 435 multiplex families / P. Concannon, H.A. Erlich, C. Julier et al. // *Diabetes.* – 2005. – Vol. 54. – P. 2995–3001.
219. Consensus on the use and interpretation of cystic fibrosis mutation analysis in clinical practice / C. Castellani, H. Cuppens, M. Macek Jr. et al. // *Journal of Cystic Fibrosis.* – 2008. – Vol. 7. – P. 179–196.
220. Corazza, G.R. Coeliac disease / G.R. Corazza, V. Villanacci // *J. Clin. Pathol.* – 2005. – Vol. 58. – P. 573–574.
221. Corazza, G.R. Comparison of the interobserver reproducibility with different histological criteria used in coeliac disease / G.R. Corazza, V. Villanacci, C. Zambelli et al. // *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* – 2007. – Vol. 5. – P. 838–843.

222. Cost-effective HLA typing with tagging SNPs predicts celiac disease risk haplotypes in the Finnish, Hungarian, and Italian populations / L. Koskinen, J. Romanos, K. Kaukinen et al. // *Immunogenetics*. – 2009. – Vol. 61. – P. 247–256.
223. Cystic fibrosis is a risk factor for celiac disease / J. Walkowiak, A. Blask-Osipa, A. Lisowska et al. // *Acta Biochim. Pol.* – 2010. – Vol. 57. – P. 115–118.
224. Cystic fibrosis mortality and survival in the United Kingdom: 1947 to 2003 / J.A. Dodge, P.A. Lewis, M. Stanton et al. // *Eur. Respir. J.* – 2007. – Vol. 29. – P. 522–526.
225. Cytokine gene polymorphisms and genetic association with coeliac disease in the Finnish population / N. Woolley, K. Mustalahti, M. Maki, J. Partanen // *Scand. J. Immunol.* – 2005. – Vol. 61. – P. 51–56.
226. Cytokines and adhesion molecules in duodenal mucosa of children with delayed-type food allergy / G. Veres, M. Westerholm-Ormio, J. Kokkonen et al. // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* – 2003. – Vol. 37. – P. 27–34.
227. Dahl, M. Asthma and COPD in cystic fibrosis intron-8 5T carriers. A population-based study / M. Dahl, A. Tybjaerg-Hansen, P. Lange, B.G. Nordestgaard // *Respiratory research*. – 2005. – Vol. 113, N 60. – P. 1155–1163.
228. Daum, S. Refractory coeliac disease / S. Daum, C. Cellier, C.J. Mulder // *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* – 2005. – Vol. 19. – P. 413–424.
229. Dense genotyping identifies and localizes multiple common and rare variant association signals in celiac disease / G. Trynka, K.A. Hunt, N.A. Bockett et al. // *Nat Genet.* – 2011. – Vol. 43. – P. 1193–1201.
230. Diagnosis of celiac disease in clinical practice: physician's alertness to the condition essential / P. Collin, H. Huhtala, L. Virta et al. // *J. Clin. Gastroenterol.* – 2007. – Vol. 41. – P. 152–156.
231. Dicke, W.K. Coeliac disease. II. The presence in wheat of a factor having a deleterious effect in cases of coeliac disease / W.K. Dicke, H.A. Weijers, J.H. van de Kamer // *Acta Paediatr.* – 1953. – Vol. 42. – P. 34–42.
232. Dickey, W. Disappearance of endomysial antibodies in treated celiac disease does not indicate histological recovery / W. Dickey, D.F. Hughes, S.A. McMillan // *Am. J. Gastroenterol.* – 2000. – Vol. 95. – P. 712–714.

233. Differential regulation of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator by interferon γ in mast cells and epithelial cells / M. Kulka, R. Dery, D. Nahirney et al. // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2005. – Vol. 315. – P. 563–570.
234. Duodenal versus jejunal biopsies in suspected celiac disease / W.J. Thijs, J. Baarlen, J.H. Kleibeuker // *Endoscopy.* – 2004. Vol. 36. – P. 993–996.
235. Evaluation of 47213 infants in neonatal screening for cystic fibrosis, using pancreatic-associated protein and immunoreactive tripsinogen assays / S. Barthellemy, N. Maurin, M. Roussey et al. // *Arch. Pediatr.*– 2001. – Vol. 8. – P. 275–281.
