

О.В. Солдатова, к. мед. н., доцент кафедри дитячих і підліткових захворювань Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика; М.В. Аврамчук, Медична лабораторія «ДІЛА», м. Київ

Неінвазивні біомаркери у діагностиці запальних захворювань кишечника у дітей

Запальні захворювання кишечника (ЗЗК) – група хронічних рецидивуючих захворювань, які виникають унаслідок невідповідності імунної відповіді на кишкові коменсальні мікроорганізми у генетично схильних осіб, що призводить до запальної реакції з формуванням виразок у шлунково-кишковому тракті (ШКТ). В останні роки як патогенетичні механізми розглядають роль мікробіому, підвищеної проникності слизової оболонки кишечника, оксидативного стресу й епігенетики [1]. До ЗЗК належать такі захворювання, як виразковий коліт (ВК) та хвороба Крона (ХК). При ВК запальний процес характеризується безперервним запаленням у слизовому та підслизовому шарі товстої кишки, при ХК трансмуральне сегментарне запалення може уражати весь ШКТ (від ротової порожнини до ануса).

ЗЗК можуть мати загрозливі ускладнення, у тому числі такі, що потребують оперативного втручання, при цих захворюваннях наявний ризик розвитку колоректального раку. Захворюваність на ВК становить 10-20 на 100 000 осіб на рік (у дітей 2,0-6,8 на 100 000 на рік), а на ХК – 5-10 на 100 000 осіб на рік (у дітей 1-8 на 100 000 на рік). При ВК гендерне співвідношення серед дітей становить 1:1, хоча у ранньому віці частіше хворіють хлопчики, а у підлітковому – дівчатка. ВК може дебютувати у будь-якому віці, однак пік захворюваності припадає на підлітковий вік. ХК у дітей діагностують у різному віці, проте переважно в 12-14 років, частіше хворіють хлопчики [1-3].

Клінічні прояви ЗЗК залежать від ділянки ураження ШКТ і дуже часто мають неспецифічний характер, що затримує діагностику цих захворювань. Симптоматика може нагадувати синдром подразненого кишечника (СПК), целиацію, харчову непереносимість або гастроінтестинальні форми харчової алергії, лактазну недостатність, інфекційну діарею, антибіотикасоційовану діарею (зумовлену *Clostridium difficile*), паразитози (лямбліоз), мікроскопічний коліт, ВІЛ-ентеропатію, колоректальний рак. Відсутність специфічних клінічних проявів також утруднює диференційну діагностику ХК та ВК, особливо при ураженні товстої кишки. Скарги у пацієнтів із ЗЗК дуже різноманітні і, зокрема, включають [3, 4]:

- абдомінальний біль (при ВК частіше навколо пупка та у лівому нижньому квадранті живота, при ХК – частіше у правому нижньому квадранті живота);
- діарею (без слизу, крові та гною);
- нудоту та блювання (частіше при ХК);
- втрату маси тіла (частіше при ХК з ураженням тонкої кишки внаслідок мальабсорбції та зниження апетиту);
- лихоманку;
- підвищену пітливість;
- втомлюваність (внаслідок запалення, болю та анемії);
- артралгії;
- затримку росту та статевого дозрівання у дітей;

- позакишкові прояви (артрит, увеїт, гепатит);
- діарею криваву, з тенезмами (частіше при ВК);
- ураження періанальної ділянки (нориці, абсцеси) – майже у 50% осіб із ХК;
- запор (при ВК з ураженням прямої кишки).

Основні диференційно-діагностичні ознаки ВК і ХК у дітей представлені у таблиці 1.

Незважаючи на те що ендоскопія з біопсією залишається золотим стандартом діагностики ЗЗК, важливим є використання клініцистами біомаркерів запалення у крові, калі, сечі та тканинах кишечника. Це можуть бути білки, які синтезуються у гострій фазі запалення і пов'язані зі згортанням крові та фібринолізом (протромбін, фібриноген, плазміноген, фактор згортання VIII, компоненти системи комплементу), транспортні білки (гаптоглобін і церулоплазмін), інгібітори протеїназ ($\alpha 1$ -антитрипсин та $\alpha 1$ -антихімотрипсин), а також цитокіни (фактор некрозу пухлини, інтерлейкіни-1 β , -6, -8, -12, -17 і -23). Крім того, запалення у кишечнику супроводжується посиленням синтезу С-реактивного протеїну, феритину, фібронектину. Реагують і компоненти крові, що призводить до збільшення кількості лейкоцитів, тромбоцитів і ШОЕ, це також є ознакою запалення [5, 6].

