На правах рукописи

Шубина Татьяна Сергеевна

Технологии эндоскопической визуализации в комплексной диагностике кишечной формы реакции «трансплантат против хозяина» у детей после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток

3.1.11. Детская хирургия (медицинские науки)

3.1.21. Педиатрия (медицинские науки)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва - 2026

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные руководители:
Доктор медицинских наук, доцент **Лохматов Максим Михайлович**
Доктор медицинских наук, доцент **Балашов Дмитрий Николаевич**

Официальные оппоненты:

Доктор медицинских наук, профессор, врач-детский хирург отделения гнойной хирургии Государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Детская городская клиническая больница имени Н.Ф. Филатова» Департамента здравоохранения города Москвы

Холостова Виктория Валерьевна

Доктор медицинских наук, профессор, декан педиатрического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Семенова Елена Владимировна

Ведущая организация:

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской

Защита диссертации состоится «___» «_____» 2026 года в _____ на заседании Диссертационного совета 21.1.026.01 на базе ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России по адресу: 119991, Москва, Ломоносовский проспект, 2, стр. 1

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России по адресу: 119991, Москва, Ломоносовский проспект, 2, стр. 1 и на сайте: https://nczd.ru/

Автореферат разослан «___» _____202___ года

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор РАН **Винярская Ирина Валериевна**

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Эффективность и безопасность аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) у детей с заболеваниями крови и первичными иммунодефицитными состояниями сохраняет свою актуальность до настоящего времени (Сидорова Н.В. и соавт., 2022; Абросимов А.Б., 2024; Dávila Saldaña B.J. et al., 2025). Среди широкого спектра осложнений алло-ТГСК особое место занимает реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ) и вирусные инфекции. Основными «мишенями» для острой РТПХ являются кожа, печень и желудочно-кишечный тракт (Голощапов О.В. и соавт., 2021; Baccelli F. et al., 2024).

Учитывая неспецифичность клинических проявлений острой РТПХ, а также тот факт, что энтероколит и гемоколит после алло-ТГСК могут быть ассоциированы не только с развитием РТПХ, но и с инфекционным процессом, в первую очередь, вирусным, установление правильного диагноза остается сложной проблемой (Sauvestre F. et al., 2018; Tarantino G. et al., 2021). Неверная трактовка поражения желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и, как следствие, неправильный выбор тактики терапии чреваты тяжелыми последствиями.

Важным инструментом для сужения диагностического поиска считается эндоскопия нижних отделов ЖКТ (Kreft A. et al., 2021; Pérez-Cuadrado-Robles E. et al. 2021; Slae M. et al., 2025). Однако роль эндоскопии в получении данных о характерных эндоскопических изменениях, необходимых для диагностики РТПХ у детей, по-прежнему является предметом для дискуссии, а опыт ограничен лишь единичными публикациями [Koh P. et al., 2021, Slae M. et al., 2021].

Известно, что клинический диагноз РТПХ требует гистологического подтверждения (Khandelwal P. et al., 2023; Kim E.S. et al., 2023; Rattanaseksan K. et al., 2025; Slae M. et al., 2025). Однако в вопросе использования морфологических находок с целью выявления острой РТПХ единого мнения среди исследователей нет. С одной стороны, характерными для РТПХ признаками при патоморфологическом исследовании считается нарушение формы крипт, их расположения и наличие очагов апоптоза (Endo K. et al., 2018). Тем не менее, ряд авторов делает акцент на том, что, патогномоничных гистологических признаков для РТПХ нижних отделов ЖКТ не существует, так как режим кондиционирования, инфекционный статус и иммуносупрессивная терапия также могут индуцировать признаки апоптоза и деформацию крипт (Endo K. et al., 2018; Sauvestre F. et al., 2018). В связи с этим проблема идентификации гистологических маркеров острой РТПХ после алло-ТГСК все еще не является решенной проблемой для адекватной верификации патологических изменений.

Степень разработанности темы исследования

Эндоскопические технологии у детей применяются с 60-х гг. прошлого века и являются сегодня незаменимыми (Лохматов М.М. и соавт., 2022; Faraci M. et al., 2022; Mahoney L.B. et al., 2023). Диагностические возможности внутрипросветной эндоскопии в педиатрической практике постепенно расширяются (Bramuzzo M. et al., 2024; Krasaelap A., et al., 2023). Эндоскопия с усилением изображения и использование

хромоэндоскопии в настоящее время считаются неотъемлемой частью осмотра слизистой оболочки (Koh M. et al., 2023; Nagai M. et al., 2023).

Среди авторов фокус внимания сосредоточен на разработке критериев диагностики желудочно-кишечной РТПХ. Несмотря на актуальность ранней эндоскопической диагностики РТПХ ЖКТ и прогнозирования исходов лечения ТГСК, в отечественной литературе имеются лишь единичные научные исследования в этой области, носящие описательный характер, без попытки систематизации эндоскопических данных [Лозовая В.В. и соавт., 2024].

Согласно публикациям зарубежных авторов, обследовавших взрослых пациентов, при эндоскопическом осмотре у больных с РТПХ определяются характерные изменения слизистой оболочки толстой кишки, такие как: «апельсиновая корка», «красные пятна», единичные дефекты слизистой, диффузные дефекты слизистой оболочки (Chan J. et al., 2023; Faraci M. et al., 2022; Slae M. et al., 2025). Тем не менее, данные о возможности использования характерных эндоскопических изменений слизистой оболочки толстой кишки для диагностики РТПХ после алло-ТГСК у пациентов детского возраста отсутствуют как в зарубежной, так и в отечественной литературе.

Также среди исследователей обсуждается проблема необходимости проведения илеоскопии и использования такого диагностического критерия острой РТПХ, как атрофия ворсинок терминального отдела подвздошной кишки (ТОПК) [Matsuda K. et al., 2020; Chan J. et al., 2023]. Тем не менее, единого мнения среди авторов в отношении информативности эндоскопического маркера «атрофия ворсинок ТОПК», выявляемого по данным илеоскопии, нет. Все вышесказанное позволило сформулировать цель и задачи данного исследования.

Цель исследования

Улучшить метод ранней диагностики реакции «трансплантат против хозяина» с поражением нижних отделов желудочно-кишечного тракта на основании данных илеоколоноскопии у детей после аллогенной трансплантации стволовых клеток.

Задачи исследования:

1. Изучить частоту выявления характерных эндоскопических критериев реакции трансплантат против хозяина с поражением нижних отделов ЖКТ у детей после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток.
2. Определить роль апоптотического повреждения в комплексной диагностике поражения ЖКТ после ТГСК на основании анализа результатов гистологического исследования биоптатов, полученных в процессе колоноскопии.
3. Обосновать необходимость улучшения визуализации эндоскопического критерия «апельсиновая корка» при проведении колоноскопии путем распыления на слизистую оболочку толстой кишки через спрей-катетер 0,4% раствора индигокармина.
4. Изучение роли илеоскопии в диагностике атрофических изменений ворсинок терминального отдела подвздошной кишки с определением чувствительности и специфичности метода на основании данных, полученных при гистологическом исследовании биоптатов слизистой.

5. Определить прогностическую значимость деструкции крипт, выявленных при морфологическом исследовании биопсийного материала, полученного во время илеоскопии.

6. Проанализировать и оценить безопасность проведения илеоколоноскопии у детей после алло-ТГСК на основании оценки факторов риска развития серьезных осложнений (кишечного кровотечения, перфорации стенки кишки), а также сформулировать противопоказания к использованию данного метода, либо показания к ограничению глубины и локусов исследования.

Научная новизна

Выполнена оптимизация ранней эндоскопической диагностики РТПХ нижних отделов ЖКТ у детей после алло-ТГСК на основании идентификации эндоскопических признаков поражения слизистой оболочки кишки и определения их прогностической значимости.

Впервые показано, что визуализация изменений архитектоники слизистой оболочки, напоминающих апельсиновую корку или панцирь черепахи (отек, рыхлая или зернистая поверхность), и дефектов слизистой оболочки может быть использована как способ ранней диагностики интестинальной формы острой РТПХ у детей после аллогенной ТГСК.

Обоснована необходимость распыления 0,4% раствора индигокармина через спрей-катетер на слизистую оболочку толстой кишки с целью улучшения визуализации эндоскопического критерия «апельсиновая корка».

Предложена оригинальная гипотеза, обогащающая научную концепцию о механизмах формирования макроскопических изменений слизистой оболочки толстой кишки при энтероколите иммунного и сочетанного генеза. Эндоскопический признак «апельсиновая корка» в большей степени ассоциируется с вирусным или с тяжелым иммуноопсредованным поражением. Выявленные при колоноскопии дефекты слизистой оболочки (чаще поверхностные) в первую очередь указывали на иммунное поражение.

Введены в клиническую практику новые понятия об истинной и «ложной» атрофии ворсинок ТОПК, позволяющие повысить значимость эндоскопического осмотра подвздошной кишки и улучшить диагностику острой РТПХ нижних отделов ЖКТ.

Доказано, что обнаружение атрофии как истинной, так и «ложной», при илеоскопии свидетельствует о более тяжелых морфологических изменениях слизистой подвздошной кишки – значимом отеке, тяжелой деструкции и множественных апоптозах. «Ложная» атрофия в дальнейшем может трансформироваться в истинную атрофию ворсинок.