236. Farrell, R.J. Celiac sprue / R.J. Farrell, C.P. Kelly // *N. Engl. J. Med.* – 2002. – Vol. 346. – P. 180–188.
237. Fasano, A. Celiac Disease – How to Handle a Clinical Chameleon / A. Fasano // *N. Engl. J. Med.* – 2003. – Vol. 348. – P. 2568–2570.
238. Fasano, A. Early feeding practices and their impact on development of celiac disease / A. Fasano, C. Catassi // *Nestle Nutr Workshop Ser Pediatr Program.* – 2011. – Vol. 68. – P. 201–209.
239. Fasano, A. Surprises from celiac disease / A. Fasano // *Sci. Am.*– 2009. – Vol. 301. – P. 54–61.
240. Fasano, A. Systemic autoimmune disorders in celiac disease/ A. Fasano // *Curr. Opin. Gastroenterol.* – Vol. 22, N 6. – P. 674–679
241. Fleckenstein B. Molecular characterisation of covalent complexes between tissue transglutaminase and gliadin peptides / B. Fleckenstein, S.W. Qiao, M.R. Larsen // *J. Biol. Chem.* – 2004. – Vol. 279. – P. 17607–17616.
242. Flow cytometric measurement of intracellular migration inhibition factor and tumour necrosis factor alpha in the mucosa of patients with coeliac disease / J. O’Keeffe, S. Lynch, A. Whelan et al. // *Clin. Exp. Immunol.* – 2001. – Vol. 125, N 3. – P. 376–382.
243. Fluge, G. Co-morbidity of cystic fibrosis and celiac disease in Scandinavian cystic fibrosis atients / G. Fluge, H.V. Olesen, M. Gilljam, et al. // *J. Cyst. Fibros.* – 2009. – Vol. 8, N 3. – P. 198–202.

244. Giersiepen, K. Accuracy of diagnostic antibody tests for coeliac disease in children: summary of an evidence report / K. Giersiepen, M. Leigemann, N. Stuhldreher // *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* – 2012. – Vol. 54, N 2. – P. 229–241.
245. Gliadin activates HLA class I-restricted CD8+ T cells in celiac disease intestinal mucosa and induces the enterocyte apoptosis / G. Mazzarella, R. Stefanile, A. Camarca et al. // *Gastroenterology.* – 2008. – Vol. 134. – P. 1017–1027.
246. Guideline for the Diagnosis and Treatment of Celiac Disease in Children: Recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* – 2005. – Vol. 40. – P. 1–19.
247. Guidelines for the Diagnosis and Management of CF / WHO/HGN/ICF(M)A. – Geneva, 1996. – 59 p.
248. Herschko, C. Iron and infection / C. Herschko // *Iron Nutr. Health Dis.* – 1996. – Vol. 22. – P. 231–238.
249. Heterogeneity of vitamin D receptor gene association with celiac disease and type 1 diabetes mellitus / J.I. San-Pedro, J.R. Bilbao, G. Perez de Nanclares et al. // *Autoimmunity.* – 2005. Vol. 38, №6. – P. 439 – 444.
250. Hill, I.D. Clinical manifestation and diagnosis of celiac disease in children [Electronic resource] / D.I. Hill. – Electronic data. – 2008. – Mode of access: <http://www.uptodate.com/contents/clinical-manifestations-and-diagnosis-of-celiac-disease-in-children>.
251. HLA related genetic risk for coeliac disease / M. Bourgey, G. Calcagno, N. Tinto et al. // *Gut.* – 2007. Vol. 56, № 8. – P.1054 - 1059.
252. HLA Types in Celiac Disease Patients not Carrying the *DQA1*05-DQB1*02* (DQ2) Heterodimer: Results From the European Genetics Cluster on Celiac Disease / K. Karell, A.S. Louka, S.J. Moodie et al. // *Human Immunology.* – 2003. – Vol. 64. – P. 469–477.
253. HLA-DQ gene dosage and risk and severity of celiac disease / J. A. Murray, S. B. Moore, C. T. Van Dyke et al. // *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* – 2007. – Vol. 5. – P. 1406–1412.

254. HLA-DQ2 and – DQ8 signatures of gluten T cell epitopes in celiac disease / S. Tollefsen, H. Arentz-Hansen, B. Fleckenstein et al. // *J. Clin. Invest.* – 2006. – Vol. 116. – P. 2226–2236.
