

УДК 616-056.25/.43-053.3-074

## СОВРЕМЕННЫЕ МАРКЕРЫ В ДИАГНОСТИКЕ ПИЩЕВОЙ НЕПЕРЕНОСИМОСТИ У ДЕТЕЙ ГРУДНОГО ВОЗРАСТА

*Т.А. Шуматова, С.Н. Шишацкая, Е.С. Зернова, Э.Ю. Катенкова, Л.А. Оденбах, Н.Г. Приходченко*

Тихоокеанский государственный медицинский университет (690950, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2)

**Ключевые слова:** аллергия к белкам коровьего молока, лактозная недостаточность, эндогенные белки и пептиды.

### MODERN MARKERS IN DIAGNOSTICS OF FOOD INTOLERANCE IN INFANT

T.A. Shumatova, S.N. Shishatskaya, E.S. Zernova, E.Y. Katenkova, L.A. Odenbakh, N.G. Prihodchenko  
*Pacific State Medical University (2 Ostryakova Ave. Vladivostok 690950 Russian Federation)***Background.** Despite new treatment methods and diagnostics of food intolerance in infants, it is still difficult to make a diagnosis. The research objective is to identify a diagnostics value of endogenic peptide and protein determination in blood serum and coprofiltrates in infants suffering from food intolerance (FI).**Methods.** There were examined 30 infants with allergic enteropathy (cow's milk protein intolerance) and 30 infants with secondary lactase deficiency at age 6–12 months (control group – 20 healthy infants). Zonulin, eosinophilic cationic protein,  $\beta$ -defensin 2, and transthyretin content were determined in coprofiltrates; fatty acid-binding proteins, and membrane permeability-increasing protein.**Results.** Twofold increase in coprofiltrates content of  $\beta$ -defensin 2, and zonulin says for cow's milk protein intolerance. Intestinal absorption abnormality were attended by intestinal and liver fatty acid-binding proteins increase (max level was registered at allergic enteropathy) in blood serum. Membrane permeability-increasing protein level occurred to be an informative measure of cow's milk protein intolerance.**Conclusions.** Achieved results broaden the vision about the pathogenesis of food intolerance. The use of these markers will improve the diagnostics, and avoid aggressive approach in the range of cases. Implementation of these methods will improve the diagnostics, disease prognosis and possibility of adequate therapy of food intolerance in infants.**Keywords:** cow's milk protein allergy, lactase deficiency, endogenic proteins and peptides.

Pacific Medical Journal, 2015, No. 3, p. 55–58.

Пищевая аллергия (ПА) является одним из видов пищевой непереносимости – интолерантности к пище. В ее основе лежат иммунологические механизмы, остающиеся в настоящее время до конца не расшифрованными. Установлено, что ПА может оказывать огромное влияние на формирование и последующее развитие всех аллергических заболеваний, а также поддерживать хроническое воспаление в желудочно-кишечном и респираторном трактах [2, 3]. Несмотря на развитие и внедрение в клиническую практику новых методов лечения и диагностики во многих случаях, особенно у детей грудного возраста, постановка диагноза ПА вызывает определенные трудности. Непереносимость пищевых продуктов у представителей данной возрастной группы проявляется не только кожным синдромом, но и симптомами поражения желудочно-кишечного тракта, главным образом – гастроинтестинальной зоны. Исследования последних лет показали, что кишечник является и важным иммунным органом, его клетки

принимают участие в формировании пищевой толерантности, предотвращают развитие патологических иммунных реакций к белкам пищи [1, 8, 10, 15]. Известно, что развитие длительного воспалительного процесса в кишечнике, как инфекционной, так и аллергической природы, сопровождается нарушением пристеночного и полостного пищеварения, дестабилизирует метаболические реакции, что приводит в конечном итоге к формированию белково-энергетической недостаточности, полидефицитным состояниям, нарушает физиологическое развитие ребенка [2, 7, 9].

