

УДК 616.31-022-07

ЗНАЧЕНИЕ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В СЕКРЕТЕ РОТОВОЙ ПОЛОСТИ У БОЛЬНЫХ ЦЕЛИАКИЕЙ

М.В. Ерзутова, И.Д. Успенская, И.В. Маянская, Л.В. Коркоташвили, П.П. Потехин,
ФГУ «Нижегородский научно-исследовательский институт детской гастроэнтерологии»

Ерзутова Марина Валерьевна – e-mail: ermariva@mail.ru

Изучена активность провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , TNF- α) в секрете ротовой полости у детей с целиакией. Высокие значения данных величин отмечены у 100% и 80% больных соответственно. Установлена взаимосвязь активности TNF- α с величиной дефицита массы тела, уровнем эндогенной интоксикации, выраженностью атрофических изменений слизистой оболочки тонкой кишки. Степень повышения активности ИЛ-1 β определялась величиной лимфоплазмочитарной инфильтрации собственной пластинки слизистой оболочки тонкой кишки. Полученные данные позволили разработать дополнительные критерии диагностики и оценки воспалительного процесса в интестинальной слизистой.

Ключевые слова: целиакия, цитокины, слюна.

There has been studied the activity of anti-inflammatory cytokines (IL-1 β , TNF- α) in the secretion of mouth cavity of children with celiac disease. The high levels of these magnitudes were marked of 100% and 80% of patients respectively. There has been stated the correlation of the activity TNF- α with the magnitude of the deficiency of body mass, level of endogenic intoxication, the evidence of atrophic changes of mucous membrane of small intestine. The degree of the increase of the activity IL-1 β was defined by the extent of lymphoplasmocytic infiltration of the own lamella of mucous membrane of small intestine. The received data allowed to work out the additional criteria of diagnostics and assessment of inflammatory process in the intestinal mucous membrane.

Key words: celiac disease, cytokines, saliva.

Среди хронических заболеваний тонкой кишки особое место занимает целиакия как одна из ведущих клинических форм энтеропатий наследственного генеза. До настоящего времени она остаётся актуальной и во многом нерешенной проблемой клинической медицины [1, 2, 3]. Это обусловлено распространенностью данной патологии, сложностью диагностики, недостаточной изученностью патогенеза, что имеет непосредственно практическое значение, определяющее тактику и эффективность проводимой терапии.

Описанная более 100 лет назад, целиакия рассматривается как полисиндромное заболевание, характеризующееся стойкой непереносимостью растительного белка глютена с развитием атрофии ворсинок слизистой оболочки тонкой кишки и связанного с ней синдрома нарушенного всасывания различной степени тяжести [4].

В настоящее время ведущие позиции занимает иммунологическая концепция патогенеза целиакии [5]. Вследствие взаимосвязи глютена со специфическими рецепторами эпителиоцитов в слизистой оболочке тонкой кишки развивается воспалительный процесс, сопряженный с увеличением межэпителиальных лимфоцитов, в основном популяций цитотоксических клеток, продуцирующих цитокины, которые оказывают прямое цитотоксическое действие на энтероциты.

Цитокины представляют собой группу гормоноподобных медиаторов, принимающих активное участие в иммунном ответе, воспалении, регуляции лимфо- и гемопоэза и являются продуктами активированных не только иммунокомпетентных клеток, но и вспомогательных клеток иммунного ответа. Вне воспалительной реакции и иммунного ответа цитокины в крови содержатся в чрезвычайно малом количестве [6].

К системе цитокинов в настоящее время относят около 200 индивидуальных полипептидных веществ. При этом ключевая роль в патогенезе системных и местных воспалительных и иммунопатологических реакций при различных заболеваниях отводится провоспалительным цитокинам, в частности интерлейкину-1 β (ИЛ-1 β) и фактору некроза опухоли α (TNF- α) [7].

ИЛ-1 β – эндогенный биологически активный медиатор неспецифического действия, продуцируемый в основном макрофагами и фагоцитами, один из первых включается в защитную реакцию организма при действии патогенных факторов. ИЛ-1 β активирует Т- и В-лимфоциты, нейтрофилы, гепатоциты, стимулирует синтез других провоспалительных цитокинов, включая и TNF- α , а также повышает хемотаксис, фагоцитоз, гемопоэз, проницаемость сосудистой стенки, цитотоксическую и бактерицидную активность, стимулирует синтез коллагена.

