

На правах рукописи

ВОХМЯНИНА
Наталья Васильевна

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ЦЕЛИАКИИ:
ПРИНЦИПЫ И АЛГОРИТМЫ

14.03.10 – Клиническая лабораторная диагностика

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Санкт-Петербург – 2016

Работа выполнена в ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

- Научный консультант: Вавилова Татьяна Владимировна
доктор медицинских наук, профессор
- Официальные оппоненты: Баранов Владислав Сергеевич,
член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор,
заслуженный деятель науки РФ,
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта»,
заведующий лабораторией пренатальной диагностики врожденных и наследственных болезней
- Бельмер Сергей Викторович,
доктор медицинских наук, профессор,
ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
профессор кафедры госпитальной педиатрии № 2 педиатрического факультета
- Чухловин Алексей Борисович,
доктор медицинских наук, профессор,
ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
профессор кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины
- Ведущая организация: ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г.Москва)

Защита состоится «__» _____ 2016 года в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 205.001.01 при ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России по адресу: 194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 4/2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России по адресу: 197374, Санкт-Петербург, ул. Оптиков, д. 54 и на сайте <http://www.arcerm.spb.ru>

Автореферат разослан «__» _____ 2016 года

Ученый секретарь диссертационного совета
кандидат медицинских наук

М.В. Санников

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Целиакия (coeliac disease; греч.: koilikos; англ.: coeliac disease — кишечный, страдающий расстройством кишечника; син.: глютенчувствительная энтеропатия, идиопатическая стеаторея, нетропическая спру, шифр по МКБ X – K90.0) — генетически детерминированное заболевание, которое характеризуется стойким отсутствием толерантности к глютену (клейковинный белок злаковых культур - пшеница, рожь, ячмень, овес), и развитием атрофической энтеропатии. Долгое время целиакия считалась редким заболеванием раннего возраста. Однако в настоящее время установлена высокая частота целиакии (1-3% от численности Европейской популяции), с возможностью манифестировать в любом возрасте (Koning F., 2012; Bai J.C., Fried M. et al., 2013).

Целиакия, как мультифакторное заболевание, характеризуется клиническим полиморфизмом и многочисленностью трудно диагностируемых форм, которые, составляют до 59% у взрослого контингента больных и до 40% - в детской возрастной категории (Ludvigsson J.F., 2013; Singh P., Makheria G.K., 2014). Запоздывание с диагностикой и лечением сказывается на тяжести клинических проявлений, часто приводит к развитию аутоиммунных осложнений и онкологических заболеваний желудочно-кишечного тракта со снижением трудоспособности и увеличением риска инвалидизации и смертности, в том числе у молодого, трудоспособного населения (Бельмер С.В., 2012; Kumar V., 2012). Сложности в постановке диагноза «целиакия» усугубляются несовершенством лабораторной диагностики. Установленная зависимость чувствительности диагностических тестов от степени поражения слизистой оболочки тонкого кишечника (СОТК) определяет ложноотрицательные результаты при начальных признаках поражения СОТК, которые вместе с возможностью получения ложноположительных результатов, способствуют увеличению количества диагностических ошибок (DeGaetani M., Tennyson C.A. et al., 2013; Rubio-Tapia A., D.Hill I. et al., 2013). По данным разных авторов, ложноотрицательные результаты обследования могут составлять от 6,0% до 22%, а ложноположительные результаты, например, при других заболеваниях тонкого кишечника, имеющих схожую с целиакией клиническую картину – 27,83% (Анциферова О.В., 2014; Захарова И.Н., Боровик Т.Э. и др., 2011; Dharmesh H., Kaswala D. et al., 2015). Кроме этого, необоснованные ограничения в употреблении глютенсодержащих продуктов до проведения первичного обследования, неправильная интерпретация результатов гистоморфологического и морфометрического исследования биопсийного материала также являются причиной неправильной постановки диагноза (Bai J.C., Fried M. et al., 2013).

Степень разработанности темы исследования.

Увеличивающаяся распространенность вместе с необходимостью обобщения и анализа накопившегося материала по изучению диагностики и лечения целиакии привели к разработке новых диагностических подходов и методов, отвечающих современным требованиям. В 2012 году Европейским обществом педиатрической гастроэнтерологии, гепатологии и нутрициологии (ESPGHAN) были опубликованы рекомендации по диагностике и лечению целиакии у детей (European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition Guidelines for the Diagnosis of Coeliac Disease). Для взрослой категории пациентов последние практические рекомендации приняты в 2013 году Американской коллегией гастроэнтерологов (ACG Clinical Guidelines: Diagnosis and Management of Celiac Disease), Британским обще-

ством гастроэнтерологов (Diagnosis and management of adult coeliac disease: guidelines from the British Society of Gastroenterology), а также Всемирной организацией гастроэнтерологов (World Gastroenterology Organisation global guidelines on celiac disease). Представленные в рекомендациях по диагностике и лечению целиакии результаты и подробный анализ по изучению известных маркеров расширили диагностические возможности выявления целиакии. Однако, имеющие место отличия в диагностическом подходе и разная оценка диагностических возможностей лабораторных тестов определяют необходимость дальнейшего совершенствования протоколов обследования.

В России в 2014 году приняты Национальные рекомендации по диагностике и лечению целиакии взрослых. В 2015 году утверждены Федеральные клинические рекомендации по оказанию медицинской помощи детям с целиакией. Тем не менее, задача своевременного выявления целиакии продолжает оставаться актуальной в связи с отсутствием четко обозначенных принципов лабораторной диагностики, диагностической информативности новых тестов и единого комплексного диагностического подхода с учетом системного анализа накопленных данных. Рекомендованные Федеральными клиническими рекомендациями по оказанию медицинской помощи детям с целиакией (2015г.) алгоритмы обследования ESPGHAN (2012г.) не адаптированы к отечественным лабораторным тестам, которые используются для диагностики целиакии в России. Другие операционные характеристики и верхний предел референтного интервала у отечественных тестов определяют иной уровень антител для достижения 100% предсказательной ценности положительного результата, что приводит к увеличению диагностических ошибок при использовании протоколов ESPGHAN.

Таким образом, совершенствование диагностических протоколов с учетом четко обозначенных принципов, вновь сформулированных и известных клинико-диагностических критериев, реализованных в алгоритме лабораторной диагностики, обеспечит возможность своевременного выявления целиакии, позволит существенно снижать процент не диагностируемых форм, тяжесть исходов заболевания и будет способствовать эффективному лечению и мониторингу диетотерапии. Успешное выполнение адекватных лечебно-оздоровительных мероприятий, предупреждающих формирование осложнений заболевания, значительно повысит уровень социальной адаптации и психологической реабилитации больных целиакией. Все вышесказанное определяет актуальность темы диссертационного исследования.

Цель исследования

На основе оценки диагностической информативности современных лабораторных тестов обосновать диагностические критерии, принципы лабораторной диагностики целиакии и разработать алгоритмы обследования для своевременного выявления заболевания и оптимизации лечения.

Задачи исследования

1. Оценить диагностическую информативность тестов по определению антител к тканевой трансглутаминазе (ТГА) и к эндомизию (ЭМА) для дифференциальной диагностики воспалительных заболеваний кишечника с формированием критерия дифференциальной диагностики и проанализировать с применением принципов этапности и взаимозависимости целесообразность модификации верхнего предела референтного интервала ТГА для достижения 100% предсказательной ценности положительного результата на первом этапе диагностики целиакии.

2. На основании операционных характеристик лабораторных тестов по определению антител к дезаминированным пептидам глиаина (ДПГА) и к тканевой трансглутаминазе в капиллярной крови (ТГА-к) определить диагностическую информативность, а также провести анализ комбинаций тестов ДПГА и ТГА с учетом принципа системной интеграции.

3. Установить прогностическую значимость субэпителиальных тканевых трансглутаминазных депозитов (ТТ-д) в слизистой оболочке тонкого кишечника для выявления субклинических форм и ранней диагностики целиакии. Изучить взаимосвязь дефицита карнитина, как дополнительного маркера целиакии, со степенью поражения слизистой оболочки тонкого кишечника у больных целиакией для оценки эффективности проводимого лечения.

4. Изучить распределение HLA-гаплотипов (HLA-DQ2, HLA-DQ8), ассоциированных с целиакией, в популяции Российской Федерации, установить их диагностическую значимость и сформулировать диагностический критерий исключения целиакии для пациентов, имеющих генетический риск.

5. Для оптимизации лечения разработать новый диагностический подход по выявлению иммунологической толерантности у больных целиакией к авенинам наиболее распространенных пищевых сортов овсов.

6. Разработать алгоритмы обследования для групп риска и пациентов с подозрением на целиакию с учетом сформированных критериев и основных принципов лабораторной диагностики.

Научная новизна и теоретическая значимость работы

На основании проведенных лабораторных исследований систематизирована значимость сывороточных маркеров целиакии, которые дают четкое представление о механизмах длительно протекающего воспалительного (иммунологического) процесса, вызванного действием глютена.

Подтверждено, что наличие субэпителиальных тканевых трансглутаминазных депозитов в слизистой оболочке тонкой кишки свидетельствует о генерализации патологического иммунного процесса.

Установленная высокая специфичность антител к дезаминированным пептидам глиаина подтверждает феномен молекулярной (эпитопной) мимикрии, предполагающей формирование антигенной детерминанты, похожей на эпитоп тканевой трансглутаминазы.

Впервые показано отсутствие ложноположительных результатов у теста по определению антител к эндомиозию при проведении дифференциальной диагностики в группах пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника (болезнь Крона и язвенный колит) определяет ЕМА как критерий дифференциальной диагностики.

Впервые выявлено отсутствие зависимости субэпителиальных депозитов к тканевой трансглутаминазе от степени поражения слизистой оболочки тонкой кишки и показано значение субэпителиальных депозитов к тканевой трансглутаминазе, как дополнительного маркера, для ранней диагностики целиакии и ее субклинических форм. Установлена диагностическая эффективность субэпителиальных депозитов к тканевой трансглутаминазе слизистой оболочки тонкой кишки для выявления эпизодического нарушения диетотерапии.

Впервые определено значение дополнительных маркеров целиакии, на примере карнитина и его эфиров (ацилкарнитинов) для оценки поражения слизистой оболочки тонкой кишки и эффективности лечения.

Изучены HLA-гаплотипы в популяции Российской Федерации, ассоциированные с целиакией, определена распространенность и подтверждена их значимость для развития болезни. Впервые установлено, что увеличение доли носительства рискованных гаплотипов при нарастании степени поражения слизистой тонкого кишечника позволяет прогнозировать клиническое течение целиакии.

Разработан новый диагностический подход для выявления иммунологической толерантности у больных целиакией к определенным сортам овсов («Пушкинский» и «Астор»), позволяющий оптимизировать лечение.

Впервые разработаны новые диагностические критерии для исключения целиакии – комбинация тестов ЕМА + IgA-ТТА (прогностическая ценность отрицательного результата - 100%) и подтверждения целиакии – комбинация тестов IgA-ТТА + определение субэпителиальных депозитов в биоптатах СОТК + характерные для целиакии гистоморфологические и морфометрические изменения в биоптатах СОТК (прогностическая ценность положительного результата - 100%).

Сформулированы основные принципы лабораторной диагностики и диагностические критерии для выявления целиакии.

Практическая значимость работы

Обоснована возможность включения дезаминированных пептидов глиаина в программу обследования, как информативного теста, для диагностики целиакии. Доказана необходимость определения антител к дезаминированным пептидам глиаина IgG-класса вместо неспецифических антител к тканевой трансглутаминазе и к глиадину IgG-класса (IgG-ТТА и IgG-АГА) для достоверного выявления целиакии у больных с селективным IgA-иммунодефицитом.

Определены условия использования иммунохроматографического экспресс-метода для мониторинга диетотерапии у больных целиакией

Предложен лабораторный метод определения субэпителиальных тканевых трансглутаминазных антител в слизистой оболочке тонкой кишки, позволяющий выявлять субклинические формы целиакии и проводить мониторинг диетотерапии.

Определены сорта овсов («Пушкинский», «Астор»), не вызывающие патологическую иммунную реакцию и являющиеся наиболее безопасными для включения в рацион питания больных целиакией.

Разработаны алгоритмы лабораторного обследования больных с подозрением на целиакию и групп риска, которые позволяют своевременно выявлять данное заболевание и эффективно мониторить диетотерапию у больных с глютеновой энтеропатией.

Положения, выносимые на защиту:

1. IgA-ТТА являются чувствительными маркерами целиакии, но высокая вероятность получения ложноположительных результатов вызывает необходимость верификации диагноза более специфичным ЭМА-тестом. Модификация верхнего предела референтного интервала ТТА для соответствия 100% предсказательной ценности положительного результата с целью сокращения сроков обследования, приводит к увеличению ложноотрицательных результатов и не решает проблем с ранней диагностикой целиакии.

2. Высокая диагностическая информативность лабораторного теста по определению ДППА и специфичность IgG-ДППА для выявления селективного IgA-дефицита повышают эффективность диагностики целиакии. Операционные характеристики экспресс-теста для определения антител к тканевой трансглутаминазе в капиллярной крови не могут конкурировать с другими лабораторными тестами

(ЭМА, ГТА), поэтому применение этого теста в настоящее время диагностически не оправдано.

3. Протективный ретроцитоз объясняет возможность раннего субэпителиального депонирования в СОТК антител к тканевой трансглутаминазе (IgA-ТТ-д), независимо от степени ее повреждения, что повышает диагностическую эффективность определения IgA-ТТ-д для своевременного выявления целиакии и эпизодического нарушения диетотерапии. Вторичный дефицит карнитина и его эфиров (ацилкарнитинов), связанный с поражением СОТК, служит дополнительным критерием эффективности терапии, позволяющей избежать развитие осложнений заболевания.

4. Отсутствие носительства HLA-DQ2 и HLA-DQ8 гаплотипов у лиц групп риска исключает целиакию на начальном этапе обследования, способствуя снижению количества повторных лабораторных исследований, сокращению цикла обследования, уменьшению ошибок и задержек в принятии клинического решения.

5. Разная иммунологическая толерантность к авенинам овсов у больных целиакией обеспечивает основу индивидуализации и сбалансированности питания, оптимизирующей лечение больных целиакией.

6. Основными принципами лабораторной диагностики целиакии являются этапность выполнения исследований, их взаимозависимость, системная интеграция, синергизм, которые вместе с разработанными клинико-диагностическими критериями определяют построение алгоритмов с высокой диагностической эффективностью, обуславливающей раннее выявление целиакии.

Возможные области применения и формы внедрения. Клиническая лабораторная диагностика, гастроэнтерология, терапия. Экономический эффект от внедрения будет определяться своевременным выявлением целиакии, а также оценкой успешного выполнения адекватных лечебно-оздоровительных мероприятий, предупреждающих формирование многочисленных осложнений и инвалидизацию пациентов.

