

УРОВНИ ЛАКТОФЕРРИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И ФЕКАЛЬНОМ ЭКСТРАКТЕ ПРИ НЕКОТОРЫХ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ КИШЕЧНИКА

Луцева О.А., Коханов А.В., Воронкова М.Ю., Иримиа Р.Н., Зеленцова Я.В.

ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет Минздрава России», Астрахань, e-mail: agma@astranet.ru

В последние годы диагностические возможности анализа кала расширились за счет открытия новых специфических фекальных белков, устойчивых к перевариванию в кишечнике. Это и новые белки типа кальпротектин, и давно известные белки типа лактоферрин (ЛФ). С целью диагностики острого и хронического воспаления кишечника выполнено параллельное исследование уровней ЛФ в образцах сывороток крови и экстрактов фекалий 154 больных. По результатам хирургического лечения, поступившие экстренно больные были распределены на следующие группы: острый аппендицит (ОА) простой, аппендикулярный гнойный распространенный перитонит (АП), перфорация язвы желудка (ПЯЖ), ущемленная вентральная грыжа (УГ), острая кишечная непроходимость (ОКН), мезентериальный тромбоз кишечника. В исследование также включены больные, поступившие в гастроэнтерологическое отделение в связи с обострением неспецифического язвенного колита (НЯК) и болезни Крона (БК). Контрольной группой служили образцы сывороток крови и кала пациентов, поступивших в плановом порядке для оперативного лечения неущемленных вентральных грыж. Максимальное увеличение уровней ЛФ в сыворотке крови было обнаружено у пациентов с осложненными формами ОА, а максимальное увеличение уровней фекального ЛФ установлено только при хронических воспалительных заболеваниях (НЯК и БК). Уровни фекального ЛФ при острой хирургической патологии повышаются до одинаковых величин как при патологии, локализуемой в проксимальных отделах кишечника (ПЯЖ), так и в дистальных отделах толстой кишки (ОКН). Сделан вывод, что уровень фекального ЛФ зависит не от степени тяжести воспалительного процесса в кишечнике, а от его продолжительности. Полученные результаты изучения теста на фекальный ЛФ могут иметь значение для дифференциальной диагностики не только в гастроэнтерологии, но и в абдоминальной хирургии.

Ключевые слова: острые и хронические заболевания кишечника, лактоферрин, сыворотка крови, фекальный экстракт, дифференциально-диагностическое значение.

LEVELS OF LACTOFERRIN IN SERUM AND FECAL EXTRACT IN CERTAIN INFLAMMATORY BOWEL DISEASES

Lutseva O.A., Kohanov A.V., Voronkova M.Y., Irimia R.N., Zelentsova Y.V.

FGBOU VO "Astrakhan State Medical University", Astrakhan, e-mail: agma@astranet.ru

In recent years, diagnostic capabilities of fecal analysis have expanded due to the discovery of new specific fecal proteins that are resistant to digestion in the intestines. These are new proteins such as calprotectin and long-known proteins such as lactoferrin (LF). In order to diagnose acute and chronic inflammation of the intestine, a parallel study of LF levels in blood serum samples and extracts of feces from 154 patients was performed. According to the results of surgical treatment received emergency patients were divided into the following groups: simple acute appendicitis (AA), appendicular purulent peritonitis (AP), perforation of the stomach ulcers (PU), strangulated ventral hernia (HS), acute intestinal obstruction (AIO), mesenteric intestinal thrombosis. The study also included patients admitted to the gastroenterology department due to exacerbation of ulcerative colitis (UC) and Crohn's disease (CD). The control group consisted of samples of blood sera and feces of patients admitted in a planned manner for the surgical treatment of nonstrangulated ventral hernias. The maximum increase in serum LF levels was found in patients with complicated forms of AA, and the maximum increase in fecal LF levels was found only in chronic inflammatory diseases (UC and CD). The levels of fecal LF in acute surgical pathology are increased to the same values as in pathology localized in the proximal intestine (PU), and in the distal colon (obstructive AIO). It is concluded that the level of fecal LF does not depend on the severity of the inflammatory process in the intestine, but on its duration. The results of studying the fecal LF test may be important for the differential diagnosis not only in gastroenterology, but also in abdominal surgery.

