

КАЛЬПРОТЕКТИН В ОБРАЗЦАХ КАЛА КАК ОПРЕДЕЛИТЕЛЬ СТЕПЕНЬ АКТИВНОСТИ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ КИШЕЧНИКА

Сагынбаева В. Э., Лазебник Л. Б., Ефремов Л. И., Гусейнзаде М. Г.

ГУ Центральный научно-исследовательский институт гастроэнтерологии ДЗ, Москва

Сагынбаева Венера Эсенбаевна

111123, Москва, шоссе Энтузиастов, 86

Тел. 8 (495) 304-30-26

E-mail: venera_32@rambler.ru

РЕЗЮМЕ

При ВЗК в фазе обострения увеличение уровня фекального кальпротектина (ФКП) обнаружено у 98% больных. При повышении клинической активности заболевания как у больных ЯК, так и БК отмечалось значимое увеличение содержания кальпротектина в образцах стула, что сопровождалось увеличением показателей острой фазы воспаления: повышением СБР, лейкоцитозом, увеличением частоты стула, с примесью крови и слизи, лихорадкой и болями в животе. В фазе обострения заболевания повышенная концентрация ФКП зависела от степени активности воспалительного процесса, а не от локализации поражения. Наиболее высокая концентрация ФКП выявлялась при высокой степени активности ВЗК при частоте стула до 8–10 раз/сут с примесью крови и болями в животе. При умеренной активности ВЗК, менее выраженной диарее (частота стула 2–3 раза в день), без примеси крови, выявлялся более низкий уровень ФКП — от 250 до 380 мкг/г. Изучение концентрации кальпротектина в образцах кала считается достоверным и чувствительным методом оценки активности воспалительного процесса у больных воспалительными заболеваниями кишечника

Ключевые слова: болезнь Крона; инфликсимаб; мезенхимальные стромальные клетки; иммуносупрессоры; кортикостероиды; кальпротектин в кале крови; язвенный колит

SUMMARY

At IBD in the exacerbation phase was detected the increase of fecal calprotectin (FC) level in 98% of patients. With increasing of clinical disease activity in patients with UC as well as CD was marked a significantly increased content of calprotectin in stool samples, which was accompanied by increase of indicators of inflammation acute phase: rising RRF, leukocytosis, an increase of frequency of stool with blood and mucus, fever and abdominal pain. In the phase of exacerbation the increase in concentration of CRP depends on the degree of inflammatory activity, rather than on lesion localization. The highest concentration of CRP was revealed at a high degree of IBD activity with stool frequency up to 8–10 times / day with impurity of blood and abdominal pain. At moderate activity of IBD, it is less expressed diarrhea (stool frequency 2–3 times a day), without blood, detected lower level of PCF concentration — from 250 to 380 ug / g. A study of calprotectin concentrations in stool samples is considered to be reliable and sensitive method for evaluation of inflammatory activity in patients with inflammatory bowel disease.

Keywords: Crohn's disease, infliximab, mesenchymal stromal cells, immunosuppressants, corticosteroids; calprotectin in stool blood ulcerative colitis

Среди хронических болезней желудочно-кишечного тракта особое место занимают воспалительные заболевания кишечника (ВЗК). До настоящего времени этиология и патогенез их не ясны, течение характеризуется рецидивами и тяжелыми осложнениями, которые становятся причиной инвалидности больных уже в молодом возрасте.

Как известно, слизистая оболочка кишечника при ВЗК продуцирует значительное количество нейтрофилов, что побудило исследователей и клиницистов использовать белки, полученные из нейтрофилов, в качестве биомаркера для оценки состояния кишечной стенки и эффективности лечения. Одним из этих белков является кальпротектин (КП),