Методология и методы исследования. Методологической основой диссертационного исследования явилось последовательное применение методов научного познания. Работа выполнена в дизайне сравнительного открытого исследования с использованием клинических, лабораторных, аналитических и статистических методов. Для реализации цели исследования и обоснования основных положений был проведен аналитический обзор отечественной и зарубежной литературы.

Степень достоверности и апробация результатов исследования. Достоверность полученных результатов обеспечивалась как теоретическим анализом проблемы, так и репрезентативностью объема выборок обследованных пациентов, использованием современных методов исследований и достоверным статистическим анализом данных.

Основные положения работы, а также результаты исследований доложены на Международных Славяно-Балтийских научных форумах «Санкт-Петербург – Гастро – 2003, 2004, 2005, 2006, 2007, 2008, 2009, 2010, 2011, 2012, 2013, 2014, 2015»; 3-ем Российском конгрессе «Современные технологии в педиатрии и детской хирургии» (Москва, 2004); 11-ом Конгрессе детских гастроэнтерологов России «Актуальные вопросы абдоминальной патологии у детей» (Москва, 2004); юбилейной конференции «Медико-генетическая служба Санкт-Петербурга (к 35-летию медико-генетического центра, Санкт-Петербург, 2004); 5-ом съезде Российского общества медицинских генетиков (Уфа, 2005); 6-ом съезде Научного обще-

ства гастроэнтерологов России (Москва, 2006); 4-ом съезде медицинских генетиков Украины (Львов, 2008); 2-ом Российском форуме «Здоровье детей: профилактика социально-значимых заболеваний» (Санкт-Петербург, 2008); 3-ем Международном конгрессе «Наследственные метаболические заболевания» (Харьков, Украина, 2008); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Оптимизация диалога клинициста и лаборатории у постели больного» (Санкт-Петербург, 2008); юбилейной конференции «Современные технологии профилактики наследственных болезней и детской инвалидности» (к 40-летию Медико-генетического центра, Санкт-Петербург, 2009); 4-ой Междисциплинарной конференции по акушерству, перинатологии, неонатологии «Здоровая женщина-здоровый новорожденный» (Санкт-Петербург, 2009); Конгрессе с международным участием «Актуальные проблемы акушерства и гинекологии, клинической иммунологии и медицинской генетики» (Киев, 2010); Первой Всероссийской конференции по редким болезням и редко применяемым медицинским технологиям «Дорога жизни» (Санкт-Петербург, 2010); Заседании Санкт-Петербургского филиала Российского научного общества детских гастроэнтерологов (Санкт-Петербург, 2010); Международном форуме «Биоиндустрия» (номинация «Биотехнологические решения для здравоохранения»), Санкт-Петербург, 2011; Симпозиуме «Плюсы и минусы современной диагностики целиакии» в рамках XII съезда Научного общества гастроэнтерологов России «Классическая и прикладная гастроэнтерология» (Москва, 2012); Научно-практической конференции «Новые аспекты дието- и фармакотерапии при патологии органов пищеварения у детей» (Санкт-Петербург, 2012); 5-ой Всероссийской конференции с международным участием «Пренатальная диагностика и генетический паспорт – основа профилактической медицины в век нанотехнологий» (Санкт-Петербург, 2012); 2-ом Российском конгрессе с международным участием «Молекулярные основы клинической медицины – возможное и реальное» (Санкт-Петербург, 2012); 39 научной сессии Центрального научно-исследовательского института гастроэнтерологии «Мультидисциплинарный подход к гастроэнтерологическим проблемам» (Москва, 2013); 42 научной сессии Центрального научно-исследовательского института гастроэнтерологии «Принципы доказательной медицины в клиническую практику» (Москва, 2016); Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Пищевая непереносимость у детей. Современные аспекты диагностики, лечения, профилактики и диетотерапии», Санкт-Петербург, 2016.

Результаты проведенной работы используются в практической деятельности СПб ГКУЗ «Медико-генетический центр», ГБУЗ «Городская поликлиника №23», в гастроэнтерологическом отделении клиник СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России, отделения гастроэнтерологии Республиканского специализированного научно-практического центра педиатрии Республики Узбекистан. Теоретические результаты работы и апробированные диагностические методы целиакии нашли применение в учебном процессе на кафедре клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины ГБОУ ВПО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России.

По теме диссертации опубликовано 49 работ, среди них монография, учебное пособие и методические рекомендации, 17 статей в изданиях, определенных перечнем ВАК.

Личное участие автора. Диссертант лично участвовал в планировании и организации работы, проведении большей части лабораторных исследований, обра-

ботке, анализе, формулировании выводов, рекомендаций и алгоритма обследования.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 233 страницах машинописного текста, иллюстрирована 28 таблицами и 40 рисунками. Состоит из введения, основной части, включающей обзор литературы, описание материалов и методов исследования, 6 глав результатов собственных исследований, заключение, список сокращений и условных обозначений, список литературы из 69 отечественных и 287 иностранных источников.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

1.1. Обследованные группы

Материалом для исследования служили образцы венозной крови, полученной у 1194 пациентов, проходивших обследование и лечение в государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования, Санкт-Петербургском педиатрическом медицинском университете (ГБОУ ВПО СПбГПМУ), в государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования, Северо-Западном государственном медицинском университете им. И.И.Мечникова (ГБОУ ВПО СЗГМУ им. И.И. Мечникова) и Санкт-Петербургском государственном казенном учреждении здравоохранения «Диагностический (медико-генетический) центр» (СПб ГКУЗ МГЦ) в период с 2004 по 2014 гг. Клинические лабораторные исследования проводились на базе СПб ГКУЗ МГЦ.

Использовались также результаты обследования 2491 пациентов для формирования группы популяционного контроля с целью обработки результатов HLA-генотипирования, которые были получены из опубликованных в открытой литературе данных. На использование результатов исследований популяционных групп получены разрешения авторов.

Критерии включения в обследование:

1. Наличие у пациента кишечной клинической симптоматики неясного генеза (хроническая диарея, запор, изменение характера стула, боли в животе, газообразование, дефицит массы тела и т.д.);
2. Наличие у пациента клинических проявлений синдрома мальабсорбции: ранний остеопороз, остеомалация, анемия неясного генеза, рецидивирующий афтозный стоматит, задержка роста, полового созревания, уменьшение массы тела, алопеция, дерматиты, бесплодие и др.;
3. Наличие в анамнезе заболеваний, ассоциированных с целиакией (аутоиммунный тиреоидит, аутоиммунные заболевания печени, герпетиформный дерматит, ревматоидный артрит, инсулинозависимый сахарный диабет, воспалительные заболевания кишечника, селективный IgA-дефицит и др.);
4. Подтвержденный диагноз целиакия у пациентов, находящихся на безглютеновой диете (БГД) не менее 6 месяцев, для оценки эффективности проводимого лечения.
5. Родственники больных целиакией (первая и вторая степень родства).

Критерии исключения из обследования:

1. Использование БГД до постановки диагноза и включения в исследование;
2. Наличие злокачественных новообразований;
3. Тяжелые хронические инфекционные заболевания, такие как ВИЧ или туберкулез;
4. Наличие противопоказаний к проведению эндоскопии/забору биопсии.

Клиническая характеристика больных по группам

Основная группа. В данную группу вошли 499 больных целиакией. Из них 170 пациентов с впервые выявленной целиакией до начала терапии и 329 пациента с установленным диагнозом «целиакия», находящиеся не менее года на безглютеновой диете. По возрастным категориям пациенты от 3 до 18 лет (средний возраст $6,75 \pm 3,58$) составили 232 пациентов (46,5%), от 18 до 60 лет (средний возраст $36,76 \pm 12,39$) – 53,5% или 267 больных от общего количества обследованных. По половой принадлежности пациентов женского пола - 294 (58,9%), мужчин – 205 (41,1%). Диагноз «целиакия» больным в данной группе поставлен на основании данных анамнеза, клинической симптоматики, результатов лабораторного обследования, гистоморфологических и морфометрических изменений в биопсийном материале СОТК согласно стандартам по диагностике и лечению целиакии (Методические рекомендации Европейского общества педиатрической гастроэнтерологии и питания, 1990г.; Целиакия у детей. Стандарты диагностики и лечения, СПб, 2010; Практическое руководство Всемирной организации гастроэнтерологов ВОГ, WGO-OMGE, 2005, 2013 гг.).

Больные целиакией были распределены на подгруппы:

I подгруппа (163 пациента) - типичная целиакия с характерным превалированием кишечных клинических симптомов, а также наличием клинических проявлений, связанных с нарушением всасывания в кишечнике (синдром мальабсорбции), при значениях лабораторных показателей, превышающих установленные референтные пределы и характерных для целиакии морфометрических данных;

II подгруппа (304 пациента) - атипичная целиакия с доминирующими внекишечными клиническими проявлениями (например, ведущий клинический симптом – остеопороз или железодефицитная анемия), с превышающими референтные пределы лабораторными и типичными для целиакии морфометрическими показателями;

III подгруппа (32 пациента) - латентная целиакия (клинические признаки отсутствуют), с превышающими референтные значения лабораторными показателями, но при отсутствии или слабой степени выраженности морфометрических маркеров.

Группа сравнения.

Группу сравнения составили 695 пациентов, у которых диагноз «целиакия» не был подтвержден с учетом установленных критериев (из них детей - 302 пациента, взрослых – 393). Средний возраст взрослых пациентов (от 18 до 60 лет) составил $38,98 \pm 11,21$ лет, детской возрастной категории (от 3 до 18 лет) – $7,31 \pm 3,82$ лет. По половой принадлежности женщины составили 51,65%, мужчины 48,35 %.

Клиническая симптоматика группы сравнения, связанная с аутоиммунными заболеваниями (аутоиммунный тиреоидит, аллергическая энтеропатия, себорейный дерматит, псориаз, нейродермит, атопический дерматит, сахарный диабет первого типа и т. д) была выявлена у 218 пациентов; с болезнями желудочно-кишечного тракта (язвенная болезнь желудка и 12-перстной кишки, хронический гастродуоде-

нит, эрозивный гастрит, хронический панкреатит, синдром раздраженного кишечника) – у 191 пациента; с нарушением всасывания в кишечнике, обуславливающее развитие остеопороза смешанного генеза, остеомалации, железодефицитной анемии, хронического рецидивирующего афтозного стоматита, задержки полового созревания, очаговой алопеции, дерматитов и др. – у 202 пациентов.

Для оценки диагностической информативности антител к эндомиозию и к тканевой трансглутаминазе при проведении дифференциальной диагностики воспалительных заболеваний кишечника в группу сравнения были включены 39 больных с диагнозом «болезнь Крона» (по МКБ X – K50.0, K50.1, K50.8) и 45 больных с диагнозом «язвенный колит» (по МКБ X – K51.0 - K51.8). Диагнозы «болезнь Крона» и «язвенный колит» были выставлены на основании сочетания данных анамнеза, клинической картины, лабораторных данных и типичных эндоскопических и гистологических изменений кишечника в ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова». Средний возраст пациентов составил $41,20 \pm 15,77$ лет.

Группа популяционного контроля.

Данная группа (n=2491) была сформирована по опубликованным в открытой литературе результатам HLA-генотипирования в различных популяциях, полученным при обследовании лиц, не имеющих хронических заболеваний и не предъявлявших жалоб на момент обследования. Группа включала:

- подгруппу практически здоровых лиц, составленную отдельно по локусам DQA1 (n=1054) и DQB1 (n=1045) из Санкт-Петербурга, Северо-Западного округа, Москвы, Архангельска и Западной Сибири. Данные по HLA-генотипированию в этой подгруппе использовались для оценки частоты встречаемости и диагностической значимости рискованных аллельных вариантов HLA-молекул DQ2 и DQ8.

- подгруппу (392 практически здоровых лица), сформированную по результатам HLA-типирования индивидуальных генотипов, которые применялись для изучения гаплотипов и их частот (данные ФГУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии ФМБА России, Санкт-Петербург и ФГБУ «ГНЦ Институт Иммунологии» ФМБА России, Москва).

Все данные генотипирования включены в исследование с согласия авторов.

1.2. Материалы исследования

Для проведения исследований применялись образцы цельной венозной и капиллярной крови, а также аликвоты образцов сывороток, хранившихся при -70°C не более 6 месяцев. Для исследования карнитина и ацилкарнитинов получали капиллярную кровь пациента, нанесенную на фильтровальные тест-бланки (Germany, Whatman 903®) и высушенную при комнатной температуре $+18^{\circ}$ - $+23^{\circ}\text{C}$ не менее двух часов.

Цельная капиллярная кровь для определения тканевых трансглутаминазных антител экспресс-тестом использовалась сразу же после взятия.

Для установления диагностической значимости субэпителиальных тканевых трансглутаминазных депозитов исследовались биоптаты слизистой оболочки среднего и дистального отделов двенадцатиперстной кишки, которые хранились при -20°C не более месяца.

1.3. Методы исследования

Концентрацию антиел к глиадину (АГА), тканевой трансглутаминазе (ТТА), дезаминированным пептидам глиадин (ДПГА) определяли твердофазным иммуноферментным методом на тест-системах «Хема», Москва и Orgentec, Германия. В качестве антигенов в тест-системах использовали высокоочищенный природный глиадин для определения АГА, дезаминированный синтетический глиадин для определения ДПГА и человеческую рекомбинантную тканевую трансглутаминазу – для ТТА.

Антитела к эндомизину (ЭМА) выявляли методом непрямой иммунофлуоресценции (тест-системы фирмы «BioSystems», Испания) с использованием криостатных срезов эндомизия пищевода обезьяны в качестве субстрата.

Антитела к тканевой трансглутаминазе в капиллярной крови пациентов (ТТА-к) определяли иммунохроматографическим методом (наборы реагентов «Vioscard Лабсистемс», Финляндия). В качестве субстрата применялась эндогенная тканевая трансглутаминаза, полученная при лизисе собственных эритроцитов пациента.

Уровень свободного карнитина и ацилкарнитинов (33 параметра) определялся методом масс-спектрометрии на tandemном масс-спектрометре фирмы «Waters», США, на тест-системах NeoBase non-derivatized (PerkinElmer, Турку, Финляндия).

Для ПЦР-анализа использовали образцы цельной венозной крови, полученные с использованием ЭДТА в качестве антикоагулянта. ДНК выделяли из лейкоцитов крови (Дейвис К., 1990). Идентификацию аллельных вариантов HLA-генов проводили гель-электрофорезом в проходящем УФ-световом потоке, длина волны 254 нм (Noolandi et al., 1993).

Уровень депозитов к тканевой трансглутаминазе (ТТ-д) в биоптатах слизистой оболочки тонкой кишки (СОТК) определяли иммуноферментным методом после их предварительной элюции из образцов СОТК (Korponay-Szabo IR, 2004).

