

ЭНДОГЕННЫЕ ПЕПТИДЫ В ДИАГНОСТИКЕ АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ ЭНТЕРОПАТИИ У ДЕТЕЙ

Шуматова Т. А.¹, Зернова Е. С.¹, Катенкова Э. Ю.¹, Шишацкая С. Н.¹

¹Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Владивосток, Россия (690002, г. Владивосток, пр. Острякова 2) e-mail: kate-zernova@mail.ru

Изучена информативность определения содержания белков, связывающих жирные кислоты, белка, повышающего проницаемость мембран, эотаксина в сыворотке крови и эозинофильного катионного протеина в копрофильtrate у детей грудного возраста с клиникой персистирующей диареи. Обследовано 30 детей с аллергической энтеропатией, индуцированной белком коровьего молока, 30 детей с вторичной лактазной недостаточностью и 30 здоровых детей раннего возраста. Выявлено достоверное повышение уровня кишечной и печеночной форм белков, связывающих жирные кислоты, белка, повышающего проницаемость мембран, эотаксина и эозинофильного катионного протеина у детей с непереносимостью белков коровьего молока (НБКМ) ($p < 0,05$). Данные маркеры позволяют оценить уровень и глубину поражения пищеварительного тракта у детей. Полученные нами результаты расширяют представления о патогенезе НБКМ, позволяют оптимизировать неинвазивную диагностику заболевания и могут быть рекомендованы для использования в клинической практике в сложных диагностических случаях.

Ключевые слова: аллергическая энтеропатия, дети раннего возраста, непереносимость белков коровьего молока, белки, связывающие жирные кислоты, белок, повышающий проницаемость мембран, эотаксин, эозинофильный катионный протеин

ENDOGENOUS PEPTIDES IN ALLERGIC ENTEROPATHY'S DIAGNOSTICS FOR CHILDREN

Shumatova T. A.¹, Zernova E. S.¹, Katenkova E. Y.¹, Shishackaya S. N.¹

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

The study showed the information of the determination content of protein, fatty acid binding protein that increases the permeability of membranes, eotaxin in serum and eosinophil cationic protein coprofiltrates in infants with protracted non-infectious diarrhea. The study involved 30 children with allergic enteropathy induced protein of cow's milk, 30 children with secondary lactase deficiency and 30 healthy infants. A significant increase in intestinal and liver forms of proteins, fatty acid binding protein that increases the permeability of membranes, eotaxin and eosinophil cationic protein in children with cow's milk protein intolerance (NBKM) ($p < 0,05$). These markers allow us to estimate the level and depth of the defeat of the digestive tract in children. Our results extend the understanding of the pathogenesis of NBKM, allow to optimize the non-invasive diagnosis of the disease and can be recommended for use in clinical practice in difficult diagnostic cases. Our results extend the understanding of the pathogenesis of cow's milk protein intolerance allow improved non-invasive diagnosis of the disease, including, can be recommended for use in clinical practice in difficult diagnostic cases.

Keywords: allergic enteropathy, young children, intolerance to cow's milk proteins, binding proteins, fatty acids, protein that increases the permeability of membranes, eotaxin, eosinophilic cationic protein

Повсеместный рост распространенности аллергических заболеваний очевиден [1, 2, 4, 6]. У детей раннего возраста проблема роста аллергии особенно актуальна ввиду того, что на практике возникают определенные сложности в выявлении причинно-значимого аллергена. По данным Всемирной аллергологической организации белки коровьего молока вместе с белками куриных яиц являются основными триггерами пищевой аллергии у детей раннего возраста [2]. Аллергия к белкам коровьего молока (АБКМ) у детей скрывается под масками многочисленных заболеваний и может проявляться расстройствами дыхательной, пищеварительной систем, вплоть до развития анафилаксии [4, 6]. Основа лечения АБКМ –

диетотерапия [1, 5]. Несмотря на широкий ассортимент на отечественном рынке детского питания и лечебных смесей, правильный выбор специализированного продукта для ребенка с аллергией вызывает определенные трудности не только для родителей, но и для врачей. Для подбора правильного питания необходима своевременная и точная диагностика. Однако грудной возраст, тяжесть клинических проявлений ограничивают в данной возрастной группе применение провокационной диеты, а также комплекса диагностических исследований инвазивного характера, включая иммунологические, морфологические, генетические методы. Неспецифичность клинических проявлений АБКМ, ограничения в применении методов инвазивной диагностики влияют на своевременность постановки правильного диагноза, удлиняют заболевание, способствуют формированию внекишечной патологии, появлению нутритивной недостаточности, нарушают рост и развитие ребенка [3, 6]. Все эти факторы делают актуальной разработку системы раннего неинвазивного мониторинга пищевой аллергии; внедрение новых диагностических маркеров будет способствовать улучшению ранней диагностики аллергических заболеваний.