Самыми распространенными заболеваниями, в основе которых лежат механизмы интолерантности к пище у детей грудного возраста, считаются аллергия к белкам коровьего молока (АБКМ) и непереносимость лактозы [2, 4, 7]. Наибольшие сложности в клинике возникают при верификации диагноза АБКМ. Грудной возраст, тяжесть клинических проявлений ограничивают в данной ситуации 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 диагноза, увеличивают длительность заболевания, способствуют формированию внекишечной патологии и появлению нутритивной недостаточности [8, 10]. Все эти факторы делают актуальной разработку системы раннего неинвазивного мониторинга ПА.

Цель исследования: установить диагностическую значимость содержания эндогенных пептидов и белков в сыворотке крови и копрофильтратах у детей грудного возраста с пищевой непереносимостью.

**Материал и методы.** Наблюдали 60 младенцев в возрасте от 6 до 12 месяцев с явлениями нарушенного кишечного всасывания, проявляющимися персистирующей диареей продолжительностью более 3 недель. Пациенты условно были разделены на две группы. В первую вошли 30 детей, которым после комплексного обследования в соответствии со стандартами была диагностирована аллергическая энтеропатия, вызванная непереносимостью белка коровьего молока. Представители этой группы имели отягощенный аллергоанамнез, у них определяли рецидивирующие высыпания на коже, жидкий стул, вздутие живота, кишечные колики, срыгивание, беспокойство после кормления. На фоне перечисленных клинических проявлений регистрировались недостаточные прибавки в массе тела. Вторую группу сформировали 30 детей аналогичного возраста

с клиникой персистирующей кислой диареей, появившейся после перенесенной кишечной инфекции, антибактериальной терапии или перехода на искусственное вскармливание. В соответствии со стандартами у этих детей была диагностирована вторичная лактазная недостаточность. Группу контроля составили 20 здоровых детей соответствующего возраста.

В копрофильтратах определяли содержание эндогенных белков и пептидов – зонулина, эозинофильного катионного протеина, транстиретина,  $\beta$ -дефензина 2 – 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 определяли белки, переносящие жирные кислоты – кишечную и печеночную фракции, – а также бактерицидный белок, повышающий проницаемость мембраны клеток. Данные маркеры изучали методом энзим-связанного иммуносорбентного анализа с использованием реактивов фирмы Nuscult Biotech (США). Расчеты осуществляли путем построения калибровочной кривой с помощью компьютерной программы. Данные выражали в виде средней арифметической и ее средней ошибки. Оценку полученных результатов и комплексный системный анализ данных проводили методом вариационной статистики.

**Результаты исследования.** У детей обеих групп поражение желудочно-кишечного тракта сопровождалось нарушением кишечного всасывания и характеризовалось персистирующей диареей продолжительностью более 3 недель с частотой стула от 4 до 8 раз в сутки. Пациенты 1-й группы в 87 % случаях (26 детей) имели срыгивания, в 92 % случаях (27 детей) – кишечные колики, в 97 % случаев (29 детей) – вздутие живота. У 87 % пациентов (26 детей) регистрировали низкие прибавки в массе тела. Во всех случаях регистрировался кожный синдром с наличием полиморфных высыпаний, явлениями гиперемии и инфильтрации кожи. в клиническом анализе крови у пациентов этой группы в 53 % случаев (16 человек) определялась анемия легкой и средней степени тяжести. По данным ультразвукового исследования органов брюшной полости у 19 детей (40 %) 1-й группы выявлены признаки реактивного поражения поджелудочной железы в виде пониженной эхогенности паренхимы головки и хвоста. Пациенты 2-й группы также в 86 % случаях (26 человек) имели срыгивания. 97 % младенцев (29 детей) беспокоили кишечные колики и вздутие живота. Низкие прибавки в массе тела выявлены у 26 % пациентов (8 детей). Анемия легкой степени тяжести зафиксирована у 23 % больных (7 детей). При ультразвуковом исследовании органов желудочно-кишечного тракта у пациентов данной группы отклонений от нормы не обнаружено.

