

АНТИМИКРОБНЫЕ ПЕПТИДЫ И БЕЛКИ В ДИАГНОСТИКЕ СИНДРОМА МАЛЬАБСОРБЦИИ У ДЕТЕЙ

Шуматова Т. А.¹, Зернова Е. С.¹, Григорян Л. А.¹, Шишацкая С. Н.¹

¹ГБОУ ВПО «Тихоокеанский государственный медицинский университет МЗ России», г. Владивосток, Россия (690002, г. Владивосток, пр. Острякова 2) e-mail:kate-zernova@mail.ru

Изучена информативность определения содержания кальпротектина, зонулина, эозинофильного катионного протеина, транстиретина, β -дефензина 2 в копрофильтратах у детей грудного возраста с нарушением кишечного всасывания. Обследованы 30 детей с энтеропатией, индуцированной белком коровьего молока, 30 детей с лактазной недостаточностью (ЛН) вторичного генеза и 20 здоровых детей раннего возраста. Выявлено достоверное повышение уровня кальпротектина, зонулина у детей с непереносимостью белков коровьего молока (НБКМ) и ЛН. Увеличение содержания ($p < 0,05$) в копрофильтратах эозинофильного катионного протеина, транстиретина, β -дефензина 2 по сравнению с группой здоровых детей было отмечено только у детей с НБКМ. Полученные нами результаты расширяют представления о патогенезе НБКМ, позволяют улучшить диагностику заболевания, в том числе неинвазивную, могут быть рекомендованы для использования в клинической практике в сложных диагностических случаях.

Ключевые слова: нарушение кишечного всасывания, дети раннего возраста, непереносимость белков коровьего молока, зонулин, кальпротектин, эозинофильный катионный протеин, транстиретин, β -дефензин 2

ANTIMICROBIAL PEPTIDES AND PROTEINS ARE IN THE DIAGNOSIS OF MALABSORPTION SYNDROME IN CHILDREN

Shumatova T. A.¹, Zernova E. S.¹, Grigoryan L. A.¹, Shishackaya S. N.¹

¹ Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia (690002, Vladivostok, prospect Ostryacova, 2) e-mail: kate-zernova@mail.ru

The study examined the informative value of determination in coprofiltrates of young children in violation of the intestinal absorption of calprotectin, zonulin, eosinophil cationic protein, transthyretin, β -defensin 2. A total of 30 children with intolerance to cow's milk proteins, 30 children with secondary lactase deficiency and 20 healthy infants. The study revealed a significant increase in the level of calprotectin, zonulin in children with cow's milk protein intolerance and lactase deficiency. Image content ($p < 0.05$) in coprofiltrates of eosinophil cationic protein, transthyretin, β -defensin 2, compared to healthy children was observed only in children with cow's milk protein intolerance. Our results extend the understanding of the pathogenesis of cow's milk protein intolerance allow improved diagnosis of the disease, including non-invasive, can be recommended for use in clinical practice in difficult diagnostic cases.

Keywords: violation of intestinal absorption, early infants, intolerance to cow's milk protein, zonulin, calprotectin, eosinophil cationic protein, transthyretin, β -defensin 2

Актуальность

Важной проблемой современной педиатрии является рост числа гастроэнтерологических заболеваний у детей [2, 5]. Доказано, что кишечник не только выполняет пищеварительную функцию, но и является важным иммунным органом [1, 5]. В энтероцитах происходит всасывание основных питательных веществ, необходимых для роста и развития организма. Клетки слизистой оболочки кишечника участвуют в процессах формирования пищевой толерантности, предотвращая развитие патологических иммунных реакций к белкам пищи. Нарушения процессов полостного и пристеночного пищеварения в кишечнике приводят к дестабилизации обменных процессов, формированию нутритивной недостаточности, полидефицитных состояний, пищевой непереносимости (ПН) [2]. Несмотря на значительные

успехи, достигнутые в изучении механизмов интолерантности к пищевым продуктам у детей и взрослых, вопросы патогенеза, дифференциальной диагностики и терапии ПН изучены недостаточно. До настоящего времени для выяснения причины нарушения кишечного всасывания и формирования явлений пищевой аллергии нередко используется значительное количество инвазивных тестов, что создает определенные трудности, особенно в младших возрастных группах. В связи с этим в педиатрической практике остаются актуальными разработка системы неинвазивного мониторинга данных состояний и внедрение новых диагностических маркеров заболеваний, улучшающих раннюю диагностику.