Представлены научно обоснованные доказательства, что деструкция крипт слизистой оболочки подвздошной кишки является прогностическим маркером исхода заболевания. Показано, что кумулятивная выживаемость статистически значимо ниже у детей с признаками деструкции крипт подвздошной кишки, чем у пациентов без таковых – 0,55 и 0,84, соответственно (p=0,042).

Теоретическая и практическая значимость работы

Предложенная модель оптимизации эндоскопической диагностики РТПХ нижних отделов ЖКТ у детей после алло-ТГСК на основании идентификации макро- и микроскопических признаков поражения кишечника позволяет улучшить раннюю

диагностику острой РТПХ для своевременного начала специфической терапии и, как результат, повысить выживаемость детей после алло-ТГСК.

Разработан новый алгоритм эндоскопического осмотра слизистой оболочки кишки, состоящий из 3-х этапов: 1) осмотр в белом свете; 2) осмотр в узком спектре света, например, i-scan; 3) хромоэндоскопия.

Установлено преимущество повышения качества визуализации эндоскопического критерия «апельсиновая корка» путем распыления на слизистую оболочку через спрей-катетер 0,4% раствора индигокармина.

Разработан новый алгоритм ведения пациентов с подозрением на РТПХ, основанный на выявлении эндоскопического критерия «апельсиновой корки» на фоне рыхлой слизистой оболочки. Полученные результаты стали аргументом для возможности более точного определения тактики терапии пациента до получения результатов гистологического исследования биоптатов.

Показано, что, помимо колоноскопии, у детей с подозрением на РТПХ нижних отделов ЖКТ должна проводится илеоскопия с биопсией слизистой оболочки подвздошной кишки.

На основании данных илеоскопии определена информативность визуализации атрофии ворсинок ТОПК с целью прогноза выраженности воспалительных и деструктивных изменений слизистой оболочки подвздошной кишки при острой РТПХ: чувствительность – 94,4%; специфичность – 53,3%; точность теста – 68,8%; площадь под кривой (AUC) – 0,739.

Идентифицирован прогностический маркер исхода заболевания после алло-ТГСК, которым является деструкция крипт слизистой оболочки подвздошной кишки.

Методология и методы исследования

Работа проводилась с использованием простого открытого сравнительного метода с применением наблюдения, сравнения, измерения данных, полученных клиническими, лабораторными и инструментальными методами в соответствии с международными стандартами качественной клинической практики (ICH-GCP) с соблюдением принципов доказательной медицины. В исследование включены 89 пациентов после алло-ТГСК, трансплантированных в период с 2018 по 2023 гг. в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, с клиникой энтероколита и подозрением на острую РТПХ, которым проводилось эндоскопическое обследование нижних отделов ЖКТ с целью верификации диагноза. Все были разделены на 4 группы: в 1-ю группу вошли 12 (13,5%) детей с верифицированной острой РТПХ без вирусного поражения; во 2-ю группу включены 8 (9,0%) пациентов с энтероколитом вирусного генеза, диагноз РТПХ не подтвержден; 3-ю – сформировал 61 (68,5%) ребенок с сочетанным поражением иммунного (острая РТПХ) и вирусного генеза нижних отделов ЖКТ; 4-ю – 8 (9,0%) обследованных с хронической РТПХ и вирусным поражением. Исследование было одобрено решением локального этического комитета № 18 от 3 октября 2023 г.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Диагностика интестинальной формы острой РТПХ у детей после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток основывается на обнаружении при колоноскопии изменений архитектоники слизистой оболочки толстой кишки, напоминающих апельсиновую корку или панцирь черепахи (отек, рыхлая или зернистая

поверхность), а также очаговой гиперемии, поверхностных и глубоких дефектов слизистой оболочки. Визуализация данных изменений является аргументом для раннего начала или эскалации терапии РТПХ до получения результатов гистологического исследования биоптата, что играет принципиально важную роль в первую очередь при тяжёлом течении данного осложнения.

2. Такой морфологический признак острой РТПХ как апоптоз не обладает специфичностью и не может служить самостоятельным диагностическим маркером. Он лишь дополняет общую картину при установлении причины поражения ЖКТ. У 44,4% пациентов с энтероколитом сочетанного генеза, обследованных до и после алло-ТГСК, апоптоз выявлялся еще до трансплантации. Для верификации диагноза, наряду с гистологическим заключением, необходимо учитывать совокупность данных, включая эндоскопическую картину. Сформированная для диагностики сочетанного поражения кишечника после алло-ТГСК комбинация ключевых предикторов (время от ТГСК до энтероколита, эндоскопические признаки в виде отсутствия очаговой гиперемии и рыхлой слизистой, а также наличие апоптоза) демонстрирует высокую диагностическую ценность: чувствительность – 98,6%, специфичность – 62,5%, точность – 95%, AUC – 0,962.

3. У детей с подозрением на острую РТПХ нижних отделов ЖКТ после алло-ТГСК, кроме колоноскопии, необходим осмотр подвздошной кишки с биопсией слизистой и последующим гистологическим исследованием биоптатов. Диагноз острой РТПХ устанавливается клинически и верифицируется, в том числе, на основании визуализации атрофии ворсинок ТОПК по данным илеоскопии. Деструкция крипт слизистой оболочки подвздошной кишки по данным морфологического заключения – прогностический маркер исхода заболевания.

4. Эндоскопия является высоко эффективным и безопасным методом в комплексной диагностике тяжелого поражения нижних отделов ЖКТ у пациентов после алло-ТГСК, позволяет выявить основные патогномоничные признаки, определяющие дальнейшую тактику терапии энтероколита.

Степень достоверности результатов исследования

Достоверность результатов исследования подтверждается оптимальным количеством пациентов, включенных в исследование, использованием современных методов инструментальной и лабораторной диагностики, соответствующих цели и задачам, а также корректными технологиями сбора и методами статистического анализа. Статистическая обработка клинико-анамнестических данных и лабораторных показателей проводилась с использованием программы IBM SPSS Statistics 23. При нормальном распределении количественных переменных результаты описательной статистики представлены как среднее значение ± стандартное отклонение; если распределение не соответствовало нормальному – в виде медианы (1-й; 3-й квартили). Для сравнения количественных показателей двух групп использовались тест Манна-Уитни и t-тест Уэлча в зависимости от формы распределения. Для сравнения категориальных показателей групп применялся тест χ^2 Пирсона и точный тест Фишера. За критический уровень значимости принимали $p < 0,05$.

Апробация результатов исследования

Основные результаты работы доложены и обсуждены на: 13-й Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные вопросы эндоскопии» (24–25 марта 2022, Санкт-Петербург); Научно-практической конференции с международным участием «Первичные иммунодефициты - на стыке специальностей» (14-16 апреля 2022, Москва); V Научно-практической конференции студентов и молодых учёных с международным участием «Студеникинские чтения-2023» (6 декабря 2023, Москва); мероприятии Школы детских гастроэнтерологов и педиатров «Актуальные вопросы детской гастроэнтерологии» (24 мая 2025, Москва); мероприятии Школы для гематологов и детских онкологов «Особенности диагностики и лечения хронической РТПХ у детей» (5-6 декабря 2025, Санкт-Петербург).

Личное участие автора

Личный вклад автора состоит в выборе направления исследования, постановке цели и задач, изучении отечественных и зарубежных источников литературы по теме диссертации.

Диссертант лично осуществляла набор фактического материала, сбор анамнестических данных, принимала участие в клиническом, инструментальном обследовании пациентов. Автор лично проводила эндоскопический осмотр детей с подозрением на острую РТПХ после алло-ТГСК.

Автор самостоятельно провела систематизацию полученных результатов, их статистическую обработку, сформулировала научные положения, выводы и практические рекомендации. Диссертант лично участвовала в подготовке к публикации печатных работ по теме научной работы.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 3.1.11. Детская хирургия (медицинские науки), конкретно пунктам 1, 2, 3, 4, паспорту специальности 3.1.21. Педиатрия (медицинские науки), а именно пунктам 1, 3, 5, 8.

Реализация и внедрение полученных результатов в практику

Полученные научные и практические данные внедрены в работу Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Научно-исследовательского института детской онкологии, гематологии трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, Государственного автономного учреждения здравоохранения Свердловской области "Областная детская клиническая больница", Центр детской онкологии и гематологии. Результаты диссертационной работы используются в материалах для обучения студентов, интернов, ординаторов, аспирантов, курсантов ФУВ на кафедре «Хирургии с курсом онкологии, детской и реконструктивно-пластической хирургии» ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Публикации по теме диссертации

По материалам проведенных исследований опубликованы 5 печатных работ: в том числе 3 статьи в ведущих рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для публикации основных результатов диссертационных работ на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Объем и структура и диссертации

Диссертация изложена на 162-х страницах печатного текста и состоит из введения, 3-х глав, заключения, выводов, практических рекомендаций и указателя литературы, включающего 280 библиографических источника, из них 65 – отечественных и 215 – иностранных. Диссертация иллюстрирована 18 таблицами и 29 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Настоящая работа выполнена за период 2020-2023 гг. на клинической базе отделения трансплантации гемопоэтических стволовых клеток № 2, отдела эндоскопии отделения онкологии и детской хирургии (с 2024 г. – отделение эндоскопии) Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии (НМИЦ ДГОИ) им. Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Москва) [директор – д.м.н., профессор Н.С. Грачев, президент учреждения – академик РАН, д.м.н., профессор А.Г. Румянцев]

Всего за период 2020-2023 гг. в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева проведено 827 алло-ТГСК. У 137 из 827 (16,6%) пациентов после трансплантации развилась острая РТПХ, у 67 из 137 (48,9%) – выявлена клинически значимая степень поражения ЖКТ (2-4 степень). Т-клеточная деплеция (методом TCRab/CD19-деплеции на аппарате Clinimacs полная или парциальная) выполнена у 397 из 827 (48,0%) детей, что определило пролонгированную иммунореконституцию. У 430 из 827 (52,0%) пациентов Т-клеточная деплеция не осуществлялась.

