

© А. П. Быкова, И. В. Козлова, 2017
УДК 616.37-002-036.12:612.017.1:616.34-008.87]-092
DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2017.12044>
ISSN – 2073-8137

ЦИТОКИНЫ В СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ ТОЛСТОЙ КИШКИ И КИШЕЧНАЯ МИКРОБИОТА У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ПАНКРЕАТИТОМ

А. П. Быкова, И. В. Козлова

Саратовский государственный медицинский университет
имени В. И. Разумовского, Россия

CYTOKINES IN LARGE INTESTINE MUCOSA AND INTESTINAL MICROBIOTA IN PATIENTS WITH CHRONIC PANCREATITIS

Bykova A. P., Kozlova I. V.

Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, Russia

Изучены структурные особенности толстой кишки с анализом концентрации цитокинов в слизистой оболочке и состоянии кишечной микробиоты у пациентов с хроническим панкреатитом. В исследование включены 113 пациентов с хроническим панкреатитом. Проведен анализ частоты кишечной дисфункции, эндоскопических, морфологических изменений толстой кишки, определено количественное содержание цитокинов в колонобиоптатах: интерлейкина-2, интерлейкина-6, интерлейкина-8, определено состояние кишечной микробиоты. Установлено, что хронический панкреатит ассоциирован с функционально-структурными изменениями кишки. В слизистой оболочке кишки было повышено содержание всех провоспалительных цитокинов.

Ключевые слова: хронический панкреатит, толстая кишка, биопсия, провоспалительные цитокины, кишечный микробиом

The clinical and morphological features of the colon, concentration of cytokines large intestine mucosa and intestinal microbiota in patients with chronic pancreatitis were studied. The objects were 113 patients with chronic pancreatitis. The frequency of intestinal dysfunction, endoscopic and morphological changes in the colon mucosa and concentration of interleukin-2, interleukin-6 and interleukin-8 in the colon biopsy specimens were analysed. Chronic pancreatitis was associated with the functional and structural changes of the colon. The content of pro-inflammatory cytokines in the colon mucosa was increased.

Keywords: chronic pancreatitis, colon mucosa, biopsy, pro-inflammatory cytokines, colon microbiome

Хронический панкреатит (ХП) – хроническое непрерывно прогрессирующее заболевание поджелудочной железы (ПЖ) воспалительной природы, характеризующееся фиброзированием ткани органа и формированием экзокринной и эндокринной панкреатической недостаточности [1].

Распространенность ХП – 50 случаев на 100 000 населения, заболеваемость – 5–12 случаев в год на 100 000 [17]. В последние десятилетия отмечается рост заболеваемости ХП более чем в 2 раза, снижение среднего возраста заболевших до 39 лет [4, 5].

При длительности заболевания около 10 лет появляются признаки внешнесекреторной недостаточности ПЖ (ВСНПЖ). Один из механизмов ВСНПЖ – замещение соединительной тканью более 90–95 % стромы железы [12]. К диагностически значимым методам верификации ВСНПЖ относят определение уровня эластазы-1 в кале [14].

В последние годы все большее внимание клиницисты уделяют роли системного воспаления в развитии ХП [15]. Структурные и функциональные нарушения затрагивают не только ПЖ, но и другие органы желудочно-кишечного тракта: полость рта, пищевод,

желудок, кишечник [2]. Патология кишечника может поддерживать и усугублять ВСНПЖ [8].

Важная составляющая в поддержании гомеостаза – микробиота [10]. Максимальное по численности и разнообразию сообщество симбиотных микроорганизмов содержит желудочно-кишечный тракт: до 100 триллионов микроорганизмов и более 1000 различных видов бактерий [13]. Микробиота кишечника выполняет разнообразные функции, в том числе регулирует синтез биологически активных веществ, иммуноглобулинов, цитокинов [8].

Изменениям функций и структуры толстой кишки, кишечной микробиоте при ХП посвящены немногочисленные исследования [6, 9]. Содержание цитокинов в слизистой оболочке толстой кишки (СОТК) при ХП не изучено.

Цель исследования: изучить структурные особенности толстой кишки с анализом концентрации цитокинов в слизистой оболочке и состоянии кишечной микробиоты у пациентов с хроническим панкреатитом.

Материал и методы. В исследование включены 113 пациентов с ХП, из них 64 мужчины и 49 женщин.