Содержание зонулина в копрофильтратах у представителей обеих групп определялось на достоверно более высоком уровне, по сравнению с группой контроля, и было выше в 2,3 и 1,5 раза. У детей 1-й группы концентрация данного пептида в копрофильтратах в 1,5

раза превышала показатели детей 2-й группы (вторичная гиполактазия). Только у детей 1-й группы уровень эозинофильного катионного протеина в копрофильтратах оказался в 2,7 раза выше, чем содержание данного пептида у здоровых детей. При определении содержания  $\beta$ -дефензина 2, транстиретина выявлены определенные закономерности. Так, только у детей с аллергической энтеропатией концентрация  $\beta$ -дефензина 2 в копрофильтратах в 1,8 раза превышала показатели контрольной группы. Содержание транстиретина в копрофильтратах также было достоверно (в 2,2 раза) выше в 1-й группе по сравнению с контрольной (табл. 1).

Содержание в крови белков, связывающих жирные кислоты, у пациентов 1-й и 2-й групп было достоверно выше, чем в контроле. При этом концентрация их интестинальной фракции у детей 1-й группы в 6,5 раза превышала уровень этого показателя, зарегистрированный в группе здоровых детей. У детей с вторичной лактазной недостаточностью содержание интестинальной фракции превышало показатели контрольной группы в 3,2 раза. Уровень печеночной формы этих протеинов в крови у детей с АБКМ – в 3,4 раза, а у детей с интолерантностью к лактозе – в 1,9 раза превышал показатели контроля. Содержание в крови бактерицидного белка, повышающего проницаемость мембраны клеток, было увеличено только у детей с аллергией, индуцированной белком коровьего молока – в 2,9 раза выше показателей нормы (табл. 2).

**Обсуждение полученных данных.** При поражении желудочно-кишечного тракта особое место занимают лабораторные тесты, оценивающие наличие повреждения слизистой оболочки кишечника путем оценки кишечной проницаемости. Наше исследование показало активное участие эндогенных протеинов

**Таблица 1**  
Эндогенные белки и пептиды в копрофильтратах у детей  
( $M \pm m$ ), нг/мл

Протеин <sup>1</sup>	1-я группа	2-я группа	Контроль
Зонулин	1,75 $\pm$ 0,16 <sup>2,3</sup>	1,16 $\pm$ 0,15 <sup>2</sup>	0,75 $\pm$ 0,01
ЭКП	518,74 $\pm$ 63,17 <sup>2,3</sup>	176,93 $\pm$ 22,59	192,50 $\pm$ 21,15
$\beta$ -дефензин 2	39,12 $\pm$ 4,32 <sup>2</sup>	28,01 $\pm$ 3,74	21,96 $\pm$ 3,06
Транстиретин	3,04 $\pm$ 0,39 <sup>2</sup>	2,07 $\pm$ 0,48	1,41 $\pm$ 0,25

<sup>1</sup> ЭКП – эозинофильный катионный протеин.

<sup>2</sup> Разница с контролем статистически значима.

<sup>3</sup> Разница со 2-й группой статистически значима.

**Таблица 2**  
Эндогенные белки в сыворотке крови у детей ( $M \pm m$ ), нг/мл

Протеин <sup>1</sup>	1-я группа	2-я группа	Контроль
I-FABP	125,20 $\pm$ 23,79 <sup>2,3</sup>	61,03 $\pm$ 8,41 <sup>2</sup>	19,21 $\pm$ 4,94
L-FABP	595,42 $\pm$ 74,15 <sup>2,3</sup>	314,93 $\pm$ 47,56 <sup>2</sup>	175,86 $\pm$ 23,78
BPI	101,67 $\pm$ 19,13 <sup>2,3</sup>	51,68 $\pm$ 10,24	35,18 $\pm$ 3,49

<sup>1</sup> I-FABP и L-FABP – белки, связывающие жирные кислоты (fatty acid binding proteins), кишечная (I) и печеночная (L) фракции; BPI – бактерицидный белок, повышающий проницаемость мембраны клеток (bactericidal permeability-increasing).