Keywords: acute and chronic intestinal diseases, lactoferrin, blood serum, fecal extract, differential diagnostic value.

Алгоритмы общеклинических исследований и инструментальной диагностики при

острой абдоминальной хирургической патологии прописаны в Клинических рекомендациях РФ и стандартах диагностики и оказания медицинской помощи данной группе ургентных пациентов [1-3] и, как правило, обеспечивают высокую вероятность правильного диагноза. При затруднениях в дифференциальной диагностике выполняются более сложные инструментальные исследования и подключаются врачи смежных специальностей [1; 4; 5]. Некоторые сложные и трудоемкие диагностические процедуры требуют подготовки больного и на практике являются недоступными части лечебных учреждений, поэтому сохраняет актуальность поиск более простых лабораторных методов диагностики острой абдоминальной патологии [3; 5]. Многие диагностические и прогностические шкалы включают в число исследуемых параметров гематологические и биохимические показатели крови [1; 3; 4]. Если речь идет об острых заболеваниях желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), логичным является анализ кала [1; 6], прежде всего на скрытую кровь, кишечную инфекцию или инвазию [5; 6]. Вместе с тем возможности фекальных маркеров острого и хронического воспаления кишечника еще до конца не раскрыты.

Одними из первых фекальных маркеров диагностики воспаления кишечника стали описанные на рубеже тысячелетий кальпротектин и лактоферрин [5; 7]. Считается, что их концентрация в фекалиях пропорциональна концентрации лейкоцитов, подвергшихся перевариванию в химусе [8; 9]. По причине расщепления протеолитическими ферментами слизистой кишечника и микрофлоры толстого кишечника в каловых массах отсутствуют и другие важные белковые маркеры, несущие информацию о состоянии определенных отделов кишечника (за исключением самых дистальных отделов кишки) [9; 10].

В последние годы повышенный интерес к фекальным биомолекулам типа лактоферрина (ЛФ), резистентным к действию кишечных протеаз и отражающим степень воспаления в слизистой кишечника, появился не только у гастроэнтерологов, но и у абдоминальных хирургов.

Сывороточный ЛФ – это давно и хорошо изученный ферропротеин из группы белков острой фазы, который продуцируют нейтрофилы и макрофаги, а секреторный ЛФ – клетки эпителия. Как и другие белки семейства трансферринов, ЛФ принимает участие в организме в транспорте и метаболизме железа, но может связывать и другие двух- и трехвалентные катионы металлов [9]. Именно из-за способности связывать ионы металлов ЛФ проявляет бактериостатическую и бактерицидную активность, а также антиоксидантные и мембраностабилизирующие свойства и относится к факторам неспецифической защиты [8; 9]. Кроме того, макромолекула ЛФ обладает участками связывания для бактериальных эндотоксинов, цитотоксинов, липополисахаридов, гепарина и других макромолекул. Как иммуностропный белок, ЛФ участвует в регуляции клеточного и гуморального звена

иммунитета, воздействуя через рецепторы иммунокомпетентных клеток, интерлейкины и систему комплемента [10; 11].

Концентрации сывороточного ЛФ повышаются как при локальных, так и при генерализованных деструктивно-воспалительных процессах (сепсис, пневмонии, панкреатит, онкологические процессы), а определение повышенных уровней ЛФ в сыворотке крови является надежным тестом воспалительного процесса любой этиологии [9; 10]. Получены данные, что высокие локальные уровни ЛФ удерживают нейтрофилы в воспалительном очаге и приводят к гнойному расплавлению тканей и развитию абсцессов.

Тест на сывороточный ЛФ в абдоминальной хирургии показал свою информативность в дифференциальной диагностике атипично протекающих форм воспалительных заболеваний ЖКТ и гепато-билиарной зоны (панкреатит, холецистит) [4; 11; 12]. Диагностическое значение фекального ЛФ в абдоминальной хирургии исследовано пока недостаточно [9; 10].