255. HLA-DW3 associated with coeliac disease // J.J. Keuning., A.S. Peña, A. van Leeuwen et al. // *Lancet.* – 1976. – Vol. 1, N 7958. – P.506–508.
256. http://espghan.med.up.pt/position_papers/Guidelines_on_coeliac_disease.pdf
(повтор 258)
257. <http://celiac.org/celiac-disease/diagnosing-celiac-disease/>
258. <http://www.webmd.com/digestive-disorders/celiac-disease/celiac-disease/>
259. IL-10 polymorphisms are associated with early-onset celiac disease and severe mucosal damage in patients of Caucasian origin /D Barisani, S. Ceroni, R. Meneveri et al. // *Genet. Med.* – 2006. – Vol. 8, N 3. – P. 169–174.
260. IL-15 promotes survival but not effector function differentiation of CD8+ TCRab+ intestinal intraepithelial lymphocytes / Y-G. Lai, V. Gelfanov, V. Gelfanova et al. // *Immunol.* – 1999. – Vol. 163. – P. 5843–5850.
261. Immunologic activity in the small intestinal mucosa of pediatric patients with type 1 diabetes /M. Westerholm-Ormio, O. Vaarala, P. Pihkala, J. Ilonen et al. // *Diabetes.* – 2003. – Vol. 52. – P. 2287–2295.
262. Inflammation, genetics, and longevity: further studies on the protective effects in men of IL-10 –1082 promoter SNP and its interaction with TNF- α –308 promoter SNP / D. Lio, L. Scola, A. Crivello et al. // *J. Med. Genet.* – 2003. – Vol. 40. – P. 296–299.
263. Inflammatory cytokines in small intestinal mucosa of patients with potential coeliac disease / M. Westerholm-Ormio, J. Garioch, I. Ketola, E. Savilanti // *Clin. Exp. Immunol.* –2002. – Vol. 128. – P. 94–101.
264. Influence of TNF -Gene Polymorphismson TNF - Production and Disease / Ali H. Hajeer, Ian V. Hutchinson // *Hum. Immunol.* – 2001. – Vol. 62. – P. 1191–1199.
265. Interleukin-10 inhibits elevated chemokine interleukin-8 and regulated on activation normal T cell expressed and secreted production in cystic fibrosis bronchial epithelial cells by targeting the I(k)B kinase alpha/beta complex / O. Tabary, C. Muselet, S. Escotte et al. // *Am. J. Pathol.* – 2003. – Vol. 162. – P. 293–302.

266. Intestinal tissue transglutaminase in coeliac disease of children and adults: ultrastructural localization and variation in expression / H. Skovbjerg, G.H. Hansen, L.-L. Niels-Christiansen et al. // *Scand. J. Gastroenterol.* – 2004. – Vol. 39, N 12. – P. 1219–1227.
267. Involvement of interleukin-15 and Interleukin -21, two r-chain-related cytokines, in coeliac disease / D. de Nitto, I. Montelione, E. Franzu et al. // *World J. Gastroenterol.* – 2009. – Vol. 15. – P. 4609–4614.
268. Is coeliac disease screening in risk groups justified? A fourteen-year follow-up with special focus on compliance and quality of life / M. Viljamaa, P. Collin, H. Huhtala et al. // *Aliment. Pharmacol. Ther.* – 2005. – Vol. 22. – P. 317–324.
269. Karinen, H. Gene dose effect of the DQB1*0201 allele contributes to severity of coeliac disease / H. Karinen, P. Kärkkäinen, J. Pihlajamäki // *Scand. J. Gastroenterol.* – 2006. – N 41. – P. 191–199.
270. Karinen, H. HLA genotyping is useful in the evaluation of the risk for coeliac disease in the 1st-degree relatives of patients with coeliac disease / H. Karinen, P. Kärkkäinen, J. Pihlajamäki // *Scand. J. Gastroenterol.* – 2006. - №41. - P. 1299-1304.
271. Kelly, C.P. Diagnosis of celiac disease [Electronic resource] / C.P. Kelly. – Electronic data. – 2008. – Mode of access: <http://www.uptodate.com/contents/diagnosis-of-celiac-disease#H1>.
272. Kerem, B. The molecular basis for disease variability in cystic fibrosis / B. Kerem, E. Kerem // *Eur. J. Hum. Genet.* – 1996. – Vol. 4. – P. 65–73.