<sup>2</sup> Разница с контролем статистически значима.

<sup>3</sup> Разница со 2-й группой статистически значима.

в патогенезе пищевой непереносимости, индуцированной как белком коровьего молока, так и лактозой. Установлено также дифференцированное вовлечение в патологический процесс отдельных фракций протеинов. Проведенный анализ позволил установить некоторые закономерности.

Содержание зонулина в копрофильтратах у пациентов обеих групп определялось на более высоком уровне, по сравнению с группой здоровых. Считается, что молекулы зонулина участвуют в обеспечении плотности контактов между клетками эпителия слизистой оболочки кишечника [12]. Следовательно, гиперпродукция этого пептида может способствовать усилению каскада реакций, вызывающих расширение межклеточных контактов в слизистой оболочке кишечника, то есть повышать ее проницаемость. Получены данные, что у пациентов с АБКМ содержание зонулина в копрофильтратах в 1,5 раза выше, чем у больных с непереносимостью лактозы. Эта закономерность свидетельствует о более глубоких, чем при вторичной гиполактазии, морфофункциональных изменениях в слизистой оболочке тонкой кишки.

Эозинофильный катионный протеин является диагностическим маркером аллергического воспаления, отражающим уровень тканевой эозинофилии [10]. В нашем исследовании содержание этого белка определялось на достоверно более высоком уровне по сравнению с контролем только у детей с АБКМ, что может быть использовано в сложных случаях для неинвазивной диагностики аллергического воспаления слизистой оболочки кишечника.

При определении содержания  $\beta$ -дефензина 2 в копрофильтратах получены результаты, свидетельствующие о том, что у детей с лактазной недостаточностью содержание  $\beta$ -дефензинов не отличалось от его уровня в копрофильтратах здоровых. 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 у детей с АБКМ отмечено повышение  $\beta$ -дефензина 2 по сравнению с контролем. В настоящее время установлено, что основными продуцентами  $\beta$ -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 [5]. При аллергической энтеропатии происходят более глубокие и длительные изменения, захватывающие не только 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 в 1-й группе.

В клинической практике определение транстиретина используется для оценки нутритивного статуса [11]. Однако при сопутствующем воспалительном процессе такая оценка вызывает сложности. Это связано с тем, что транстиретин является чувствительным белком острой фазы воспаления. На наш взгляд, повышение концентрации данного белка в кале свидетельствует о воспалительных изменениях в кишечнике, а потери транстиретина создают условия для развития белковой недостаточности.

Таким образом, определение содержания в копрофильтратах эозинофильного катионного протеина,  $\beta$ -дефензина 2, транстиретина можно использовать для неинвазивного мониторинга аллергического воспаления в кишечнике.

Нами установлено, что процесс развития интолерантности к пище у детей сопровождается повышением уровня в крови кишечной и печеночной форм белков, связывающих жирные кислоты, максимальное содержание которых регистрировалось у детей, страдавших АБКМ. В литературе содержатся сведения, что экспрессия в большом количестве интестинальной фракции этих белков может указывать на повреждение слизистой оболочки тонкого кишечника [13]. Печеночная форма белка экспрессируется большей частью в печени, и из-за малых размеров молекулы способна быстро выходить из поврежденных гепатоцитов, приводя к повышению уровня пептида в крови [14]. Полученные результаты указывают на вовлечение гепатобилиарной системы в патологический процесс при развитии интолерантности к белку коровьего молока у детей.

Наша работа показала достоверное повышение в сыворотке крови концентрации бактерицидного белка, увеличивающего проницаемость мембраны клеток, только у пациентов с аллергической природой энтеропатии. Мы считаем данную закономерность патогенетически значимой, подтверждающей факт участия этого антимикробного пептида в развитии аллергического воспаления в слизистой оболочке тонкой кишки. В ранее проведенном исследовании была показана возможность использования данного маркера при мониторинге язвенного колита у новорожденных [6]. Определение в сыворотке крови бактерицидного белка, повышающего проницаемость, является информативным критерием АБКМ.