Средний возраст пациентов составил $53,1 \pm 11,4$ года, длительность заболевания – $12,9 \pm 5,5$ лет. Контрольная группа – 30 здоровых лиц: 18 мужчин, 12 женщин, средний возраст $44,2 \pm 7,1$ года. Критерии исключения из исследования: онкологические заболевания, целиакия, кишечные инфекции и инвазии, воспалительные заболевания кишечника, дивертикулярная болезнь, прием слабительных, антидиарейных препаратов, антибиотиков в течение 2 месяцев до включения в исследование, хронические диффузные заболевания печени, отказ от участия в исследовании. Для постановки диагноза ХП использовалась этиологическая классификация TIGAR – O [11]. Пациенты были разделены на 2 группы: с токсико-метаболическим ХП (47,3 %) и с билиарным ХП (52,7 %). Токсико-метаболический ХП диагностирован с учетом данных анамнеза, результатов тестирования опросником AUDIT, при выявлении характерных соматических и лабораторных признаков хронической алкогольной интоксикации. Билиарная этиология ХП подтверждена сочетанием с желчнокаменной болезнью с наличием в анамнезе пациентов холецистэктомии. Структурные изменения ПЖ, выявленные в 100 % при УЗИ органов брюшной полости, у части пациентов ($n=72$) – при КТ или МРТ, оценивались в соответствии с Кембриджской классификацией (1983) (расширение и деформация протоковой системы ПЖ, изменение контура, размеров ПЖ, наличие кистозных образований, кальцинатов) [16].

Пациентам с ХП и признаками кишечной дисфункции проводилась колоноскопия аппаратом «Pentax» (Япония) и общеморфологическое исследование колонобиоптатов, иммуноферментный количественный анализ содержания ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8 в ткани СОТК. Стандартное морфологическое исследования колонобиоптатов выполнено с помощью окраски гематоксилином и эозином. Количественное определение (пг/мл) интерлейкина-2 (ИЛ-2), интерлейкина-6 (ИЛ-6), интерлейкина-8 (ИЛ-8) в биоптатах СОТК осуществлялось при использовании наборов «Вектор-Бест» (Новосибирск, Россия). Авторы выражают благодарность заведующему отделением лабораторной диагностики центра ДНК-исследований (Саратов, лаборатория «Кредо») к.м.н. Э. А. Федотову.

Для уточнения степени внешнесекреторной недостаточности ПЖ (ВСНПЖ) определялась фекальная эластаза методом ИФА в лаборатории KDL (Саратов, Россия). Содержание эластазы-1 в кале более 200 мкг/г кала трактовалось как нормальное, от 200 до 100 мкг/г – умеренная ВСНПЖ, менее 100 мкг/г – тяжелая.

Всем пациентам проводилось микробиологическое исследование кала [7] в соответствии с отраслевым стандартом «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» (приказ МЗ РФ № 231 от 09.06.2003).

Статистическая обработка данных проведена в программе Microsoft Excel пакета Microsoft Office 2013.

Исследование одобрено этическим комитетом университета.

Результаты и обсуждение. Симптомы кишечной диспепсии у больных с ХП приведены в таблице 1. Выявлены жалобы на вздутие живота у 84 (74,3 %), боли в животе, связанные с актом дефекации, – у 39 (34,5 %) пациентов. При пальпации определялась болезненность различной локализации по ходу кишечника у 59 (52,2 %) больных. Диарея выявлена у 53 (46,5 %) пациентов, запоры – у 11 (9,6 %), у 26 (23 %) – примесь слизи в кале. Как видно из приведенных в таблице данных, пациенты с токсико-метаболическим ХП чаще имели проявления кишечной дисфункции.

Таблица 1

Частота клинических симптомов
кишечной диспепсии у пациентов
с хроническим панкреатитом

Клинические симптомы	Билиарный ХП $n=58$	Токсико-метаболический ХП $n=55$
Метеоризм	37 (63,8 %)	47 (85,5 %)*
Болезненность при пальпации по ходу кишечника	24 (41,4 %)	35 (63,63 %)*
Боли в животе при дефекации	18 (31 %)	21 (38,2 %)
Диарея	21 (36,2 %)	32 (58,2 %)*
Примесь слизи в кале	11 (19 %)	15 (27,3 %)
Запоры	3 (6,9 %)	8 (14,5 %)*
Отсутствие симптомов	9 (15,5 %)	4 (7,3 %)

* $p < 0,05$ в сравнении с билиарным ХП.