Для гистологического исследования биоптатов применяли световую микроскопию с предварительным окрашиванием препаратов гематоксилином и эозином. Стадии изменений морфологической картины СОТК оценивали по классификации, предложенной N.Marsh (N.Marsh, 1999).

Статистический анализ. Статистическая обработка данных проводилась методами описательной статистики, сравнения выборок с использованием параметрических и непараметрических критериев (U-критерий Манна-Уитни, Колмогорова-Смирнова), анализа таблиц сопряженности с применением критерия хи-квадрата и поправкой Йетса, точного двустороннего критерия Фишера. Для оценки корреляционных связей использовались коэффициенты корреляции Пирсона и Спирмена. Для обработки данных использовали программы: STATISTICA Ver.6, Excel 2007, AtteStat-10.10.2, StatXact-8, Clopper-Pearson.xls, DAG Stat.xls, Post Test Probabilities.exe, Arlequin, Ver. 3.5.1.2, GenAIEx-6.3, GENEPOP, Ver. 4.0.10, PowerMarker-3.25, LearnBayes, Ver. 2.0, SANCT, MedCalc, Ver. 11.5.1.0, а также систему статистического анализа и визуализации данных R, состоящую из языка программирования высокого уровня R, Ver. 3.1.1.

2. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

2.1. Диагностическая информативность определения антител к тканевой трансглутаминазе (ТТА) и эндомизию (ЭМА) для дифференциальной диагностики воспалительных заболеваний кишечника с формированием критерия дифференциальной диагностики

Дифференциальная диагностика воспалительных заболеваний кишечника (язвенный колит и болезнь Крона) имеет особое значение из-за ассоциации с целиакией, схожести клинических проявлений и иммунных реакций при развитии болезни. Уменьшение количества ложноположительных результатов и, как следствие, повышение специфичности исследования при проведении дифференциальной диагностики, способствует своевременному принятию правильного клинического решения. Участие тканевой трансглутаминазы (ТГ2) в процессах, связанных с апоптозом при развитии воспалительных заболеваний кишечника, может сопровождаться выработкой ТТА и ЭМА. Однако до настоящего времени результаты исследований и возможность получения ложноположительных результатов при проведении дифференциальной диагностики целиакии и воспалительных заболеваний кишечника остаются неоднозначными (Pascual V., Dieli-Crimi R. et al, 2014). В связи с этим из группы сравнения были выделены пациенты с данными патологиями и рассмотрены в отдельном сравнительном исследовании с больными, имеющими установленный диагноз «целиакия».

Результаты обследования показали, что повышение уровня IgA-ТТА наблюдается у незначительного количества больных с болезнью Крона (10,3%) и язвенного колита (4,4%), в отличие от IgG-ТТА (92,3% у больных с болезнью Крона и у 60% больных с язвенным колитом). Значительное повышение IgG-ТТА при болезни Крона объяснимо изменением гликозилированности углеводного компонента Fc-фрагмента IgG за счет снижения процессов сиализации при воспалительных заболеваниях кишечника, что способствует переключению IgG с противовоспалительной активности с последующим снижением эффекторных функций, на провоспалительную/токсическую активность. В настоящее время также предположительно установлено, что при воспалительных заболеваниях кишечника подавляющее большинство IgG экспрессирует матричные металлопротеиназы (ММР-3), участвующие в повреждении слизистой оболочки кишечника, что определяет новую роль IgG в развитии воспалительных заболеваний кишечника (Gordon J.N., 2007) (таблица 1). Низкая специфичность (44,1%) и прогностическая ценность положительного результата (67,5%) указывают на недостаточную диагностическую значимость IgA- и IgG-ТТА с возможностью получения ложноположительных результатов при отсутствии целиакии у больных с болезнью Крона и язвенным колитом. В тоже время в этих же группах больных не было зарегистрировано ложноположительных результатов ЭМА-теста, который продемонстрировал высокие показатели специфичности и предсказательной ценности положительного результата, позволяющие применять ЭМА-тест, как критерий дифференциальной диагностики воспалительных заболеваний кишечника (болезнь Крона, язвенный колит) и достоверно подтверждать целиакию (таблица 1).

Этот факт является важным из-за ассоциации целиакии с воспалительными заболеваниями кишечника и необходимостью проведения дифференциальной диагностики. Включение ЭМА-теста, как критерия дифференциальной диагностики, в

алгоритм обследования больных с воспалительными заболеваниями кишечника значительно облегчает и ускоряет выявление целиакии. Возможность получения ложноположительных результатов при отсутствии целиакии была зарегистрирована и в группе сравнения, где были выявлены положительные результаты IgA-ТТА и IgG-ТТА у пациентов с аутоиммунным тиреоидитом, псориазом, хроническим вирусным гепатитом, язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки в стадии обострения

Информативность определения ЭМА, IgA-ТТА и IgG-ТТА у больных с целиакией представлена в таблице 1. IgG-ТТА характеризуется недостаточной диагностической эффективностью, подтвержденной значениями отношений правдоподобия положительного и отрицательного результатов (ОП⁺, ОП⁻), специфичностью, чувствительностью и предсказательной ценностью положительного результата (ПЦПР). Сравнительный анализ диагностических характеристик у IgA и IgG-ТТА, проведенный в группах больных с воспалительными заболеваниями кишечника и с целиакией, подтвердил значительные преимущества у IgA-ТТА и позволил отнести их к диагностически значимым маркерам для выявления целиакии в группе больных с целиакией, а IgG-ТТА к неспецифическим маркерам, в связи с чем они могут быть рекомендованы для исключения из диагностического обследования пациентов с подозрением на целиакию.

Таким образом, проведенное исследование обосновало возможность получения ложноположительных IgA-ТТА результатов как у больных с болезнью Крона и язвенным колитом, так и при других заболеваниях и необходимость подтверждения повышенных IgA-ТТА результатов высоко специфичным ЭМА-тестом как критерия дифференциальной диагностики воспалительных заболеваний кишечника (болезнью Крона/язвенный колит), повышающего специфичность исследования.

Таблица 1

Диагностические характеристики определения ЭМА и ТТА у больных с установленным диагнозом «целиакия», «болезнь Крона» и «язвенный колит» и в группе сравнения

Больные с установленным диагнозом «целиакия»								
Название теста	Чувствительность (%)	Специфичность (%)	95% ДИ	ОП		ПЦ (%)		Площадь под ROC-кривой
				ОП ⁺	ОП ⁻	ПЦПР	ПЦОР	
IgA-ЭМА	93,1	97,8	91,9-98,7	43,62	0,05	96,5	95,7	0,965
IgA - ТТА	94,8	96,7	93,3-99,2	28,52	0,07	94,7	96,8	0,950
IgG - ТТА	84,5	89,1	89,0-97,2	7,77	0,17	83,1	90,1	0,912
Больные с установленным диагнозом «болезнь Крона» и «язвенный колит»								
IgA-ЭМА	90,9	100	97,6-100		0,091	100	93,3	0,955
IgA - ТТА	91,9	44,1	54,4-70,2	1,64	0,18	67,5	81,16	0,626
IgG - ТТА	94,2	61,8	71,7-85,1	2,26	0,094	75,7	89,4	0,790

Примечание: ДИ - доверительный интервал; ОП⁺, ОП⁻ – отношение правдоподобия положительного и отрицательного результатов; ПЦ - предсказательная ценность; ПЦПР, ПЦОР - прогностическая ценность положительного и отрицательного результатов.

2.1.1. Целесообразность модификации верхнего предела референтного интервала ТТА, соответствующего 100% предсказательной ценности положительного результата, для сокращения сроков обследования на первом этапе диагностики целиакии с учетом принципов этапности и взаимозависимости

Известно, что снижение количества ложноположительных результатов исследования, которые, как установлено выше, характерны для ТТА, возможно при изменении точки отсечения (cut-off), которая отражает оптимальные соотношения чувствительности (истинно положительные) и вероятности ложноположительных результатов исследования (1-специфичность), что определяется в ходе построения ROC-кривой. Смещение (подбор) значения точки отсечения позволяет достичь 100% предсказательную ценность положительного результата и, тем самым, значительно повысить клиническую информативность исследований. Достижение 100% предсказательной ценности положительного результата позволяет выявить больных и подтвердить предположительный диагноз, исключая необходимость проведения дополнительного обследования, с обеспечением скринингового режима отбора пациентов с целиакией. Использование такого подхода было предложено в 2012 году Европейским обществом педиатрической гастроэнтерологии, гепатоло-

гии и нутрициологии (ESPGHAN) и применено для антител к тканевой трансглутаминазе, которые широко используются в диагностике целиакии благодаря простоте определения, коммерческой доступности, отсутствию субъективизма при анализе получаемых результатов. Для апробации такого подхода был проведен ретроспективный анализ результатов обследования 392 пациентов, полученных на отечественных тест-системах фирмы «Хема», Москва, с установленным для них фирмой-производителем точки отсечения (cut off = 20 Ед/мл (IgA-ТТА) и 25 Ед/мл (IgG-ТТА). Именно эти наборы лежат в основе диагностической панели и широко распространены в Российской Федерации.

Как следует из таблицы 2, проведенный анализ результатов показал, что диагноз «целиакия» был выставлен 78 пациентам, а уровень ТТА до 150 Ед/мл был зафиксирован у 9 пациентов без целиакии с преобладанием тех, которые имели незначительное повышение ТТА. Уровень ТТА выше 150Ед/мл регистрировался только у пациентов с глютенковой энтеропатией.

Что касается результатов биопсии, то морфометрические показатели, начиная с концентрации ТТА, равной 100Е/мл и выше, как правило, соответствовали деструктивной стадии по Marsh M.N., за исключением одного пациента, имевшего концентрацию ТТА=133Е/мл и страдающего сахарным диабетом первого типа, у которого морфометрические маркеры не подтвердили целиакию. Стабилизация основного заболевания привела к значительному улучшению клинического состояния больного.

Проведенный анализ результатов обследования установил соответствие высоких уровней концентрации маркерных антител серьезным повреждениям СОТК, что подтверждало результаты зарубежных исследователей (Taavela J., Kurppa K. et al., 2013).

Таблица 2

Количество пациентов с целиакией и без целиакии при уровнях ТТА, превышающих верхний предел референтного интервала

IgA-ТТА (N-до 20 Ед/мл)	Количество пациентов с целиакией	Количество пациентов без целиакии
До 35	14	6
35-100	18	2
100-150	13	1
≥150	33	0

Нужно отметить, что из 78 пациентов с целиакией, у пяти результаты ТТА не выходили за пределы референтных значений, а у одного пациента был выявлен селективный IgA-дефицит. Собранный подробный анамнез показал, что пять пациентов со значениями ТТА, не выходящими за референтные пределы, во время обследования имели ограничения в употреблении глютенсодержащих продуктов (хлеб, каши, сладости). Полученные ранее результаты зарубежных исследований (Hill I.D., 2005), объяснили возможность получения таких значений ТТА при ограничении в питании глютенсодержащих продуктов. Было показано, что потребление глютена менее 15 г/сутки приводит к нормализации антител в крови, с продолжающимся патологическим его воздействием на СОТК. Наши результаты подтверди-

ли этот вывод, продемонстрировав сочетание ложнонегативных результатов ТГА с деструктивными изменениями в СОТК (Marsh II, Marsh III) у таких пациентов. Кроме этого, один больной, имеющий в анамнезе ревматоидный артрит, находился на иммуносупрессивной терапии, что способствовало подавлению выработки аутоантител, к которым относятся ТГА и объясняло не выходящий за референтный предел их уровень. В связи с этим, ориентирование пациентов на обычный режим питания без ограничения продуктов, содержащих глютен, а также исключение влияния иммуносупрессорных препаратов на продукцию антител, является важным и необходимым условием для получения достоверных результатов и постановки правильного диагноза.

Проведенный ROC-анализ подтвердил для данного теста оптимальный cut-off – 20 Ед/мл, для которого предсказательная ценность положительного результата была определена как 89,5%. Подбор уровня концентрации, соответствующего 100% предсказательной ценности положительного результата, определил концентрацию ТГА равную 160Е/мл. Однако, анализ полученных результатов показал, что присутствие в анамнезе пациента других аутоиммунных заболеваний оставляет возможность получения ложноположительных результатов, что свидетельствует о необходимости подтверждения результата обследования высокоспецифичным ЭМА-тестом.

Проведенное исследование показало, что смещение точки cut-off дает возможность, ориентируясь на 100% положительную предсказательную ценность, не проводить дальнейшее обследование, что значительно ускоряет постановку диагноза и позволяет исключить инвазивную процедуру (эзофагогастродуоденоскопия - ЭФГДС). Количество пациентов, которые могли обойтись без ЭФГДС, составили в нашем исследовании 40,8%. Кроме этого, выполнение лишь двух тестов (ТГА и ЭМА) не только значительно сокращает цикл обследования, но и позволяет избежать не нужное для пациента проведение других лабораторных исследований. Однако, одновременно с преимуществами модификация оценки уровня ТГА-теста высветила и диагностические проблемы. Так, сохраняется возможность получения высоких концентраций ТГА (ложноположительные результаты) у пациентов с другими аутоиммунными заболеваниями (без целиакии), что заставляет расширять диагностический поиск у данной категории лиц с использованием новых маркеров (ДПГА, ТТ-д), которые имеют диагностические преимущества и могут повысить эффективность выявления целиакии.

Кроме этого, 100% специфичность ТГА-теста, достигнутая подбором точки отсечения, определяет оптимальное соотношение между чувствительностью и специфичностью теста, которое предполагает снижение чувствительности теста и не исключает возможность повышения ложноотрицательных результатов обследования. К ложноотрицательным результатам можно также отнести результаты, полученные при ограничении в питании глютенсодержащих продуктов, селективном IgA-дефиците и употреблении иммуносупрессорных препаратов.

Апробация и анализ диагностического подхода, предложенного в 2012 году Европейским обществом педиатрической гастроэнтерологии, гепатологии и нутрициологии (ESPGHAN) показали, что установленные преимущества представленного алгоритма обследования, могут быть достигнуты при соблюдении принципов этапности и взаимозависимости. Принцип этапности, учитывая клиническую информативность лабораторных тестов, формирует диагностическую целесообразность каждого этапа. Выстраивание последовательности каждого этапа подчиняет-

ся принципу взаимозависимости, определяющего выполнения каждого этапа в зависимости от выполнения предыдущего и последующего этапов. Проведенный ретроспективный анализ показал, что четкое выполнение этих принципов является основой построения алгоритма, которая обеспечивает снижение диагностических пропусков и повышает диагностическую эффективность выявления целиакии.

