

Е. И. МИХАЙЛОВА, С. И. ПИМАНОВ, В. Р. ТИМАШОВА,
Е. В. ВОРОПАЕВ

МАРКЕРЫ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ КИШЕЧНИКА В НЕИНВАЗИВНОЙ ДИАГНОСТИКЕ

Гомельский государственный медицинский университет,
Витебский государственный медицинский университет,
Гомельская областная клиническая больница

Дифференциальная диагностика воспалительных заболеваний и синдрома раздраженного кишечника

Синдром раздраженного кишечника относится к числу актуальных проблем современной гастроэнтерологии. Согласно результатам проспективных и эпидемиологических исследований, данное заболевание встречается у 15—20% лиц в популяции, преимущественно в молодом, социально активном возрасте [1].

Гастроэнтерологам приходится сталкиваться с определенными трудностями в проведении дифференциальной диагностики воспалительных заболеваний и синдрома раздраженного кишечника, так как клинические проявления в обоих случаях во многом совпадают. Больные жалуются на боль по ходу кишечника, избыточное газообразование и нарушения стула. В то же время такие клинические симптомы, как диарея в ночное время и ректальные кровотечения, являются признаками органической патологии кишечника [2].

Хотя клинические симптомы и помогают правильно диагностировать заболевание, большинство врачей все же больше полагаются на лабораторные тесты (например, уровень гемоглобина, СРБ, СОЭ и др.), которые позволяют им исключить органическую патологию кишечника [2]. Конечно, соответствие клинической картины Римским критериям и отсутствие «симптомов тревоги» убедительно подтверждают функциональное расстройство кишечника [1]. Однако некоторые гастроэнтерологи опасаются пользоваться только Римскими

критериями и назначают больным инвазивные диагностические исследования (ирригоскопия и/или фиброколоноскопия), которые объективно подтверждают отсутствие у пациента органической патологии кишечника. Все это не только увеличивает затраты здравоохранения на диагностику заболеваний кишечника, но и подвергает пациентов повышенному риску, обусловленному проведением инвазивных диагностических процедур [2].

Прогноз рецидивов воспалительных заболеваний кишечника

Лечение воспалительных заболеваний кишечника направлено на индукцию и дальнейшее поддержание ремиссии, диагностика которой основывается, как правило, на показателях клинической активности заболевания [3]. Проблема балльной оценки клинической активности патологии состоит в том, что каждая стадия воспалительных заболеваний кишечника характеризуется множеством различных симптомов, на развитие которых оказывает влияние не только воспалительный, но и другие процессы, например сформировавшиеся свищи и фиброзные стриктуры [2]. Для исключения активного воспалительного процесса врачи снова вынуждены прибегать к различным неспецифическим лабораторным, а иногда и к рентгенологическим и радиоизотопным методам исследования. В разное время с тем или иным успехом в качестве маркеров, прогнозирующих клинический рецидив воспалительных заболеваний кишечника, предлагалось определение СОЭ, уровня лейкоцитов и лейкоцитарной формулы, СРБ, интерлейкинов, факторов некроза опухоли и др. [4]. Однако все эти маркеры в целом не оправдали возложенных на них надежд из-за отсутствия непосредственной связи с воспалением самого кишечника и влияния на их содержание воспалительных процессов иной локализации [5]. Так, показатели крови могут быть в пределах нормы у больных с клинически активными воспалительными заболеваниями кишечника и, наоборот, отклоняться от нее у пациентов с неактивным процессом. В частности, существуют значительные расхождения между тяжестью клинических симптомов и лабораторной оценкой активности заболе-

вания у пациентов с болезнью Крона без внекишечного поражения [2].