Для кондиционирования использовались как миелоаблативные, так и немиелоаблативные режимы в соответствии с используемыми локальными протоколами. Профилактика РТПХ проводилась согласно международным стандартам и локальными алгоритмами, разработанными в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Также всем пациентам, подвергшимся аллогенной ТГСК, дополнительно назначалась сопроводительная терапия по стандартам EBMT.

В ходе проведенного нами исследования были проанализированы данные 89 пациентов, перенесших алло-ТГСК в период с 2018 по 2023 гг., с клиникой энтероколита и подозрением на РТПХ, которым с целью верификации диагноза выполнялось эндоскопическое обследование нижних отделов ЖКТ. На ретроспективном этапе (2018-2022 гг.) обследован 81 (91,0%) пациент, на проспективном (2023 г.) – 8 (9,0%) детей.

Критерии включения в исследование: дети не старше 18 лет, получившие аллогенную ТГСК, с документированным приживлением трансплантата и признаками энтероколита.

Критерии исключения: тяжелый неконтролируемый инфекционный процесс после аллогенной ТГСК, верифицированный на основании характерного клинико-лабораторного симптомокомплекса; некачественная подготовка кишечника перед колоноскопией; неполноценный осмотр подвздошной и толстой кишок; тромбоцитопения (число тромбоцитов менее 60 тыс/мкл); выраженное эрозивно-язвенное поражение кишечника, сопровождающееся кровотечением.

Показаниями к проведению ТГСК были как гемобластозы (58 из 89 / 65,2%), так и незлокачественные заболевания (31 / 34,8%); наиболее часто выявлены: острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) – у 34 из 89 (38,2%), острый миелобластный лейкоз (ОМЛ) – у 15 (16,9%) и первичные иммунодефициты (ПИД) – у 25 (28,1%).

В качестве источника гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) у большинства пациентов (74 из 89 / 83,1%) использовались стволовые клетки периферической крови (СКК), у 15 (16,9%) – костный мозг (КМ). У 80,9% (72 из 89) пациентов трансплантация проводилась от гаплоидентичного донора, у 11 (12,4%) – от совместимого неродственного донора, у 6 (6,7%) – от совместимого родственного донора. КМ и СКК от родственного и неродственного доноров получали при соблюдении международных стандартов по заготовке, хранению и транспортировке ГСК.

У всех 89 пациентов зафиксировано приживление гранулоцитарного ростка согласно международным критериям EBMT. Все пациенты после алло-ТГСК находились под наблюдением врача в отделении трансплантации костного мозга.

У всех детей в связи с возникшими проявлениями энтероколита выполняли микроскопию образца стула (копрограмму) и посев на бактерии и грибы, а также проводили исследование образца стула методом ПЦР на Enterovirus, Adenovirus, Rotavirus (A, B, C), Norovirus, CMV, HHV-VI, EBV и C. difficile (токсины A и B).

Лабораторное обследование также включало: клинический анализ крови; развернутый биохимический анализ (показатели функции почек и печени, содержание электролитов, липидограмма, уровни ферритина и глюкозы); коагулограмму; общий анализ мочи. Всем осуществлялось инструментальное обследование: электрокардиография, эхокардиография, ультразвуковое исследование брюшной полости и почек, компьютерная томография органов брюшной полости (по показаниям).

Для верификации диагноза РТПХ ЖКТ всем 89 пациентам произведен эндоскопический осмотр кишки (у 89 – колоноскопия, у 48 – илеоколоноскопия) при помощи видеоколоноскопов PENTAX EC-2990Fi, EC-3490Li, EC34-i1OL, а также с использованием видеопроцессора высокой четкости PENTAX OPTIVISTA EPK-i7000 и EPK-i7010. У всех исследование осуществлялась под общей анестезией (севофлуран).

Стоит подчеркнуть, что за период 2020-2023 гг. в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева с целью дифференциальной диагностики генеза энтероколита всего проведено 260 эндоскопических исследований нижних отделов ЖКТ после алло-ТГСК.

В качестве подготовки кишечника за два дня до процедуры рекомендовалось соблюдение диеты с ограничением потребления пищи растительного происхождения. Накануне исследования назначались препараты на основе пикосульфата натрия. У детей, находящихся на парентеральном питании, а также у пациентов, страдающих секреторной диарей более 4-х раз в сутки, эндоскопический осмотр выполнялся без специальной подготовки кишечника.

У всех обследованных при выполнении эндоскопического исследования использовалась технология визуализации i-scan, основанная на обработке отраженного света, улучшающей качество изображения структуры слизистой, оттенок цветности изображения и контрастность. У 14/89 (15,7%) пациентов для верификации диагноза РТПХ проведена хромоэндоскопия – эндоскопический осмотр кишки после распыления на область предполагаемых патологических изменений специального красителя (0,4% раствор индигокармина).

У всех 89 детей производили щипцовую биопсию слизистой из каждого отдела тонкой и толстой кишок в области визуализации изменений в количестве 1-2 фрагмента (6-7 фрагментов на каждое исследование). В общей сложности у 89 пациентов выполнено 840 биопсий. Биоптаты слизистой тонкой и толстой кишок направляли на гистологическое, вирусологическое и иммуногистохимическое исследования.

Степень острой РТПХ определяли в соответствии с международной классификацией, разработанной The Mount Sinai Acute GVHD International Consortium (MAGIC) [Harris A.C. et al., 2016].

После комплексного обследования в зависимости от установленного диагноза 89 пациентов были разделены на 4 группы:

- ✓ в 1-ю группу вошли 12 (13,5%) детей с верифицированной острой РТПХ без вирусного поражения (острая РТПХ / иммунный генез);
- ✓ во 2-ю группу включены 8 (9,0%) пациентов с энтероколитом вирусного генеза, диагноз РТПХ не подтвержден (вирусный энтероколит);
- ✓ 3-ю – сформировал 61 (68,5%) ребенок с острой РТПХ в сочетании с вирусным поражением нижних отделов ЖКТ (колит сочетанного генеза);
- ✓ 4-ю – 8 (9,0%) обследованных с хронической РТПХ и сочетанным поражением нижних отделов ЖКТ.

Для статистической обработки данных использовали пакет программ IBM SPSS Statistics 23. Соответствие количественных переменных нормальному распределению устанавливалось при помощи теста Шапиро-Уилка. Для сравнения количественных показателей двух групп использовались тест Манна-Уитни и t-тест Уэлча в зависимости от формы распределения. Качественные данные представляли, как абсолютное значение (n) и %, для их сравнения использовали точный тест Фишера. Трехлетнюю выживаемость детей после алло-ТГСК оценивали методом Каплана-Мейера с помощью логрангового критерия.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Актуальность ранней диагностики острой РТПХ не вызывает сомнений, однако имеющийся научный опыт, отраженный в работах зарубежных авторов (Rieger K. et al., 2018; Blanco-Velasco G. et al., 2021; Kim E.S. et al., 2023), ограничен взрослыми пациентами. Место характерных эндоскопических изменений слизистой оболочки кишечника в ранней диагностике острой РТПХ у детей после алло-ТГСК представляет собой неизученную проблему.

Нами впервые проведено исследование, в котором разработаны прогностические критерии диагностики РТПХ после алло-ТГСК у детей в возрасте от 4 месяцев до 18 лет, основываясь на эндоскопическом осмотре толстой («апельсиновая корка», рыхлая

слизистая, очаговая гиперемия, дефекты слизистой оболочки) и подвздошной (атрофия слизистой) кишок, а также данных морфологического заключения биоптатов слизистой оболочки (апоптоз, деформация крипт, отек, лимфоплазмоцитарная инфильтрация).

Выполненная нами эндоскопическая диагностика РТРХ при осмотре толстой кишки основывалась на визуализации критериев, используемых Katsuya Endo и соавторами у взрослых пациентов (Endo K. et al., 2018) и адаптированных нами для диагностики РТПХ у детей:

а) изменения архитектоники слизистой оболочки, напоминающие апельсиновую корку или панцирь черепахи (зернистая или рыхлая поверхность слизистой оболочки на фоне ее отека),

б) очаговая гиперемия (участки покраснения слизистой диаметром от 1 до 2 см с нечеткой границей, повышенная ранимость при контакте с эндоскопом),

в) поверхностные дефекты слизистой оболочки (небольшие эрозии различной формы с четкой границей),

г) глубокие дефекты слизистой оболочки (крупные язвы неправильной или географической формы) [Рисунок 1].