273. Kiley, S.A. Maldigestion and malabsorhtiou / S.A. Kiley, A.Y. Marsh // *Sleisenger & Fordtran's gastrointestinal and liver disease* / eds. M. Feldman et al. – 6th ed., 1998. – Vol. 2. – P. 1501–1522.
274. Korponay-Szabo, L.R. Pathogenesis of celiac disease // *Materials of CD-Mrdics Traning Seminar «Celiac disease a holistic approach»*, 10 sept. 2009. – P. 8–10.
275. Kostovski, A. Coagulopathy as initial manifestation of concomitant celiac disease and cystic fibrosis: a case report / A. Kostovski, N. Zdraveska // *J. Med. Case Rep.* – 2011. – Vol. 5. – P. 116.

276. Kumar, V. Celiac disease and immunoglobulin A deficiency: how effective are the serological methods for diagnosis? / V. Kumar, M. Jarzabek-Chorzelska, J. Sulej // *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* – 2002. – Vol. 9. – P. 1295–1230.
277. Lack of correlation of degree of villous atrophy with severity of clinical presentation of celiac disease / P. Brar, G.Y. Know, I.I. Egbuna et al. // *Dig. Liver Dis.* – 2007. – Vol. 39. – P. 26–29.
278. Leon, A.J. Cytokines in the pathogeny of celiac disease / A.J. Leon, J.A. Garrote, E. Arranz // *Med.Clin. Barc.* – 2009. – Vol. 15. – P. 508–516.
279. Ludvigsson, J.F. Timing of introduction of gluten and celiac disease risk / J.F. Ludvigsson, A. Fasano // *Ann. Nutr. Metab.* – 2012. – Vol. 60. – Suppl. 2. – P. 22–29.
280. Lundin, K.E.A. Gliadin peptide specific intestinal T-cells in coeliac disease / K.E.A. Lundin, L.M. Sollid // *Gut.* – 2002. – Vol. 52. – P. 162–164.
281. Lung inflammation as a therapeutic target in cystic fibrosis / D.R. Koehler, G.P. Downey, N.B. Swezey et al. // *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* – 2004. – Vol. 31. – P. 377–381.
282. Luoka, A.S. HLA in celiac disease families: a novel test of risk modification by the other haplotype when at least one DQA1*05 DQB1*02 haplotype is carried / A.S. Luoka, S. Nisson, M. Olsson et al. // *Tissue Antigens.* – 2002. – Vol. 60. – P. 147–154.
283. Maglio, M. Serum and intestinal celiac disease-associated antibodies in children with celiac disease younger than 2 years of age / M. Maglio, A. Tosco, F. Paparo // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* – 2010. – Vol. 50, N 1. – P. 43–48.
284. Maki, M. Prevalence of Celiac Disease among children in Finland / M. Maki, K. Mustalahti, J. Kokkonen // *NEJM.* – 2003. – Vol. 348. – P. 2517–2524.
285. Marsh, M.N. *Mucosal pathology in gluten sensitivity*/ ed. M.N. Marsh. – Oxford: Blackwell Scientific, 1992. – P. 136–191.
286. Marsh, M.N. Studies of intestinal lymphoid tissue XIV HLA status, mucosal morphology, permeability and epithelial lymphocyte populations in first degree relatives of patients with coeliac disease/ M.N. Marsh, I. Bjarnason, J. Shaw // *Gut.* – 1990. – Vol. 31. – P. 32–36.

287. Matysiak-Budnik, T. Long-term follow-up of 61 celiac patients diagnosed in childhood: evolution toward latency is possible on a normal diet // T. Matysiak-Budnik, G. Malamut, N. Patey-Mariaud de Serre et al. // *Gut*. – 2007. – Vol. 56. – P. 1339–1340.
288. McDermott, J.H. Celiac disease presenting as resistant hypothyroidism / J.H. McDermott, A. Coss, C.H. Walsh // *Thyroid*. – 2005. – Vol. 15. – P. 386–388.
289. Mention, J.J. Interleukin 15: a key to disrupted intraepithelial lymphocyte homeostasis and lymphomagenesis in celiac disease / J.J. Mention, M. Ben Ahmed, B. Bègue // *Gastroenterology*. – 2003. – Vol. 125. – P. 730–745.