Цель исследования – изучить клинико-диагностическое значение лактоферрина при некоторых острых и хронических воспалительных заболеваниях кишечника.

Материалы и методы исследования. Концентрации лактоферрина (ЛФ) исследовались в образцах сывороток крови и экстрактов фекалий 154 больных в возрасте от 20 до 76 лет, при поступлении в хирургическое и гастроэнтерологическое отделения городской клинической больницы № 3 им. С.М. Кирова г. Астрахани в период с 2016 по 2018 год.

По результатам оперативного лечения пациенты были распределены на следующие группы: 17 больных с неосложненным острым аппендицитом (ОА), 10 – с гангренозно-перфоративным аппендицитом, осложненным распространенным гнойным аппендикулярным перитонитом (АП), 16 – с перфорацией язвы желудка и двенадцатиперстной кишки (ПЯЖ), 19 больных – с ущемленными паховыми грыжами (УГ) и 14 – с острой кишечной непроходимостью (ОКН), в том числе 6 – со странгуляционной тонкокишечной непроходимостью и 8 – с obturационной толстокишечной непроходимостью опухолевого генеза. Кроме того, в исследование включены 3 больных с сосудистой патологией, поступивших и обследовавшихся дежурным хирургом в приемном отделении и впоследствии с диагностированным компенсированным и субкомпенсированным мезентериальным тромбозом кишечника.

Отдельной исследуемой группой являлись 14 больных гастроэнтерологического отделения с хроническими заболеваниями кишечника, из них 6 – с неспецифическим язвенным колитом (НЯК) и 8 – с болезнью Крона (БК).

Контрольной группой служили образцы сывороток крови и кала 16 пациентов в

возрасте 18-55 лет, поступивших в плановом порядке для оперативного лечения неущемленных вентральных грыж, по результатам обследования соматически здоровых. Все диагнозы были верифицированы клинически и гистологически.

Кровь пациентов собиралась обычной венепункцией кубитальной вены в вакутайнеры и сыворотка отделялась от форменных элементов центрифугированием. Концентрации ЛФ в сыворотках крови и фекальных экстрактах определяли с помощью набора реагентов для ИФА ЗАО «Вектор-Бест» г. Новосибирск, чувствительность метода 20 нг/мл.

Образцы оформленного кала (примерно 0,1 г, соответствующий внутреннему объему пластикового наконечника шприца) разводили в чашке Петри ампулой физиологического раствора (изотонического раствора хлорида натрия – 10 мл), а жидких фекалий в объеме 0,1 мл (втянутых в наконечник шприца) – кратковременным перемешиванием с физиологическим раствором в шприце на 10 мл. Фекальные экстракты в объеме 100 мкл по возможности в течение 3 часов использовались для иммуноферментного анализа на лактоферрин или подвергались замораживанию в пробирках Эппендорфа.

Результаты обработаны методами описательной статистики с помощью прикладных пакетов программ Statistica, Excel и представлены в виде средних значений и их ошибок (M+m), медианы (Me), 5 и 95 перцентилей (P₀₅-P₉₅). Достоверность различий между группами оценивали по U-критерию Манна–Уитни. Достоверными считали различия при pU < 0,05.

Результаты исследований и их обсуждение. Результаты параллельного определения средних величин, медианы и крайних значений концентрации лактоферрина (ЛФ) в сыворотке крови и фекалиях у пациентов хирургического и гастроэнтерологического отделений представлены в таблице.

При катаральном ОА средние сывороточные концентрации ЛФ по сравнению с пациентами из контрольной группы (вентральные грыжи) увеличивались незначительно (до 119%). При поступлении пациентов с ОА, у которых диагностирован распространенный гнойный перитонит (группа АП), уровни ЛФ были достоверно выше контроля (p<0,05) в 3 раза (табл.).