Методы неинвазивной диагностики воспалительных заболеваний кишечника

Перечисленные подходы к диагностике и ведению пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника в настоящее время являются общепризнанными и подходят для большинства пациентов. Совсем недавно исследователи обратились к поиску маркеров, имеющих непосредственную связь с воспалением самого кишечника и не зависящих от воспалительных процессов иной локализации. В перспективе данные показатели можно было бы использовать как в неинвазивной диагностике кишечных расстройств, так и в прогнозировании клинического рецидива воспалительных заболеваний кишечника. В настоящее время существует 3 вида тестов, отвечающих указанным требованиям, 2 из них (тесты, характеризующие всасывательную и выделительную функцию кишечника) имеют 20-летнюю историю. Всасывательная функция кишечника оценивается по скорости и количеству появления в крови, слюне, моче и кале различных веществ, принятых внутрь или введенных в двенадцатиперстную кишку. Наиболее часто для этих целей используют Д-ксилозу, лактозу, маннитол и др. Выделительную функцию кишечника позволяет оценить содержание в кале меченных индием (^{111}In) лейкоцитов [2]. Несколько позже были созданы и апробированы другие методики, основанные на определении с помощью абдоминального сканирования меченных $^{99\text{mTc}}$ лейкоцитов, а еще позже и антител к Е-селектину, обладающих способностью накапливаться в эндотелиальных клетках в зоне кишечного воспаления [8]. Третий способ, заключающийся в анализе образцов кала на наличие воспалительных маркеров, по мнению многих гастроэнтерологов, обладает самым большим потенциалом [2].

Фекальные маркеры

При воспалительных заболеваниях кишечника повышается проницаемость его слизистой оболочки, что приводит к повышенной потере белков через желудочно-кишечный тракт. Исследования, основанные на определении уровня белков, маркированных различными изотопами, продемонстрировали, что у пациентов с болезнью Крона в активной стадии имеет место потеря калового белка, что было предложено использовать в качестве маркера активности заболевания [7]. J. Vernier и соавт. в своем исследовании доказали, что фекальный α_1 -антитрипсин, который является белком острой фазы и относится к группе протеазных ингибиторов, инактивирующих продукты фагоцитарных клеток, участвует в связывании коллагеназы и эластазы и ограничивает поверхности вновь образовавшихся эластиновых волокон, что позволяет выявлять энтеропатии, связанные с потерей белка [8]. B. Grill и соавт. обнаружили, что при заборе кала в течение 72 ч у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника α_1 -антитрипсин является эффективным маркером количественной оценки потери кишечного белка [9]. Уровень фекального α_1 -антитрипсина хорошо коррелирует с содержанием Cr(51)-альбумина, а умеренно выраженное ректальное кровотечение не влияет на

уровень α_1 -антитрипсина [9]. В диагностике активности болезни Крона α_1 -антитрипсин одинаково эффективен как при однократном, так и при многократном заборе кала [10]. Данный маркер коррелирует с другими лабораторными показателями, являющимися индикаторами активности болезни Крона [11].

Однако высокая стоимость исследования, радиоактивное облучение пациента и необходимость в ряде случаев длительного забора кала ограничивают использование этих методик в практической медицине, хотя некоторые из них и применяются до сих пор в научных целях [2].

В 90-х годах прошлого столетия возникла идея использования для диагностики воспалительных заболеваний кишечника белковых клеток или субстанций, ассоциированных с определенным типом клеток и способных давать информацию по специфическим характеристикам воспалительного процесса. A. Ferguson и соавт. использовали для анализа чистые жидкие каловые образцы, чтобы избежать деградации маркеров. Для этого кал получали после приема пациентами слабительного (полиэтиленгликоль) и определяли целый спектр маркеров (иммуноглобулины, эластазы и гемоглобин). Метод оказался эффективным не только в диагностике воспалительных заболеваний кишечника, но и превзошел по чувствительности гемокульт-тест при выявлении колоректального рака [12]. Несмотря на то, что этот способ идеально подходит для исследования, он не нашел еще широкого применения в практической медицине. Может быть, причиной этому послужил тот недостаток, что у пациентов приходится вызывать диарею, кроме того, они должны выпивать большое количество жидкости.

Исследование фекальных маркеров остается перспективным направлением в диагностике воспалительных заболеваний кишечника [11]. Продолжается разработка новых неинвазивных тестов. Требования, предъявляемые к идеальному лабораторному маркеру воспалительных заболеваний кишечника, представлены в таблице.