Цель исследования

Оценить информативность определения эндогенных пептидов в сыворотке крови и копрофильтратах у детей с аллергической энтеропатией для совершенствования диагностики пищевой аллергии.

Материалы и методы

Под нашим наблюдением находились 60 детей в возрасте от 6 до 12 месяцев с клиникой персистирующей диареи. В ходе исследования пациенты были разделены на 2 группы. Первую группу составили 30 детей с отягощенным аллергологическим анамнезом, рецидивирующим кожным и кишечным синдромами. У этих детей определялись полиморфные высыпания на коже с участками сухости, эксфолиациями, жидкий стул, вздутие живота, кишечные колики, срыгивание, беспокойство после кормления, на фоне перечисленных клинических проявлений появились недостаточные прибавки в массе тела. В соответствии со стандартами у детей этой группы был выставлен диагноз аллергической энтеропатии с непереносимостью белков коровьего молока. Во вторую группу вошли 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 — 30 условно здоровых детей соответствующего возраста.

У всех наблюдаемых детей в копрофильтратах определяли содержание эозинофильного катионного протеина методом энзим-связанного иммуносорбентного анализа (ELISA –

enzyme-linked immunosorbent assay) с использованием реактивов фирмы Immundiagnostik (Германия). Для расшифровки патогенетических механизмов нарушения кишечного всасывания различного генеза в сыворотке крови у детей определяли белки, переносящие жирные кислоты, — кишечную (I-FABP) и печеночную фракции (L-FABP), а также бактерицидный белок, повышающий проницаемость мембраны клеток (BPI), и зотаксин. Данные маркеры изучали методом энзим-связанного иммуносорбентного анализа с использованием реактивов фирмы Hycult Biotech (США) на иммуноферментном автоматическом 2-планшетном анализаторе EVOLIS Twin Plus производства Bio-Rad (США). 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 6.1» for Windows).

Результаты исследования

Проведен анализ особенностей анамнеза и данных состояния здоровья детей раннего возраста с явлениями неустойчивого стула более трех недель. Нами установлено, что высокий риск развития непереносимости белков коровьего молока связан с наличием в анамнезе 9 основных факторов. Среди них со стороны матери явления пищевой непереносимости во время беременности отмечались у 22 (73%) женщин, хроническая фетоплацентарная недостаточность — у 22 (73%) будущих матерей. Со стороны ребенка перинатальное поражение ЦНС отмечено у 26 (86%) детей, раннее искусственное вскармливание — у 27 (90%) детей, применение антибактериальной терапии — у 28 (93%) детей, клиника пищевой гиперчувствительности, наличие кожного синдрома, выраженной сухости кожных покровов отмечены у 30 (100%) детей, нарушение микробиоты кишечника диагностировано у 22 (73%) пациентов.

Клинический анализ показал, что у детей обеих групп нарушение кишечного всасывания характеризовалось персистирующей диареей кислого характера. У детей первой 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) второй 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%) первой группы имели признаки реактивного поражения поджелудочной железы в виде пониженной эхогенности паренхимы головки и хвоста органа. У детей второй группы при данном исследовании отклонений от нормы не выявлено.

При изучении сыворотки крови всех групп пациентов нами получены следующие результаты, представленные в таблице.

Эндогенные белки в сыворотке крови у детей

Показатели	I группа	II группа	Контрольная группа
I-FABP (пг/мл)	125,20±23,79 * [Ⓚ]	61,03± 8,41 #	19,21±4,94
L-FABP (пг/мл)	595,42±74,15 * [Ⓚ]	314,93±47,56 #	175,86±23,78
(BPI) (пг/мл)	101,67±19,13 * [Ⓚ]	51,68±10,24	35,18±3,49
Эотаксин (пг/мл)	1908,15±237,09* [Ⓚ]	753,16±80,74	611,93±90,14

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

— достоверность различий $p < 0,05$ между второй группой и группой контроля;

[Ⓚ] — достоверность различий $p < 0,05$ между первой и второй группами.

Установлено, что содержание в крови белков, связывающих жирные кислоты, кишечной (I-FABP) и печеночной (L-FABP) форм, у пациентов первой и второй групп было достоверно выше, чем в контрольной группе ($p < 0,05$). При этом концентрация интестинальной (I-FABP) формы протеина в крови у детей первой группы в 6,5 раз превышала уровень показателя, зарегистрированный в группе здоровых детей. У детей с вторичной лактазной недостаточностью (вторая группа) содержание I-FABP было выше показателей контрольной группы в 3,2 раза. В литературе имеются данные о том, что повышение I-FABP свидетельствует о наличии повреждения слизистой оболочки тонкого кишечника [7]. Данные, полученные в нашем исследовании, убедительно подтверждают вовлеченность в воспалительный процесс тонкого кишечника как при аллергической энтеропатии, так и при вторичной гиполактазии.