Таким образом, полученные результаты расширяют представления о патогенезе пищевой интолерантности. Использование в клинической практике биомаркеров, определяемых в копрофильтратах, позволяет улучшить выявление аллергической энтеропатии, в том числе у младенцев, избегая инвазивных методов исследования и провокационной диеты. Внедрение в практику определения уровня эндогенных пептидов в копрофильтратах способствует улучшению диагностики, улучшает прогноз заболевания, обеспечивает возможность проведения ранней адекватной патогенетической терапии.

## References

1. Akberova D.R. The role of intestinal permeability in chronic parenchymal hepatic diseases // *Practical Medicine*. 2015. Vol. 2, No. 4. P. 10–12.
2. Kazyukova T.V. Allergy to cow's milk protein: clinical nutrition strategy of choice (literature review) // *Effective Pharmacotherapy. Pediatrics*. 2013. No. 3. P. 31–34.
3. Kozulina I.E., Kurbacheva O.M., Ilina N.I. Allergy today. Analysis of new epidemiological data // *Russian Allergological Journal*. 2014. No. 3. P. 3–4.
4. Makarova S.G., Namazova-Baranova L.S., Borovik T.E. [et al.]. Gastrointestinal manifestations of allergy to cow's milk protein in children // *Medical Board*. 2014. No. 1. P. 28–34.
5. Mamchur M.I., Levykh A.E. Defensins are endogenous peptides with anti-infective and anti-tumor properties // *Taurian Medical and Biological Bulletin*. 2012. Vol. 15, No. 2. P. 315–321.
6. Minaev S.V., Isaeva A.V., Tovkan E.A. [et al.]. Prognostic significance of bactericidal protein that increases the permeability of cells in newborns with congenital pathology of the gastrointestinal tract // *Medical Bulletin of North Caucasus*. 2014. Vol. 9, No. 2. P. 116–119.
7. Pampura A.N. The principles of diet therapy of young children suffering from food allergies // *Russian Allergological Journal*. 2010. No. 1. P. 57–65.
8. Shumatova T.A., Prihodchenko N.G., Grigoryan L.A. Morphofunctional evaluation of gastric mucosa condition in children with food intolerances // *Pacific Medical Journal*. 2014. No. 1. P. 28–30.
9. Shumatova T.A., Prihodchenko N.G., Efremova I.V. [et al.]. Clinical and laboratory analysis of enteral nutritional support of children with severe disorders of intestinal absorption // *Pacific Medical Journal*. 2013. No. 1. P. 38–41.
10. Shumilov P.V., Dubrovskaya M.I., Yudina O.V. [et al.]. Eosinophilic inflammatory gastrointestinal disease and food allergies in children // *Practical Medicine*. 2010. No. 3. P. 16–25.
11. Ando Y. Transthyretin: its miracle function and pathogenesis // *Japan. J. Clin. Pathol.* 2009. Vol. 57, No. 3. P. 228–235.
12. Fasano A. Zonulin and its regulation of intestinal barrier function: the biological door to inflammation, autoimmunity, and cancer // *Physiol. Rev.* 2011. Vol. 91. P. 151–175.
13. Funaoka H., Kanda T., Fujii H. [et al.]. Intestinal fatty acid-binding

protein (I-FABP) as a new biomarker for intestinal diseases // *The Japanese Journal Of Clinical Pathology*. 2010. Vol. 58, No. 2. P. 162–168.

14. Gajda A.M., Storch J. Enterocyte fatty acid-binding proteins (FABPs): different functions of liver and intestinal FABPs in the intestine // *PLEFA*. 2015. Vol. 93. P. 9–16.

15. Ozdemir O., Mete E., Catal F. [et al.] Food intolerances and eosinophilic esophagitis in childhood // *Dig. Dis. Sci.* 2009. Vol. 54, No. 1. P. 8–14.

Поступила в редакцию 14.07.2015.