Основной проблемой, сдерживающей развитие концепции диагностики воспалительных заболеваний ки-

Требования, предъявляемые к идеальному лабораторному маркеру воспалительных заболеваний кишечника

| Характеристика | Качества |
|--|--|
| Простой | Высокоспецифичный, способный выявлять воспалительные заболевания кишечника и дифференцировать их от других патологий кишечника |
| Легко и быстро воспроизводимый | Объективная оценка активности воспалительного процесса |
| Неинвазивный или минимально инвазивный | Прогноз течения заболевания (определение возможности возникновения рецидива) |
| Дешевый | Контроль эффективности терапии |
| Стабильный (обеспечивающий возможность транспортировки от пациента до лаборатории) | Прогноз появления опасных для жизни осложнений |

щечника с помощью фекальных маркеров, являлась их неустойчивость вследствие бактериальной деградации при транзите по кишечнику. Один из таких маркеров — фактор некроза опухолей — все же успешно применялся у детей и при ВИЧ-инфекции у взрослых [13]. Однако сейчас уже стало ясно, что не обязательно добиваться сохранения маркера, так как антитело (большинство из этих тестов ELISA или радиоиммунологические) направлено на эпитопы молекул, которые резистентны к деградации. Один из таких тестов основан на определении уровня лактоферрина [14].

Лактоферрин — гликопротеин, содержащийся в ткани и секретах большинства желез экзокринового типа, а также во вторичных гранулах нейтрофилов. Он выполняет ряд важных функций: участвует в неспецифической иммунной защите, является фактором созревания и активатором клеток лимфоидного ряда, а также внеклеточным транскрипционным фактором. К механизмам его функциональной активности относят способность обратимо связывать ионы Fe и тем самым подавлять рост микроорганизмов и опухолей, а также регулировать выделение α -ФНО, интерлейкинов 1 и 6 и усиливать фагоцитоз. Обнаружена рибонуклеазная активность одной из изоформ лактоферрина, а также его способность ослаблять повреждающее действие свободных радикалов.

Исследования, посвященные лактоферрину, немногочисленны, но они показывают, что он позволяет эффективно дифференцировать воспалительные заболевания и синдром раздраженного кишечника. Так, V. Sunanda и соавт., обследуя 104 пациента с болезнью Крона, 80 больных язвенным колитом и 66 здоровых добровольцев, обнаружили 90%-ную специфичность фекального лактоферрина в диагностике воспалительных заболеваний кишечника [15]. S. Vudergo и соавт., наблюдая 5 пациентов с болезнью Крона на фоне лечения инфлексимабом, показали, что уровень фекального лактоферрина снижается по мере достижения клинической ремиссии [16]. Однако, по мнению авторов, необходимы дальнейшие исследования для уточнения роли фекального лактоферрина в дифференциальной диагностике воспалительного и невоспалительного поражения кишечника, преимущества количественного определения фекального лактоферрина перед качественным и его возможностей в прогнозировании рецидива воспалительных заболеваний кишечника [15, 16].

Фекальный калпротектин — цитоплазматический белок нейтрофилов

Самый большой опыт накоплен при исследовании фекальных белков на основе калпротектина. На его долю приходится более 50% цитоплазматического белка нейтрофилов, но в то же время он является весьма устойчивым к воздействию кишечных бактерий [2]. Содержание его в кале легко определить с помощью доступного иммуоферментного теста ELISA. Калпротектин был впервые выделен из гранулоцитов M. K. Fagerhol и соавт. [17] и назван L1-белком, но позже переименован в калпротектин из-за своих антимикробных способностей и связи с кальцием [18]. Этот гетеросложный белок состоит из двух тяжелых (L1-H) и одно-

го легкого звена (L1-L) [19], которые соединены нековалентной связью [20]. Калпротектин играет регуляторную роль в воспалительном процессе [21] и обладает антимикробными [18] и антипролиферирующими свойствами [22]. По своим бактерицидным и фунгицидным свойствам он не уступает многим антибиотикам [18]. Высвобождение калпротектина из клетки происходит во время ее гибели. Как было доказано, C-терминальная связь L1-H-звена идентична N-терминалу пептидов и известна как нейтрофильная иммобилизирующая активность (NIF) [23], которая зависит от фосфорилизации [24] и способствует накоплению гранулоцитов в зоне воспаления. После гибели нейтрофилов калпротектин реализует свои антимикробные свойства, лишая микроорганизмы цинка [25].