который может рассматриваться как биомаркер активации, разрушения и гибели нейтрофильных клеток, в меньшей степени — моноцитов и активированных макрофагов [1–3]. Кальпротектин был впервые выделен из нейтрофилов в 1980 году [4]. В его составе содержатся кальций (36 kDa) и цинк в сочетании с цитоплазматическими белками (50–60%), что нашло отражение в его названии [5]. В 1992 году A. G. Roseth и соавт. разработали и предложили метод иммуноферментного анализа (ИФА) выделения и количественного определения КП в кале. Фекальный КП (ФКП) в настоящее время используют в качестве биомаркера воспаления при ВЗК. Концентрация ФКП приблизительно в 6 раз выше, чем в плазме крови [6]. Он является удивительно стабильным белком, стойким к протеолитической деградации. Образцы стула могут храниться до 5 дней при комнатной температуре без заметной потери КП [3; 7]. Средний уровень ФКП 2 мг/л у здоровых, верхняя граница — до 10 мг/л [7–10]. В различных исследованиях обнаружена сильная положительная корреляция между концентрацией ФКП, фекальной экскрецией ¹¹¹In-меченных нейтрофилов и однократными фекальными уровнями кальпротектина ($r = 0,80$, $p < 0,0001$) [11–13]. Эти данные показывают, что увеличение ФКП является у больных ВЗК в основном результатом роста миграции нейтрофилов в просвет кишки через воспаленную слизистую оболочку. В других исследованиях показано, что концентрация ФКП увеличивается в 5–40 раз при инфекционных заболеваниях кишечника [15] и НПВП-ассоциированной энтеропатии [16]. У больных с функциональными нарушениями кишечника, например при синдроме раздраженного кишечника (СРК), концентрация ФКП не отличалась от таковой у здоровых людей [17]. F. Costa и соавт. [18] показали, что при значении ФКП более 50 мг/л чувствительность и специфичность теста для прогнозирования рецидивов у всех больных с ВЗК достигала 90 и 83% соответственно. В более поздних работах они показали, что эти показатели относятся только к ЯК. При БК специфичность ФКП составляет не выше 43% [19]. Таким образом, в клинической практике тест с ФКП может использоваться для наблюдения за больными ВЗК и в качестве биомаркера для раннего выявления рецидивов заболевания. Однако сведений о возможностях использования теста с ФКП для оценки активности воспалительного процесса при ВЗК в литературе недостаточно.

Цель исследования — определить информативность ФКП для оценки степени активности воспалительного процесса при ВЗК.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обследовано 52 больных ВЗК с хроническим непрерывно рецидивирующим течением, находившихся на лечении в отделении патологии кишечника ЦНИИГ, из них 34 больных язвенным колитом (ЯК) (17 мужчин, 17 женщин) и 18 — с болезнью Крона

(БК) (6 мужчин, 12 женщин). Возраст больных составлял 16–70 лет, средний возраст — $43,0 \pm 2,5$ года ($M \pm \sigma$). Диагноз верифицирован данными клинических, лабораторных, иммунологических, гистологических и инструментальных методов исследования.

Уровень ФКП в образцах кала определяли в первые 3–5 дней пребывания больных в отделении. Исследование проводили иммуноферментным методом с применением тест-систем *Buhlmann* (Швейцария). СРБ, общий анализ крови определялся в сыворотке крови общепринятым методом.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием компьютерной программы *Statistica 6.0*, достоверность полученных величин определяли при помощи *t*-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Увеличение уровня ФКП обнаружено у 51 из 52 больных ВЗК (98%): у 33 из 34 больных с обострением ЯК и у всех 16 пациентов с БК.

У больных ЯК уровень ФКП колебался от 82 до 600 мкг/г, при этом средняя концентрация ФК составила $452,3 \pm 34,4$ мкг/г (норма < 50 мкг/г). У 19 больных (55,8%) с тяжелым рецидивом ЯК, лихорадкой, кровавой диареей, болями в животе, повышением С-реактивного белка (СРБ) и лейкоцитозом концентрация ФКП превышала 600 мкг/г.

У пациентов с БК уровень ФКП колебался от 60,8 до 600 мкг/г, а концентрация в среднем составляла $387,6 \pm 52,3$ мкг/г, что достоверно ниже по сравнению с больными ЯК ($p < 0,001$). У 8 больных с острой фазой воспаления уровень ФКП превышал 600 мкг/г.

На *рис. 1* показана зависимость между активностью ВЗК и уровнем ФКП. Из представленных данных видно, что между этими показателями имелась обратная зависимость. У 30 больных с высокой степенью активности воспалительного процесса уровень ФКП колебался от 400 до 600 мкг/г и составлял при ЯК и БК в среднем $590,7 \pm 9,1$ и $585,6 \pm 14,6$ мкг/г соответственно ($p = 0,240$). У 10 больных с умеренной активностью ЯК и БК концентрация ФКП находилась в пределах от 200 до 400 мкг/г, составляя в среднем $292,4 \pm 25,2$ и $304,0 \pm 30,5$ мкг/г соответственно, что достоверно не различалось ($p = 0,520$). При минимальной активности воспаления ЯК и БК у 11 чел. уровень ФКП колебался от 50–200 мкг/г. Содержание ФКП у больных ЯК в фазе обострения составило $127,7 \pm 17,9$ мкг/г, что достоверно выше по сравнению с больными БК ($97,9 \pm 22,5$ мкг/г) ($p < 0,04$). В период ремиссии ВЗК у одного больного средний уровень ФКП был 47 мкг/г при норме 50 мкг/г.