Снижение уровня фекальной эластазы обнаружено у 80,5 % пациентов, при этом умеренная степень – у 47 (41,6 %), значимое снижение – у 44 (38,9 %). У 22 больных (19,5 %) уровень фекальной эластазы соответствовал нормальным значениям.

При колоноскопии изменения СОТК по типу катарального колита обнаружены у 41 (74,5 %) пациента с токсико-метаболическим ХП, у 36 (62 %) – с билиарным ХП, а именно: гиперемия СОТК (59,3 %), сглаженность сосудистого рисунка (45,1 %), отек слизистой (58,4 %).

Микроструктурные изменения в колонобиоптатах выявлены у 92 (81,4 %) исследуемых: лимфоплазматическая инфильтрация – 76 (67,3 %), разрастание соединительнотканых волокон – 45 (39,8 %), пролиферация капилляров слизистой – 32 (28,3 %), редукция крипт – 29 (25,7 %), микроэрозии – 13 (1,5 %). В группе пациентов с тяжелой степенью ВСНПЖ изменения в колонобиоптатах были выражены сильнее: чаще определялась лимфоплазматическая инфильтрация – 39 (88,6 %), нейтрофильная инфильтрация – 17 (38,6 %), обилие соединительнотканых элементов в слизистой – 29 (65,9 %) и выраженная редукция крипт в ткани толстой кишки – 23 (52,3 %), микроэрозии – 9 (20,45 %). В то же время отсутствие симптомов кишечной диспепсии и видимых эндоскопических изменений не исключало отсутствие патологии кишки на микроструктурном уровне.

Данные количественной оценки содержания цитокинов в ткани слизистой оболочки толстой кишки представлены в таблице 2.

Таблица 2

Содержание цитокинов в колонобиоптатах
у пациентов с хроническим панкреатитом

Цитокин	Билиарный ХП $n=58$	Токсико-метаболический ХП $n=55$	Группа контроля $n=30$
ИЛ-2	$16,24 \pm 3,97^*$	$20,34 \pm 5,74^*$	$9,6 \pm 2,36$
ИЛ-6	$3,65 \pm 1,44^*$	$4,89 \pm 1,81^*$	$1,19 \pm 0,31$
ИЛ-8	$300,7 \pm 82,75^*$	$351,78 \pm 92,11^*$	$164 \pm 52,33$

* $p < 0,05$ в сравнении с контролем.

У всех пациентов независимо от этиологии ХП количественное содержание цитокинов ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8 в СОТК было увеличено ($p < 0,05$). У больных с токсико-метаболическим ХП получены более высокие значения соответствующих провоспалительных цитокинов по сравнению с данными при билиарном ХП.

На рисунке отображены показатели кишечной микробиоты у пациентов с хроническим панкреатитом.