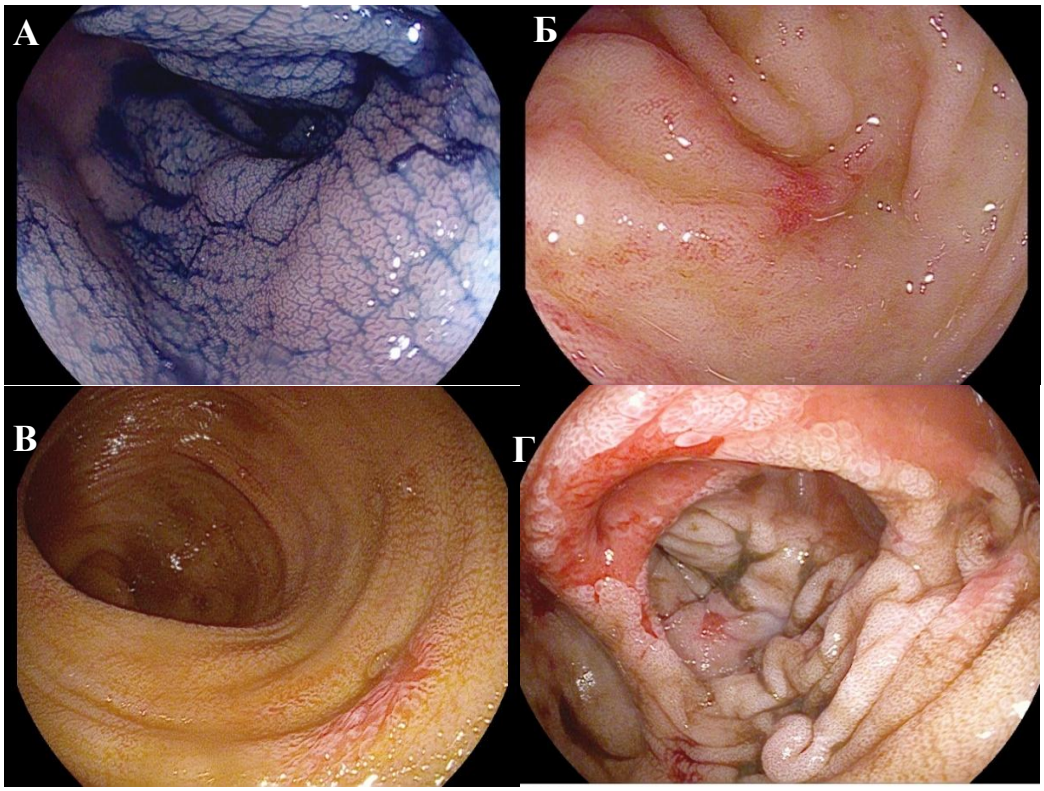


Рисунок 1. – Колоноскопия. Пациентка М. 10 лет. Эндоскопическое изображение критериев острой РТПХ: А – изменения архитектоники слизистой оболочки по типу апельсиновой корки или панциря черепахи; Б – очаговая гиперемия; В – поверхностные дефекты слизистой оболочки; Г – глубокие дефекты слизистой оболочки

Нами установлено, что у 7 из 12 (58,3%) детей 1-й группы при колоноскопии имели место изменения архитектоники слизистой оболочки (СО), напоминающие апельсиновую корку или панцирь черепахи (Рисунок 1 А), у 6 (50%) – очаговая гиперемия (Рисунок 1 Б). При вирусном поражении толстой кишки, по сравнению с иммунным,

отмечена тенденция к более частоту выявлению «апельсиновой корки» (75% и 58,3%, соответственно) и очаговой гиперемии (87,5% и 50%); но из-за малой выборки различия между группами статистически не значимы (p>0,05).

Сравнительный анализ данных эндоскопического осмотра слизистой оболочки толстой кишки у пациентов с острой РТПХ 1-й и 3-й групп выявил аналогичную ситуацию: изменения по типу «апельсиновой корки» чаще обнаруживались у детей с колитом сочетанного генеза, чем у пациентов только с иммунным поражением слизистой, как в целом (85,2% и 58,3%, соответственно; p=0,045), так и при 1-й (88,9% и 40%; p=0,017) и 2-й (88,9% и 33,3%; p>0,05) степенях тяжести РТПХ, что, вероятно, объяснялось вирусным инфицированием слизистой оболочки у детей 3-й группы.

Анализ частоты макроскопических изменений выявил закономерности в группе пациентов с колитом сочетанного генеза (3-я группа). При 4-й степени РТПХ признак «апельсиновая корка» встречался достоверно чаще, чем глубокие дефекты слизистой (83,3% против 0%; p=0,015). При 2-й степени этот же маркер преобладал над очаговой гиперемией и поверхностными дефектами (88,9% против 55,6% и 22,2% соответственно; p<0,05). Аналогичная картина наблюдалась при 1-й степени: признак «апельсиновая корка» обнаруживался чаще, чем очаговая гиперемия, поверхностные и глубокие дефекты (88,9% против 50%, 16,7% и 16,7%; p<0,05). Для 0-й и 3-й степени также отмечена тенденция к более частому выявлению «апельсиновой корки», однако в этих подгруппах из-за малого числа наблюдений статистически значимых различий не получено.

При иммунном генезе колита эндоскопический признак «апельсиновая корка» визуализировался у всех 100% детей с 3-й и 4-й степенями, в то же время, у пациентов с 1-й и 2-й степенями подобные изменения обнаружены реже – 40% и 33,3%, соответственно, но статистически незначимо (p>0,05).

Также нами установлено, что изменения по типу «апельсиновой корки» идентифицировалась не только при острой РТПХ с сочетанным поражением, но и при хронической РТПХ, также с сочетанным генезом; при этом частота выявления признака не различалась между 3-й и 4-й группами – 85,2% и 75%, соответственно (p>0,05).

Следовательно, такой эндоскопический критерий как «апельсиновая корка» появляется после алло-ТГСК и, вероятно, в большей степени ассоциируется с вирусным поражением слизистой оболочки толстой кишки, что, на наш взгляд, обусловлено отеком собственной пластинки слизистой оболочки толстой кишки и разрежением плотности расположения крипт при инфицировании. Благодаря указанным изменениям подчеркивается рельеф слизистой, образуются борозды, расширяются крипты, вследствие чего слизистая оболочка толстой кишки становится похожей на панцирь черепахи, или апельсиновую корку (Endo K. et al., 2018; Nguyen T.N.Q. et al., 2016).

Изменения слизистой оболочки по типу «апельсиновой корки» визуализируются и при иммунном генезе повреждения толстой кишки, но при этом должны настораживать в отношении более тяжелых степеней РТПХ – 3-й и 4-й. Учитывая высокую частоту ассоциации иммунного и вирусного поражений нижних отделов ЖКТ после алло-ТГСК (у 77,5%), признак «апельсиновая корка», ассоциирующийся с отеком и рыхлостью слизистой оболочки толстой кишки, может рассматриваться как основной

прогностический при диагностике острой РТПХ, а также свидетельствовать о том, что помимо иммунного, имеется и вирусное поражение слизистой оболочки.

Нами доказано, что для выявления эндоскопической картины «апельсиновая корка» целесообразно улучшение визуализации путем распыления на слизистую оболочку через спрей-катетер 0,4% раствора индигокармина, что согласуется с мнением ряда зарубежных авторов, обследовавших взрослых пациентов (Endo K. et al., 2018; Zhang Z. et al., 2022; Kim E.S. et al., 2023; Slae M. et al., 2025). В отечественной литературе подобных исследований ни у детей, ни у взрослых не проводилось. Применение метода хромоэндоскопии, по сравнению с технологией улучшения визуализации i-scan, в нашей работе оказалось предпочтительным для более качественного выявления эндоскопического критерия «апельсиновая корка» и выполнения прицельной биопсии наиболее измененных участков слизистой оболочки толстой кишки, что совпадало с данными K. Endo и соавт. (2018).

Причиной улучшения визуализационных характеристик слизистой оболочки толстой кишки при использовании индигокармина является эффективное проникновение препарата в расширенные на фоне отека крипты, что в сочетании с невозможностью абсорбции раствора индигокармина слизистой позволяет подчеркнуть ее рельеф и способствует образованию изменений, напоминающих апельсиновую корку [Рисунок 1 А] (Шубина Т.С. и соавт., 2024; Kudo S., Misawa M., 2022; Laine L. et al., 2020).

На основании анализа полученных данных нами предложен новый алгоритм эндоскопического осмотра слизистой оболочки кишки: на 1-м этапе осмотр в белом свете, на 2-м – в узком спектре света (например, i-scan), на 3-м этапе – проведение хромоэндоскопии. Разработанный нами алгоритм позволяет оптимизировать эндоскопическую диагностику острой РТПХ.