#### Современные маркеры в диагностике пищевой непереносимости у детей грудного возраста

Т.А. Шуматова, С.Н. Шишацкая, Е.С. Зернова, Э.Ю. Катенкова, Л.А. Оденбах, Н.Г. Приходченко  
Тихоокеанский государственный медицинский университет (690950, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2)

**Резюме.** Обследовано 30 детей с аллергической энтеропатией и 30 детей с вторичной лактазной недостаточностью в возрасте 6–12 месяцев (контроль – 20 здоровых младенцев). В копрофильтатах определяли содержание зонулина, эозинофильного катионного протеина, β-дефензина 2 и транстиретина; в сыворотке крови – белков, связывающих жирные кислоты, и белка, повышающий проницаемость мембраны клеток. Полученные данные свидетельствуют, что анализ уровней эозинофильного катионного протеина, β-дефензина 2 и транстиретина в копрофильтатах можно использовать для неинвазивного мониторинга аллергического воспаления в кишечнике. Установлено, что развитие интолерантности к белку коровьего молока и лактозе, сопровождается повышением в крови концентрации белков, связывающих жирные кислоты, с максимальной выраженностью при аллергической энтеропатии. Уровень белка, повышающего проницаемость мембраны клеток, в крови был повышен только у пациентов с аллергической энтеропатией. Полученные результаты расширяют представление о патогенезе пищевой интолерантности у детей, способствуют улучшению диагностики, в том числе неинвазивной, данной группы заболеваний.

**Ключевые слова:** аллергия к белкам коровьего молока, лактозная недостаточность, эндогенные белки и пептиды.

УДК: 616–002.957–036.22:595.421(571.63)

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЧИСЛЕННОСТИ И ЧАСТОТЫ КОНТАКТОВ С ЧЕЛОВЕКОМ ИКСОДОВЫХ КЛЕЩЕЙ ЮГА ПРИМОРСКОГО КРАЯ

А.В. Алленов<sup>1</sup>, Т.В. Зверева<sup>1</sup>, А.Я. Никитин<sup>2</sup>, Е.В. Тatroва<sup>1</sup>, И.В. Мамедалиева<sup>1</sup>, Н.С. Солодка<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Приморская противочумная станция (695512, г. Уссурийск, ул. Дзержинского, 46), <sup>2</sup>Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока (664047, г. Иркутск, ул. Трилиссера, 78)

**Ключевые слова:** иксодиды, эпидемиологическое значение, Партизанский район.

### COMPARATIVE ANALYSIS OF QUANTITY AND FREQUENCY OF INTERCOMMUNICATION BETWEEN IXODIC TICKS AND HUMANS IN SOUTHERN PRIMORSKY TERRITORY

A.V. Allenov<sup>1</sup>, T.V. Zvereva<sup>1</sup>, A.Ya. Nikitin<sup>2</sup>, E.V. Tatrova<sup>1</sup>, I.V. Mamedalieva<sup>1</sup>, N.S. Solodkaya<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Primorsky Plague Control Station (46 Dzerzhinskogo St. Ussuriisk 695512 Russian Federation), <sup>2</sup>Irkutsk Scientific and Research Plague Control Institution of Siberia and Far East (78 Trilissera St. Irkutsk 664047 Russian Federation)

Зверева Татьяна Викторовна – зоолог Находкинского отделения Приморской противочумной станции; e-mail: pcho.nakhodka@yandex.ru

**Background.** High level of public morbidity caused by ixodic ticks is registered in Primorsky territory. Study objective is to assess the ticks' aggression towards humans.

**Methods.** The ticks' aggression towards humans was measured by comparison of species community structure when gathering imagoes from plants to the banner, and from humans. During 2012 it was identified 2331 species gathered from plants, and 215 ticks gathered from humans.

**Results.** In natural biotopes of the southern Primorsky territory *Ixodes persulcatus* dominated, then there were following species in descending order were: *Haemaphysalis concinna*, *Dermacentor silvarum*, *H. japonica douglasi*, *I. pavlovskiyi*, *I. nipponensis*. When