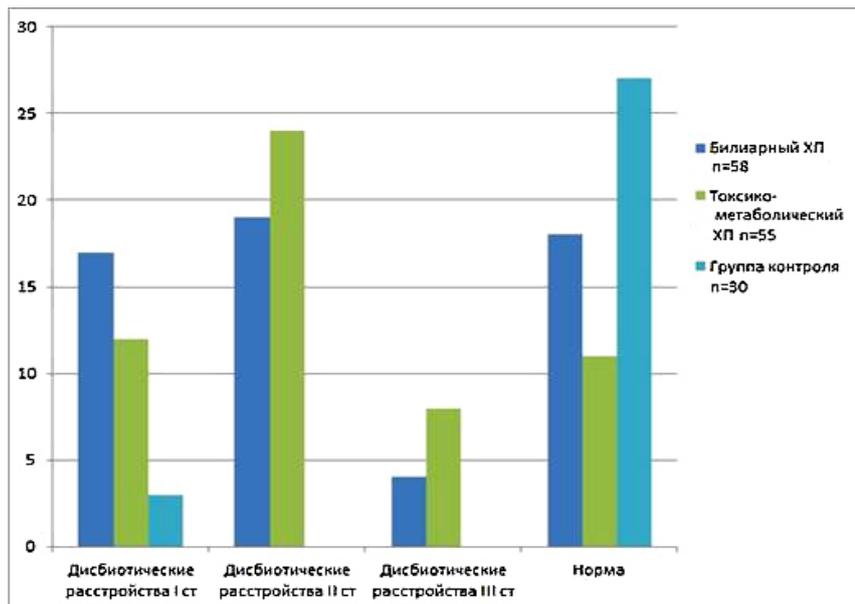


Рис. Показатели кишечной микробиоты у пациентов с хроническим панкреатитом

Изменения микробиоты были выявлены у 84 (74,3 %) пациентов. Дисбиотические расстройства I степени выявлены у 29 (25,6 %), чаще всего определялась II степень – у 43 (38,1 %), III степени – у 12 (10,6 %). Количественный состав кишечной микробиоты характеризовался пролиферацией энтерококков, клостридий, бактероидов, появлением гемолитических штаммов *E. coli*. Содержание бифидобактерий и лактобактерий было снижено. Изменение кишечной микробиоты обнаруживалось у 27 (39,1 %) пациентов с нормальной или умеренно сниженной экзокринной функцией – ПЖ, дисбиоз III степени в этой группе не выявлен. У пациентов с тяжелой ВСНПЖ нарушения микробиоты кишечника подтверждены у 42 (95,5 %), из них у 18,2 % определена III степень дисбиоза, чаще обнаруживаемая у пациентов с токсико-метаболическим ХП.

Клинико-морфологические признаки патологии толстой кишки обнаруживались чаще у пациентов

с токсико-метаболическим ХП. Значимый фактор, определяющий наличие и выраженность патологии толстой кишки, – длительность анамнеза ХП и степень тяжести ВСНПЖ. Изменение содержания цитокинов в СОТК может быть одним из проявлений системного воспаления при ХП. По мере прогрессирования экзокринной недостаточности происходит изменение состава кишечной микробиоты, которое, в свою очередь, способно усугублять течение ХП [10, 16].

Выводы

1. При хроническом панкреатите возникают структурно-функциональные изменения толстой кишки, более выраженные у пациентов с токсико-метаболической этиологией заболевания.

2. Эндоскопические изменения толстой кишки выявлены у 68,1 % пациентов с хроническим

панкреатитом, морфологические – у 81,4 %.

3. Содержание провоспалительных цитокинов в слизистой оболочке толстой кишки у пациентов с различными этиологическими формами хронического панкреатита достоверно повышено.

4. С увеличением длительности заболевания и прогрессирования внешнесекреторной недостаточности поджелудочной железы учащаются и утяжеляются структурно-функциональные изменения толстой кишки.

5. У 74,3 % пациентов с хроническим панкреатитом диагностированы нарушения микробиоты, преимущественно I и II степени, которые характеризуются уменьшением числа представителей облигатной микрофлоры, пролиферацией условно-патогенных микроорганизмов. Нарушения микробиоты III степени выявлены у пациентов с тяжелой внешнесекреторной недостаточностью, преимущественно при хроническом панкреатите токсико-метаболической этиологии.

Литература

1. Бордин, Д. С. Рекомендации научного общества гастроэнтерологов России по диагностике и лечению хронического панкреатита (приняты 11-м съездом НОГР 2 марта 2011 года на заседании Российского панкреатического клуба) / Д. С. Бордин // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2011. – № 7. – С. 122–129.
2. Быкова, А. П. Механизмы развития и особенности патологии органов желудочно-кишечного тракта при хроническом панкреатите / А. П. Быкова, И. В. Козлова // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2016. – № 11. – С. 69–75.
3. Губергриц, Н. Б. Панкреатит при заболеваниях кишечника / Н. Б. Губергриц, Г. М. Лукашевич, О. А. Голубова, П. Г. Фоменко // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2010. – № 8. – С. 27–34.
4. Ивашкин, В. Т. Рекомендации российской гастроэнтерологической ассоциации по диагностике и лечению хронического панкреатита / Ивашкин, И. В. Маев, А. В. Охлобыстин [и др.] // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2014. – № 4. – С. 70–97.
5. Козлова, И. В. Современный пациент гастроэнтерологического профиля: штрихи к клиническому портрету / И. В. Козлова, А. Л. Пахомова // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2015. – № 6. – С. 4–10.
6. Мингазова, С. К. Показатели цитокинового воспаления при хроническом панкреатите / С. К. Мингазова, А. Р. Хасанова, А. Э. Нигматуллина [и др.] // Медицинский вестник Башкортостана. – 2012. – № 6. – С. 49–52.