Интерес к калпротектину как к маркеру воспаления, локализованному в кишечнике, возник после того, как была доказана возможность диагностики воспалительных заболеваний кишечника с помощью абдоминального сканирования лейкоцитов, меченных индием (^{111}In) [26]. Эти данные навели на мысль, что миграция гранулоцитов в слизистую оболочку кишечника в условиях воспалительного процесса может проявляться повышением уровня белка этих клеток в каловых массах. По данным других исследователей, основным источником калпротектина в здоровой слизистой оболочке кишечника являются эозинофилы [2]. Однако относительно высокие уровни калпротектина (в 6 раз выше уровней плазмы) обнаруживают и в кале здоровых людей. Это совпадает с мнением исследователей о том, что у здоровых людей большинство циркулирующих нейтрофилов мигрирует через слизистую мембрану кишечной стенки, завершая таким образом свое существование [2]. Последующий лизис нейтрофилов в кишечном тракте и высвобождение клеточного калпротектина определяет у здоровых людей уровень фекального калпротектина в пределах 50 мкг/г [27].

Фекальный калпротектин в диагностике воспалительных заболеваний кишечника

Фекальный калпротектин, важный цитозольный протеин гранулоцитов, тесно коррелирует с выделением с фекалиями меченных индием (^{111}In) лейкоцитов, уровень которых считается «золотым стандартом» в диагностике воспалительных заболеваний кишечника [27]. При этом концентрации калпротектина из одного образца кала противопоставляют 1—4-дневным сборам анализов кала при определении содержания меченных индием (^{111}In) лейкоцитов [28]. Как и меченные индием (^{111}In) лейкоциты, калпротектин был предложен в качестве неинвазивного теста для дифференциальной диагностики воспалительных заболеваний и синдрома раздраженного кишечника [27]. Фекальный калпротектин может использоваться также и для контроля за эффективностью проводимой терапии у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника [27]. Уровень маркера при воспалительных процессах в кишечнике редко бывает в пределах нормы, за исключением случаев полной клинической ремиссии, являясь таким образом чувствительным тестом в выявлении воспалительных заболеваний кишечника независимо от активности воспаления. Среди более 100 пациентов с

болезнью Крона разной степени тяжести и активности только у 4 наблюдались нормальные концентрации калпротектина.

Простота методики определения уровня калпротектина в сравнении с мечеными индием лейкоцитами (требуется один образец кала, экстракция и ELISA) открывает перспективы для использования данного маркера в качестве диагностического теста для дифференциальной диагностики воспалительных заболеваний и синдрома раздраженного кишечника. В одном из исследований, в котором принимало участие более 250 человек, было продемонстрировано, что, используя установленное значение нормального уровня калпротектина, можно с чувствительностью 100% и специфичностью 94% выявлять воспалительные заболевания кишечника. В другом исследовании, которое включало 600 пациентов, доказано, что нормальный уровень калпротектина исключает воспалительные процессы в кишечнике у больных, имеющих положительные Римские критерии [28]. Авторами данной статьи обследовано 18 больных язвенным колитом (9 мужчин, 9 женщин) в возрасте от 17 до 72 лет ($45 \pm 17,98$ года) и 45 пациентов с синдромом раздраженного кишечника (17 мужчин, 28 женщин) в возрасте от 20 до 75 лет ($48 \pm 13,87$ года). Чувствительность фекального калпротектина по отношению к язвенному колиту составила 94,12%, специфичность — 80%, эффективность — 87,06%, положительная прогностическая ценность — 60%, отрицательная прогностическая ценность — 97,3%.

Таким образом, имея результаты этих исследований, специалисты должны применять их на практике, что поможет избежать инвазивных радиологических и колоноскопических исследований и удешевить диагностику заболеваний кишечника.