Другими эндоскопическими критериями РТПХ, часто описываемыми в зарубежной литературе у взрослых пациентов, являются поверхностные (эрозии) и глубокие дефекты слизистой оболочки толстой кишки (Chan J. et al., 2023; Faraci M. et al., 2022; Slae M. et al., 2025). В нашем исследовании поверхностные дефекты слизистой оболочки (Рисунок 1 В и Г) обнаружены у половины пациентов с острой РТПХ – у 6 из 12 (50%), глубокие дефекты слизистой оболочки – у 2 (16,7%). В то же время, при вирусном поражении толстой кишки ни в одном из наблюдений не выявлены глубокие дефекты слизистой оболочки, при этом эрозии во 2-й группе, по сравнению с 1-й, обнаружены в 2 раза реже – 25% и 50%, соответственно ($p>0,05$). Образование поверхностных и глубоких дефектов слизистой оболочки толстой кишки при иммунном повреждении после алло-ТГСК, вероятно, является следствием лимфоплазмоцитарной инфильтрации слизистой оболочки толстой кишки в результате активации Th2-клеток, а также гиперэкспрессии таких провоспалительных цитокинов, как фактор некроза опухоли альфа (ФНО-α), эпидермальный фактор роста, интерлейкины (IL) и интерферон, IL-1b, IL-2, IL-4, IL-15,IFN-g, нейропептиды, молекулы адгезии и внутриклеточного сигнала (Долгалев И.В., 2021; Boland B.S., 2020).

Сравнительный анализ встречаемости поверхностных дефектов слизистой оболочки (эрозий) у пациентов с острой РТПХ (1-я и 3-я группы) выявил ряд закономерностей. Статистически значимые межгрупповые различия были обнаружены только у пациентов с 1-й степенью тяжести иммунного конфликта: эрозии чаще визуализировались в 1-й

группе, чем в 3-й (80% против 16,7%; p=0,048). Также нами отмечена тенденция к более частому выявлению поверхностных дефектов в 1-й группе при 3-й степени острой РТПХ (100% против 33,3%), однако различия не достигли статистической значимости (p>0,05). Частота обнаружения глубоких дефектов слизистой оболочки достоверно не различалась между группами при всех стадиях заболевания (p>0,05). Следовательно, обнаруженные по данным колоноскопии дефекты слизистой оболочки (в основном, поверхностные), в большей степени, свойственны иммунному поражению толстой кишки, характеризующемуся гиперэкспрессией провоспалительных цитокинов.

Известно, что клинический диагноз РТПХ требует гистологического подтверждения (Шубина Т.С. и соавт., 2022; Khandelwal P. et al., 2023; Rattanaseksan K. et al., 2025; Slae M. et al., 2025). Однако, по мнению ряда зарубежных авторов, патогномоничных гистологических признаков при РТПХ нижних отделов ЖКТ не существует (Endo K. et al., 2018; Sauvestre F. et al., 2018). В связи с чем в задачи нашего исследования входило изучение вероятности идентификации гистологических маркеров РТПХ (Рисунок 2).

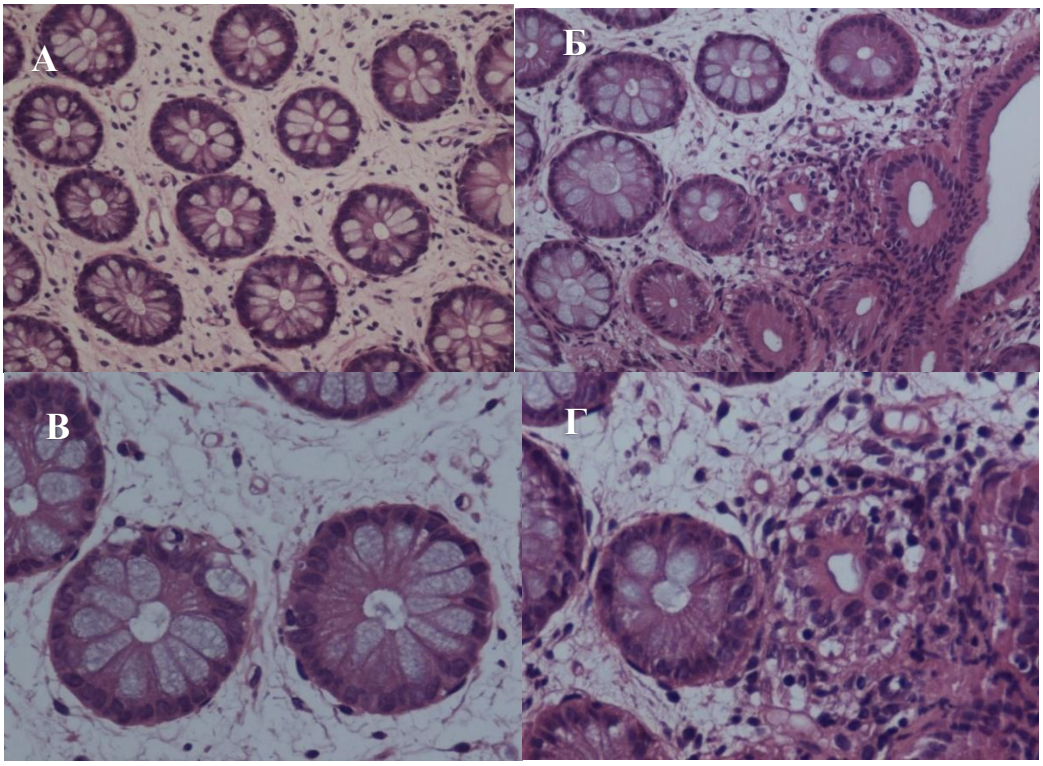


Рисунок 2 – Патоморфологическое исследование полученных при эндоскопии биоптатов слизистой оболочки толстой кишки пациента В., 8 лет. Диагноз: острая РТПХ. А – Гематоксилин-эозин × 200 отек и инфильтрация лимфоцитами собственной пластинки слизистой оболочки. Глубокие железы с инраэпителиальными лимфоцитами и апоптотическими тельцами, часть желез разрушена. Б – Гематоксилин-эозин × 100 отек и инфильтрация собственной пластинки. В – Гематоксилин-эозин × 200 интраэпителиальные лимфоциты и апоптотические тельца. Г– Гематоксилин-эозин × 400 деструкция железы

В ходе проведения работы вне зависимости от эндоскопической картины при проведении колоноскопии («апельсиновая корка», очаговая гиперемия, дефекты слизистой) у всех 12 (100%) наблюдаемых 1-й группы при морфологическом изучении биоптатов СО толстой кишки были обнаружены признаки апоптоза – совокупность окруженных мембраной апоптотических телец различного размера, образовавшихся в

результате апоптоза, в ходе которого клетка потеряла все структуры, цитоплазма и органеллы клетки конденсировались, хроматин ядра пикнотизировался и глыбками расположился вокруг ядерной мембране в форме полумесяца, ядро распалось на фрагменты, а цитоплазма разделилась плазматической мембраной (Рисунок 2 А и В).

Среди пациентов с вирусным энтероколитом (2-я группа) апоптотические тельца обнаружены у 5/8 (62,5%) детей, что было реже, чем в 1-й группе у детей с иммунным генезом повреждения (100%, p=0,049) и в 3-й группе у пациентов с сочетанным поражением нижних отделов ЖКТ (91,8%; p=0,044). Полученные данные позволили прийти к предварительному заключению: идентификация по данным гистологического исследования признаков апоптоза более характерна для иммунного поражения слизистой толстой кишки, что согласовывалось с данными других авторов, обследовавших взрослых пациентов (Endo K. et al., 2018; Matsuda K. et al., 2018).

Однако нами продолжено исследование и впервые проведен сравнительный анализ результатов морфологического исследования биоптатов слизистой оболочки толстой кишки до и после алло-ТГСК у 9 детей с колитом сочетанного генеза (3-я группа). И несмотря на небольшую выборку обследованных, установлено, что практически у половины пациентов апоптоз определялся уже исходно – у 4/9 (44,4%). В то же время, после процедуры количество детей с апоптозом стало всего лишь на 2 больше (22,2%).

Выявление признаков апоптоза еще до алло-ТГСК, вероятно, обусловлено как воздействием различных инфекций и/или иммуносупрессивных препаратов, индуцирующих апоптоз, так и естественными процессами обновления и дифференцировки энтероцитов. Кроме того, апоптоз энтероцитов может быть значительно повышен при патологических состояниях ЖКТ, приводя к нарушению функции эпителиального барьера и способствуя проникновению патогенных микроорганизмов. Также апоптоз нередко развивается на фоне течения первичного иммунодефицита и сопутствующего ему состояния, подобного воспалительным заболеваниям кишечника [Ramachandran A. et al., 2000].

Следовательно, несмотря на полученный нами предварительный результат о возможной диагностике иммунного поражения слизистой толстой кишки по выявлению признаков апоптоза в гистологическом заключении биоптатов, мы пришли к окончательному заключению, что, учитывая обнаружение признаков апоптоза практически у половины пациентов еще до алло-ТГСК, такой морфологический признак как апоптоз не является специфичным для РТПХ и не может рассматриваться в качестве маркера острой РТПХ, а является лишь дополнительным критерием, необходимым для трактовки этиологии поражения ЖКТ.