Таким образом, повышение концентрации ФКП у больных ВЗК тесно связано с выраженностью острофазового периода и коррелирует с активностью ЯК и БК.

Мы сопоставили также клиническую активность ЯК и БК по критериям Рахмилевича и Беста с уровнем ФКП.

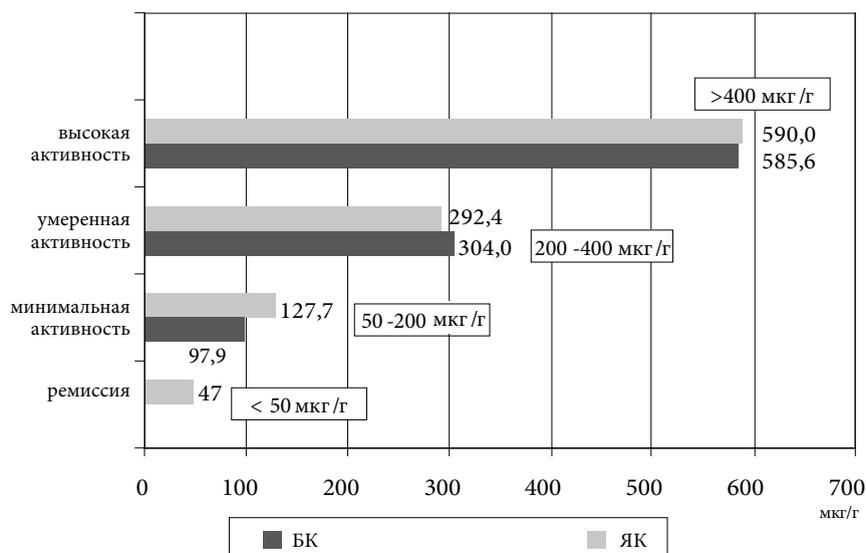


Рис. 1. Концентрация ФКП у больных ВЗК в зависимости от степени активности воспалительного процесса

Из табл. 1 следует, что при ЯК отмечается статистически значимое увеличение ($p < 0,001$) концентрации ФКП по мере нарастания степени тяжести клинических и эндоскопических симптомов заболевания.

Как видно из табл. 2, при БК увеличение концентрации ФКП соотносилось с повышением индекса клинической активности заболевания по Best ($p < 0,001$).

Для выяснения зависимости показателей ФКП от особенностей поражения кишечника мы изучили концентрацию ФКП у больных ВЗК в зависимости от локализации воспалительного процесса (рис. 2).

По данным рис. 1 среди больных ЯК наиболее высокий уровень ФКП отмечался при левостороннем

поражении ($510,0 \pm 50,5$ мкг/г). У больных с тотальным поражением уровень ФКП составлял в среднем $403,1 \pm 54,9$ мкг/г, а при дистальном — $431,2 \pm 109,5$ мкг/г. При БК в период обострения заболевания наибольший его уровень ФКП отмечался у больных БК тонкой и толстой кишки и у больных толстой кишки, при этом средняя концентрация ФКП составила $416,5 \pm 76,4$ и $416,3 \pm 81,5$ мкг/г соответственно (норма < 50 мкг/г), наименьший уровень ФКП отмечался при БК тонкой кишки ($157,0 \pm 93,0$ мкг/г).

Таким образом, в результате проведенных исследований у больных ВЗК в фазе обострения заболевания повышенная концентрация ФКП зависела от степени активности воспалительного процесса, а не от локализации поражения.

Таблица 1

КОНЦЕНТРАЦИЯ ФКП В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ ТЕЧЕНИЯ ЯЗВЕННОГО КОЛИТА				
№	Критерии	Степени тяжести ЯК		
		легкая	среднетяжелая	тяжелая
1	Кальпротектин	$366,2 \pm 56,1$	$500,3 \pm 55,3^{**}$	$552,7 \pm 46,9^*$
2	Индекс клинической активности по Rachmilevitz	$4,6 \pm 0,7$	$7,1 \pm 0,5^{**}$	$10,7 \pm 0,8^{**}$
3	Индекс эндоскопической активности по Rachmilevitz	$3,7 \pm 0,9$	$5,3 \pm 0,7^{**}$	$8,2 \pm 1,1^{**}$

Примечание: * — $p < 0,04$; ** — $p < 0,001$.