290. Mitsuyasu, H. Ile50Val variant of IL4R alpha upregulates IgE synthesis and associated with atopic asthma / H. Mitsuyasu, K. Izuhara, X-Q. Mao et al. // *Nature Genet*. – 1998. – Vol. 19. – P. 119–120.
291. Moreno, M. L. The IL-1 gene family and bone involvement in celiac disease Immunogenetics / M.L. Moreno, J.B. A. Crusius, A. Cherňavsky // *Immunogenetics*. – 2005. – Vol. 57. – P. 618–620.
292. Mucosal Cytokine Response After Short-Term Gluten Challenge in Celiac Disease and Non-Celiac Gluten Sensitivity / M. Brottveit, A.-C.R. Beitnes, S. Tollefsen et al. // *Am. J. Gastroenterol*. – 2013. – Vol. 108. – P. 842–850.
293. Mulder, C.J. A pilot study of recombinant human interleukin-10 in adults with refractory coeliac disease / C.J. Mulder, P.J. Wahab, Meijer J.W. et al. // *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol*. – 2001. Vol. 13. – P. 1183–1888.
294. Natural history of potential celiac disease in children / A. Tosco, V.M. Salvati, R. Auricchio et al. // *Clin. Gastroenterol. Hepatol*. – 2011. – Vol. 9. – P. 320–325.
295. Neutrophils in cystic fibrosis / D.G. Downey, S.C. Bell, J.S. Elborn // *Thorax*. – 2009. – Vol. 64. – P. 81–88.
296. New Discoveries, New Challenges: Cystic Fibrosis and Inpatient Care [Electronic resource]. – Mode of access: <http://www.pharmacytimes.com/publications/health-system-edition/2013/November2013/New-Discoveries-New-Challenges-Cystic-Fibrosis-and-Inpatient-Care>
297. Nissim-Rafinia, M. The CFTR gene: structure, Mutations and specific therapeutic approaches / M. Nissim-Rafinia, L. Linde, B. Kerem // *Cystic fibrosis in the 21st*

- century / eds. A. Bush, E.W. Alton, J.C. Davies et al. – Prog Respir Res, Basel, Karger, 2006. – Vol. 34. – P. 2–10.
298. No difference in mortality in undetected coeliac disease compared with the general population: a UK cohort study / C. Canavan, R.F. Logan, K.T. Khaw, J. West // *Aliment Pharmacol. Ther.* – 2011. – Vol. 34. – P. 1012–1019.
299. Oberhuber, G. The histopathology of coeliac disease: time for a standardized report scheme for pathologists / G. Oberhuber, G. Granditsch, H. Vogelsang // *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* – 1999. – Vol. 11. – P. 1185–1194.
300. Omitting control biopsy in paediatric coeliac disease: a follow – up study / A. Killander, H. Arnell, L. Hagenas, Y. Finkel // *Acta Paediatr.* – 2007. – Vol. 96. – P. 1190–1194.
301. Osmancevic, L. Frequency of serological tests positive findings for celiac disease at the first relative of children with celiac disease / L. Osmancevic, S. Terzic // *Med. Arh.* – 2011. - Vol. 65, № 6. - P. 354–356.
302. Population-based newborn screening for genetic disorders when multiple mutation DMA testing is incorporated: A cystic fibrosis newborn screening model demonstrating increased sensitivity but more carrier detections / A.M. Comeau, R.B. Parad, H.L. Dorkin et al. // *Pediatrics.* – 2004. – Vol. 113. – P. 1573–1581.
303. Prevalence of celiac disease among school children in Punjab, North India /A. Sood, V. Midha, N. Sood et al. // *J. of Gastroenterology and Hepatology.* – 2006. – Vol. 21, №10. – P. 1622–1625.
304. Rabinovitch, A. Immunoregulation by cytokines in autoimmune diabetes / A. Rabinovitch // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2003. – Vol. 520. – P. 159–193.
305. Rational design of combination enzyme therapy for celiac sprue / M. Siegel, J. Gass, M.T. Bethune et al. // *Chem. BIOL.* – 2006. – Vol. 13. – P. 649–658.
306. Recombinant human interleukin 10 suppresses gliadin dependent T cell activation in ex vivo cultured coeliac intestinal mucosa / V.M. Salvati, G. Mazzarella, C. Gianfrani et al. // *Gut.* – 2005. – Vol. 54. – P. 46–53.