7. Русин, В. И. Дисбиоз толстой кишки и иммунологические нарушения у пациентов с псевдокистами поджелудочной железы / В. И. Русин, Е. С. Сирчак, С. С. Филип, П. Ф. Серветник // Хирургия. Восточная Европа. – 2016. – № 4. – С. 545–552.
8. Сабельникова, Е. А. Клинические аспекты дисбактериоза кишечника / Е. А. Сабельникова // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2011. – № 3. – С. 111–116.
9. Сираева, А. С. Показатели колонизационной резистентности толстой кишки у больных хроническим панкреатитом / А. С. Сираева, Л. П. Фаизова // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2014. – № 5. – С. 21–26.
10. Blaser, M. J. The microbiome revolution / M. J. Blaser // J. Clin. Invest. – 2014. – № 10. – P. 4162–4165. doi: 10.1172/JCI78366
11. Etemad, B. Chronic pancreatitis: diagnosis, classification, and new genetic developments / B. Etemad, D. C. Whitcomb // Gastroenterology. – 2001. – Vol. 120, № 3. – P. 682–707.
12. Hoffmeister, A. S3-Leitlinie: Chronische Pankreatitis: Definition, Ätiologie, Diagnostik und konservative, interventionell endoskopische und operative Therapie der chronischen Pankreatitis. Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten (DGVS) / A. Hoffmeister, J. Mayerle, C. Beglinger [et al.] // AWMF-online. – 2012. – P. 115. – Available at: http://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/021-003k_S3_Chronische_Pankreatitis_08-2012.pdf
13. Leal-Lopes, C. Roles of Commensal Microbiota in Pancreas Homeostasis and Pancreatic Pathologies / C. Le-

- al-Lopes, F. J., Velloso, J. C., Campopiano [et al.] [Published online] // *J. Diabet. Res.* – 2015. – P. 20. – Available at: <https://www.hindawi.com/journals/jdr/2015/284680/>
14. Mattar, R. Comparison of fecal elastase 1 for exocrine pancreatic insufficiency evaluation between ex-alcoholics and chronic pancreatitis patients / R. Mattar, G. A. Lima, M. Z. da Costa [et al.] // *Arquivos Gastroenterol.* – 2014. – Vol. 51, № 4. – P. 297–301. doi: 10.1590/S0004-28032014000400006
 15. Raghuvansh, P. S. New Insulin into the Pathogenesis of Pancreatitis / P. S. Raghuvansh, K. D. Rajinder, K. S. Ashok // *Curr. Opin. Gastroenterol.* – 2013. – Vol. 29, № 5. – P. 523–530. doi: 10.1097/MOG.0b013e328363e399
 16. Sarner, M. Classification of pancreatitis / M. Sarner, P. B. Cotton // *Gut.* – 1984. – № 25. – P. 756–759.
 17. Yadav, D. The epidemiology of pancreatitis and pancreatic cancer / D. Yadav, A. B. Lowenfels // *Gastroenterol.* – 2013. – Vol. 144, № 6. – P. 1252–1261. doi: 10.1053/j.gastro.2013.01.068