Таблица 2

КОНЦЕНТРАЦИЯ ФКП В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ ТЕЧЕНИЯ БОЛЕЗНИ КРОНА (ПО BEST)				
№	Критерии	Степени тяжести		
		легкая (150–220)	умеренная (220–450)	тяжелая (> 450)
1	Кальпротектин	$356,1 \pm 60,1$	$535,5 \pm 64,5^{**}$	> 600
2	Индекс Беста	$181,5 \pm 8,5$	$287,1 \pm 11,1^{**}$	$524,0 \pm 68,0^{**}$

Примечание: ** — $p < 0,001$.

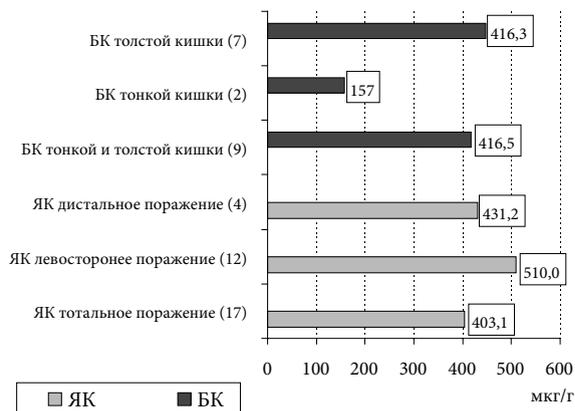


Рис. 2. Концентрации ФКП у больных с ВЗК в зависимости от локализации поражения

На рис. 3 показана зависимость уровня ФКП от показателей острой фазы рецидива ВЗК. При ЯК и БК период обострения характеризовался диареей, лихорадкой, лейкоцитозом, увеличением СРБ. Частота стула у больных ЯК и БК в среднем составляла $6,7 \pm 0,8$ и $4,2 \pm 0,8$ в/сут соответственно, лихорадка достигала в среднем $37,6 \pm 2,8$ °С, лейкоцитоз — $(9,94 \pm 0,6) \cdot 10^9/л$ и $(8,9 \pm 0,8) \cdot 10^9/л$, СРБ увеличивался от 5,55 до 186,36 мг/л (норма < 5 мг/л). У больных ЯК СРБ увеличивался в среднем до $22,2 \pm 7,2$ мг/л, у больных БК — до $15,0 \pm 4,2$ мг/л. Повышение уровня ФКП при ЯК и БК достигало $452,3 \pm 34,4$ и $387,6 \pm 52,3$ мкг/г соответственно.

ЛИТЕРАТУРА

- Bjerke, K. Distribution of macrophages and granulocytes expressing L1 protein (calprotectin) in human Peyer's patches compared with normal ileal lamina propria and mesenteric lymph nodes / K. Bjerke et al. // Gut. — 1993. — Vol. 34. — P. 1357–1363.
- Fagerhol, M. K. Release and quantification of leukocyte derived protein (L1) / M. K. Fagerhol, I. Dale, I. Anderson // Scand. J. Haematol. — 1980. — Vol. 24. — P. 393–398.
- Johne, B. Functional and clinical aspects of the myelomonocytic protein calprotectin / John B., Fagerhol M. K., Lyberg T. et al. // J. Clin. Pathol. — 1997. — Vol. 50. — P. 113–123.
- Tibble, J. A. Non-invasive investigations of inflammatory bowel disease / Tibble J. A., Bjarnason I. // World J. Gastroenterol. — 2001. — Vol. 7. — P. 460–465.
- Fagerhol, M. K. Calprotectin (the LI leukocyte protein). In: Smith, VL DJ, ed. Stimulus Response Coupling: the Role of Intracellular Calcium-Binding Proteins / M. K. Fagerhol, K. B. Anderson, C. F., Naess-Andersen P. Brandtzaeg, I. Dale. — CRC Press, 1990. — P. 187–210.
- Fagerberg, U. L. Fecal calprotectin levels in healthy children studied with an improved assay / U. L. Fagerberg et al. // J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. — 2003. — Vol. 37. — P. 468–472.
- Roseth, A. G. Assessment of the neutrophil dominating protein calprotectin in feces: a methodologic study / A. G. Roseth et al. // Scand. J. Gastroenterol. — 1992. — Vol. 27. — P. 793–798.
- Roseth, A. G. Assessment of disease activity in ulcerative colitis by faecal calprotectin, a novel granulocyte marker protein / A. G. Roseth, E. Aadland, J. Jahnsen, N. Raknerud // Digestion. — 1997. — Vol. 58, No. 2. — P. 176–180.
- Teahon, K. Fecal calprotectin: a simple sensitive quantitative measure of intestinal inflammation in man (abstract) / K. Teahon, A. G. Roseth, R. Foster, I. Bjarnason // Gastroenterology. — 1997. — Vol. 112, Suppl. — A1103.
- Tibble, J. A. A simple method for assessing intestinal inflammation in Crohn's disease / J. A. Tibble, K. Teahan, B. Thjodleifsson et al. // Gut. — 2000. — Vol. 47. — P. 506–513.