307. Role of autoimmune gastritis, *Helicobacter pylori* and celiac disease in refractory or unexplained iron deficiency anemia / C. Hershko, A.V. Hoffbrand, D. Keret et al. // *Haematologica*. – 2009. – Vol. 90. – P. 585–595.
308. Role of interferon alfa in promoting T helper cell type 1 responses in the small intestine in coeliac disease / G. Montelione, S.L. Pender, E. Alstead et al. // *Gut*. – 2001. – Vol. 48. – P. 425–429.
309. Rosenwasser, L.J. Promoter polymorphisms in the chromosome 5 gene cluster in asthma and atopy / L.J. Rosenwasser, D.J. Klemm, J.K. Dresback et al. // *Clin. Exp. Allergy*. – 1995. – Vol. 25. – P. 74–78, 95–96.
310. Rostom, A. American Gastroenterological Association (AGA) Institute technical review on the diagnosis and management of celiac disease / A. Rostom, JA. Murray, MF. Kagnoff // *Gastroenterology*. – 2006. – Vol. 131. – P. 1981–2002.
311. Rotavirus infection frequency and risk of celiac disease autoimmunity in early childhood: a longitudinal study / L.C. Stene, M.C. Honeyman, E.J. Hoffenberg et al. // *Am. J. Gastroenterol.* – 2006. – Vol. 101. – P. 2333–2340.
312. Sakly, W. Performance of anti-deamidated gliadin peptides antibodies in celiac disease diagnosis / W. Sakly, A.Mankai, A.Ghdess et al. // *Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol.* – 2012. – Vol. 36, N 6. – P. 598–603.
313. Schuppan, D. Celiac disease: from pathogenesis to novel therapies / D. Schuppan, Y. Junker, D. Barisani // *Gastroenterology*. – 2009. – Vol. 137. – P. 1912–1933.
314. Scott, E.M. Guidelines for osteoporosis in celiac disease and inflammatory bowie disease / E.M. Scott, I. Gaywood, B.B. Scott ; British Society of Gastroenterology // *Gut*. – 2000. – Vol. 46. – Suppl. 1.
315. Screening of diabetes, thyroid, and celiac diseases-related autoantibodies in a sample of Turkish children with type 1 diabetes and their siblings / G. Karagüzel, S. Simşek, O. Değer, A. Okten // *Diabetes Research and Clinical Practice*. – 2008. – Vol. 80. – P. 238–243.
316. Searching for wheat plants with low toxicity in celiac disease: Between direct toxicity and immunologic activation / A. Carroccioa, L. di Primab, D. Notob et al. // *Dig. Liver Dis*. – 2011. – Vol. 43. – P. 34–39.

317. Selective I κ B kinase expression in airway epithelium generates neutrophilic lung inflammation / R. Sadikot, W. Han, M. Everhart et al. // *J. Immunol.* – 2003. – Vol. 170. – P. 1091–1098.
318. Shared and distinct genetic variants in type 1 diabetes and celiac disease / D.J. Smyth, V. Plagnol, N.M. Walker et al. // *N. Engl. J. Med.* – 2008. – Vol. 359. – P. 2767–2777.
319. Six new coeliac disease loci replicated in an Italian population confirm association with coeliac disease / J. Romanos, D. Barisani, G. Trynka et al. // *J. Med. Genet.* – 2009. – Vol. 46. – P. 60–63.
320. Sood, A. Prevalence of celiac disease among school children in Punjab, North India / A. Sood, V. Midha, N. Sood et al. // *J. of Gastroenterology and Hepatology.* – 2006. – Vol.21, N 10. – P. 1622–1625.
321. Spectrum of gluten-related disorders: consensus on new nomenclature and classification / A. Sapone, J.C. Bai, C. Ciacci et al. // *BMC Med.* – 2012. – Vol. 10. – P. 13.
322. Steck, A.K. Association of non-HLA genes with type 1 diabetes autoimmunity / A.K. Steck, T.L. Bugawan, A.M. Valdes et al. // *Diabetes.* – 2005. – Vol.54, N 8. – P. 2482–2486.
323. Stratifying risk for celiac disease in a large at-risk United States population by using HLA alleles / M.M. Pietzak, TC. Schofield, MJ. McGinniss et al. // *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* – 2009. – Vol. 7, N 9. – P. 966–971.
324. Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue / L. Shan, O. Molberg, I. Parrot et al. // *Science.* – 2002. – Vol. 297. – P. 2275–2279.
325. Structural basis for HLA-DQ2-mediated presentation of gluten epitopes in celiac disease / L. Book, A. Hart, J. Blak et al. // *Hum. Mol. Genet.* – 2001. – Vol. 6. – P. 1335–1339.
326. Sweat testing infants detected by cystic fibrosis newborn screening / R.B. Parad, A.M. Comeau, H.L. Dorkin et al. // *J. Pediatr.* – 2005. – Vol. 147. – Suppl. – P. S69–S72.

327. T cells from celiac disease lesions recognize gliadin epitopes deamidated in situ by endogenous tissue transglutaminase / O. Molberg, S. McAdam, K.E.A. Lundin et al. // *Eur. J. Immunol.* – 2001. – Vol. 31. – P. 1317–1323.
328. The association of atopy with a gain-of-function mutation in the alpha subunit of the interleukin.4 receptor / G.K. Hershey, M.F. Friedrich, L.A. Esswein et al. // *N. Engl. J. Med.* – 1997. – Vol. 337. – P. 1720–1725.
329. The iceberg of celiac disease: what is below the waterline? / J. West, R.F. Logan, P.G. Hill, K.T. Khaw // *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* – 2007. – Vol. 5. – P. 59–62.
330. The Molecular Genetic Epidemiology of Cystic Fibrosis: From Report of a Joint Meeting of WHO/HGN/CF/WG/04.02. – 24 p.
331. The Oslo definitions for coeliac disease and related terms [Electronic resource] / J.F. Ludvigsson, D.A. Leffler, J.C. Bai et al. // *Gut.* – 2012. – Mode of access: <http://gut.bmj.com/content/early/2012/02/15/gutjnl-2011-301346.full>
332. The simultaneous presence of IL-1B and TNFA two-positions risk haplotypes enhances the susceptibility for celiac disease / A.C. Cherňavsky, M.C. Páez, N. Periolo et al. // *Cytokine.* – 2008. – Vol. 42. – P. 48–54.
333. Utility in clinical practice of immunoglobulin a anti-tissue transglutaminase antibody for the diagnosis of celiac disease / J.A. Abrams, P. Brar, B. Diamond et al. // *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* – 2006. – Vol. 4. – P. 726–730.
334. Valletta, E.A. Incidence of celiac disease in a cystic fibrosis population / E.A. Valletta, G. Mastella // *Acta Paediatr. Scand.* – 1989. – Vol. 78. – P. 784–785.
335. Villanacci, V. Coeliac disease and bowel disease: Business association or casual meeting? / Vincenzo Villanacci, G. Bassotti // *Dig. Liver Dis.* – 2010. – Vol. 42. – P. 175–178.
336. Villanacci, V. Histological aspects of the terminal ileum: A windows on coeliac disease too? / V. Villanacci, G. Bassotti // *Dig. Liver Dis.* – 2006. – Vol. 38. – P. 820–822.
337. Vincentini, O. Docosahexaenoic acid modulates in vitro the inflammation of celiac disease in intestinal epithelial cells via the inhibition of cPLA2 / O.Vincentini, M.G. Quaranta, M. Viora et al. // *Clin. Nutr.* – 2011. - Vol. – 30. - P. 541–546

338. Walkowiak, J Cystic fibrosis is a risk factor for celiac disease / J. Walkowiak, A. Blask-Osipa, A. Lisowska et al. // *Acta Biochim. Pol.* – 2010. - Vol.57, № 1. - P.115-118.
339. Weir, DC. Variability of histopathological changes in childhood celiac disease. / DC. Weir, JN. Glickman, T. Roiff et al. // *J Gastroenterol.* – 2010. - Vol. 105, № 1. – P. 207-212.
340. Wilcken, B. Newborn screening for cystic fibrosis: techniques and strategies / B. Wilcken // *J. Inherit Metab. Dis.* – 2007. – Vol. 30. – P. 537–543.
341. Wilson, M. Bacterial perturbations of cytokines networks // M. Wilson, R. Seymour, B. Henderson // *Infect. Immun.* – 1998. – T. 66, N 6. – P. 2401–2409.
342. Witt, M. Chronic pancreatitis and cystic fibrosis / M. Witt // *Gut.* – 2003. – Suppl. 2. – P. 1131–1141.