По сравнению с плановыми больными с неущемленными грыжами, у пациентов с ущемленными паховыми грыжами средние концентрации ЛФ в сыворотках крови при поступлении возрастали до уровней осложненных форм ОА (в среднем в 2,9 раза). Примерно такое же повышение средних уровней ЛФ относительно нормы наблюдалось у больных со странгуляционной и obturационной ОКН (соответственно в 2,6 и 2,8 раза) и у пациентов гастроэнтерологического отделения с неспецифическим язвенным колитом (НЯК) и болезнью Крона (БК): также соответственно в 2,6 и 2,8 раза (табл.).

Концентрация лактоферрина в сыворотке крови и экстрактах фекалий у больных с острыми и хроническими заболеваниями ЖКТ (M±m, Me, P₀₅-P₉₅)

Нозология, число пациентов в группе	Лактоферрин сывороточный нг/мл, в % к контролю	Лактоферрин фекальный нг/г кала в % к контролю	Отношение ЛФ _{фек} /ЛФ _{сыв} мл/г
Контроль (вентральные грыжи) n=16	1040±189 990 (100-2900)	4600±450 4600 (200-7500)	4,646
О. аппендицит неосложненный n=17	1240±224 119% 1090 (200-4100)	14300±1120* 310,9% 14300 (7800-22400)	11,532
Аппендикулярный перитонит n=10	3160±630* 303,8% 2800 (950-6720)	32600±7360* 708,7% 28100 (8400-72600)	10,316
Ущемленные паховые грыжи n=19	2990±332* 287,5% 2600 (960-6720)	23300±3120* 506,5% 23000 (3700-54700)	7,793
Перфоративная язва желудка и ДПК n=16	1890±296 181,7% 1560 (610-5050)	26900±3900* 584,8% 24100 (7600-63500)	14,233
Острая кишечная непроходимость (ОКН), n=14 в том числе:	2740±501* 263,5% 2435 (730-7610)	32500±6080* 706,5% 26800 (5700-83600)	11,861
Острая странгуляционная тонкокишечная непроходимость n=8	2860±771* 263,5% 2435 (730-7610)	23600±6940* 512,1% 17500 (5700-66000)	8,252
Острая obturационная толстокишечная непроходимость n=6	2590±636* 275,0% 2385 (840-5100)	40900±6530* 889,1% 39300 (2110-62700)	15,792
Субкомпенсированный мезотромбоз кишечника n=3	1920±589 184,6% 1810 (960-2990)	13500±4560* 293,5% 11500 (6800-22200)	7,031
Неспецифический язвенный колит (НЯК) n=6	2690±503* 258,7% 2690 (1030-4410)	59900±9270* 1267% 61850 (25600-90900)	22,268
Болезнь Крона (БК) n=8	2900±459* 278,8% 2630 (1300-5250)	63900±7240* 1389% 61650 (35700-97700)	22,034

Примечание: * – достоверные различия по сравнению с контрольной группой (p < 0,05).

Недостоверное повышение сывороточных уровней ЛФ обнаружено при поступлении в приемное отделение больных с перфорацией язвы желудка и двенадцатиперстной кишки (ДПК) и трех больных, у которых диагностирован тромбоз мезентериальных сосудов (в обоих случаях уровни ЛФ в 1,8 раза выше контрольных цифр). Следует отметить, что в последующие дни после поступления и оперативного лечения больных этих двух групп происходило дальнейшее достоверное нарастание в их крови уровней ЛФ.

В фекалиях пациентов всех групп обнаружены статистически достоверно ($p < 0,05$) повышенные средние концентрации ЛФ по сравнению с контрольной группой (табл.): в 3-7 раз выше при острых хирургических заболеваниях ЖКТ (рис.). Но максимальное увеличение уровней фекального ЛФ обнаружено у пациентов гастроэнтерологического отделения при обострении НЯК и БК (в 12,7 и 13,9 раза соответственно).

Следовательно, определение уровня фекального ЛФ является более чувствительным тестом для диагностики заболеваний ЖКТ, чем измерение его уровня в сыворотке крови.