Тот факт, что при установлении диагноза, помимо гистологического заключения, целесообразно ориентироваться на комплекс данных, в том числе, на результаты колоноскопии, доказан нами методом нелинейной логистической регрессии, в ходе проведения которой определена комбинация наиболее эффективных маркеров сочетанного поражения слизистой оболочки толстой кишки после алло-ТГСК (отсутствие очаговой гиперемии и рыхлая слизистая оболочка по данным эндоскопии, а также число дней от даты ТГСК до манифестации энтероколита). При этом каждый последующий после трансплантации день снижал вероятность развития РТПХ на 99% (Таблица 1).

Таблица 1. – Коэффициенты модели идентификации сочетанного поражения слизистой оболочки толстой кишки после алло-ТГСК

Предиктор	Вес	SE	Z	p	ОШ	95% границы ДИ	
						нижняя	Верхняя
Константа*	-0,87517	1,12103	-0,781	0,435	0,42	0,05	3,75
дни от ТГСК	-0,00877	0,00391	-2,245	0,025	0,99	0,98	1,00
отсутствие очаговой гиперемии	3,05766	1,41927	2,154	0,031	21,28	1,31	343,57
рыхлая слизистая	2,18030	1,26939	1,718	0,086	8,85	0,73	106,51
апоптоз	3,06433	1,16037	2,641	0,008	21,42	2,20	208,22

**Примечание:* веса представляют собой логарифмические шансы развития сочетанного поражения слизистой оболочки толстой кишки по сравнению с вирусным поражением после алло-ТГСК

Чувствительность полученной модели составила 98,6%, специфичность – 62,5%, точность – 95%, AUC – 0,962 (Рисунок 3).

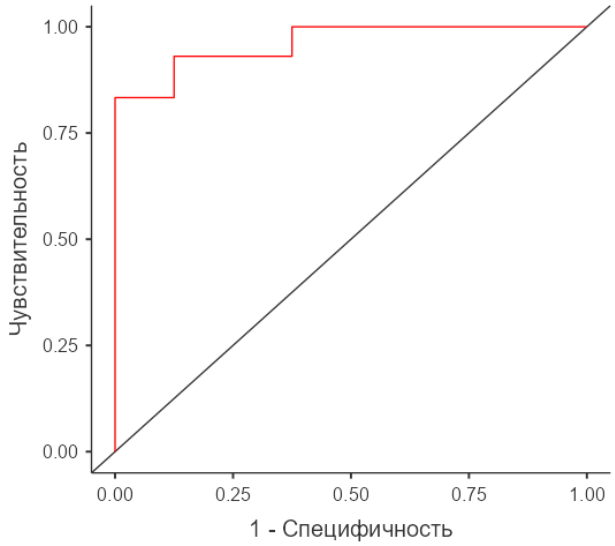


Рисунок 3. – ROC-кривая для предсказаний, полученных с использованием модели

Таким образом, даже гистологические признаки РТПХ не являются узкоспецифичными, а могут быть следствием вирусных или токсических осложнений, что согласуется с мнением других авторов (Chan J. et al., 2023; Khandelwal P. et al., 2023). Нами подтверждена высокая частота вирусного поражения толстой кишки у детей с острой РТПХ – у 61 из 73 (83,6%). При этом у детей с колитом сочетанного генеза преобладающими патогенами, выявляемыми в биопсийном материале, были: HHV-6 (45,9%), Norovirus (45,9%) и Adenovirus (41%), частота их идентификации значимо не отличалось от показателей у пациентов с вирусным энтероколитом (2-й группа): 62,6%; 50%; 37,5%; соответственно ($p>0,05$). EBV не обнаружен ни в одном из наблюдений. Высокая распространенность вирусного поражения толстой кишки у детей с РТПХ, вероятно, объясняется реактивацией вирусной инфекции после алло-ТГСК на фоне иммуносупрессивной терапии, а также в результате активного использования в нашей когорте пациентов TCR-альфа/бета деплеции трансплантата, так как данная методика, по мнению ряда авторов, приводит к отсроченной иммунореконституции и, как следствие,

более высокой частоте вирусных инфекций (Волынец Г.В. и соавт., 2020; Bueno F. et al., 2021; Pikkel-Geva H.Z. et al., 2023).

Жизнеугрожающих послеоперационных осложнений (кишечного кровотечения, перфорации стенки кишки) в нашем исследовании не было. Из ранних осложнений после колоноскопии нами отмечены: незначительные боли в животе – у 17/81 (21%) пациентов с острой РТПХ; а также примесь крови в стуле – у 32/81 (39,5%), вероятно, обусловленная контактной кровоточивостью, проведением щипцовой биопсии, а также снижением числа тромбоцитов у большинства обследованных. Все осложнения регрессировали в течение первых двух суток после эндоскопического вмешательства.

Проведенное нами исследование позволило прийти к заключению, что эндоскопия является эффективным и безопасным методом в комплексной ранней диагностике тяжелого поражения нижних отделов ЖКТ у пациентов после алло-ТГСК, так как позволяет выявить основные патогномоничные признаки, влияющие на терапию энтероколита.

Такой эндоскопический критерий, как «апельсиновая корка», может рассматриваться как основной патогномоничный признак, определяющий дальнейшую тактику терапии энтероколита сразу, начиная с первых дней после колоноскопии и получения результатов вирусологического исследования, не дожидаясь гистологического заключения.

При обнаружении по данным колоноскопии «апельсиновой корки» на фоне рыхлой слизистой оболочки дальнейшая тактика ведения пациента с подозрением на острую РТПХ определяется на основании получения в течение первых суток данных вирусологического исследования биоптатов слизистой оболочки кишки.

Так, у пациентов с выявленными изменениями по типу «апельсиновой корки» при обнаружении вирусов в биоптате и наличии клинических признаков острой РТПХ 0-2 степеней лечение целесообразно начинать с противовирусных препаратов, при отсутствии эффекта – добавлять иммуносупрессивную терапию. При острой РТПХ 3-4 степеней и отсутствии вирусов в биоптате сразу назначается иммуносупрессивная и топическая терапия; при определении вирусов – комплексное (иммуносупрессивная и противовирусная) терапия. После получения данных гистологического заключения биоптатов слизистой оболочки кишки метод лечения при необходимости корректируется.

У пациентов с острой изолированной РТПХ ЖКТ в качестве препаратов первой линии использовали глюкокортикостероиды в дозе 2 мг/кг. При отсутствии эффекта назначали препараты 2-й линии: моноклональные антитела (Infliximab, Etanercept) или руксолитиниб в дозе 10 мг/м^2 и другие. У детей с инфекционным энтероколитом терапия подбиралась в зависимости от этиологии поражения кишки. При выявлении вирусной инфекции (CMV, HHV-VI, Adenovirus, Enterovirus, EBV и пр.) проводили специфическое вирусостатическое лечение. При сочетанном поражении кишки назначалась комплексная иммуносупрессивная и противовирусная терапия.

Благодаря разработанному алгоритму ведения пациентов после алло-ТГСК нам удалось скорректировать терапию еще до получения морфологического заключения у 8 пациентов, трансплантированных в 2023 году (проспективный этап). У всех 8 детей по данным колоноскопии обнаружен критерий «апельсиновая корка» на фоне зернистости

слизистой оболочки кишки, на основании чего было сформулировано эндоскопическое заключение «острая РТПХ». При этом РТПХ 1-й степени клинически верифицирована у 1 пациента, 3-4 степеней– у 7).

Идентификация «апельсиновой корки» по данным колоноскопии позволила у 7 детей с РТПХ 3-4 степеней сразу после эндоскопического осмотра скорректировать иммуносупрессивную терапию, не дожидаясь морфологического заключения, что особенно важно у когорты столь тяжелых пациентов, так как такие больные могут погибнуть без своевременной эскалации иммуносупрессивной терапии. По данным вирусологического исследования биоптатов слизистой оболочки кишки, полученных спустя сутки после колоноскопии, у 7 (из 8) пациентов обнаружены различные вирусы (Astrovirus, Adenovirus, Norovirus и Rotavirus), в связи с чем всем назначена противовирусная терапия, учитывающая вид возбудителя.

По результатам гистологического исследования у всех 8 пациентов был подтвержден диагноз острой РТПХ с поражением нижних отделов ЖКТ, во всех случаях была усилена системная иммуносупрессивная терапия с клиническим эффектом. У 6 (из 8) детей, у которых РТПХ также затрагивала кожу, терапия была начата раньше, но после илеоколоноскопии схему лечения скорректировали, добавив препараты Ведолизумаб в/в и Месалазин перорально, что также дало положительный результат. У одного ребенка с изолированной острой РТПХ нижних отделов ЖКТ терапия была эмпирически дополнена глюкокортикостероидами (в дозе 1 мг/кг) еще до получения гистологического заключения, что привело к клиническому ответу. У другого пациента менять схему лечения РТПХ не пришлось, поскольку у него развились тяжелые осложнения, потребовавшая хирургического вмешательства (инвагинация кишечника и септический шок). Состояние этого ребенка постепенно нормализовалось в результате массивной комбинированной терапии, направленной на коррекцию данных жизнеугрожающих состояний.