2.2. Диагностические возможности определения антител к дезаминированным пептидам глиадина (ДПГА) и анализ комбинаций тестов ДПГА и ТТА с учетом принципа системной интеграции

Результаты проведенного обследования выявили большое количество положительных результатов теста для выявления антител к глиадину (АГА), зарегистрированных в группе больных, соблюдающих диету (39,5%) и в группе сравнения (42%), что наглядно продемонстрировало недостаточную специфичность этих маркеров по сравнению с ДПГА. Анализ результатов по IgG-ТТА подтвердил, что повышенные значения теста у пациентов без целиакии связаны с деструктивными и воспалительными изменениями в СОТК (рисунок 1), в отличие от IgG-ДПГА. ROC-анализ по результатам проведенного исследования показал, что наилучшее соотношение специфичности и чувствительности имеют IgG-ДПГА, IgA-ДПГА и IgA-ТТА, в отличие от IgA, IgG-АГА и IgG-ТТА, прогностическая значимость которых оказалась недостаточной для выявления целиакии (таблица 3).

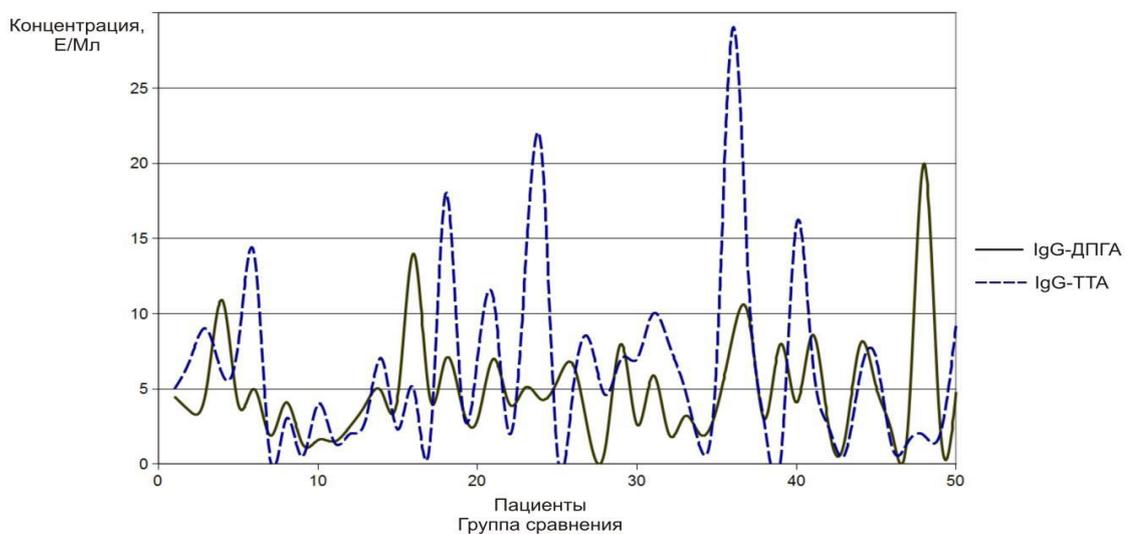


Рисунок 1. Результаты обследования пациентов на наличие IgG-ДПГА и IgG-ТТА в группе сравнения

Примечание: ТТА- антитела к тканевой трансглутаминазе; ДПГА- антитела к дезаминированным пептидам глиадина

Таким образом, лучшие информативные характеристики ДПГА-теста по сравнению с АГА-тестом подтверждают необходимость замены последних на ДПГА-тест, что способствует повышению диагностической эффективности и снижению диагностических пропусков. Установленные для IgG-ДПГА лабораторные критерии, в отличие от IgG-ТТА, могли решить имеющиеся проблемы по диагно-

стике селективного IgA-дефицита, ассоциированного с целиакией, совершенствованию и эффективности которой уделяется большое внимание (Chow A., 2012). Для исключения диагностических пропусков селективного IgA-дефицита в настоящее время проводится дополнительное определение общего сывороточного IgA или совместное с IgA выявление IgG-ТТА.

Таблица 3

Диагностическая информативность сывороточных маркеров целиакии

Антите- ла	Чувстви- тельность (%)	Специ- фичность (%)	95% ДИ	ОП		ПЦ		Площадь под ROC- кривой
				ОП ⁺	ОП ⁻	ПЦПР	ПЦОР	
IgA- АГА	86,7	89,2	83,1- 98,0	8,02	0,15	83,7	90,3	0,935
IgG- АГА	93,3	61,4	62,1- 86,7	1,92	0,13	80,2	88,9	0,759
IgA- ТТА	94,1	97,1	96,7- 99,8	17,27	0,07	94,7	95,7	0,996
IgG- ТТА	84,2	89,8	82,8- 97,2	8,25	0,18	83,1	90,1	0,920
IgA- ДПГА	94,7	91,8	83,6- 97,5	11,61	0,06	90,3	94,7	0,926
IgG- ДПГА	94,7	93,9	91,4- 99,8	15,47	0,06	94,2	96,5	0,981

Примечание: ДИ-доверительный интервал; ОП⁺, ОП⁻ – отношение правдоподобия положительного и отрицательного результатов; ПЦПР, ПЦОР - прогностическая ценность положительного и отрицательного результатов.

Недостаточная специфичность IgG-ТТА часто приводит к дополнительному и необоснованному обследованию пациента, а использование общего сывороточного IgA, как отдельного теста, не совсем удобно в алгоритме обследования пациента. Поэтому применение специфичного маркера IgG-ДПГА позволяет в этом случае значительно улучшить и ускорить диагностику целиакии. Обратила на себя внимание недостаточная чувствительность ДПГА (таблица 3), которая не отличается от чувствительности IgA-ТТА и поэтому не может, так же, как и другие тесты, самостоятельно решить проблему по выявлению субклинических форм, которые могут протекать без выраженных изменений в СОТК.

Для оценки возможности использования принципа системной интеграции в подборе оптимальной комбинации тестов, способствующей расширению диагностических возможностей и снижению вероятности ошибочного исключения диагноза, был проведен анализ различных комбинаций тестов, представленный в таблице 4. Было установлено, что комбинации IgA-ТТА+IgA-ДПГА+IgG-ДПГА и IgA-ТТА+IgG-ДПГА являются диагностически эффективными и отличаются от других комбинаций значениями отношения правдоподобия положительного (ОП⁺) и отри-

цательного (ОП⁻) результатов теста, предсказательной ценностью положительного результата теста (ПЦПР), специфичностью, чувствительностью и площадью под ROC-кривой.

Таблица 4

Комбинация тестов по определению антител к дезаминированным пептидам глиадина (ДПГА) и к тканевой трансглутаминазе (ТТА) для повышения диагностической эффективности

	IgA-ДПГА + IgA-ТТА	IgA-ТТА + IgG-ДПГА	IgA-ТТА + IgA- ДПГА+IgG-ДПГА
Специфичность %	95.8	97.9	97.9
Чувствительность %	94.4	97.2	97.2
Площадь под ROC-кривой	0.99	0.992	0.992
ОП+	22,67	46,67	46,67
ОП-	0,058	0,028	0,028
ПЦПР	94.4	97.2	97.2
ПЦОР	95.8	97.9	97.9

Примечания: ОП+ – отношение правдоподобия положительного результата теста; ОП- – отношение правдоподобие отрицательного результата теста; ПЦПР – предсказательная ценность положительного результата теста; ПЦОР – предсказательная ценность отрицательного результата теста.

Значение отношения правдоподобия положительного результата теста отражает вероятность получения положительных результатов теста у больных по сравнению с пациентами, не страдающими данным заболеванием, и характеризует диагностическую точность исследования. Поэтому установленные диагностические характеристики для комбинации тестов (IgA-ТТА+IgA-ДПГА+IgG-ДПГА и IgA-ТТА+IgG-ДПГА) со значением отношения правдоподобия положительного результата теста, равным 46,67, являются лучшими и значительно повышают диагностическую эффективность целиакии. Однако, комбинация IgA-ТТА+IgG-ДПГА имеет преимущества по сравнению IgA-ТТА+IgA-ДПГА+IgG-ДПГА за счет меньшего количества тестов и более быстрого исполнения, а также экономической целесообразности данной комбинации. Применение принципа системной интеграции тестов способствует повышению диагностической эффективности и тем самым улучшает диагностическую ситуацию, особенно для манифестных форм целиакии, протекающих с разной степенью поражения СОТК.

Таким образом, включение определения ДПГА в диагностику целиакии повышает диагностическую эффективность обследования как за счет замены АГА на ДПГА, так и установленной оптимальной комбинации тестов. Использование высокоспецифичного IgG-ДПГА способствует решению имеющихся проблем по диагностике селективного IgA-дефицита, ассоциированного с целиакией.

2.2.1 Диагностические возможности определения антител к тканевой трансглутаминазе в капиллярной крови (ТТА-к) иммунохроматографическим экспресс-методом

Использование нового субстрата - эндогенной тканевой трансглутаминазы, получаемой при лизисе собственных эритроцитов пациента, в иммунохроматографическом экспресс-методе, определило конкурентное преимущество данного теста, связанное с отсутствием зависимости субстрата от внешних факторов (способы очистки, нанесения и др.), что предполагало улучшение диагностических показателей и возможность использования данного метода для выявления субклинических форм целиакии. В связи с этим были проведены клинические испытания экспресс-метода по определению тканевых трансглутаминазных антител в капиллярной крови у 87 пациентов в сравнении с исследованием ТТА в сыворотке и морфометрическими маркерами в биопсийном материале.

Результаты обследования пациентов показали, что при сравнении ТТА-теста и экспресс-теста относительно морфометрических показателей, худшим оказался экспресс-тест. Возможными причинами были недостаточная окраска тест-зоны и разная интерпретация результатов при незначительном превышении тканевых трансглутаминазных антител относительно верхнего предела референтного интервала (от 22 до 28Е/мл по данным анализа сыворотки, при норме 20Е/мл). Отсутствие количественных характеристик и вынужденная качественная оценка получаемых результатов усиливали субъективность интерпретации при невыраженной окраске тест-зоны. Существенное значение на информативность результатов экспресс-теста оказала и профессиональная подготовка персонала, проводящего исследование (таблица 5). Отсутствие опыта работы снижало чувствительность метода, ухудшало показатели отношения правдоподобия и предсказательную ценность результатов исследования.

Таблица 5

Диагностические показатели экспресс-теста без предварительного обучения и после обучения

Экспресс- тест	Специфичность (%)	Чувствительность (%)	ОП ⁺	ОП ⁻	ПЦПР	ПЦОР
Без предварительного обучения	94.4	83.3	15.0	0.18	71.4	97.1
После обучения	97.2	92.3	32.77	0.08	85.7	98.6

Представленные в таблице 5 результаты позволяют сделать вывод о необходимости предварительного профессионального обучения медицинского персонала, которое обеспечит более высокую достоверность получаемых результатов и, как следствие, достижение хороших диагностических показателей. Только при соблюдении этих условий предсказательная ценность положительного и отрицательного результатов (ПЦПР, ПЦОР), а также показатели отношения правдоподобия (ОП⁺, ОП⁻) могут определять высокую информативность теста.

Таким образом, применение экспресс-теста с учетом выявленных недостатков, несмотря на экономическую доступность и быстроту получения результатов, в

настоящее время диагностически не оправдано, что не предусматривает его широкое использование.

2.3. Прогностическая значимость субэпителиальных тканевых трансглутаминовых депозитов (ТТ-д) в слизистой оболочке тонкого кишечника для выявления субклинических форм и ранней диагностики целиакии

Для установления прогностической значимости субэпителиальных тканевых трансглутаминовых депозитов (ТТ-д) в СОТК было проведено обследование пациентов, результаты которого в группе больных с впервые выявленной целиакией показали отсутствие характерных для целиакии морфометрических маркеров у 14,3% пациентов, у 19,0% - не выходящие за референтный интервал значения ТТА и у 4,8% пациентов не превышающий точку отсечения (cut-off) уровень ТТ-д. В течение года наблюдения за пациентами, имеющие нормальные морфометрические показатели и не выходящие за референтный интервал значения ТТА, но при этом превышающие cut-off значения ТТ-д, показали нарастание клинических проявлений и последующее подтверждение диагноза «целиакия» лабораторными маркерами. Полученные результаты обосновали возможность ранней диагностики глютенковой энтеропатии при использовании ТТ-д, которые определяются еще до появления морфометрических маркеров и повышения сывороточных ТТА, что связано с проникновением пептидов глиадина в собственную пластинку СОТК трансцитозом и ретроцитозом, обеспечивающих формирование ТТ-д. Кроме этого, установленная для каждой группы пациентов точка отсечения, показала, что ТТ-д являются хорошими маркерами правильности соблюдения безглютеновой диеты (БГД) и эффективности проводимого лечения. Так, точка отсечения, установленная для группы больных, эпизодически нарушающих БГД, значительно превышала точку отсечения в группе больных, находящихся на строгой БГД, что позволило четко дифференцировать пациентов на строго соблюдающих БГД и эпизодически ее нарушающих (таблица 6, рисунок 2). Нужно также отметить, что все результаты определения ТТ-депозитов у больных на БГД, независимо от строгости ее соблюдения, были выше, чем в группе сравнения. Так, значения AU (arbitrary units, условные единицы), в группе сравнения составили 0,66 AU, а в группе больных целиакией, находящихся на строгой БГД, они соответствовали 0,92 AU. В то же время значения сывороточных ТТА у этих же пациентов, так же, как и в группе сравнения, не выходили за пределы референтных интервалов. Зарегистрированные сильно отличающиеся значения ТТ-д у больных с типичной целиакией и атипичными формами, способствовали разделению первой группы пациентов на две подгруппы для получения статистически достоверных результатов, с определением для каждой подгруппы своей точки отсечения (таблица 6).

Таблица 6

Точки отсечения для ТТ-депозитов по каждой группе обследованных пациентов

Характеристика группы	точка отсечения, AU (95% ДИ)
Типичная целиакия	22,615 (16,501-27,499)*
Атипичная целиакия	5,477 (3,448-6,559)*
Строгое соблюдение БГД	0,920 (0,779-0,983)*
Эпизодическое нарушение БГД	2,261 (1,611-2,820)*
Группа сравнения)	0,665 (0,601-0,777)

*достоверность различий, $p < 0,001$

Примечание: ДИ-доверительный интервал; AU – условные единицы

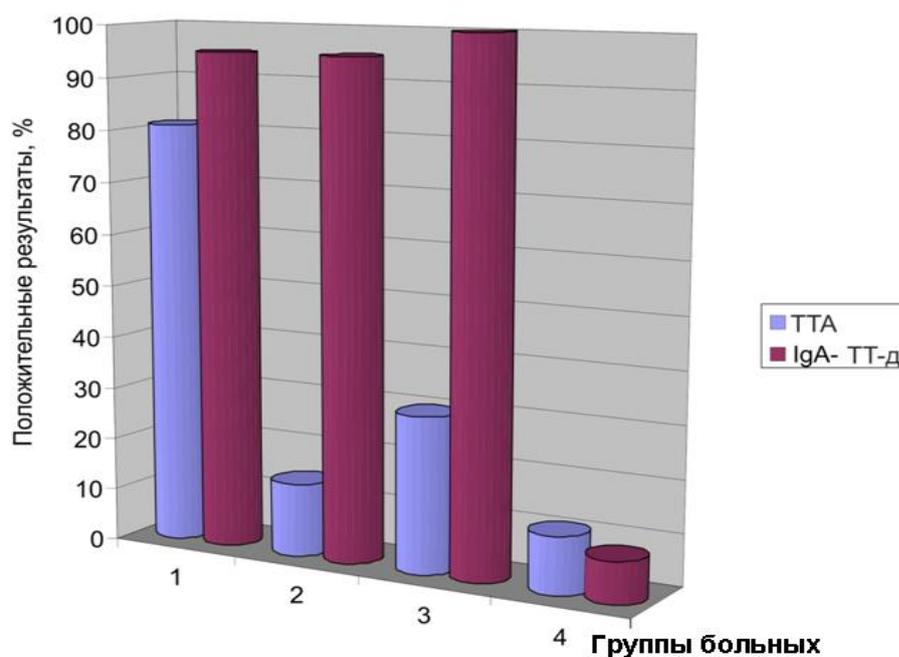


Рисунок 2. Положительные результаты определения субэпителиальных ТТ-д в слизистой оболочке тонкой кишки и ТТА в сыворотке крови в обследованных группах.