Цель исследования

Изучить содержание эндогенных пептидов и белков в копрофильтрах у детей с синдромом мальабсорбции.

Материалы и методы

Под нашим наблюдением находились 60 детей в возрасте от 6 до 12 месяцев с нарушением кишечного всасывания и клиникой персистирующей диареи. Для решения поставленной цели пациенты были разделены на 2 группы. 1-я группа — 30 детей, которым после комплексного обследования был выставлен диагноз аллергической энтеропатии с непереносимостью белка коровьего молока. Пациенты этой группы имели отягощенный аллергоanamнез, рецидивирующие высыпания на коже, жидкий стул, вздутие живота, колики, срыгивание, беспокойство после еды, недостаточные прибавки в массе тела. 2-ю группу составили 30 больных с клиникой персистирующей кислой диареи, развившейся после эпизода кишечной инфекции, применения антибактериальной терапии, перехода на искусственное вскармливание. В соответствии со стандартами диагностики у детей этой группы был выставлен диагноз вторичной лактазной недостаточности. Группа контроля — 20 условно здоровых детей соответствующего возраста.

У всех наблюдаемых детей в копрофильтрах определяли содержание кальпротектина, зонулина, эозинофильного катионного протеина, транстиретина, β -дефензина 2. Данные маркеры изучали методом энзим-связанного иммуносорбентного анализа (ELISA – enzyme-linked immunosorbent assay) с использованием реактивов фирмы Immundiagnostik. Расчеты осуществляли путем построения калибровочной кривой с помощью компьютерной программы. Результаты статистического анализа принимались как достоверные при $p < 0,05$. Статистическую обработку материала выполняли с помощью специализированных пакетов прикладных программ для исследований («Excel-2010» и «Statistica 6.0» for Windows).

Результаты исследования

Клинический анализ показал, что у детей обеих групп нарушение кишечного всасывания характеризовалось персистирующей диареей кислого характера. У детей 1-й

группы в 86% случаев (26 детей) определялись срыгивания, у 20% пациентов (5 детей) отмечалась 1–2-кратная рвота, 92% младенцев (27 детей) беспокоили кишечные колики. В клиническом анализе крови у детей этой группы в 53% случаев (16 человек) регистрировали анемию легкой и средней степени тяжести. 86% детей (26 человек) 2-й группы также беспокоили срыгивания, 97% младенцев (29 детей) — кишечные колики и вздутие живота, в 26% случаев (8 детей) отмечались низкие прибавки в массе тела. Анемия легкой степени тяжести зафиксирована у 23% пациентов (7 детей). Копрологические исследования у пациентов обеих групп выявили смешанную стеаторею. Йодофильная флора, дисахара с разной степенью выраженности определялись в кале у всех больных. По данным ультразвукового исследования органов брюшной полости 19 детей (40%) 1-й группы имели признаки реактивного поражения поджелудочной железы в виде пониженной эхогенности паренхимы головки и хвоста органа. У 2-й группы детей при данном исследовании отклонений от нормы не выявлено.

При исследовании копрофильтратов у пациентов обеих групп и у здоровых детей нами получены следующие результаты, представленные в таблице.