В нашем исследовании выявлено, что уровень печеночной формы протеина (L-FABP) в крови у детей с АБКМ в 3,4 раза, а у детей с интолерантностью к лактозе — в 1,9 раз превышали показатели группы здоровых детей. Известно, что печеночная форма белка — L-FABP экспрессируется большей частью в печени, из-за своих малых размеров молекулы L-FABP способны быстро выходить из поврежденных клеток печени, приводя к повышению уровня пептида в крови [7, 8]. Полученные нами результаты указывают на вовлечение гепатобилиарной системы в патологический процесс в большей степени при развитии интолерантности к белку коровьего молока у детей.

Содержание в крови бактерицидного белка, повышающего проницаемость клеток (BPI), было увеличено только у детей с аллергией, индуцированной белком коровьего молока, и было выше в 2,9 раза показателей контрольной группы, что подтверждает факт участия

этого пептида в развитии аллергического воспаления в слизистой оболочке тонкой кишки.

Показатели эотаксина крови у детей с аллергической энтеропатией оказались в 3,1 раза выше, чем в контрольной группе, и в 2,5 раза выше показателей группы с вторичной лактазной недостаточностью, что свидетельствует об участии данного пептида в аллергическом процессе. При лактазной недостаточности эотаксин достоверно не отличается от его значений в контрольной группе. Следовательно, данный маркер целесообразно использовать как дифференциально-диагностический критерий аллергического воспаления тонкого кишечника.

В настоящее время для определения характера активности поражения 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, одним из которых является эозинофильный катионный протеин [6]. В нашем исследовании содержание эозинофильного катионного протеина у детей с непереносимостью белков молока составило $518,74 \pm 63,17$ нг/мл, у здоровых детей — $192,50 \pm 21,15$ нг/мл ($p < 0,001$). При вторичной лактазной недостаточности этот показатель составил $176,93 \pm 22,59$ нг/мл, что соответствует показателям контрольной группы. Таким образом, определение эозинофильного катионного протеина может быть использовано в сложных диагностических случаях у детей в качестве неинвазивного маркера аллергического воспаления слизистой оболочки кишечника.

Заключение

Проведенное исследование показало, что у детей с аллергической энтеропатией, индуцированной белками коровьего молока, в копрофильтратах повышено содержание эозинофильного катионного протеина, а в сыворотке крови отмечено значительное повышение эотаксина и белка, повышающего проницаемость клеточных мембран. Установленная нами закономерность, свидетельствующая о гиперпродукции этих эндогенных пептидов только у пациентов с аллергической природой мальабсорбции, может быть использована в клинической практике при дифференциальной диагностике в сложных случаях. Определение биомаркеров в сыворотке крови и копрофильтратах позволяет выявить характер и глубину поражения гастроинтестинальной зоны у детей, способствует определению правильной тактики лечения. Полученные нами результаты расширяют представления о патогенезе нарушенного кишечного всасывания, позволяют улучшить диагностику заболевания, в том числе неинвазивную, и могут быть рекомендованы для использования в клинической практике.

Список литературы

1. Аллергия к белкам коровьего молока. Подходы и алгоритмы лечения / Е.А. Вишнева, Л.С. Намазова-Баранова, Т.В. Турти и др. // Вопросы современной педиатрии. – 2012. – Т. 11. — № 3. – С. 65–69.
2. Гастроинтестинальные проявления аллергии на белок коровьего молока у детей / С.Г. Макарова, Л.С. Намазова-Баранова, Т.Э. Боровик и др. // Медицинский совет. — 2014. — № 1. — Р. 28–34.
3. 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.
4. Многообразие клинических проявлений аллергии к белкам коровьего молока у детей раннего возраста и современные возможности диетотерапии / Т.А. Филатова, Т.Е. Лаврова // Российский вестник перинатологии и педиатрии. — 2011. — № 3. – С. 88–92.
5. Принципы персонализированной диетотерапии при аллергии к белкам коровьего молока у детей / В.А. Ревякина, И.А. Ларькова, Е.Д. Кувшинова и др. // Российский аллергологический журнал. – 2015. – № 2. – С. 47–51.
6. 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.
7. Gajda A. M., Storch J. Enterocyte fatty acid-binding proteins (FABPs): different functions of liver and intestinal FABPs in the intestine / A. M. Gajda, J. Storch // Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids. — 2015 Feb. — № 93. — P. 9–16.
8. Intestinal fatty acid-binding protein (I-FABP) as a new biomarker for intestinal diseases / H. Funaoka, T. Kanda, H. Fujii et al. // The Japanese Journal Of Clinical Pathology. — 2010 Feb. — Vol. 58. № 2. — P. 162–168.

Рецензенты:

Шапкина Л. А., д.м.н., профессор кафедры факультетской терапии ГБОУ ВПО ТГМУ Минздрава России, главный внештатный детский эндокринолог Приморского края, г. Владивосток;

Лучанинова В. Н., д.м.н., профессор, руководитель научного отдела ГБОУ ВПО ТГМУ Минздрава России, г. Владивосток.