Примечание: 1 – больные целиакией; 2 – группа больных, строго соблюдающих БГД; 3 – группа больных, эпизодически нарушающих БГД; 4 – группа сравнения

Что касается морфометрических маркеров, то в группе больных с впервые выявленной целиакией и группе больных, периодически нарушающих БГД, они не соответствовали типичным для целиакии гистоморфологическим и морфометрическим изменениям в слизистой оболочке тонкого кишечника. Такое же несоответствие этих показателей было выявлено у части пациентов группы сравнения: в

7,7% случаев изменения соответствовали деструктивной стадии целиакии по Marsh. Как показали наши наблюдения, изменения в морфометрических показателях наблюдались у больных с деструктивными (эрозивными) поражениями СОТК, а именно: язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки, аллергическая энтеропатия, недифференцированный колит, эрозивный гастрит, язвенная болезнь желудка.

В то же время значения сывороточных маркеров у этих пациентов не превышали установленные референтные пределы, отсутствовала так же наследственная предрасположенность к целиакии, а значения ТТ-д не отличались от значений АУ, установленных для группы сравнения. Кроме этого, наблюдалась положительная динамика назначенного лечения, согласно выставленному диагнозу. Полученные результаты подтвердили мнение о возможности одинаковых морфологических изменений и степени их выраженности при других воспалительных заболеваниях тонкой кишки. В этой диагностической ситуации ТТ-д оказались точнее и способствовали правильной трактовке результатов. Результаты ROC-анализа подтвердили недостаточную диагностическую эффективность морфометрических маркеров при целиакии (таблица 7), которая была связана с необходимостью взятия биоптатов из нескольких участков СОТК (Лысиков Ю.А., 2006). В этой же группе сравнения пациенты с аутоиммунными заболеваниями (болезнь Крона, сахарный диабет первого типа, аутоиммунный тиреоидит, себорейный дерматит) имели повышенные значения ТТ-д (в среднем 2,06 АУ). Полученный результат объяснил вероятность формирования клона В-клеток при аутоиммунных заболеваниях, с характерными мутациями в V-генах, приводящими к повышению аффинности связывания антител с нетипичным для них антигеном. Большой интерес представляло изучение соотношений находок IgA-ТТ-д и степени морфометрических изменений в СОТК. Проведенный корреляционный анализ зависимости между IgA-ТТ-д и стадией повреждения СОТК по Marsh показал отсутствие линейной корреляционной зависимости ($r=0,13$, $p>0,05$). Отсутствие корреляции позволяет использовать определение IgA-ТТ-д в сложных диагностических ситуациях и представляет это исследование важным для диагностики манифестных форм целиакии, протекающих с минимальными отклонениями морфометрических показателей.

Проведенный ROC-анализ установил соотношение специфичности и чувствительности теста по определению ТТ-д в биопсийных образцах СОТК (93,5% и 95,0%, соответственно). Сравнение с диагностической информативностью морфометрических показателей позволили отдать предпочтение ТТ-д. В целом оценка площади под ROC-кривой показала преимущества метода по определению субэпителиальных депозитов и ТТА, представив их наиболее информативными маркерами, по сравнению с морфометрическими показателями (рисунок 3).

Таким образом, проведенное исследование продемонстрировало возможность более точной диагностики целиакии с помощью IgA-ТТ-д и хорошие диагностические качества IgA-ТТ-д для мониторинга диетотерапии, выявления эпизодических нарушений в режиме питания. Однако, нельзя не отметить недостатки этих маркеров: инвазивность проводимой процедуры, исключающая широкое применение этого теста, и возможность получения ложноположительных результатов IgA-ТТ-д у пациентов с аутоиммунной патологией, требующая дифференцированного подхода при оценке ее результатов.

Сравнительная характеристика показателей диагностической информативности сывороточных ТТА, морфометрических маркеров и субэпителиальных депозитов, ТТ-д

Антитела	Чувствительность (%)	Специфичность (%)	95% ДИ	ОП		ПЦ (%)		Площадь под ROC-кривой
				ОП ⁺	ОП ⁻	ПЦПР ⁺	ПЦОР ⁻	
IgA - ТТА	90,7	96,8	0,896-0,992	27,9	0,1	90,0	96,8	0,963
IgG - ТТА	81,0	88,7	0,829-0,963	7,17	0,21	70,8	93,2	0,912
ТТ-д	95	93,5	0,860-0,979	14,72	0,063	82,6	98,3	0,937
Морфометрические маркеры	85,7	92,4	0,806-0,947	11,31	0,15	78,3	95,4	0,891

Примечание: ДИ-доверительный интервал; ОП⁺, ОП⁻ – отношение правдоподобия положительного и отрицательного результатов; ПЦПР, ПЦОР - прогностическая ценность положительного и отрицательного результатов.

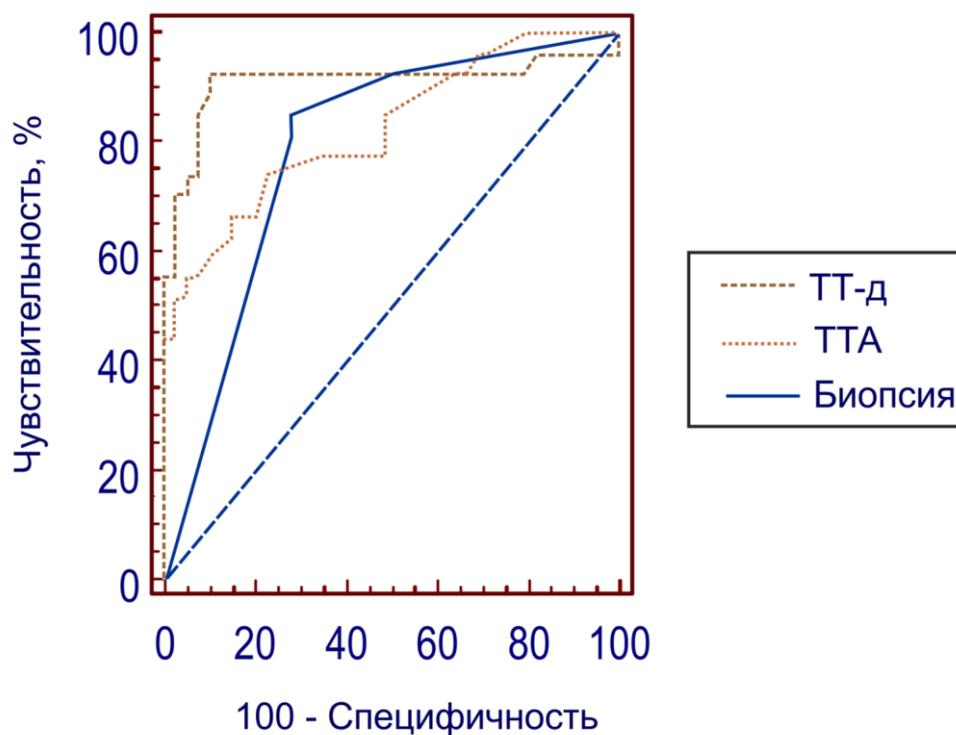


Рисунок 3. ROC-кривые, полученные при оценке информативности морфометрических маркеров (биопсия), ТТ-д и ТТА

2.3.1. Взаимосвязь соответствия дефицита карнитина, как дополнительного маркера, со степенью поражения СOTК у больных целиакией для оценки эффективности проводимого лечения

Для определения значимости дополнительных маркеров в диагностике целиакии исследовался уровень свободного карнитина и ацилкарнитинов у больных глютеневой энтеропатией. Выбор карнитина был связан с его интегральным воздействием на энергетические процессы в организме человека, которые становятся причиной серьезных метаболических нарушений. Полученные результаты обследования убедительно показали снижение концентраций свободного карнитина и его эфиров (ацилкарнитинов) у больных с целиакией до начала терапии ($p < 0,001$) и у пациентов с установленным диагнозом, находящихся на строгой безглютеновой диете в течение года ($p < 0,001$), по сравнению с контрольной группой (рисунок 4). Наиболее выраженное понижение уровня карнитина и его эфиров выявлено (в среднем на 25-38%, $p < 0,001$) при впервые установленном диагнозе и до начала специфической диетотерапии. Полученные результаты подтвердили мнение о вторичном дефиците карнитина у больных целиакией. На фоне проводимого лечения (безглютеновая диета), содержание карнитина и его эфиров повышалось, но, тем не менее, их уровень отличался от данных, полученных в контрольной группе, и оставался в среднем на уровне 90% от уровня карнитина в контрольной группе (рисунок 4). Неоднородность концентраций эфиров карнитина в этой группе показало разную степень нарушений в метаболизме жирных кислот с широкой вариабельностью уровня энергодефицита.

Неполное восстановление уровня ацилкарнитинов у больных, находящихся на диетотерапии, позволяет сделать вывод о недостаточности безглютеновой диеты для нормализации имеющихся нарушений в гомеостазе карнитина, которые способствуют развитию серьезных и многочисленных осложнений у больных целиакией (утомляемость, энцефалопатии, полиневропатии, снижение слуха, дилатационные кардиомиопатии, мышечная слабость, нарушение памяти и др.).

Была подтверждена предполагаемая зависимость уровня карнитина от степени поражения СOTК и выявлена связь значительного дефицита карнитина у больных с целиакией со степенью поражения СOTК. Рассчитанный коэффициент ранговой корреляции Спирмена ($r = 0,754$, $p < 0,01$) показал строгую корреляционную зависимость между тяжестью поражения СOTК и уровнем карнитина, что позволяет по снижению уровня карнитина опосредованно судить о тяжести поражения СOTК и, как следствие, о тяжести течения болезни с определением адекватности назначенного лечения. Помимо этого, зависимость между тяжестью поражения СOTК и уровнем карнитина позволяет проводить оценку динамики восстановления СOTК и благоприятный вариант развития болезни, исключая развитие осложнений.

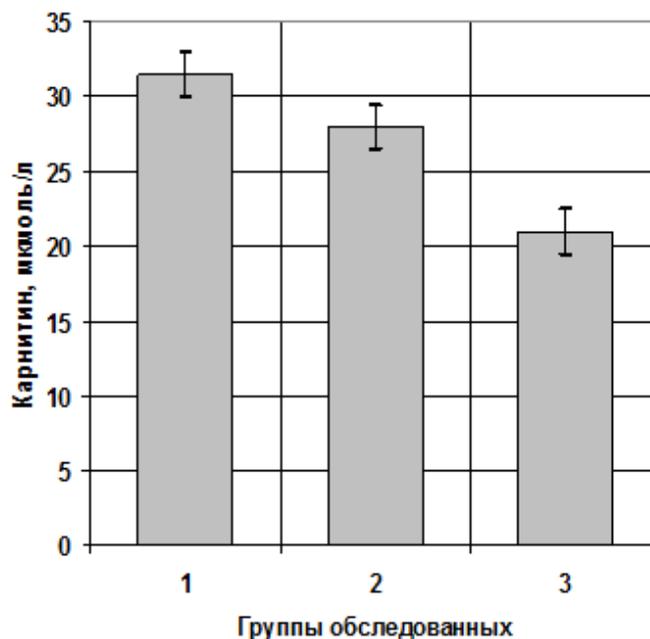


Рисунок 4. Средняя концентрация карнитина в обследованных группах.

Примечание: 1 – контрольная группа; 2 - больные, находящиеся на лечении; 3 - больные с впервые выявленной целиакией

Таким образом, своевременное выявление дефицита карнитина и назначение комплексного лечения помимо безглютеновой диеты, с возможностью оценки его эффективности по уровню карнитина будет способствовать восстановлению СОТК, профилактике осложнений, что отразится на повышении качества жизни больных целиакией.

2.4. Распределение HLA-гаплотипов (HLA-DQ2, HLA-DQ8), ассоциированных с целиакией, в популяции Российской Федерации и диагностическая значимость их тестирования. Диагностический критерий исключения целиакии

Для установления диагностической и прогностической значимости HLA-маркеров, которая до сих пор все еще остается спорной и неоднозначной, а также для подтверждения ассоциированных с целиакией гаплотипов и исключения других аллельных вариантов HLA-генов было проведено HLA-генотипирование в популяции Российской Федерации (Северо-Западный регион). Изучение численности, частот и диагностической значимости рискованных аллельных вариантов HLA-молекул DQ2 и DQ8 у больных целиакией показало, что численности и частоты предрасполагающих аллелей *201, *301, *501 (локус HLA-DQA1) и *201, *302 (локус HLA-DQB1) статистически значимо отличаются от всех остальных аллелей (уровень значимости, $p = 10^{-9}$ и Байесов фактор, $БФ_{01} = 10^{-16}$). Однако, при этом различия, полученные между самими рискованными аллельными вариантами, статистически незначимы ($p=0,15$ и $БФ_{01}=5,7$). Установленные такие значения лабораторных показателей, как положительное и отрицательное отношение правдоподобий показали, что полученные данные хоть и статистически значимы, но с очень низкими верхними границами 99%-х доверительных интервалов (ДИ), которые до-

стигают значения 2,7, при допустимых для практического применения $OP^+ > 10$ и/или $OP^- < 0,1$. Показатели чувствительности и специфичности HLA-генотипирования рискованных аллелей локусов HLA-DQA1 и HLA-DQB1, а также отношение шансов ОШ (2,23,14,3 и 2,63,44,6) и относительный риск ОР (1,31,51,6 и 1,82,02,4) принято интерпретировать как низкие и малозначачие. Приемлемым для практического применения рекомендуется считать значения $OP > 3$ и/или $ОШ > 9$ (Власов В.В., 2006).