Фактор некроза опухолей α продуцируется макрофагами и лимфоцитами и играет ключевую роль в развитии местных и общих системных цитологических процессов. Он резко активирует эндотелий, усиливает адгезию лейкоцитов к эндотелию, нарушает микроциркуляцию, оказывает гепатотоксичный и пирогенный эффект, принимает участие в апоптозе и пролиферации клеток. TNF- α вызывает метаболические и структурные повреждения самой эндотелиальной клетки, увеличивает проницаемость мембран, стимулирует образование эйкозаноидов. В отличие от ИЛ-1 β не активирует Т-лимфоциты [8].

В гастроэнтерологии накоплен определенный фактический материал, касающийся содержания отдельных интерлейкинов в периферической крови при хронических заболеваниях

печени, поджелудочной железы, желудка и двенадцатиперстной кишки [9]. Установлена их взаимосвязь с активностью, тяжестью и выраженностью воспалительного процесса. Повышение содержания провоспалительных цитокинов в сыворотке крови выявлено у взрослых с глютеновой энтеропатией [10] и среди пациентов детского возраста с целиакией [11].

Вместе с тем клиническому значению саливарного уровня цитокинов в детской гастроэнтерологии посвящены лишь немногочисленные работы. Профиль про- и противовоспалительных цитокинов секрета ротовой полости исследован у детей с неспецифическим язвенным колитом и болезнью Крона. Установлена прямая корреляционная взаимосвязь данных показателей в слюне и в крови [12].

Доказано, что саливарные неинвазивные тесты отражают процессы гомеостатирования в организме и могут использоваться для определения характера патологического процесса в органах пищеварения [13]. В литературе отсутствуют сведения об уровне цитокинов в слюне у детей с целиакией, что явилось основанием для проведения настоящего исследования.

Цель исследования – оценить у больных целиакией уровень провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , TNF- α) в секрете ротовой полости и их взаимосвязь с клиническими, метаболическими и патоморфологическими особенностями заболевания.

Материалы и методы

Обследовано 47 детей (29 девочек и 18 мальчиков) в возрасте 3–17 лет с типичной формой глютеновой энтеропатии в периоде неполной клинико-лабораторной ремиссии заболевания. Диагноз заболевания установлен в соответствии с рекомендациями, предложенными в рамках Проекта рабочего протокола диагностики и лечения целиакии у детей (Москва, 2004) [1].

У большинства детей первые симптомы заболевания появились через 2 недели – 2 месяца после введения прикорма продуктами, содержащими глиадин. Однако, только у 38% детей диагноз целиакии был установлен в течение первых 1,5 лет жизни. Почти у трети больных диагноз выставлен в возрасте старше 3 лет.

К моменту обследования в клинике лишь половина детей (49%) находилась на строгой аглютеновой диете, остальные имели погрешности в рационе. У большинства (61%) детей за последний год наблюдения отмечались жалобы на спонтанные абдоминальные боли, диспепсические расстройства, явления метеоризма, нарушения характера стула.

Определение цитокинов в секрете ротовой полости: интерлейкина ИЛ-1 β и туморнекротического фактора TNF- α проведено с использованием тест-систем фирмы ООО «Протеиновый контур» (С.-Петербург, Россия). Результаты выражали в пг/мл.

Для выявления нарушений в метаболическом гомеостазе у наблюдаемых больных проводилось определение биохимических компонентов, отражающих уровень эндогенной интоксикации: содержание веществ низкой и средней молекулярной массы (ВНСММ) методом М.Я. Малаховой [14] и олигопептидов (ОП) по методу Лоури [15] в 3 средах организма (эритроцитах, плазме, моче). Рассчитывали индекс эндогенной интоксикации (ИЭИ) по формуле: ИЭИ = ВНСММ плазмы \times ОП плазмы + ВНСММ эритроцитов \times ОП эритроцитов.

Всем больным проводилось эндоскопическое исследование 12-перстной, тощей кишки с прицельной биопсией слизистой оболочки из дистальных отделов 12-перстной кишки и/или проксимальных отделов тощей. Материал, полученный при прицельной биопсии слизистой 12-перстной и тощей кишки, подвергался морфологическому исследованию.