Эндогенные белки и протеины в копрофильтратах у детей с синдромом мальабсорбции

Показатели	I группа	II группа	Контрольная группа
Фекальный кальпротектин (нг/мл)	91,23±21,05*	26,72±3,89 ^{# ^}	15,29±3,47
Зонулин (нг/мл)	1,75±0,16*	1,16±0,15 ^{#^}	0,75±0,01
Эозинофильный катионный протеин (нг/мл)	518,74±63,17*	176,93±22,59 [^]	192,50±21,15
β-дефензин (нг/мл)	39,12±4,32*	28,01±3,74	21,96±3,06
Транстиретин (нг/мл)	3,04±0,39*	2,07±0,48	1,41±0,25

где * — достоверность различий $p < 0,05$ между 1-й группой и контрольной группой;

— достоверность различий $p < 0,05$ между 2-й группой и группой контроля;

[^] — достоверность различий $p < 0,05$ между 1-й и 2-й группами.

В ходе исследования установлено, что у детей с аллергической энтеропатией и ЛН содержание кальпротектина в копрофильтратах было достоверно выше, чем у детей контрольной группы (91,23±21,05 нг/мл, 26,72±3,89 нг/мл и 15,29±3,47 нг/мл; $p < 0,01$; $p < 0,05$ соответственно), что свидетельствовало о наличии структурно-функциональных изменений клеток слизистой оболочки тонкой кишки, более выраженных при аллергической энтеропатии.

Содержание зонулина в копрофильтратах у пациентов обеих групп определялось на более высоком уровне по сравнению с группой контроля ($p < 0,001$; $p < 0,05$ соответственно). У детей 1-й группы уровень данного пептида в копрофильтратах превышал показатели, полученные у пациентов 2-й группы с гиполактазией, в 2,3 раза. Учитывая, что молекулы пептида зонулина участвуют в обеспечении плотных контактов между клетками эпителия слизистой оболочки кишечника, его гиперпродукция может способствовать каскаду реакций, приводящих к расширению межклеточных контактов и росту проницаемости кишечника, что имеет место при синдроме мальабсорбции любого генеза [7]. Установленное нами высокое содержание данного маркера в копрофильтратах у пациентов с аллергической энтеропатией свидетельствует о более глубоких, чем при гиполактазии, структурных изменениях слизистой оболочки тонкой кишки.

При поражении желудочно-кишечного тракта особое место занимают лабораторные методы, оценивающие повреждение слизистой оболочки кишечника путем определения экскреции с калом биологически активных веществ, указывающих на активность воспалительного процесса, таких как эозинофильный катионный протеин [5]. В нашем исследовании содержание эозинофильного катионного протеина определялось на достоверно ($p < 0,001$) высоком уровне по сравнению с показателями контрольной группы только у детей с интолерантностью к белку коровьего молока, что может быть использовано в сложных диагностических случаях у детей в качестве неинвазивного маркера аллергического воспаления слизистой оболочки кишечника.

При определении содержания β -дефензина 2 в копрофильтратах выявлены определенные закономерности. Так, только у детей с явлениями аллергической энтеропатии (1-я группа) содержание β -дефензина 2 превышало показатели контрольной группы ($p < 0,01$). В настоящее время установлено, что основными продуцентами β -дефензинов в кишечнике являются энтероциты слизистой оболочки, макрофаги, дендритные клетки. Активация данных клеточных структур при воспалительных процессах приводит к быстрому освобождению дефензинов, что носит, очевидно, защитный характер и направлено на подавление активности кишечной бактериальной флоры [3]. Кроме того, β -дефензины обладают иммуномодулирующим действием, играют ключевую роль в обеспечении первой линии защиты макроорганизма от чужеродных агентов, включая вирусы [3]. У детей 2-й группы с явлениями ЛН содержание β -дефензинов не отличалось от его уровня в копрофильтратах у здоровых детей. Это, вероятно, связано с тем, что при вторичной гиполактазии изменения слизистой оболочки кишечника носят кратковременный транзиторный характер и не приводят к глубоким деструктивным изменениям клеточных структур кишечной стенки. В то же время при аллергической энтеропатии происходят более

глубокие и длительные изменения, не только захватывающие слизистую оболочку тонкой кишки, но и приводящие к активации неспецифических защитных факторов гуморальной врожденной иммунной системы.