Вероятность развития болезни (предсказательная ценность положительного результата, ПЦПР) у конкретного носителя рискованной аллели в локусе HLA-DQA1 была рассчитана как 0,0020,0070,015, т.е. от 0,2% до 1,5% (с доверительной вероятностью 99%). Формально эта вероятность (0,7%) примерно в 1,5 раза превышает среднюю распространенность целиакии по Европе, равную 0,25% (1:100) и подтверждает, что действительно риск развития целиакии у носителя этих аллелей выше, чем у любого другого индивидуума без данных аллелей. Тем не менее, такая вероятность явно слишком мала, чтобы считать наличие этих аллелей прогностическим показателем. Вероятность развития болезни у носителя «рисковых» аллелей *02 и *0302 в локусе HLA-DQB1 оказывается более высокой и равна 0,0030,0100,021, но тоже недостаточна, чтобы считать их наличие как прогностический показатель.

Таким образом, статистический анализ частот рискованных аллелей определил их диагностическую и прогностическую несостоятельность как самостоятельных маркеров и невозможность их использования для диагностических целей.

Распределение суммы гаплотипов молекул DQ2 и DQ8 по их численности и частоте показало, что доля носителей, обсуждаемых рискованных гаплотипов в контрольной группе составила 0,44 или 44%, что удовлетворительно согласуется с их частотами, предложенными в качестве эталонных для европеоидов, а именно 34% (0,320,340,36) (Klitz J., 2003). Высокий процент рискованных гаплотипов в контрольной группе подтвердил мультифакторность целиакии и необходимость вовлечения в развитие болезни других генов.

В группе больных целиакией доля рискованных гаплотипов составила 92,4% и оказалось несколько ниже, чем у больных целиакией в Европейской популяции (96-98%) (Stankovic B., Radlovic N. et al., 2014). По всей вероятности, этот показатель связан с неправильной интерпретацией результатов исследования и/или недостаточным методическим обеспечением по HLA-генотипированию. Высокий процент рискованных гаплотипов (HLA-DQ2, HLA-DQ8) у больных целиакией в популяции Российской Федерации подтвердил ассоциацию этих генов с целиакией. Последующее определение лабораторных показателей продемонстрировало их диагностическую значимость. В то же время, выявленная низкая специфичность (0,490,560,62) вместе с максимальной чувствительностью (0,951,01,0) и очень высокой предсказательной ценностью отрицательного результата теста (0,960,980,998) означают, что наличие рискованных гаплотипов явно недостаточно для предсказания болезни у носителей, но их отсутствие оказывается весьма эффективным для отрицания болезни. Кроме этого, было установлено, что отношения правдоподобий для положительных и отрицательных результатов теста зависят от стадии целиакии (таблица 8). Выявлена зависимость резкого возрастания доли носителей рискованных гаплотипов от стадии целиакии, что позволяет прогнозировать развитие клинического течения целиакии. Наглядно это представлено как возрастание значений отношения шансов (ОШ) и отношения рисков (ОР).

Диагностическая и прогностическая значимость гаплотипов по локусам
HLA-DQA1 и HLA-DQB1

Показатели информативности	Стадия целиакии I	Стадия целиакии II, III a,b	Стадия целиакии IIIc
Чувствительность	0,210,260,31	0,850,900,94	0,951,01,0
Специфичность	0,490,560,62	0,490,560,62	0,490,560,62
ОП ⁺	0,81,11,4	3,43,84,2	3,74,14,5
ОП ⁻	0,91,01,1	4,27,613,8	2,531400
ПЦПР	0,0020,0050,011	0,0060,020,04	0,0070,020,04
ПЦОР	0,9890,9950,998	0,960,980,998	0,960,980,998
ОШ	0,81,11,5	6,89,714,2	17,630,353,4
ОР	0,8 1,11,4	3,43,84,2	3,64,24,6

Примечание: ОП⁺, ОП⁻ - отношение правдоподобия; ПЦПР, ПЦОР – предсказательная ценность положительного и отрицательного результатов; ОШ – отношение шансов; ОР – относительный риск

Таким образом, установленная высокая прогностическая значимость отрицательных результатов теста (ПЦОР-99,8%) позволяет включать в диагностику целиакии определение рисков гаплотипов как диагностический критерий исключения заболевания, способствующий снижению количества повторных лабораторных исследований, сокращению цикла обследования, уменьшению ошибок и задержек в принятии клинического решения.

2.5. Лабораторная оценка иммунологической толерантности у больных целиакией к авенинам наиболее распространенных пищевых сортов овсов как новый диагностический подход для оптимизации лечения

Возможность употребления в пищу овсов больными целиакией обсуждается до сих пор из-за неоднозначной реакции на данный пищевой продукт. До сих пор остается непонятным механизм разного иммунного ответа у больных целиакией на авенины овсов, который является ключевым и может приводить к деструкции слизистой оболочки тонкого кишечника при его употреблении. Совместно с Федеральным государственным бюджетным научным учреждением «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова» были исследованы разные сорта овсов, представляющие пищевую ценность. Результаты изучения авенинов различных сортов овсов выявили такие сорта (Пушкинский, Астор), у которых антигенные эпитопы резко отличались от глиадиновых и, что очень важно, не вызывали патологического иммунного ответа у больных целиакией, что согласуется с результатами зарубежных исследований (Tye Din, JA, 2004). Проведенный анализ результатов, полученных в группе больных целиакией при использовании разработанных тест-систем с включением в качестве антигена авенинов исследуемых сортов овсов, выявил разную интенсивность реакции (рисунок 5), что позволило выделить три группы пациентов:

- низко реагирующих (37,5%),
- высоко реагирующих (33,3%)
- по-разному реагирующих на разные сорта овсов (29,2%)

Полученный результат подтвердил разную иммунную реакцию у больных целиакией на авенины овсов и показал, что почти половина больных целиакией (43,7%) не давала патологического иммунного ответа на авенины изученных сортов овсов (Пушкинский, Астор). Выявленная возможность разного иммунного ответа на авенины у больных целиакией определяет целесообразность разработки диагностических тест-систем для выявления антител к авенинам, что поможет провести индивидуализацию диеты больного целиакией для оптимизации лечения. Так, применение тест-систем с включением в качестве антигена авенинов исследуемых сортов помогло выявить больных, которые после обследования могли бы использовать в диетотерапии продукты, содержащие установленные для них нетоксичные сорта овсов. Расширение перечня продуктов будет способствовать селекции неиммуногенных сортов овсов и производству новых продуктов питания, что отразится на сбалансированности питания и повышении социальной адаптации больных целиакией.

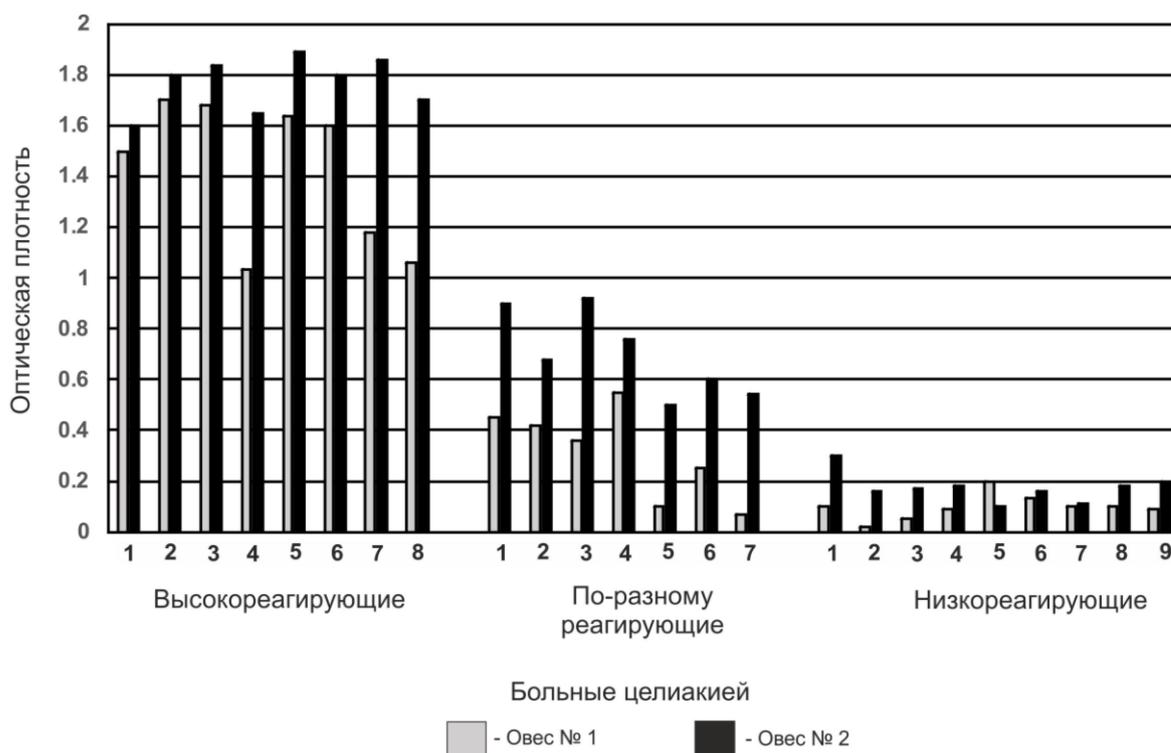


Рисунок 5. Группы больных целиакией по-разному реагирующие на авенины овсов
Примечание. Овес №1- Астор; овес №2- Пушкинский

Таким образом, разработка нового диагностического подхода для выявления иммунологической толерантности у больных целиакией к авенинам овсов позволит:

- выявить отсутствие иммунологической толерантности к авенинам овсов и предотвратить деструкцию слизистой оболочки тонкого кишечника;

- сбалансировать питание больного целиакией употреблением в пищу для данного пациента определенных сортов овсов, являющихся дополнительным источником витаминов группы В, микроэлементов, особенно калия и фосфора, белков, клетчатки (растворимой и нерастворимой), антиоксидантов (фитиновая кислота, фенольные соединения, витамин Е и др.), полиненасыщенных жирных кислот и др.;

- расширить безглютеновую диету. Так, мука овса по ряду пищевых и технологических свойств не уступает пшеничной и может заменить ее в производстве, например, кондитерских и других изделий, что скажется на снижении себестоимости продуктов, увеличит продуктовый ассортимент и отразится на социальной адаптации больных.

Все выше перечисленное будет способствовать оптимизации проводимого лечения с повышением эффективности и улучшения его результатов.

2.6. Алгоритмы обследования для пациентов с подозрением на целиакию и групп риска с учетом сформированных критериев и основных принципов лабораторной диагностики

На основании полученных операционных характеристик была проведена оценка диагностической информативности изученных лабораторных тестов и выполнена процедура их приоритетного выбора с исключением из перечня таких неинформативных лабораторных исследований, как IgA-АГА, IgG-АГА и IgG-ТТА. Дальнейшее ранжирование диагностической ценности лабораторных тестов, проведенное с помощью статистического анализа деревьев решений (decision tree), подтвердило большее количество ложноположительных результатов у ТТА по сравнению с IgG -ДПГА, которые не относятся к аутоантителам и не связаны с поликлональной активацией В-клеток, приводящей к синтезу большого количества полиспецифичных антител. Это позволило остановиться на IgG-ДПГА, диагностические достоинства, удобство и быстрота выполнения которого вместе с приемлемой стоимостью теста хорошо подходили для использования его на начальных этапах диагностики. Проведенный анализ деревьев решений также показал неэффективность изолированного использования отдельных тестов и необходимость совместного их применения, что определило необходимость подбора оптимальных комбинаций лабораторных исследований с формированием диагностических этапов и последовательным их выполнением. Для этого на основании принципа системной интеграции, предусматривающего использование максимальных операционных характеристик тестов за счет модификации точки отсечения и сокращения «серой зоны» (вероятность сомнительного результата), подразумевающих уменьшение диагностических ошибок, была рассмотрена комбинация лабораторных тестов. На основании принципа системной интеграции с использованием ROC-анализа были определены оптимальные комбинации тестов и сформированы диагностические критерии:

- диагностический критерий исключения целиакии – комбинация тестов ЭМА + IgA-ТТА (прогностическая ценность отрицательного результата - 100%);
- диагностический критерий подтверждения целиакии – комбинация тестов IgA-ТТА + биопсия + ТТ-д (прогностическая ценность положительного результата 100%);

Помимо этого, комплексное изучение лабораторных тестов с учетом полученных результатов, дополнило диагностические критерии целиакии:

- диагностический критерий исключения целиакии для пациентов, имеющих генетический риск – HLA-тест для выявления рисковых гаплотипов (прогностическая ценность отрицательного результата - 99,8%);

- критерий дифференциальной диагностики для воспалительных заболеваний кишечника – тест для определения антител к эндомизию (ЭМА).

Дополнительным критерием для оценки эффективности лечения служит определение концентрации свободного карнитина и его эфиров.

Оптимально подобранные комбинации лабораторных тестов вместе с дополнительными критериями позволили провести последовательное их выполнение с формированием диагностических этапов (принцип этапности), подразумевающий оценку клинической информативности лабораторных тестов для обоснования целесообразности каждого этапа. В алгоритм диагностики включены несколько этапов: определение ДПГА-IgG на первом этапе с последующей оценкой ЭМА и ГТА, ГТ-д, исследованием биопсийного материала и молекулярно-генетическим подтверждением носительства HLA-гаплотипов (рисунок 6). Последовательное соблюдение этапности подчиняется принципу взаимозависимости, который выстраивает зависимость выполнения каждого этапа от выполнения предыдущего и последующего этапов, без смещения или отсутствия одного из этапов. Такой подход снижает диагностические пропуски и не приводит к усложнению процесса дифференциальной диагностики. Принципы этапности, взаимозависимости и системной интеграции предполагают создание целостной диагностической системы с подчинением принципу синергизма, по которому эффективность работы единой диагностической системы должна быть выше, чем эффективность отдельных ее составляющих. Сформулированные принципы лабораторной диагностики целиакии были реализованы с использованием биохимических и молекулярно-генетических исследований у лиц с подозрением на наличие заболевания. Отдельным этапом выделяется обследование лиц в группах риска, где последовательность действий начинается с молекулярно-генетического исследования HLA-генотипа (прогностическая ценность отрицательного результата - 99,8%).