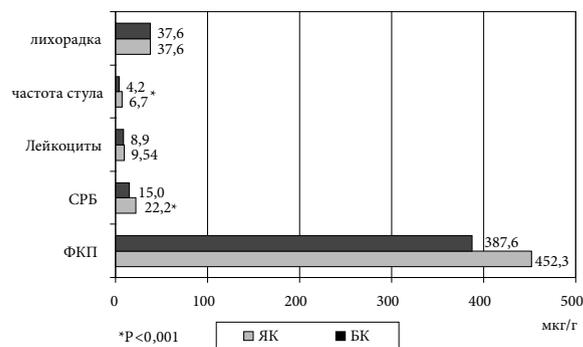


Рис. 3. Зависимость уровня ФКП от показателей острой фазы рецидива ЯК и БК

Таким образом, полученные результаты показали, что уровень ФКП находится в прямой зависимости от степени тяжести рецидива ВЗК.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У 98% больных с рецидивом ВЗК установлено увеличение концентрации КП в кале. Уровень ФКП находился в прямой зависимости от степени активности воспалительного процесса в кишечнике. При высокой степени активности ВЗК концентрация ФКП находилась в пределах от 400 до 600 мкг/г, при умеренной активности — от 200 до 400 мкг/г, при минимальной — от 50 до 200 мкг/г.

Тест с ФКП является высокочувствительным для оценки активности воспалительного процесса у больных ВЗК.

- Bjarnason, I. Fecal calprotectin: a significant step in the noninvasive assessment of intestinal inflammation / I. Bjarnason, R. Sherwood // J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. — 2001. — Vol. 33. — P. 11–13.
- Bunn, S. K. Fecal calprotectin: validation as a noninvasive measure of bowel inflammation in childhood inflammatory bowel disease / S. K. Bunn et al. // J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. — 2001. — Vol. 33. — P. 14–22.
- Roseth, A. G. Correlation between faecal excretion of indium-111-labelled granulocytes and calprotectin, a granulocyte marker protein, in patients with inflammatory bowel disease / A. G. Roseth, P. N. Schmidt, M. K. Fagerhol // Scand. J. Gastroenterol. — 1999. — Vol. 34. — P. 50–54.
- Teahon, K. Intestinal permeability in patients with Crohn's disease and their first degree relatives / K. Teahon et al. // Gut. — 1992. — Vol. 33. — P. 320–323.
- Berni Canani, R. Diagnostic value of faecal calprotectin in paediatric gastroenterology clinical practice / R. Berni Canani et al. // Dig. Liver Dis. — 2004. — Vol. 36. — P. 467–470.
- Tibble, J. A. High prevalence of NSAID enteropathy as shown by a simple faecal test / J. A. Tibble et al. // Gut. — 1999. — Vol. 45. — P. 362–366.
- Limburg, P. J. Fecal calprotectin levels predict colorectal inflammation among patients with chronic diarrhea referred for colonoscopy / P. J. Limburg et al. // Am. J. Gastroenterol. — 2000. — Vol. 95. — P. 2831–2837.
- Costa, F. Role of faecal calprotectin as non-invasive marker of intestinal inflammation / F. Costa et al. // Dig. Liver Dis. — 2003. — Vol. 35. — P. 642–647.
- Costa, F. Calprotectin is a stronger predictive marker of relapse in ulcerative colitis than I Crohn's disease / F. Costa, M. G. Mumolo, L. Ceccarelli et al. // Gut. — 2005. — Vol. 54. — P. 364–368.
- Tibble, J. A. Surrogate markers of intestinal inflammation are predictive of relapse in patients with inflammatory bowel disease / J. A. Tibbie, G. Sigthorsson, S. Bridger, M. K. Fagerhol, I. Bjarnason // Gastroenterology. — 2000. — Vol. 119, No. 1. — P. 15–22.