Серологічні маркери діагностики ЗЗК включають перинуклеарні антинейтрофільні цитоплазматичні антитіла (pANCA), антитіла проти *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA), антипорин (анти-OmpC), білок зовнішньої мембрани *Escherichia coli*, флагелін (анти-Cbir1) та анти-*Pseudomonas fluorescens* (анти-I2). Отримано докази, що наявність pANCA дозволяє диференціювати ВК від ХК, а наявність ASCA має високу специфічність для ідентифікації ХК. Не було виявлено зв'язку позитивного тесту на pANCA з активністю ВК або з ризиком рецидиву. Однак серологічні маркери мають невисоку чутливість, тому лише їх спільне використання може підвищити діагностичний потенціал [7-12].

Таблиця. Диференційно-діагностичні ознаки ВК і ХК у дітей		
Показник	ВК	ХК
Вік початку хвороби	Будь-який	До 7-10 років дуже рідко
Характер початку хвороби	Гострий у 5-7% хворих, у інших – поступовий (3-6 міс)	Гострий – рідко, частіше поступовий, протягом декількох років
Кровотеча	У період загострення постійна	Рідко, частіше при залученні дистальних відділів товстої кишки
Діарея	Дефекація часта, нерідко в нічний час, кал рідкий	Рідко, частіше 4-6 разів, переважно у денний час, калові маси кашкоподібні
Запор	Рідко	Більш типовий
Абдомінальний біль	Тільки в період загострення, інтенсивний перед дефекацією, після випорожнення вщухає	Типовий, частіше переймистий, у правій здухвинній ділянці, може бути інтенсивним
Пальпація ділянки живота	Болючість, спазмована товста кишка	Інфільтрати та конгломерати кишкових петель, частіше у правій здухвинній ділянці
Перфорації	При токсичній дилатації у вільну черевну порожнину, перебіг малосимптомний	Більш типові прикриті
Нориці	Не зустрічаються	При тривалому перебігу
Ремісія	Характерна, можлива тривала відсутність загострень зі зворотним розвитком структурних змін у кишечнику	Відзначаються поліпшення; абсолютної ремісії немає; структура кишечника не відновлюється
Малігінізація	При тривалості хвороби більше 10 років і тотальному коліті	Рідко
Загострення	Симптоми захворювання виражені, але піддаються лікуванню гірше	Симптоми захворювання розвиваються поступово, без особливих відмінностей від періоду ремісії
Ураження періанальної ділянки	У 20% хворих мацерация, тріщини	У 75% хворих періанальні нориці, абсцеси, виразки, що іноді є єдиним проявом хвороби
Поширеність процесу	Тільки товста кишка (починаючи з прямої): дистальне, лівобічне, тотальне запалення; безперервне ураження	Будь-який відділ ШКТ; пряма кишка може бути не уражена; ділянки запалення сегментарні, чергуються з нормальними ділянками слизової оболонки
Стриктри	Не характерні	Зустрічаються часто
Гаустрація	Низька, згладжена чи відсутня	Потовщені чи нормальні складки
Поверхня слизової оболонки	Зерниста	Гладка
Мікроабсцеси	Характерні	Не характерні
Виразкові дефекти	Неправильної форми без чітких меж	Афтоподібні виразки з віночком гіперемії або тріщиноподібні поздовжні дефекти
Контактна кровотеча	Характерна	Не характерна
Евакуація барію	Нормальна чи прискорена	Сповільнена
Скорочення товстої кишки	Часті, просвіт трубкаподібний	Не характерне
Ураження тонкої кишки	Найчастіше відсутнє, при ретроградному ілеїті – рівномірне, як продовження коліту	Переривчасте, нерівномірне, з ригідністю стінки, часто – на значній ділянці



О.В. Солдатова



М.В. Аврамчук

Як неінвазивний біомаркер ЗЗК широко використовується фекальний кальпротектин (ФК). Кальпротектин – білок активної фази, який є основним білком цитозолу з молекулярною масою 36 кДа, що зв'язує кальцій і цинк та продукується поліморфно-ядерними нейтрофілами, моноцитами і плоским епітелієм (крім епітелію шкіри). Після зв'язування з кальцієм він стає стійким до розщеплення під дією лейкоцитарних і мікробних ферментів. Кальпротектин проявляє протимікробну активність завдяки здатності пригнічувати цинкзалежні ферментні системи та залишається стабільним при кімнатній температурі протягом 4-7 днів, що є його важливою перевагою як лабораторного маркера [13, 14].