Контролем для результатов исследования служили соответствующие показатели, полученные в Нижегородском НИИ детской гастроэнтерологии при обследовании детей, относящихся к 1-й группе здоровья.

Статистическая обработка полученных данных проведена в соответствии с современными методами статистического анализа [16], интегрированными в прикладной программе Statistica 6. Проверка нормальности распределения проводилась методом Колмогорова-Смирнова. В связи с отсутствием нормального распределения признака в группах использовали непараметрические методы статистики. Описательная статистика количественного признака включала медиану (Me), интерквартильный размах (Q25-Q75). Для сравнения количественных и качественных показателей между группами использовали критерий χ^2 Пирсона. Для установления взаимосвязи и измерения тесноты связи между параметрами применяли корреляционный анализ, рассчитывали коэффициенты корреляции Спирмена (R) и гамма (γ). Статистическая обработка включала определение критерия достоверности Манн-Уитни, оценку между параметрами корреляционных связей.

Результаты и их обсуждение

Результаты проведенного обследования показали значительное повышение уровня ИЛ-1 β в секрете ротовой полости у 100% больных: медиана и интерквартильный размах – 248,05 пг/мл (от 172,75 до 542,65 пг/мл, $p=0,00375$ (рис. 1)

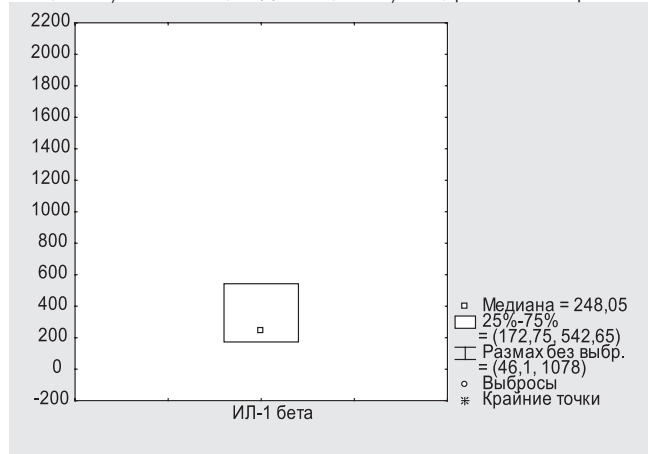


РИС. 1. Диаграмма размаха ИЛ-1 β (пг/мл).

Выявлено существенное повышение активности TNF- α . Величина данного показателя составила – медиана и интерквартильный размах – 110 пг/мл (от 40,5 до 237,5 пг/мл), $p=0,01429$ (рис. 2). Высокие значения данного показателя отмечены у 85% обследованных больных.

Изменения данных показателей у наблюдаемых детей имели однонаправленный характер, что подтверждалось наличием умеренной корреляционной взаимосвязи между ними ($R=0,46$, $p=0,001252$). Повышение концентрации данных цитокинов в секрете свидетельствовало о сохранении

выраженного воспалительного процесса у больных целиакией в периоде неполной клинико-лабораторной ремиссии заболевания.

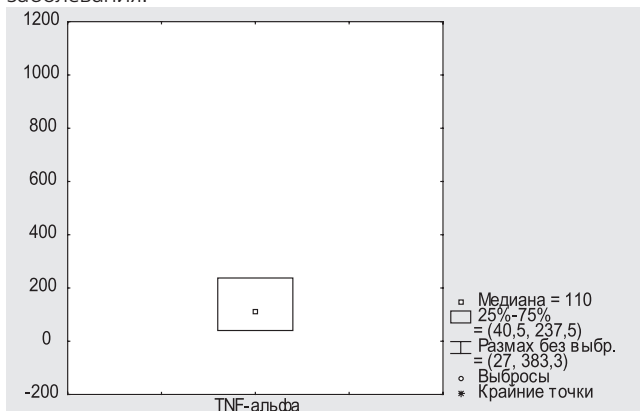


РИС. 2.
Диаграмма размаха TNF-α (пг/мл).

Выявлено, что у больных, имеющих наименьшие значения TNF-α (менее 52 пг/мл), величина дефицита массы тела была минимальной, а в группе детей, имеющих более высокие значения данного цитокина (выше 215 пг/мл), дефицит массы тела в среднем был больше ($p=0,0012189$). Известно, что TNF-α принимает непосредственное участие в патогенезе кахексии при хронических заболеваниях, способствуя снижению утилизации жирных кислот и триглицеридов за счет подавления активности липопротеинлипазы [17].