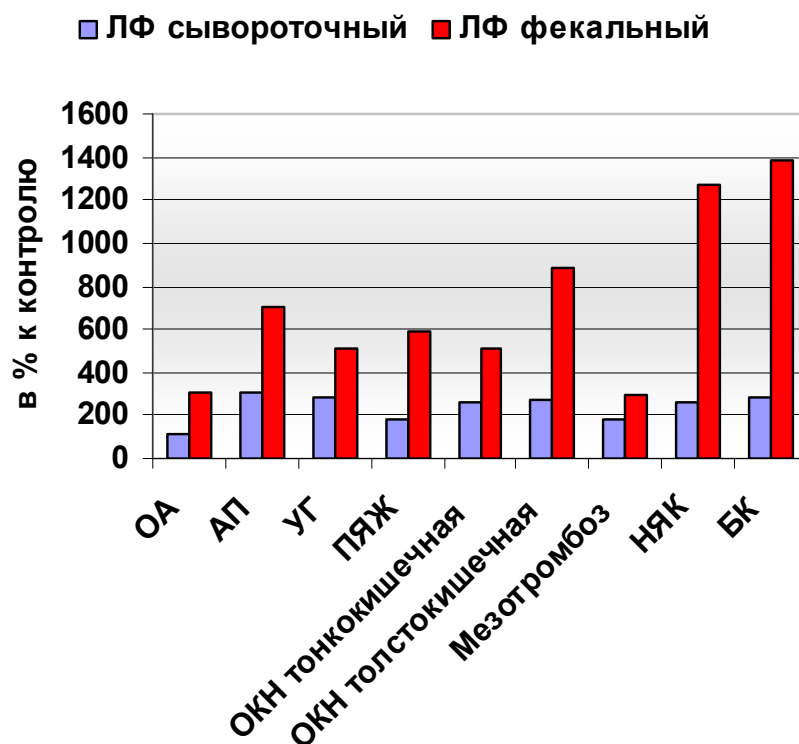


Диаграмма уровней ЛФ в крови и фекалиях больных с катаральным острым аппендицитом (ОА), аппендикулярным перитонитом (АП), ущемленными паховыми грыжами (УГ), перфорацией язвы желудка (ПЯЖ), острой тонко- и толстокишечной непроходимостью (ОКН), мезентериальным тромбозом и хроническими заболеваниями кишечника: неспецифическим язвенным колитом (НЯК) и болезнью Крона (БК)

При этом уровни фекального ЛФ при острой хирургической патологии повышаются до одинаковых величин как при патологии, локализующейся в проксимальных отделах кишечника (ПЯЖ), так и в дистальных отделах толстой кишки (ОКН). То есть уровень фекального ЛФ зависит не от степени тяжести воспалительного процесса в кишечнике, а от его продолжительности. Этот тезис подтверждается сверхвысокими концентрациями фекального ЛФ при хронических воспалительных заболеваниях кишечника (ХВЗК).

Анализируя отношение $ЛФ_{\text{фек}}/ЛФ_{\text{сыв}}$ (табл.), мы обнаружили, что его величина менее

5 мл сыворотки крови на г кала соответствует норме (пациенты с неосложненными вентральными грыжами), величина ниже 10 мл/г встречается при поступлении у больных с ущемленными паховыми грыжами, а также с тромбозом кишечника и тонкокишечной странгуляционной непроходимостью. Все острые воспалительные процессы в кишечнике достоверно повышали отношение фекального ЛФ к сывороточному ЛФ (табл.) более чем в 10 раз.

Заключение

Выбор в качестве индикатора острого аппендицита фекального лактоферрина объясняется тем, что воспалительный процесс в кишечнике сопровождается не только общим лейкоцитозом, но и локальным увеличением их содержания в очаге воспаления в кишечнике. Однако определение лейкоцитов в фекалиях бессмысленно из-за их лизиса протеолитическими ферментами кишечной микрофлоры.