Виявлення ФК є надійним, але неспецифічним маркером запалення у ШКТ. Підвищений вміст ФК може бути визначений при харчовій алергії на білок коров'ячого молока, муковісцидозі, дивертикуліті, аденовірусній, ротавірусній, норовірусній діарей, а також сальмонельозі, кампілобактерній інфекції, целиації, неоплазіях, у пацієнтів з ожирінням, при прийомі протизапальних лікарських засобів та інгібіторів протонної помпи [15-17]. Клінічне значення визначення ФК полягає насамперед у скринінгу ЗЗК у пацієнтів із симптомами ураження ШКТ, а також у контролі активності запального процесу у пацієнтів із ЗЗК [18-23].

Рівень ФК від 30 до 50 мкг/г свідчить про незапальний стан (наприклад СПК), а референтне значення ФК >50 мкг/г найчастіше використовується у літературі та у комерційних тестових наборах ELISA для дорослих та дітей старших 4 років для диференціювання ЗЗК від функціональних захворювань кишечника [17, 20, 22].

Питання референтного значення ФК у дітей залишається дискусійним, хоча доказово визнано, що рівень ФК у дітей перших років життя значно перевищує такий у дорослих [24-26]. У дітей підвищений рівень ФК спостерігається у ранньому віці, з часом він знижується. Високий рівень ФК у дітей перших місяців життя пов'язують із незрілою бар'єрною функцією кишечника, що зумовлює підвищену проникність слизової оболонки кишечника та трансепітеліальну міграцію гранулоцитів. Також виявлена залежність рівня ФК від типу вигодовування. Так, у дітей на грудному вигодовуванні рівень ФК вищий, ніж у дітей на штучному вигодовуванні, що характеризує імуномодуючий вплив грудного молока на слизову оболонку кишечника. Крім того,

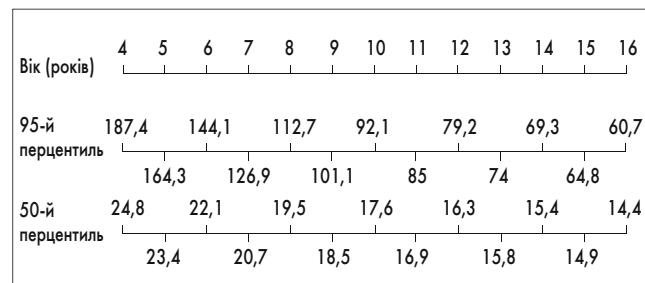


Рис. 1. Номограма значень 50-го та 95-го перцентилів рівня ФК у дітей різного віку

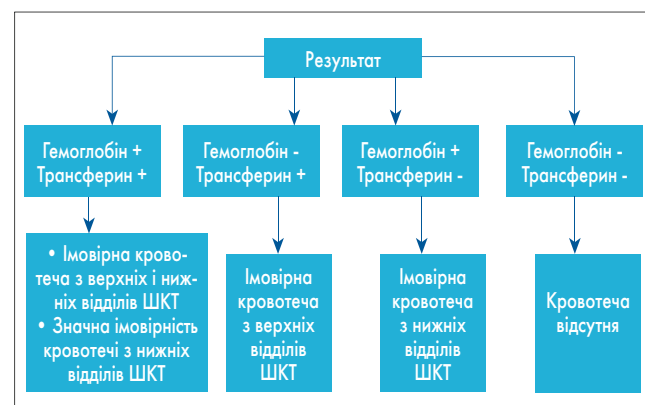


Рис. 2. Оцінка результату дослідження на наявність гемоглобіну і трансферину у калі

підвищення рівня ФК у дітей можливе при заборі проби калу з підгузка, що пояснюється поглинанням у нього води [27, 28].

Згідно з дослідженнями Oorg та співавт., порогові значення ФК у дітей віком до 4 років є значно вищими, ніж у дорослих, і становлять [27]:

- в 1-6 місяців — 538 мкг/г;
- у 6 місяців — 3 роки — 214 мкг/г;
- у 3-4 роки — 75 мкг/г;
- у 4 роки та дорослих — 50 мкг/г.

У дослідженнях F. Li та співавт. наведено визначення рівня ФК у здорових дітей від 0 до 18 місяців [28]:

- в 1-3 місяці — 375,2 мкг/г;
- у 3-6 місяців — 217,9 мкг/г;
- у 6-9 місяців — 127,7 мкг/г;
- в 9-12 місяців — 96,1 мкг/г;
- у 12-18 місяців — 104,0 мкг/г.