Установлена отчетливая зависимость уровня TNFα от степени выраженности эндогенной интоксикации, подтвержденная методом корреляционного анализа ($R=0,61$; $p=0,000043$). Так, среди детей, имеющих нормальные значения ИЭИ, концентрация данного провоспалительного цитокина была достоверно ниже ($Me=42,4$ пг/мл, $Q25-Q75$: 34,0-59,2 пг/мл; $p=0,005523$) по сравнению с группой детей, отличающихся высокими значениями уровня эндогенной интоксикации ($Me=210,25$ пг/мл, $Q25-Q75$: 118,75-265,00 пг/мл). Одновременно установлено, что концентрация TNF-α в секрете ротовой полости сопряжена со степенью выраженности атрофических изменений слизистой оболочки тонкой кишки ($\gamma=0,36$; $p=0,008134$). Так, в группе наблюдаемых больных, имеющих наибольшие значения уровня TNF-α и повышенные показатели ИЭИ, атрофические изменения слизистой оболочки тонкой кишки встречались в 2 раза чаще (85% против 45%; $\chi^2=6,94$; $p=0,007421$).

Величина повышения ИЛ1-β достоверно зависела от степени лимфоплазмочитарной инфильтрации собственной пластинки слизистой оболочки тонкой кишки, которая в свою очередь характеризует выраженность местного тканевого иммунного ответа у больных целиакией. Так было отмечено, что при слабой выраженности плотности клеточного инфильтрата собственной пластинки интестинальной слизистой (8861 ± 108 клеток на 1 кв. мм) концентрация ИЛ1β в секрете ротовой полости составила $182,2 \pm 34,39$ пг/мл, при умеренной выраженности (10652 ± 205 клеток на 1 кв. мм) – $334,44 \pm 62,35$ пг/мл ($p=0,0322$), при выраженной степени (12820 ± 296 клеток на 1 кв. мм) – $746,96 \pm 179,13$ пг/мл ($p=0,0484$). Полученные данные легли в основу изобретения «Способ определения степени выраженности воспаления в слизистой оболочке тонкой кишки» (патент № 2285627

от 20.10.2006 г.).

Заключение

Установлено, что для больных целиакией в периоде неполной клинико-лабораторной ремиссии характерна высокая активность провоспалительных цитокинов (ИЛ-1β, TNF-α) в секрете ротовой полости, что свидетельствует о незавершенности воспалительного процесса у данной категории больных. Установлена взаимосвязь активности TNF-α и величины дефицита массы тела у наблюдаемых больных. Высокая активность TNF-α в секрете ротовой полости характерна для детей, у которых сохранялись повышенные значения ИЭИ при наличии у большинства больных атрофических изменений слизистой оболочки тонкой кишки, что указывало на сохранение активности патологического процесса в период неполной клинико-лабораторной ремиссии заболевания. Согласно данным литературы TNF-α принимает активное участие в патогенезе ряда иммунозависимых заболеваний, являясь одним из медиаторов ремоделирования и деструкции тканей при длительном воспалительном процессе [18]. Известно, что при целиакии в собственной пластинке слизистой оболочки тонкой кишки имеет место чрезмерная активация Т-хелперов I порядка, что сопровождается усилением продукции многих цитокинов, в том числе и фактора некроза опухоли α, что индуцирует воспаление, активизирует цитолитический иммунный ответ, вызывая повреждение интестинальной слизистой, в том числе кишечного эпителия [19, 20]. При этом накопление в тканях и биологических жидкостях организма эндогенных токсических субстанций приводит к формированию синдрома эндогенной интоксикации, что мы и наблюдали среди обследованных больных целиакией.

Повышение ИЛ-1β отражает степень лимфоплазмочитарной инфильтрации собственной пластинки слизистой оболочки тонкой кишки, которая в свою очередь характеризует выраженность воспалительного процесса интестинальной слизистой у больных целиакией.