Сформулированные принципы лабораторной диагностики и клинко-диагностические критерии определили алгоритмы обследования лиц, входящих в группы риска и больных с подозрением на целиакию (рисунки 6, 7). Представленные алгоритмы обследования были апробированы в СПб ГКУЗ «Диагностический (медико-генетический) центр». Выявлены следующие преимущества диагностических алгоритмов:

- использование 100% предсказательной ценности положительного и отрицательного результатов при применении оптимальных комбинаций лабораторных тестов предполагает четкую связь обнаруженных отклонений с наличием или отсутствием целиакии;

- сокращение сроков обследования (с 21 дня до 4-5 дней) – исключение целиакии уже на начальном этапе по результатам комбинации ЭМА+ГТА и по HLA-генотипированию (без биопсии, запись на проведение и ожидание результатов биопсии занимает в среднем 3-4 недели);

- уменьшение величины «серой зоны» благодаря использованию максимальных операционных характеристик за счет оптимальной комбинации лабораторных тестов;

- обеспечение выявления селективного IgA-дефицита у больных целиакией без введения в алгоритм обследования дополнительного теста;

- экономичность диагностического алгоритма за счет использования дорогостоящих лабораторных исследований (HLA-генотипирование) только в отдельных случаях: на начальных этапах диагностики – в группах риска, на заключительных этапах – при неоднозначных результатах обследования лиц с подозрением на заболевание; а также за счет уменьшения количества лабораторных тестов при использовании их в оптимально подобранной комбинации (в среднем на 35% - 40%)

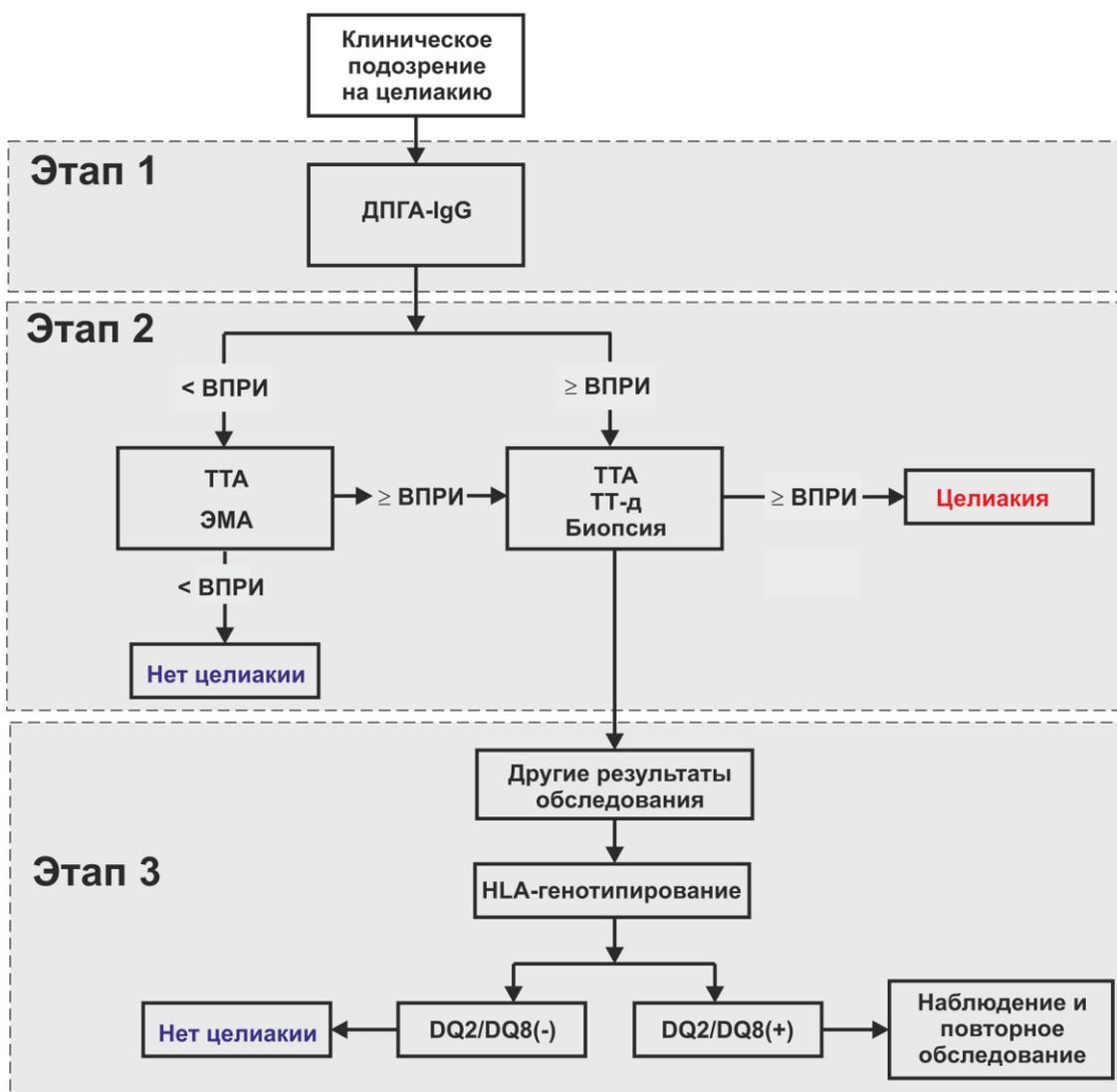


Рисунок 6. Алгоритм обследования пациентов с клиническим подозрением на целиакию

Примечание. ДПГА- антитела к дезаминированным пептидам глиадина; ТТА- антитела к тканевой трансглутаминазе, ЭМА- антитела к эндомизию; ТТ-д субэпителиальные депозиты к тканевой трансглутаминазе; ВПРИ-верхний предел референтного интервала; DQ2/DQ8-HLA-молекулы

Использование разработанных алгоритмов для диагностики целиакии позволило снизить диагностические пропуски и обеспечить своевременное назначение лечения, что подтвердила установленная диагностическая эффективность алгоритма, которая составила 97,4%.

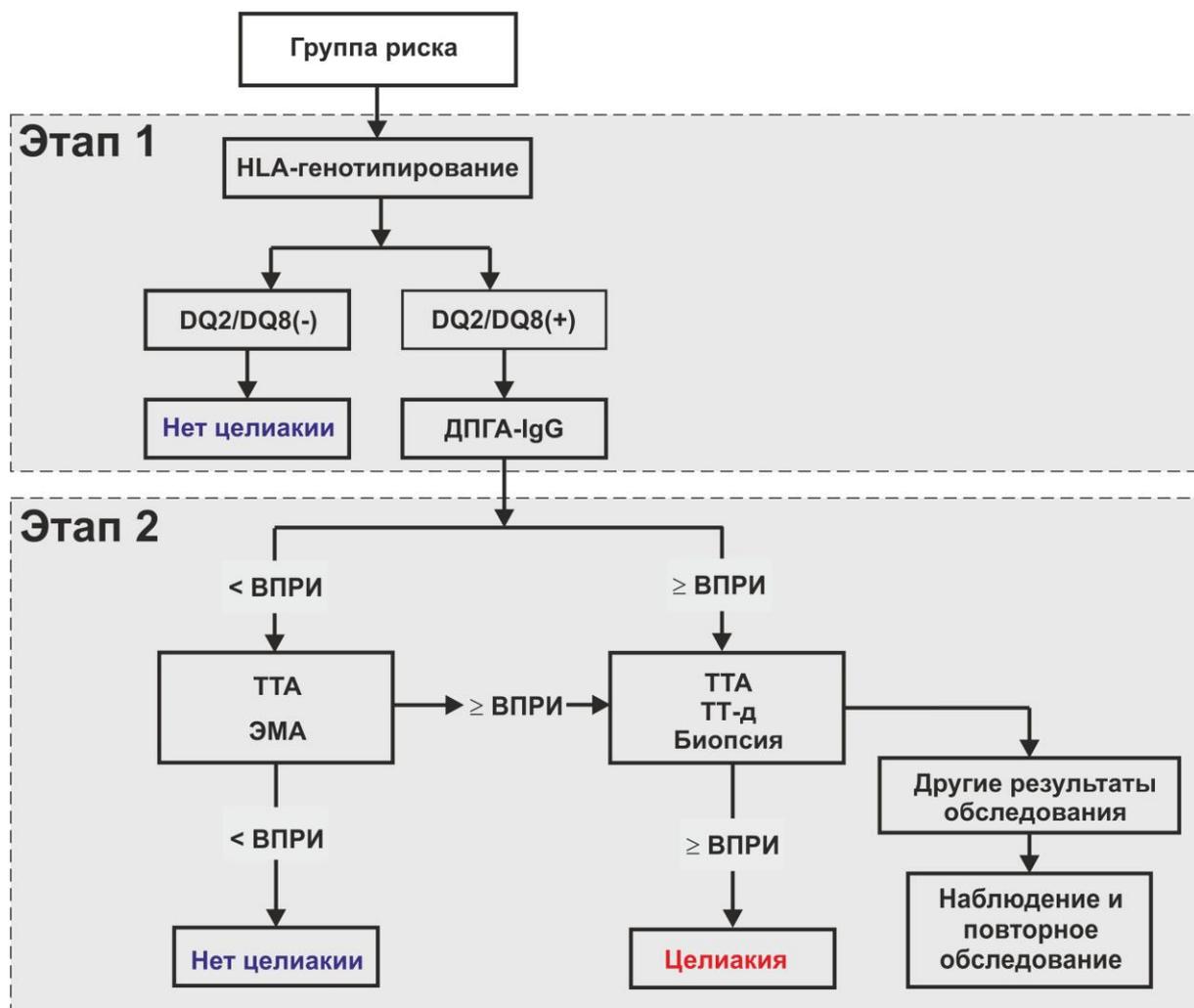


Рисунок 7. Алгоритм обследования лиц, входящих в группы риска

Примечание. ДПГА- антитела к дезаминированным пептидам глиадина; ТТА- антитела к тканевой трансглутаминазе, ЭМА- антитела к эндомизию; ТТ-д субэпителиальные депозиты к тканевой трансглутаминазе; ВПРИ-верхний предел референтного интервала; DQ2/DQ8-HLA-молекулы

ВЫВОДЫ

1. Тканевые трансглутаминазные антитела IgA-класса и эндомизийные антитела являются основными диагностическими маркерами целиакии, использование которых в комбинации и при условии верхней границы референтного интервала тканевых трансглутаминазных антител, определенной как 160 ед/мл, имеет высокую положительную прогностическую значимость и может служить для подтверждения целиакии. Отсутствие ложноположительных результатов исследования эндомизийных антител при диагностике целиакии определяет целесообразность их включения в алгоритм дифференциальной диагностики воспалительных заболеваний кишечника. Тканевые трансглутаминазные антитела IgG-класса имеют недостаточную диагностическую информативность (специфичность 89,1%, чувствительность 84,5%) и не должны использоваться в диагностике целиакии.

2. Высокие показатели чувствительности (94,7%) и специфичности (93,9%) антител к дезаминированным пептидам глиадина позволяют заменить неспецифичные антиглиадиновые антитела (чувствительность 86,7% и специфичность 89,2%) в программах диагностики целиакии. Антитела к дезаминированным пептидам глиадина IgG-класса являются дополнительным методом выявления селективного IgA-дефицита у больных глютеновой энтеропатией.

3. Использование иммунохроматографического экспресс-теста по определению тканевых трансглутаминазных антител в капиллярной крови для диагностики целиакии возможно после предварительной профессиональной подготовки медицинского персонала.

4. Субэпителиальные тканевые трансглутаминазные депозиты слизистой оболочки тонкого кишечника являются дополнительным лабораторным маркером при диагностике субклинических форм и ранней диагностике целиакии, выявления эпизодического нарушения диетотерапии. Высокая прогностическая значимость отрицательного результата (ПЦОР=98,3%) и отношение правдоподобия отрицательного результата (ОП=0,063) позволяют судить о высокой степени вероятности исключения заболевания. Уровень карнитина и его эфиров коррелирует со степенью поражения СОТК ($r=0,754$, $p<0,01$) и может рассматриваться как критерий риска неблагоприятного течения целиакии с поражением слизистой тонкого кишечника.

5. Носительство HLA-DQ2 и HLA-DQ8 гаплотипов ассоциировано в Российской популяции с целиакией и является основным генетическим фактором риска развития глютеновой энтеропатии. Высокая прогностическая значимость отрицательного результата теста по HLA-генотипированию (99,8%) позволяет исключать целиакию при отсутствии HLA-DQ2 и HLA-DQ8 гаплотипов в группах риска на начальном этапе диагностики и в диагностически неясных ситуациях в качестве окончательного критерия.

6. Установлена иммунологическая толерантность у больных целиакией (43,7%) к наиболее распространенным пищевым сортам овсов (Пушкинский, Астор). Определение антител к авенинам указанных сортов овсов позволяет сбалансировать питание больных целиакией и расширить диетотерапию.

7. Основными принципами лабораторной диагностики целиакии являются этапность с учетом диагностической информативности лабораторных тестов; принцип системной интеграции с модификацией точки отсечения для достижения максимальных операционных характеристик тестов и сокращения «серой зоны»,

принципы взаимозависимости и синергизма, обеспечивающие более высокую диагностическую эффективность системы лабораторных исследований, чем суммарная эффективность отдельных ее элементов.

8. Разработанные на основе этих принципов алгоритмы обследования обеспечивают диагностическую эффективность 97,4%, что позволяет своевременно выявлять больных целиакией с разными манифестными формами, сокращать циклы и сроки обследования, способствуя снижению развития осложнений, приводящих к инвалидизации и летальному исходу.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Обследование пациента при подозрении на целиакию должно начинаться с определения IgG-ДППА, а в группах риска – с HLA-генотипирования (первая степень родства и пациенты, имеющие в анамнезе ассоциированные с целиакией заболевания). Отсутствие HLA-молекул DQ2 и/или DQ8 у пациентов из группы риска позволяет не проводить дальнейшее обследование.

2. Для исключения целиакии необходимо определение ЭМА и ТТА. Определение IgG-ДППА направлено на снижение ложноположительных результатов и исключение селективного IgA – дефицита, ассоциированного с целиакией.

3. Использование отрицательных результатов комбинации тестов ЭМА и IgA-ТТА позволяет отрицать наличие целиакии у пациента, что рекомендует использовать эту комбинацию как окончательный критерий отсутствия целиакии при условии отрицательных результатов IgG-ДППА.

4. В случае, если пациент с подозрением на целиакию имеет результаты IgG-ДППА выше референтных значений, необходимо подтвердить наличие целиакии комбинацией тестов IgA-ТТА + IgA-ТТ-д + биопсия. При обследовании пациентов, имеющих не выходящие за референтные пределы результаты обследования, необходимо убедиться в отсутствии ограничения в питании глютенсодержащих продуктов и иммуносупрессорной терапии.

5. Сорты овсов Астор и Пушкинский могут включаться в продуктовый перечень больных целиакией после предварительного определения антител к авенинам.