Цинлін Чжу та співавт. отримали такі результати дослідження рівня ФК у здорових дітей від 1 до 4 років [29]:

- в 12-24 місяців — 96,14 мкг/г;
- у 24-36 місяців — 81,48 мкг/г;
- у 36-48 місяців — 65,36 мкг/г.

Гендерної різниці не виявлено, та спостерігалася тенденція до зниження рівня ФК з віком.

Опубліковані результати дослідження рівня ФК у здорових дітей 4-16 років та запропонована номограма для оцінки 50-го та 95-го перцентилів, що підтверджує наявність вищого референтного рівня у дітей, ніж у дорослих, і цей рівень знижується з віком (рис. 1) [30].

На жаль, на сьогодні не встановлено єдиного порогового рівня ФК, при якому можна діагностувати активну стадію ЗЗК у дітей, оскільки їх значення істотно відрізняються у різних дослідженнях [31-33]. Однак рівень ФК <100 мкг/г зазвичай відповідає стадії ремісії, а рівень >250 мкг/г — активному запаленню кишечника та є показанням до ендоскопічного дослідження [34].

За даними досліджень, порогові значення ФК при ендоскопічно активній стадії ЗЗК у дорослих коливаються від 50 до 280 мкг/г. При підвищенні порогового значення ФК спостерігалось збільшення специфічності, але зменшення чутливості методу [35].

У дітей порогове значення ФК для диференціювання активної стадії ЗЗК становить від 250 до 800 мкг/г. Таким чином, необхідно продовжувати дослідження для встановлення порогових значень ФК при ЗЗК для ширшого використання цього неінвазивного методу [36-38].

У лютому 2021 р. група експертів з Великобританії, Німеччини, Швейцарії, Канади опублікувала керівництво для лікарів, метою якого було скорочення призначення необґрунтованих інвазивних обстежень (ендоскопія, біопсія) та направлень до вузьких спеціалістів (дитячий хірург, дитячий гастроентеролог) дітям з гастроінтестинальними симптомами і рівнем ФК >50 мкг/г. У цьому керівництві наголошується, що при наявності у дитини гастроінтестинальних скарг, характерних для ЗЗК та симптомів тривоги («червоних прапорців»), а саме шлунково-кишкової кровотечі, втрати маси тіла та змін одного чи більше лабораторних показників (анемія, тромбоцитоз, підвищення рівня С-реактивного протеїну/швидкості осідання еритроцитів/трансаміназ, гіпоальбумінемія), необхідно направити такого пацієнта до дитячого гастроентеролога, який призначить дослідження ФК та вирішить питання щодо подальшого обстеження.

Якщо у дитини відсутні «червоні прапорці», але є зміни в аналізі крові, педіатр або сімейний лікар повинен призначити тест на ФК двічі з інтервалом 4 тижні. При рівні ФК <250 мкг/г у двох пробах діагноз ЗЗК малоімовірний і додаткове обстеження не потрібне. При рівні ФК >250 мкг/г у першій пробі необхідна консультація дитячого гастроентеролога для виключення ЗЗК [39].

Таким чином, показаннями до визначення рівня ФК є:

- 1) диференційна діагностика запальних (ВК, ХК) і функціональних (СПК) захворювань кишечника;
- 2) моніторинг ендоскопічної та гістологічної активності запалення та прогноз рецидивування при ЗЗК;
- 3) додаткове діагностичне дослідження при новоутвореннях (посідає друге місце за значимістю після кількісного визначення фекального гемоглобіну і фекального трансферину);
- 4) виявлення маркера раннього рецидиву при хронічних ЗЗК;
- 5) оцінка запального процесу, ступеня відновлення слизової оболонки кишечника після перенесених інфекційних захворювань;

6) підозра на наявність некротизуючого ентероколіту у новонароджених і моніторинг його перебігу;

7) оцінка ефективності лікування пацієнтів з гельмінтозами, особливо пов'язаними з грибовими захворюваннями, ешерихіозом (O157), дизентерією та вірусними кишковими інфекціями.

Оскільки перебіг ЗЗК може супроводжуватись такими ускладненнями, як шлунково-кишкові кровотечі, анемія, а також (при тривалості захворювання 10 років і більше) формуванням колоректального раку, важливим є постійний ендоскопічний скринінг і контроль активності запалення.

Значущим неінвазивним маркером шлунково-кишкової кровотечі є дослідження калу на приховану кров (наявність гемоглобіну і трансферину). Дослідження на приховану кров

у калі (гемоглобін і трансферин) використовується для діагностики прихованих кровотеч із верхніх та нижніх відділів ШКТ [40]. Наявність гемоглобіну у калі людини є специфічним маркером кровотечі з нижніх відділів ШКТ, оскільки гемоглобін — нестабільна сполука, яка перетворюється при проходженні по кишечнику. Трансферин — більш стабільна сполука та використовується як маркер кровотечі і з верхніх, і з нижніх відділів ШКТ.