Следовательно, эндоскопический осмотр толстой кишки позволяет выявить патогномоничные признаки острой РТПХ, на основании которых сразу после колоноскопии и результатов вирусологического исследования еще до получения данных гистологического заключения назначается терапия в зависимости от того или иного поражения кишки (иммунное, вирусное, сочетанное), что при тяжелых степенях острой РТПХ позволяет спасти жизнь пациента.

В своих работах авторы важную роль отводили диагностической ценности эндоскопических изменений слизистой оболочки не только толстой, но и подвздошной кишки (Sugihara Y. et al., 2020; Yip R.H.L. et al., 2021). В нашем исследовании была проведена оценка результатов илеоколоноскопии после алло-ТГСК у 48 пациентов 1-й и 3-й групп с острой РТПХ (у 24 – по данным илеоскопии имелись признаки атрофии ворсинок терминального отдела подвздошной кишки, у 24 – таковых не было). Нами предпринята попытка определить, является ли эндоскопическая картина атрофии ворсинок ТОПК эффективным и достаточным критерием диагностики желудочно-кишечной формы РТПХ.

В нашей работе показано, что выраженность атрофии ворсинок может служить маркером тяжелых клинических осложнений алло-ТГСК, поскольку лишь у детей с эндоскопическими признаками атрофии ворсинок диагностировалась острая РТПХ 3-й

степени (у 16,7%) и в 3 раза реже, чем у детей без атрофии, отмечалась 0-я степень (25% против 8,3%). Однако из-за малой выборки пациентов, включенных в группы, различия оказались незначимыми.

Также продемонстрирована высокая информативность эндоскопической визуализации атрофии ворсинок ТОПК – у всех 24 (100%) пациентов с эндоскопической картиной атрофии ворсинок диагноз был верифицирован по данным гистологического исследования.

Однако важно подчеркнуть, что истинная морфологически подтвержденная атрофия (в гистологическом заключении – стертый рельеф и укороченная длина ворсин) встречалась редко – у 12,5% (3 из 24) пациентов (Рисунок 4).

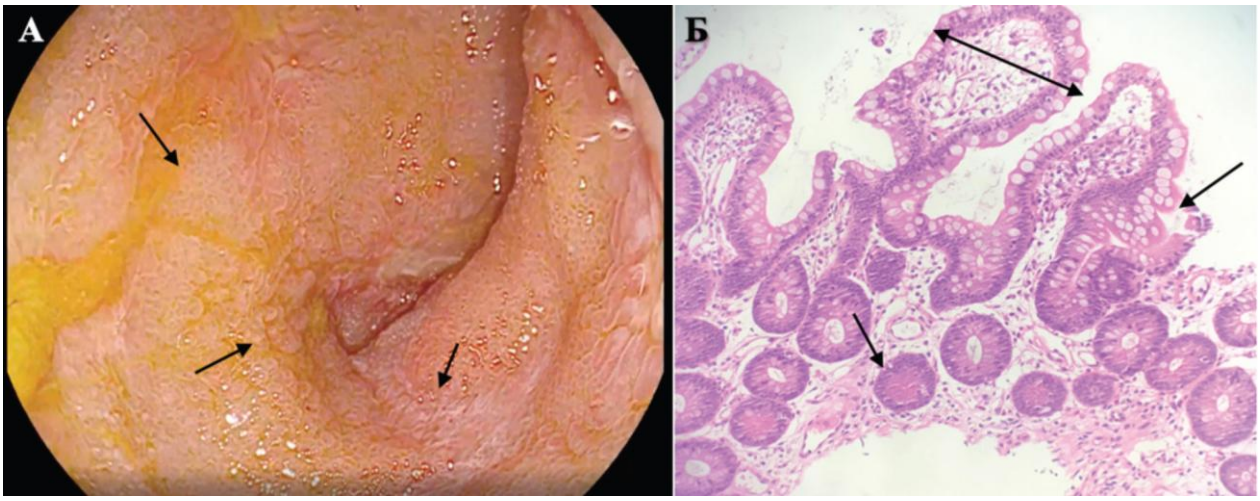


Рисунок 4. – Илеоскопия пациента Д., 11 лет. Диагноз: РТПХ 4 стадии с поражением ЖКТ 4 степени и печени 1 степени: *а* — эндоскопический осмотр СО ТОПК в белом свете; *б* — патоморфологическое исследование полученного при эндоскопии биоптата СО ТОПК с признаками истинной атрофии (окраска гематоксилином и эозином × 200), пояснения в тексте

В остальных наблюдениях (21 / 87,5%) атрофия была «ложной», то есть обнаруженные при илеоскопии атрофические изменения (укорочение, расширение и неравномерность ворсинок с просвечивающимся сосудистым рисунком) были обусловлены не разрушением ворсинок, а имитированы отеком собственной пластинки слизистой оболочки с лимфоплазмоцитарной инфильтрацией, апоптозом и/или деструкцией крипт. При этом, если перечисленные неспецифические признаки были невыраженными, то ворсинки при илеоскопии не выглядели атрофичными.

Стоит подчеркнуть, что даже при использовании самых современных технологий увеличения и улучшения изображения, тем не менее, эндоскописту невозможно отличить истинную атрофию (разрушение ворсин) от «ложной атрофии», которая имитирована неспецифическими изменениями слизистой оболочки подвздошной кишки (отеком, апоптозом, деструкцией крипт). При этом идентификация атрофии ворсинок ТОПК при илеоскопии позволяет прогнозировать выраженность воспалительных и деструктивных изменений слизистой оболочки ПК при острой РТПХ.

Информативность визуализации атрофии ворсинок по данным илеоколоноскопии вне зависимости от ее гистологического типа (истинная или «ложная») с целью оценки глубины деструктивных изменений СО ПК была следующая: чувствительность – 94,4%,

специфичность – 53,3%, точность теста – 68,8%, площадь под кривой (AUC) – 0,739, что считаем удовлетворительным результатом.

Обнаружение при илеоскопии атрофии как истинной, так и «ложной», свидетельствует о более тяжелых морфологических изменениях слизистой подвздошной кишки – значимом отеке, тяжелой деструкции и множественных апоптозах. Важным считаем подчеркнуть, что «ложная» атрофия в дальнейшем может трансформироваться в истинную атрофию ворсинок.

Стоит обратить особое внимание, что, в отличие от «ложной» атрофии, связанной с активным воспалением, истинная атрофия может означать вторичные изменения после длительного воспалительного процесса на фоне перенесенной РТПХ, выраженность которых коррелирует с тяжестью клинических проявлений, но не всегда соответствует тяжести РТПХ. В связи с чем, при выявлении такого морфологического признака как истинная атрофия, целесообразно рассмотреть вопрос о необходимости эскалировать терапию РТПХ.

В литературе особое внимание уделяется выживаемости детей с РТПХ после алло-ТГСК (Балашов Д.Н. и соавт., 2020; Сидорова Н.В. и соавт., 2022; Alsultan A. et al., 2022; Lum S.H. et al., 2024). Нами проведена оценка трехлетней выживаемости всех 137 пациентов с клиникой энтероколита, перенесших алло-ТГСК в НМИЦ ДГОИ имени Дмитрия Рогачева за период 2020-2023 гг. Общая летальность за 3 года после алло-ТГСК составила 27,7% (38 из 137), средняя кумулятивная выживаемость – 0,73, стандартная ошибка – 0,037. У 92 из 137 (67,2%) детей проводилась TCR-αβ деплеция, 29 из 92 (31,5%) пациентов умерли. Обращала внимание тенденция к снижению трехлетней кумулятивной выживаемости у детей, подвергшихся TCR-αβ деплеции, по сравнению с пациентами, которым процедура не выполнялась – 0,70 и 0,80; однако различия оказались статистически не значимы (p=0,237).

Также нами выполнен сравнительный анализ трехлетней выживаемости детей, у которых при колоноскопии выявлены характерные для острой РТПХ визуальные признаки: «апельсиновая корка», очаговая гиперемия, поверхностные дефекты слизистой оболочки, глубокие дефекты слизистой оболочки; но статистически значимых различий не обнаружено (p>0,05). Стоит подчеркнуть, что оценка влияния эндоскопических и морфологических находок на исходы лечения детей, перенесших алло-ТГСК, не проводилась ни в отечественных, ни в зарубежных исследованиях.

Представляет особый интерес проведенный нами сравнительный анализ трехлетней выживаемости детей с признаками деструкции крипт слизистой оболочки ПК по данным гистологического заключения (n=11) и без таковых (n=37). Кумулятивная выживаемость была статистически значимо ниже у детей с признаками деструкции, чем у пациентов без таковых – 0,55 и 0,84, соответственно (p=0,042).

Следовательно, деструкция крипт, определяемая по данным гистологического исследования биоптатов слизистой оболочки подвздошной кишки (морфологическая основа атрофии ворсинок терминального отдела ПК), является важным параметром, влияющим на трехлетнюю выживаемость детей с ЖКТ РТПХ после алло-ТГСК.