Исследования, посвященные определению содержания меченных индием лейкоцитов, диагностировали затухание воспалительного процесса в кишечнике в ответ на лечение 5-АСК и диету. J. A. Tibble и J. Vajrasson обнаружили, что фекальный калпротектин хорошо коррелирует с выделением меченных индием лейкоцитов в ответ на лечение диетой [2]. По нашим данным, уровень фекального калпротектина хорошо коррелирует с активностью язвенного колита ($r=0,80$, $P<0,0001$) и СОЭ ($r=0,64$, $P<0,01$) и не коррелирует с распространенностью воспалительного процесса в кишечнике ($r=0,329$, $P>0,05$). Аналогичные данные получены A. G. Roseth и соавт. при обследовании 62 больных язвенным колитом [29].

Высокие концентрации фекального калпротектина, сохраняющиеся у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника в стадии ремиссии, указывают на риск возникновения у них скорого рецидива [27]. С другой стороны, некоторые исследователи считают, что прогностическое значение остаточного воспаления для возникновения рецидивов после лекарственно-индуцированной клинической ремиссии может быть различным при язвенном колите и болезни Крона [27].

Фекальный калпротектин является гораздо более надежным и продуктивным маркером для оценки эффективности противовоспалительной терапии, чем изменения клинических индексов заболевания. Похоже,

определение уровня калпротектина станет неотъемлемой частью оценки эффективности лечения острых процессов у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника.

Как уже отмечалось, в отличие от меченных индием лейкоцитов фекальный калпротектин способен прогнозировать рецидив воспалительного заболевания кишечника. Было доказано, что у лиц с клинической ремиссией заболевания уровень калпротектина выше 50 мг/л может служить показателем рецидива в ближайшей несколько месяцев с чувствительностью более 80% [30].

Клинические симптомы воспалительных заболеваний кишечника являются, как правило, проявлением воспалительного процесса и определяются его локализацией. Клиническая ремиссия в большинстве случаев не совпадает с эндоскопической, то есть появление клинических симптомов заболевания наступает только тогда, когда воспалительный процесс достигает своей критической точки. Более того, так как воспаление представляет собой длительный процесс, степень его активности и количественную доклиническую оценку возможности рецидива можно определить с помощью уровня фекального калпротектина. Это позволит, с одной стороны, своевременно начать лечение и предупредить обострение, а с другой — оценить новый терапевтический подход к поддержанию клинической ремиссии с помощью сульфасалазина, 5-АСК и азатиоприна, каждый из которых имеет немало побочных эффектов [27]. Уровень фекального калпротектина позволяет определить, какие препараты и методы лечения применять на данной стадии заболевания. Можно предположить, что такое лечение должно привести не только к сокращению частоты клинических обострений, но и к улучшению качества жизни пациента [2].

Более того, распределение пациентов по группам риска развития рецидива заболевания на основании определения уровня калпротектина как индикатора активности улучшит качество клинических исследований, направленных на разработку эффективных терапевтических методов поддержания ремиссии.

Фекальные калпротектин и лактоферрин — это первый этап новых неинвазивных исследований в гастроэнтерологии, которые позволят, определяя отдельные клеточные компоненты, напрямую диагностировать не только присутствие самого воспаления в кишечнике, но и оценивать степень его активности. В настоящее время их можно использовать в целях, которые указаны выше, однако в будущем, вероятно, появится возможность изучить свойства других клеток воспалительного ряда, в большом количестве присутствующих в биоптатах пациентов с различными гастроэнтерологическими заболеваниями.

Предполагается, что основная роль в развитии аллергических процессов в кишечнике принадлежит эозинофилам и mast-клеткам [31]. Однако эти виды клеток активизируются и при других желудочно-кишечных заболеваниях, таких как воспалительные заболевания кишечника, целиакия, эозинофильный гастроэнтерит [31], коллагеновый колит [32]. Возможно, эти клетки каким-то образом вовлечены в патогенез хронического кишечного воспаления. Значит, как и в случае с ней-

трофилами и калпротектином, идентификация в образцах кала, например триптазы и химазы, входящих в состав mast-клеток, позволит использовать и их в качестве маркеров кишечного воспаления [2].

Наиболее перспективным представляется метод многосторонней оценки образца кала, что обеспечит получение необходимой информации об активности острого воспаления (нейтрофилы), хроническом воспалении (Т-клетки) и аллергии (mast-клетки).