Позитивний результат дослідження на вміст гемоглобіну та трансферину у калі свідчить про наявність кровотечі саме з нижніх відділів. При негативному результаті на наявність гемоглобіну та позитивному — на наявність трансферину діагностується кровотеча з верхніх відділів ШКТ, при позитивному результаті тесту на гемоглобін та негативному на трансферин — кровотеча з нижніх відділів ШКТ. Відсутність гемоглобіну та трансферину у калі означає, що кровотеча відсутня (рис. 2).

Перевагами дослідження є:

- 1) відсутність перехресних реакцій з гемоглобіном і трансферином тваринного походження, тому пацієнту не потрібно перед дослідженням дотримуватися дієти з виключенням м'ясних продуктів;
- 2) висока чутливість (>99%) та специфічність (>99%) імунохроматографічного методу, яким проводиться дослідження, що значно переважає хімічні методи (гваякову та бензидинову проби);
- 3) можливість швидкого отримання результату (5 годин);
- 4) можливість доставки біологічного матеріалу;

5) можливість збереження стабільності за умови використання різних температурних режимів (при температурі від 20 до 25 °C — до 4 годин, від 2 до 8 °C — до 2 днів, при температурі -20 °C — до 14 днів).

Використання обох тестів (визначення вмісту гемоглобіну та трансферину у калі) одночасно забезпечує підвищення ефективності діагностики та зменшення виконання необґрунтованих ендоскопічних досліджень, враховуючи їх вартість та можливість потенційних ускладнень, особливо у дітей.

Таким чином, використання у пацієнтів із ЗЗК неінвазивних біомаркерів запалення — ФК та гемоглобіну й трансферину (при наявності шлунково-кишкової кровотечі) — має високу прогностичну значимість для прогнозування рецидивів захворювання, контролю лікування, можливого хірургічного втручання або госпіталізації, особливо в умовах пандемії COVID-19, яка вимагає дотримання соціальної дистанції.

Література

1. Abraham C., Cho J.H. Inflammatory bowel disease. N Engl J Med. 2009; 361(21): 2066-2078. doi:10.1056/NEJMra0804647.
2. Faecal calprotectin diagnostic tests for inflammatory diseases of the bowel Diagnostics guidance [DG11]. Published date: 02 October 2013 <https://www.nice.org.uk/guidance/dg11/chapter/3-Clinical-need-and-practice>.
3. Денисова М.Ф. Современные подходы к диагностике язвенного колита у детей // Современная педиатрия. — 2014. — № 3. — С. 113-115.
40. Gies A. et al. Fecal immunochemical test for hemoglobin in combination with fecal transferrin in colorectal cancer screening. United European gastroenterology journal. — 2018; 6 (8): 1223-1231. doi: 10.1177/2050640618784053 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6169043>.

Повний список літератури знаходиться в редакції.





МЕДИЧНА ЛАБОРАТОРІЯ

Доступна лабораторна діагностика для вирішення клінічних задач у реальній лікарській практиці

- Система менеджменту якості (TQM)
- Міжнародні стандарти ISO 9001; ISO 15189
- Міжнародні системи оцінки якості EQAS і RIQAS (Великобританія і США)
- Актуальні рішення клінічних задач
- Клінічна верифікація результатів
- Термінове повідомлення про критичні показники
- Індивідуальний професійний консалтинг 0 800 21 96 96, consult@dila.com.ua

- Автоматизована мікробіологія
- Інноваційні методики, передові технології
- Обладнання від світових лідерів: Siemens, Abbott, bioMerieux, Beckman Coulter
- Моніторинг виробничих процесів з матеріалами Randox, BIO-RAD, Siemens
- Інформаційно-сервісна служба ДІЛА: 0 800 21 78 87

www.dila.ua

Система управління якістю сертифікована відповідно до міжнародного стандарту ISO 9001:2015 № UA228577 від 15.03.2017.
Атестат про акредитацію відповідно до ДСТУ EN ISO 15189:2015 (EN ISO 15189:2012, IDT) № 30001 від 12.07.2017.
Акредитаційний сертифікат вищої категорії МОЗУ МЗ № 014792 від 27.03.2020 / Ліцензія на медичну практику МОЗУ АД № 071280 від 22.11.2012

 0920