Referenses

1. Bordin D. S. *Jeksperimental'naja i klinicheskaja gastrojenterologija.* – *Experimental and clinical gastroenterology.* 2011;7:122-129.
2. Bykova A. P., Kozlova I. V. *Jeksperimental'naja i klinicheskaja gastrojenterologija.* – *Experimental and clinical gastroenterology.* 2016;11:69-75.
3. Gubergric N. B., Lukashovich G. M., Golubova O. A., Fomenko P. G. *Jeksperimental'naja i klinicheskaja gastrojenterologija.* – *Experimental and clinical gastroenterology.* 2010;8:27-34.
4. Ivashkin V. T., Maev I. V., Ohlobystin A. V., Kucherjavij Ju. A., Truhmanov A. S., Sheptulin A. A., Shifrin O. S., Lapina T. L., Osipenko M. F., Simanenkova V. I., Hlynov I. B., Alekseenko S. A., Alekseeva O. P., Chikunova M. V. *Rossijskij zhurnal gastrojenterologii, gepatologii, koloproktologii.* – *Russian magazine of gastroenterology, Hepatology, Coloproctology.* 2014;4:70-97.
5. Kozlova I. V., Pahomova A. L. *Jeksperimental'naja i klinicheskaja gastrojenterologija.* – *Experimental and clinical gastroenterology.* 2015;6:4-10.
6. Mingazova S. K., Hasanova A. R., Nigmatullina A. Je., Musin A. G., Mutalova Je. G., Mingazetdinova L. N. *Medicinskij vestnik Bashkortostana.* – *Medical journal of Bashkortostan.* 2012;6:49-52.
7. Rusin V. I., Sirchak E. S., Filip S. S., Servetnik P. F. *Hirurgija. Vostochnaja Evropa.* – *Surgery. Eastern Europe.* 2016;4:545-552.
8. Sabel'nikova E. A. *Jeksperimental'naja i klinicheskaja gastrojenterologija.* – *Experimental and clinical gastroenterology.* 2011;3:111-116.
9. Siraeva A. S., Faizova L. P. *Jeksperimental'naja i klinicheskaja gastrojenterologija.* – *Experimental and clinical gastroenterology.* 2014;5:21-26.
10. Blaser M. J. *J. Clin. Invest.* 2014;10:4162-4165.
11. Etamad B., Whitcomb D. C. *Gastroenterology.* 2001;120(3):682-707.
12. Hoffmeister A., Mayerle J., Beglinger C., Büchler M. W., Büfler P., Dathke K., Friess H., Fölsch U., Izbicki J., Kahl S., Klar E., Keller J., Knoefel W. T., Luyer P., Lühr M., Meier R., Riemann J. F., Rünzi M., Schmid R. M., Schreyer A., Tribl B., Werner J., Witt H., Mössner J., Lerch M. M. *AWMF-online* 2012:115. Available at: <https://www.hindawi.com/journals/jdr/2015/284680/>
13. Leal-Lopes C., Velloso F. J., Campopiano J. C., Sogayar M. C., Correa R. G. *Journal of Diabetes Research.* 2015:20. Available at: <https://www.hindawi.com/journals/jdr/2015/284680/>
14. Mattar R., Lima G. A., da Costa M. Z., Silva-Etto J. M., Guarita D., Carrilho F. J. *Arquivos Gastroenterol.* 2014;51(4):297-301. doi: 10.1590/S0004-28032014000400006
15. Raghuvansh P. S., Rajinder K. D., Ashok K. S. *Curr. Opin. Gastroenterol.* 2013;29(5):523-530. doi: 10.1097/MOG.0b013e328363e399
16. Sarner M., Cotton P. B. *Gut.* 1984;25:756-759.
17. Yadav D., Lowenfels A. B. *Gastroenterol.* 2013;144(6):1252-1261. doi: 10.1053/j.gastro.2013.01.068

Сведения об авторах:

Быкова Анна Павловна, аспирант кафедры терапии; тел.: 89172163616; e-mail: vulpesruber@yandex.ru

Козлова Ирина Вадимовна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой; тел.: 89272770901; e-mail: kozlova@inbox.ru

© Коллектив авторов, 2017

УДК 616.62-008.22-053.2/.5

DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2017.12045>

ISSN – 2073-8137

ДИСПЛАЗИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ КАК ФОНОВОЕ СОСТОЯНИЕ У ДЕТЕЙ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ОРГАНОВ МОЧЕВОЙ СИСТЕМЫ

А. С. Калмыкова, Н. А. Федько, В. А. Бондаренко, Н. В. Зарытовская,
О. И. Галимова, А. Н. Медведева

Ставропольский государственный медицинский университет, Россия

DISSOLUTION OF CONNECTIVE FABRIC AS BACKGROUND STATE IN CHILDREN WITH DISEASES OF URINARY SYSTEM ORGANS

Kalmykova A. S., Fedko N. A., Bondarenko V. A., Zarytovskaya N. V.,
Galimova O. I., Medvedeva A. N.

Stavropol State Medical University, Russia

Обследованы 215 детей и подростков с заболеваниями мочевой системы в возрасте 6–16 лет. Для оценки частоты и характера внешних стигм дизэмбриогенеза изучали 56 признаков, среднее число которых у детей с заболеваниями мочевой системы составило 7,95. В структуре висцеральных проявлений НСДСТ преобладали