Уровень провоспалительных цитокинов в секрете ротовой полости может быть использован как маркер неинвазивной диагностики и оценки воспалительного процесса в слизистой оболочке тонкой кишки у больных целиакией. Такие исследования могут оказаться достаточно полезными, прежде всего в педиатрии, учитывая доступность объекта и атравматичность процедуры исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Особенности течения и лечения целиакии на современном этапе. /Под ред. И.Д. Успенской, Е.И. Шабунинной, А.Н. Волкова, И.А. Переспегинной. Н.Новгород. 2009. С. 101.
2. Catassi C., Fasano A. Celiac disease. Curr Opin Gastroenterol. 2008. № 24 (6). P. 687-91.
3. Захарова И.Н., Коровина Н.А., Боровик Т.Э., Рославцева Е.А., Лысиков Ю.А., Катаева Л.А. Целиакия у детей: диагностика и лечение. Педиатрия: Приложение к журналу Consilium medicum. 2008. № 1. С. 20-25.
4. Баранов А.А., Климанская Е.В. Нарушения пищеварения и всасывания. Детская гастроэнтерология (избранные главы). М.: Б.и., 2002. С. 424-488.
5. Целиакия у детей. /Под ред. С.В. Бельмера, М.О. Ревновой. М.: ИД «Медпрактика-М», 2010. 392 с.
6. Симбирцев А.С. Цитокиновая система регуляции защитных реакций организма. Цитокины и воспаление. 2002. Т. 1. № 1. С. 9-16.
7. Общий флогогенный потенциал при воспалительных заболеваниях органов пищеварения у детей /под ред. д. м. н. проф. Е.И. Шабунинной, к. б. н. И.В. Маянской. Н.Новгород: Изд-во Волго-Вятской академии гос. службы, 2010. 110 с.
8. Бурместер Г.-Р., Пецутто А. Наглядная иммунология: пер. с англ. 2-е изд.,

М.: БИНОМ, Лаборатория знаний, 2009. 320 с.

9. Царегородцева Т.М., Серова Т.И. Цитокины в гастроэнтерологии. М.: Анахарсис, 2003. 96 с.

10. Гудкова Р.Б. Диагностическое и прогностическое значение показателей иммунного статуса у больных целиакией: автореф. дисс. д-ра мед.наук. ЦНИИГ Департамента здравоохранения г. Москвы. М. 2007. 49 с.

11. Лощкова Е.В. Генетические и иммунологические механизмы формирования клинических проявлений целиакии у детей и подростков и их значение в реабилитации: автореф. дис. канд. мед.наук. ГОУВПО «Сибирский государственный медицинский университет». Томск. 2009. 230 с.

12. Тутина О.А. Клинико-иммунологические особенности неспецифического язвенного колита и болезни Крона у детей (диагностика и коррекция терапии): автореф. дис. канд. мед.наук. ГОУ ВПО НижГМАРозздрава. Нижний Новгород. 2010. 138 с.

13. Ипатов Ю.П., Комарова Л.Г., Переслегина И.А., Шабунина Е.И. Ключи к проблеме гастроэнтерологических заболеваний у детей /под научн. редак. проф. А.И. Волкова. Н.Новгород. 1997. 218 с.

14. Малахова М.Я. Методы биохимической регистрации эндогенной инток-

сикации (сообщение второе). Эфферентная терапия. 1995. Т. 1. № 2. С. 61-64.

15. Малахова М.Я. Эндогенная интоксикация как отражение компенсаторной перестройки обменных процессов в организме. Эфферентная терапия. 2000. Т. 6. № 4. С. 3-14.

16. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. Москва: Медиа Сфера, 2002. С. 312.

17. Зубова С.Г., Окулов В.Б. Молекулярные механизмы действия фактора некроза опухолей α и трансформирующего фактора роста β в процессе ответа макрофага на активацию. Иммунология. 2001. № 5. С. 18-21.

18. Pender S.L., Tickle S.P., Docherty A.J. et al. A major role for matrix metalloproteinases in T cell injury in the gut. J Immunol. 1997. Vol. 158. P. 1582-1590.

19. Maiuri L. et al. Association between innate respons of gliadin and activation of pathogenetic T cell in coeliac disease. Lancet. 2003. Vol. 362. P. 30-37.

20. Przemioslo R.T., Kontakou M., Nobili V., Ciclitira P.J. Raised pro-inflammatory cytokines interleukin 6 and tumour necrosis factor alfa in celiac disease mucosa detected by immunohistochemistry. Gut. 1997. № 35. P. 1398-1403.