Как показало наше исследование, содержание транстиретина в копрофильтратах превышало уровень, наблюдаемый у здоровых детей, только у больных 1-й группы ($p < 0,05$). В клинической практике определение транстиретина используется для оценки нутритивного статуса [6]. Однако при сопутствующем воспалительном процессе такая оценка существенно затруднена. Это связано с тем, что транстиретин является чувствительным белком острой фазы воспаления. Таким образом, повышение уровня данного белка в кале свидетельствует о воспалительных изменениях в кишечнике, а потери транстиретина создают условия для развития белковой недостаточности.

Заключение

Проведенное исследование показало, что у детей с аллергической энтеропатией (непереносимостью белка коровьего молока) в копрофильтратах повышено содержание кальпротектина, зонулина, эозинофильного катионного протеина, β -дефензина 2, транстиретина. У пациентов с непереносимостью лактозы вторичного генеза в копрофильтатах отмечено достоверное увеличение содержания только двух маркеров – кальпротектина и зонулина. Установленная нами закономерность, свидетельствующая о гиперпродукции эозинофильного катионного протеина, транстиретина, β -дефензина 2 только у пациентов с аллергической природой мальабсорбции, может быть использована в клинической практике при дифференциальной диагностике в сложных случаях. Неинвазивный характер обследования позволяет использовать определение данных показателей в копрофильтратах у детей, в том числе в самых младших возрастных группах. Полученные нами результаты расширяют представления о патогенезе синдрома мальабсорбции, позволяют улучшить диагностику заболевания, в том числе неинвазивную, и могут быть рекомендованы для использования в клинической практике. Внедрение данных методов позволит улучшить прогноз заболевания и возможности адекватной терапии нарушения кишечного всасывания.

Список литературы

1. Казюкова Т.В. Аллергия к белкам коровьего молока: стратегия выбора лечебного питания (обзор литературы) / Т. В. Казюкова // Эффективная фармакотерапия. Педиатрия. — 2013. — № 3. — С. 31–34.
2. Клинико-лабораторный анализ энтеральной нутритивной поддержки детей с тяжелыми

формами нарушения кишечного всасывания / Т.А. Шуматова, Н.Г. Приходченко, И.В. Ефремова и др. // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2013. — № 1. – С. 38–41.

3. Мамчур М.И., Левых А.Э. Дефензины — эндогенные пептиды с антиинфекционными и противоопухолевыми свойствами / М.И. Мамчур, А.Э. Левых // Таврический медико-биологический вестник. — 2012. — Т. 15.— № 2. — С. 315–321.

4. Шуматова Т.А., Приходченко Н.Г., Оденбах Л.А. Фекальный кальпротектин как маркер структурно-функционального состояния кишечника у детей с пищевой непереносимостью / Т. А. Шуматова, Н.Г. Приходченко, Л.А. Оденбах // Дальневосточный медицинский журнал. — 2012. — № 4. — С. 70–72.

5. Эозинофильные воспалительные заболевания желудочно-кишечного тракта и пищевая аллергия у детей / П.В. Шумилов, М.И. Дубровская, О.В. Юдина и др. // Практическая медицина. 2010. — № 3. — С. 16–25.

6. Ando Y. Transthyretin: it's miracle function and pathogenesis / Y. Ando // The Japanese Journal Of Clinical Pathology. — 2009 Mar. — Vol. 57. № 3. — P. 228–235.

7. Fasano A. Zonulin and ist regulation of intestinal barrier function: the biological door to inflammation, autoimmunity, and cancer / A. Fasano // Physiol. Rev. — 2011. — № 91. — P. 151–175.

Рецензенты:

Крукович Е.В., д.м.н., профессор, заведующая кафедрой факультетской педиатрии ГБОУ ВПО «Тихоокеанский государственный медицинский университет Минздрава России», г. Владивосток;

Шапкина Л.А., д.м.н., профессор кафедры факультетской терапии, главный внештатный детский эндокринолог Приморского края ГБОУ ВПО «Тихоокеанский государственный медицинский университет Минздрава России», г. Владивосток.