Лактоферрин, уровень которого полностью коррелирует с уровнем лейкоцитов в крови, является белком, устойчивым к протеолизу в кишечнике, благодаря чему находит применение для дифференциальной диагностики хронических воспалительных и невоспалительных заболеваний кишечника (таких, как неспецифический язвенный колит и болезнь Крона) или в качестве онкомаркера начальных стадий колоректального рака.

Высокие концентрации фекального ЛФ обнаруживаются при многих острых хирургических заболеваниях ЖКТ, но никогда при поступлении больных с абдоминальной хирургической патологией не достигают сверхвысоких концентраций фекального ЛФ, встречающихся только при хронических воспалительных заболеваниях кишечника (ХВЗК). Следовательно, уровень фекального ЛФ зависит не от степени тяжести воспалительного процесса в кишечнике, а от его продолжительности.

Полученные результаты позволяют предполагать, что тест на фекальный ЛФ может найти применение как инструмент для дифференциальной диагностики острого аппендицита и другой острой патологии органов брюшной полости и забрюшинного пространства.

Список литературы

1. Затевахин И.И., Кириенко А.И., Кубышкин В.А. Абдоминальная хирургия. Национальное руководство. Краткое издание. М: ГЭОТАР-Медиа. 2016. 912 с.
2. Кириенко А.И., Сон Д.А., Лебедев И.С., Оленева М.А., Шуляк Г.Д., Селиверстов Е.И., Балашов А.В. Лапароскопическое лечение распространенного аппендикулярного перитонита у беременной // Анналы хирургии. 2016. Т. 21. № 4. С. 265-268.
3. Зурнаджянц В.А., Топчиев М.А., Бондарев В.А., Кчибеков Э.А., Сердюков М.А. Оценка

течения раневого процесса при ущемленных грыжах передней брюшной стенки // Кубанский научный медицинский вестник. 2013. Т. 142. № 7. С. 132-133.

4. Кчибеков Э.А. Диагностическая и прогностическая роль металлопротеинов при остром аппендиците // Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова. 2010. Т. 5. № 3. С. 104-105.

5. Будзак И.Я. К вопросу о дифференциальной диагностике воспалительных и функциональных заболеваний кишечника // Гастроэнтерология. 2013. Т. 48. № 2. С. 81-85.

6. Roseth A.G., Aadland E., Jahnsen J., Raknerud N. Assessment of disease activity in ulcerative colitis by faecal calprotectin, a novel granulocyte marker protein. Digestion. 1997. Vol. 58. No 2. P. 176-179.

7. Михайличенко В.Ю., Трофимов П.С., Кчибеков Э.А., Самарин С.А., Топчиев М.А. Лактоферрин как показатель эндогенной интоксикации при распространенном перитоните // Современные проблемы науки и образования. 2018. № 5. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=28101> (дата обращения: 13.12.2018).

8. Кузнецов И.А., Потиевская В.И., Качанов И.В., Куралева О.О. Роль лактоферрина в биологических средах человека // Современные проблемы науки и образования. 2017. № 3. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=26522> (дата обращения: 13.12.2018).

9. Бойко О.В., Ахминеева А.Х., Гудинская Н.И., Бойко В.И., Козак Д.М., Бендюг В.А. Биохимические и иммунологические маркеры в диагностике патологических состояний // Фундаментальные исследования. 2013. № 9. С. 327-329.

10. Коханов А.В., Мяснянкин А.А., Метелкина Е.В., Мусатов О.В., Луцева О.А., Белопасов В.В. Фетальные и острофазовые белки как маркеры репаративных процессов // Международный журнал экспериментального образования. 2010. № 11. С. 89.

11. Михайличенко В.Ю., Трофимов П.С., Кчибеков Э.А., Самарин С.А., Топчиев М.А., Биркун А.А. Оценка динамики уровня лактоферрина сыворотки крови в послеоперационном мониторинге больных, прооперированных по поводу распространенного перитонита // Таврический медико-биологический вестник. 2018. Т. 21. № 1. С. 98–103.

12. Коханов А.В. Возможность использования иммуносенсоров в ургентной медицине // Успехи современного естествознания. 2005. № 12. С. 43-44.