ЛИТЕРАТУРА

1. Краткое руководство по гастроэнтерологии / Под ред. В. Т. Ивашкина, С. И. Рапопорта, Ф. И. Комарова.— М., 2001.
2. Tibble J. A., Bjarnason J. // *World J. Gastroenterol.*— 2001.— Vol. 7, № 4.— P. 460—465.
3. Harvey R. F., Bradshaw J. M. // *Lancet.*— 1980.— № 1.— P. 514.
4. Schreiber S. et al. // *Lancet.*— 1999.— Vol. 353.— P. 459—461.
5. Hodgson H. J. F. // *Inflammatory Bowel Disease* / Ed. R. N. Allan, J. M. Rhodes, S. B. Haunauer.— New York, 1997.— P. 329—334.
6. Bhatti, M. A., Chapman P. T., Peters A. M // *Gastroenterology.*— 1996.— Vol. 110.— P. 864.
7. Jeejeebhoy R. W., Coghill N. F. // *Gut.*— 1981.— № 2.— P. 123—130.
8. Bernier J. J. et al. // *Lancet.*— 1978.— № 2.— P. 763—764.
9. Grill B. B., Hillemeier A. C., Gryboski J. D. // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*— 1984.— № 3.— P. 56—61.
10. Florent C. et al. // *Gastroenterol. Clin. Biol.*— 1981.— № 5.— P. 193—197.
11. Meyers S. et al. // *Gastroenterology.*— 1985.— Vol. 89.— P. 13—18.
12. Choudary C. P. et al. // *Gastroenterology.*— 1993.— Vol. 104.— P. 1064—1071.
13. Sharpstone D. R. et al. // *AIDS.*— 1996.— № 10.— P. 989—994.
14. Schmidt P. N., Wandall J. H., Nielsen S. L. *Lactoferrin: A New Marker of Disease in Inflammatory Bowel Disease: Proc. World Congr.*, 1994.
15. Sunanda V. et al. // *Am. J. Gastroenterol.*— 2003.— Vol. 98.— P. 1309.
16. Buderus S. et al. // *Dig. Dis. Sci.*— 2004.— Vol. 49, № 6.— P. 1036—1039.
17. Fagerhol M. K. et al. // *Scan. J. Haematol.*— 1980.— Vol. 24.— P. 393—398.
18. Steinbakk M. et al. // *Lancet.*— 1990.— Vol. 336.— P. 763—765.
19. Fagerhol M. K. et al. // *Calprotectin (the L1 Leukocyte Protein)* / Ed. V. L. Smith, J. R. Dedman.— Houston, 1990.— P. 187—210.
20. Neess-Andressen C. F., Egelanddal D., Fagerhol M. K. // *J. Clin. Pathol. Mol. Pathol.*— 1995.— Vol. 316.— P. 278—284.
21. Brun J. C. et al. // *Scand. J. Immunol.*— 1994.— Vol. 40.— P. 675—680.
22. Yui S. et al. // *J. Leukoc. Biol.*— 1997.— Vol. 61.— P. 50—57.
23. Freemont P., Hogg N., Edgeworth J. // *Nature.*— 1989.— Vol. 339.— P. 516.
24. Edgeworth J., Freemont P., Hogg N. // *Nature.*— 1989.— Vol. 342.— P. 189—192.
25. Sohnle P. G., Hahn B. L., Santhanagopalan V. // *J. Infect. Dis.*— 1996.— Vol. 174.— P. 1369—1372.
26. Segal A. W. et al. // *Lancet.*— 1981.— Vol. 2.— P. 230—232.
27. Costa F. et al. // *Gut.*— 2005.— Vol. 54.— P. 364—368.
28. Tibble J. A. et al. // *Gut.*— 2000.— Vol. 46.— P. 32.
29. Roseth A. G. et al. // *Digestion.*— 1997.— Vol. 58.— P. 176—180.
30. Tibble J. A. et al. // *Gastroenterol.*— 2000.— Vol. 119.— P. 15—22.
31. Bischoff S. C. // *Baillieres Clin. Gastroenterol.*— 1996.— № 10.— P. 443—459.
32. Schwab D., Raithe M., Hahn E. G. // *Inflamm. Res.*— 1998.— Vol. 47.— P. 64—65.

Посылана 27.11.06.