6. Эффективность диетотерапии при целиакии может быть дополнительно оценена с помощью исследования субэпителиальных тканевых трансглутаминазные депозитов СОТК и определением ацилкарнитинов.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в научных журналах и изданиях, входящих в перечень рецензируемых научных журналов и изданий для опубликования основных научных результатов диссертации

1. Вохмянина, Н.В. Возможности и проблемы современной лабораторной диагностики целиакии. / Н.В. Вохмянина // Клиническая лабораторная диагностика. – 2004. – № 11. – С. 25-32.
2. Вохмянина, Н.В. Значение серологической диагностики для определения отсутствия толерантности к проламинам определенных сортов овса у больных целиакией. / Н.В. Вохмянина, В.Л. Эмануэль, И.П. Гаврилюк, В.Н. Красильников, Н.В. Алпатьева // Клиническая лабораторная диагностика. – 2007. – №4. – С.32–35.
3. Вохмянина, Н.В. Тканевая трансглутаминаза (TG2) и антитела к тканевой трансглутаминазе при воспалительных заболеваниях кишечника. / Н.В. Вохмянина, А.В. Грачев, С.В. Лапин, Ю.С. Лебедин, В.Л. Эмануэль // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И.Мечникова. – 2009. – №1 – С.135–139.
4. Вохмянина, Н.В. Клиническое значение выявления депозитов тканевых трансглутаминазных антител (IgA-tTG) в слизистой тонкого кишечника для диагностики и эффективности лечения целиакии. / Н.В. Вохмянина, А.В. Козлов, Л.С. Орешко //Профилактическая и клиническая медицина. – 2011. – №2– том II(39). – С.18–22.
5. Вохмянина, Н.В. Субэпителиальные депозиты IgA-tTG в слизистой тонкого кишечника – перспективные лабораторные маркеры глютенной энтеропатии / Н.В. Вохмянина, А.В. Козлов, Л.С. Орешко // Уральский медицинский журнал – №3, – 2011. – С.86–90.
6. Вохмянина, Н.В. Опыт практического применения метода определения субэпителиальных депозитов антител класса IgA к тканевой трансглутаминазе для диагностики глютенчувствительной целиакии/ Н.В. Вохмянина, А.В.Козлов, А.И.Парфенов, Л.С. Орешко // Терапевтический архив. – 2012. – №2. – С.26–30.
7. Вохмянина, Н.В. Особенности диагностики глютенной энтеропатии с использованием определения тканевых трансглутаминазных антител в капиллярной крови. / Н.В. Вохмянина, Лебедин Ю.С., Эмануэль В.Л. // Российский педиатрический журнал. – 2010. – №1.– С.21–24.
8. Вохмянина, Н.В. Дефицит свободного карнитина и ацилкарнитинов у больных целиакией / Н.В. Вохмянина // Ученые записки СПбГМУ им.И.П.Павлова. – 2010. –Т.ХVII – № 2. – С.33–35.
9. Вохмянина, Н.В. Современные технологии профилактики наследственных болезней и детской инвалидности. / Н.В. Вохмянина, Кузнецова Е.Ю., Орел В.И., Карпов К.П., Паникашвили В.М. Российский педиатрический журнал – №2, – 2010. – С.47–50.
10. Вохмянина, Н.В. Опыт HLA-типирования больных целиакией. Диагностическая значимость HLA-DQ2 и HLA-DQ8. / Н.В. Вохмянина // Медицинская генетика. – №7, – 2010. – С.33–41.
11. Вохмянина, Н.В. Генетические аспекты целиакии. / Н.В. Вохмянина // Медицинская генетика. – №10, – 2010. – С.3–8.

12. Вохмянина, Н.В. Неспецифические маркеры целиакии для оптимизации лечения больных глютеновой энтеропатией. / Н.В. Вохмянина // Вестник новых медицинских технологий – т.ХVIII – №1, – 2011. – С.76–79.

13. Вохмянина, Н.В. Клиническое, Н.В. Дезаминированные пептиды глиадина. Оптимальный подход к диагностике целиакии.// Уральский медицинский журнал.– 2012. – №5(97). – С.129–133.

14. Вохмянина, Н.В. Диагностическая значимость эндомизийных (ЕМА) и тканевых трансглутаминазных (тТГ) антител для выявления целиакии и других гастроинтестинальных заболеваний. //Вопросы детской диетологии – 2013. - №1(11). – С.10-15.

15. Вохмянина, Н.В. Условия минимизации диагностических пропусков для выявления целиакии./Н.В.Вохмянина, Т.В. Вавилова //Справочник врача общей практики - 2014.- №6. - С.24-26

16. Вохмянина, Н.В. Глютеновая энтеропатия с позиции полногеномного анализа ассоциаций. (Обзор литературы) / Н.В. Вохмянина, Т.В. Вавилова //Вестник Санкт-Петербургского университета – 2014. - №3(11). - С.38-49.

17. Вохмянина, Н.В. Принципы лабораторной диагностики целиакии. Критерии и алгоритмы обследования. / Н.В. Вохмянина, Т.В. Вавилова //Уральский медицинский журнал. – 2016. – №3(136). – С.124–128.

Статьи, тезисы докладов и статей, научные издания, методические руководства

18. Вохмянина, Н.В. Современное представление о целиакии: монография / Н.В. Вохмянина. – СПб.: Издательство СПбГМУ – Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2009. – 152 с.

19. Вохмянина, Н.В. Лабораторная диагностика целиакии. Методические рекомендации МЗ РФ. / Н.В. Вохмянина. – СПб.: СПбГМУ им. академика И.П.Павлова, 2004. – 26 с.

20. Вохмянина, Н.В. Мультифакторная болезнь целиакия. Учебное пособие. / Н.В. Вохмянина. – СПб.: СПбМАПО, 2010. – 43 с.

21. Целиакия у детей / Рабочая группа // Стандарты диагностики и лечения, СПб. – 2010. – 13 с.

22. Вохмянина, Н.В. Исследование сырья для аглютеновой диеты. / Н.В. Вохмянина, Н.В. Алпатьева, Н.А. Леонтьева // 5-й Международный Славяно–Балтийского научный форум «Санкт–Петербург – Гастро – 2003» // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. Тезисы докл. – 2003. – № 2–3. – С. 6.

23. Вохмянина, Н.В. Новое направление в диагностике целиакии. / Н.В. Вохмянина // Материалы 6-го Международного Славяно–Балтийского научного форума «Санкт–Петербург – Гастро – 2003». «Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии». – 2003. – № 2–3. – С. 29.

24. Вохмянина, Н.В. Использование HLA–типирования для диагностики целиакии. / Н.В. Вохмянина // Материалы 3-го Российского конгресса «Современные технологии в педиатрии и детской хирургии». – Москва, 26–28 октября 2004. – С. 604–605.

25. Вохмянина, Н.В. Молекулярно–генетические аспекты в диагностике целиакии / С.В. Молчанова, Н.В. Вохмянина // Материалы 11-го Конгресса детских

гастроэнтерологов России «Актуальные вопросы абдоминальной патологии у детей». // Вопросы детской диетологии. – 2004. – Том 2, №1. – С. 30.

26. Вохмянина, Н.В. Современная концепция диагностики целиакии/ В.Л. Эмануэль, Н.В. Вохмянина // «Клинико–лабораторный консилиум». – 2004. – № 3. – С.20–22.

27. Вохмянина, Н.В. Эффективная диагностика целиакии. / Н.В. Вохмянина // Медико–генетическая служба Санкт–Петербурга (к 35–летию медико–генетического центра). – СПб. ГУЗ МГЦ. – 2004. – С. 213–222.

28. Вохмянина, Н.В. Диагностика молчащих форм целиакии/ О.П. Романенко, Н.В. Вохмянина // Материалы V съезда Российского общества медицинских генетиков. // «Медицинская генетика». – 2005. – №4. – С. 170.

29. Вохмянина, Н.В. HLA–типирование в диагностике целиакии. / Н.В. Вохмянина // Тезисы VI съезда Научного общества гастроэнтерологов России. 1–3 февраля 2006 г. – М.: Анахарсис, 2006. – С. 10.

30. Вохмянина, Н.В. Диагностика атипичных и малосимптомных форм целиакии. / Н.В. Вохмянина // Новые Санкт–Петербургские врачебные ведомости. – 2006. – №1. – С. 53–56.

31 Вохмянина, Н.В. Перспективы совершенствования серологической диагностики целиакии для индивидуализации безглютеновой диеты / Н.В. Вохмянина, И.П. Гаврилюк, В.Н. Красильников, Н.В. Алпатьева, Л.С. Орешко // Материалы 8–го Международного Славяно–Балтийского научного форума «Санкт–Петербург – Гастро – 2006». – С. 43.

32. Вохмянина, Н.В. Современные возможности диагностики наследственных и врожденных заболеваний в Диагностическом центре (медико–генетическом) Санкт–Петербурга/ О.П. Романенко, Л.В. Лязина, М.В. Прозорова, Д.В. Воронин, Н.В. Вохмянина // «Медицина Петербурга для всех» (по материалам конференции «Современные медицинские технологии в учреждениях здравоохранения Санкт–Петербурга). – СПб. – 2005. – С. 15.

33. Вохмянина, Н.В. Определение тканевых транглутаминовых антител в капиллярной крови / Н.В. Вохмянина, Ю.С. Лебедин // Материалы 9–го Международного Славяно–Балтийского научного форума «Санкт–Петербург – Гастро–2007». «Гастроэнтерология Санкт–Петербурга». – 2007. – № 1–2. Тезисы № 85.

34. Вохмянина, Н.В. Генетика целиакии / Н.В. Вохмянина // «Ультразвуковая перинатальная диагностика». – Харьков. Украина. – 2008. – №15. – С. 62–64.

35 Вохмянина, Н.В. Генетические маркеры целиакии / Н.В. Вохмянина // Материалы 10–го Юбилейного Славяно–Балтийского научного форума «Санкт–Петербург – Гастро – 2008». «Гастроэнтерология Санкт–Петербурга». – 2008. – № 2–3. Тезисы № 79.

36. Вохмянина, Н.В. Иммуногенетика целиакии / Н.В. Вохмянина // Сборник трудов IV съезда медицинских генетиков Украины. – Львов. – 2008. – С.22–23.

37. Вохмянина, Н.В. Экспресс–диагностика глютеновой энтеропатии / Н.В. Вохмянина // Клинико–лабораторный консилиум. – 2008. – №5. – С. 43–45.

38. Вохмянина, Н.В. Особенности распределения генов HLA DRB1, DQA1 и DQB1 при целиакии у детей в узбекской популяции/ А.Т. Камилова, З.М. Абдужабарова, Н.В. Вохмянина // Вестник врача №4, 2008 (министерство здравоохранения Республики Узбекистан). – С. 41–43.

39. Вохмянина, Н.В. HLA–система и целиакия / Н.В. Вохмянина // Современные технологии профилактики наследственных болезней и детской инвалидности. К 40–летию Медико–генетического центра. – СПб. – 2009. – С. 58–64.

40. Вохмянина, Н.В. Диагностические проблемы атипичных и ранних форм целиакии / Н.В. Вохмянина // IV Междисциплинарная конференция по акушерству, перинатологии, неонатологии «Здоровая женщина–здоровый новорожденный», 13–14 ноября 2009 г. – СПб. – С. 31–32.

41. Вохмянина, Н.В. Диагностические возможности целиакии / Н.В. Вохмянина // Актуальные проблемы акушерства и гинекологии, клинической иммунологии и медицинской генетики. Сборник научных трудов. Выпуск 19. – Киев–Луганск. – 2010. – С. 27–36.

42. Вохмянина, Н.В. Новые диагностические возможности для неклассической и ранней глютенчувствительной энтеропатии / Н.В. Вохмянина // Гастроэнтерология Санкт–Петербурга. – 2011. – № 1–2. – С. 24.

43. Вохмянина, Н.В. Целиакия и метаболические нарушения / Н.В. Вохмянина // Клинико–лабораторный консилиум. – 2011. – № 1. – С. 15–19.

44. Вохмянина, Н.В. Популяционно–генетические исследования врожденных и наследственных заболеваний / Т.В. Харченко, Т.И. Кадурина, О.П. Романенко, М.М. Шавловский, М.О. Мхеидзе, А.Ю. Петруничев, А.А. Василишина, Н.В. Вохмянина // Сборник научных трудов СПб МАПО. СПб.: Изд–во СПб МАПО, 2010. – С. 163–168.

45. Вохмянина, Н.В. Современное представление о целиакии / Н.В. Вохмянина // Клинико–лабораторный консилиум. – 2012. – № 4(44). – С. 49–54.

46. Vohmyanina, N.V. The avenins and celiac disease / I.P. Gavrilyuk, N.K. Gubareva, I.N. Perchuk, I.G.Loskutov, A.V. Konarev, L.S. Oreshko, N.V. Vohmyanina, V.N. Krasilnikov // Third International Symposium on Gluten-Free Cereal Products and Beverages 12–14 June 2013 Vienna, Austria. Book of abstracts. – P. 15.

47. Вохмянина, Н.В. Значение HLA–маркеров для диагностики целиакии / Н.В. Вохмянина // Мультидисциплинарные аспекты молекулярной медицины. Сборник материалов I международного форума «Молекулярная медицина – новая модель здравоохранения XXI века – технологии, экономика, образование». – 2013. – С. 45–47.

48. Вохмянина, Н.В. Взаимосвязь иммуногенности разных сортов овса у детей больных целиакией с расширением безглютеновой диеты / Н.В. Вохмянина, И.П. Гаврилюк // Педиатр. – 2013. – № 3 (IV). – С. 52–56.

49. Вохмянина, Н.В. Новые подходы к диагностике целиакии на основе системной интеграции лабораторных исследований / Н.В. Вохмянина, Т.В. Вавилова // Трансляционная медицина. Сборник статей под ред. Е.В. Шляхто. – 2-е изд. – СПб.: Северо–Западный федеральный медицинский исследовательский центр им. В.А.Алмазова, 2015. – С. 240–259.

Список сокращений

АГА	антитела к глиадину
БГД	безглютеновая диета
ВЗК	воспалительные заболевания кишечника
ДПГА	антитела к дезаминированным пептидам глиадина
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
ДПК	двенадцатиперстная кишка
ИФА	иммуноферментный анализ
МЭЛ	межэпителиальные лимфоциты
ПЦР	полимеразная цепная реакция
AU (ПЕ)	arbitrary units, произвольные единицы
AUC, ROC	area Under the receiver operating characteristic [ROC] Curve) – площадь под кривой оперативной (рабочей) характеристики диагностического метода.
СОТК	слизистая оболочка тонкой кишки
ТТА	антитела к тканевой трансглутаминазе
ТТ-д	субэпителиальные депозиты слизистой оболочки тонкой кишки к тканевой трансглутаминазе
TG2	фермент тканевая трансглутаминаза
HLA-система	человеческие лейкоцитарные антигены (англ. HLA, Human Leucocyte Antigens), главный комплекс гистосовместимости
HLA-DQ2 и HLA-DQ8	антигены генов II-класса HLA-системы (DQA1, DQB1)
ЭДТА	этилендиаминтетраацетат или этилендиаминтетрауксусная кислота
ЭМА	антитела к эндомизию
ЭФГДС	эзофагогастродуоденоскопия