Заключение

Таким образом, илеоколоноскопия является высоко эффективным и безопасным методом в комплексной диагностике тяжелого поражения нижних отделов ЖКТ у

пациентов после алло-ТГСК. Ранняя эндоскопическая диагностика РТПХ, основанная на визуализации характерных критериев («апельсиновой корки», рыхлой слизистой оболочки, поверхностных или глубоких дефектов слизистой оболочки), позволяет в кратчайшие сроки, не дожидаясь гистологического заключения, скорректировать терапию, что при 3-й и 4-й степенях РТПХ дает возможность спасти жизнь ребенка. Также при подозрении на острую РТПХ после алло-ТГСК целесообразен осмотр подвздошной кишки с биопсией слизистой, так как морфологическая оценка признаков деструкции крипт в биоптате слизистой ПК позволяет прогнозировать исход заболевания, в частности, выживаемость детей.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Выполненная работа создает основу для дальнейшей разработки методов диагностики острой РТПХ у детей, перенесших алло-ТГСК. В перспективе целесообразно проведение исследований, позволяющих улучшить малоинвазивный протокол диагностики острой РТПХ, основанный на использовании илеоколоноскопии. Необходимо продолжение работ по выявлению и оценке информативности патогномоничных признаков РТПХ.

ВЫВОДЫ

1. Эндоскопия является важным методом в комплексной диагностике тяжелого поражения нижних отделов ЖКТ у пациентов после алло-ТГСК. Эндоскопическая диагностика РТПХ основывается на визуализации характерных критериев: изменений архитектоники слизистой оболочки, напоминающих апельсиновую корку или панцирь черепахи, рыхлой слизистой оболочки, поверхностных или глубоких дефектов слизистой оболочки. Изменения слизистой оболочки толстой кишки по типу «апельсиновой корки» во время эндоскопического осмотра реже выявляются при острой РТПХ (58,3%), чем при сочетанном (иммунном и вирусном) поражении (85,2%; p=0,045) или изолированном вирусном поражении (75%; p=0,642). «Апельсиновая корка» визуализируется в 100% наблюдений при 3-й и 4-й степенях острой РТПХ, что может являться одним из диагностических критериев тяжелого течения энтероколита.
2. После алло-ТГСК по данным морфологического исследования биоптатов слизистой оболочки толстой кишки апоптотические тельца реже выявляются при вирусном поражении слизистой кишки (62,5%), чем у пациентов с РТПХ (100%; p=0,049) и сочетанным повреждением кишки (91,8%; p=0,044). У 44,4% пациентов с энтероколитом сочетанного генеза, обследованных до и после алло-ТГСК, признаки апоптоза определяются до ТГСК, поэтому не могут рассматриваться в качестве маркера для постановки диагноза острой РТПХ. Комбинация наиболее эффективных предикторов выявления сочетанного поражения слизистой оболочки толстой кишки после алло-ТГСК (дни от ТГСК до манифестации энтероколита, отсутствие очаговой гиперемии и рыхлая слизистая оболочка по данным эндоскопии, наличие апоптоза по результатам морфологического исследования) обладает чувствительностью 98,6%, специфичностью – 62,5%, точностью – 95%, AUC – 0,962.
3. Необходимость улучшения визуализации эндоскопического критерия «апельсиновая корка» путем распыления на слизистую оболочку толстой кишки через спрей-катетер 0,4% раствора индигокармина применяется при отсутствии или

слабовыраженном изменении рельефа по типу «апельсиновая корка». Эффективное проникновение препарата в расширенные на фоне отека крипты и невозможность абсорбции раствора индигокармина позволяет подчеркнуть изменения архитектоники слизистой оболочки толстой кишки («апельсиновая корка»).

4. У 12,5% детей с выявленными на илеоскопии признаками выраженной или легкой атрофии при гистологическом исследовании биоптатов обнаруживается истинная атрофия (стертый рельеф, укороченная длина ворсин, соотношение размеров ворсинки/крипты менее 3:1), у 87,5% пациентов имеет место «ложная» атрофия, обусловленная неспецифическими гистологическими признаками (отеком, апоптозом, деформацией крипт). Макроскопически картины истинной и «ложной» атрофии ворсинок ТОПК выглядят одинаково и свидетельствует о тяжелых изменениях слизистой подвздошной кишки (значимом отеке, тяжелой деструкции и множественных апоптозах). По данным визуализации атрофии ворсинок (в процессе илеоскопии) вне зависимости от ее гистологического типа (истинная или «ложная»), чувствительность и специфичность прогноза выраженности воспалительных и деструктивных изменений слизистой оболочки подвздошной кишки при острой РТПХ составляют 94,4% и 53,3%, соответственно, при точности теста и AUC – 68,8% и 0,739.

5. Проведение биопсии слизистой оболочки подвздошной кишки у пациентов с подозрением на острую РТПХ определяется ценностью морфологической оценки признаков деструкции крипт в биоптате, что является важным прогностическим маркером исхода заболевания. Кумулятивная выживаемость статистически значимо ниже у детей с признаками деструкции крипт, чем у пациентов без таковых – 0,55 и 0,84, соответственно (p=0,042).

6. Илеоколоноскопия с биопсией слизистой оболочки кишки, несмотря на несомненную инвазивность, является безопасным методом диагностики РТПХ у детей, перенесших алло-ТГСК. Эрозивно-язвенное поражение слизистой оболочки толстой кишки с большой площадью распространения, выраженным отеком и контактной ранимостью, выявляемые при колоноскопии, являются противопоказанием к дальнейшему проведению эндоскопии и биопсии.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. У детей после алло-ТГСК при подозрении на острую РТПХ с учетом этиологии поражения нижних отделов ЖКТ целесообразно проводить комплексное обследование, включающее, помимо общеклинических методов, эндоскопию с биопсией слизистой оболочки кишки и последующим гистологическим исследованием биоптатов.
2. У пациентов с подозрением на острую РТПХ после алло-ТГСК необходимо проведение микробиологического, иммуногистохимического исследований биоптата при наличии такой возможности в клинике.
3. Эндоскопическая диагностика острой РТПХ, в первую очередь, при сочетанном поражении нижних отделов ЖКТ основывается на визуализации при проведении колоноскопии изменений по типу «апельсиновая корка», рыхлой слизистой и дефектов слизистой оболочки.
4. При обнаружении во время эндоскопического осмотра эрозивно-язвенного поражения слизистой оболочки толстой кишки с большой площадью распространения,

выраженного отека и контактной ранимости дальнейшее проведение исследования необходимо прекратить во избежание жизнеугрожающих осложнений.

5. Предлагается следующий алгоритм осмотра слизистой оболочки кишки, включающий 3 этапа: 1) осмотр в белом свете, 2) осмотр в узком спектре света, например, i-scan, 3) при отсутствии выраженных изменений слизистой оболочки толстой кишки по типу «апельсиновой корки» распыление 0,4 % раствора индигокармина через спрей-катетер на область предполагаемых изменений.

6. Для диагностики острой РТПХ и прогнозирования исхода заболевания у пациентов после алло-ТГСК, кроме колоноскопии, необходимо проведение илеоскопии с биопсией слизистой оболочки подвздошной кишки и дальнейшим гистологическим исследованием.

7. При выполнении илеоскопии с целью диагностики РТПХ целесообразно ориентироваться на визуализацию атрофии ворсинок ТОПК.

8. Идентификация такого морфологического признака как истинная атрофия требует рассмотрения вопроса о необходимости эскалировать терапию РТПХ.

9. При выявлении по данным морфологического исследования биоптатов слизистой оболочки подвздошной кишки деструкции крипт прогнозируют худшую трехлетнюю выживаемость (0,55).

10. Коррекция терапии по результату илеоколоноскопии и вирусологического исследования биоптатов проводится согласно разработанному алгоритму.

Список опубликованных работ по теме диссертации

1. Шубина Т.С. Роль эндоскопии в диагностике интестинальной формы острой реакции «трансплантат против хозяина» после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток / Т.С. Шубина, И.В. Захаров, С.Г. Подлипаева, Д.С. Абрамов, Д.Н. Балашов // Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. – 2022. – Т. 21. – № 2. – С. 48–53.

2. Шубина Т.С. Эндоскопические критерии повреждения слизистой оболочки толстой кишки у детей с подозрением на острую реакцию «трансплантат против хозяина» после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток / Т.С. Шубина, Д.Н. Балашов, М.М. Лохматов, И.В. Захаров, Д.С. Абрамов, Д.Г. Ахаладзе // Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. – 2024. – Т. 23. – № 2. – С. 90–97.

3. Шубина Т.С. Эндоскопическая визуализация слизистой оболочки подвздошной кишки в ранней диагностике острой реакции «трансплантат против хозяина» после аллогенной трансплантации стволовых клеток у детей / Т.С. Шубина, М.М. Лохматов, Д.Н. Балашов, Д.С. Абрамов, И.В. Захаров // Российский педиатрический журнал. – 2024. – Т. 27. – № 4. – С. 232–240.

4. Шубина Т.С. Возможности эндоскопии в диагностике реакции «трансплантат против хозяина» / Шубина Т.С., Захаров И.В., Подлипаева С.Г., Абрамов Д.С. // XIII Всероссийская Научно-Практическая Конференция Актуальные вопросы эндоскопии 2022

5. Шубина Т.С. Возможности эндоскопии в диагностике интестинальной формы острой реакции «трансплантат против хозяина» у детей / Шубина Т.С., Лохматов М.М., Балашов Д.Н. // Российский педиатрический журнал. - 2023 –Т. 26. -№ 5. – С. 73.