

УДК 616-053.3-056.43-07: 613.287

DOI: 10.17238/PmJ1609-1175.2016.4.19-22

## Совершенствование диагностики аллергии к белкам коровьего молока у детей грудного возраста

Т.А. Шуматова<sup>1</sup>, С.Н. Шишацкая<sup>1</sup>, Е.С. Зернова<sup>1</sup>, А.Н. Ни<sup>1</sup>, Э.Ю. Катенкова<sup>1</sup>, Н.Г. Приходченко<sup>1</sup>, Л.А. Григорян<sup>1</sup>, С.В. Егорова<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Тихоокеанский государственный медицинский университет (690950, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2),

<sup>2</sup> Краевой клинический центр специализированных видов медицинской помощи (690091, г. Владивосток, ул. Уборевича, 30/37)

Обследованы 60 детей первого года жизни с подозрением на аллергию к белкам коровьего молока (АБКМ): 30 детей с АБКМ и 30 детей с вторичной лактазной недостаточностью. Проводили оценку клинических симптомов с помощью инструмента CoMiSS, интенсивность кожного синдрома оценивали на основе индекса SCORAD, в копрофильтратах определяли эндогенные белки и пептиды:  $\beta$ -дефензин 2, зонулин, эозинофильный катионный протеин. Показано, что широкое использование CoMiSS и шкалы SCORAD медицинскими работниками первичного звена позволит на начальном этапе отбирать детей с подозрением на АБКМ. Внедрение в повседневную клиническую практику биомаркеров, определяемых в копрофильтратах, предоставит возможность улучшить диагностику данного заболевания, избегая инвазивных методов исследования и провокационных диет.

*Ключевые слова:* лактазная недостаточность, эндогенные белки и пептиды, CoMiSS, SCORAD.

Аллергия к белкам коровьего молока (АБКМ), являясь самым распространенным аллергическим заболеванием среди детей первого года жизни, может носить системный характер с поражением кожи, органов желудочно-кишечного и респираторного трактов. Несвоевременная диагностика АБКМ способствует возникновению полидефицитных состояний и нарушениям физического и нервно-психического развития детей [3, 4, 12]. У младенцев ранняя постановка диагноза часто затруднительна ввиду неспецифичности проявлений АБКМ, а также схожести ее клинической симптоматики с проявлениями ряда других заболеваний. До настоящего времени вопросы лабораторной диагностики данного вида аллергии остаются предметом дискуссий, поскольку здесь не существует каких-либо специфичных и надежных диагностических тестов [1, 7, 11]. Широкое внедрение в практику здравоохранения новых методов диагностики у детей грудного возраста вызывает определенные трудности, связанные с инвазивностью манипуляций. Указанные проблемы актуальны и для мировой педиатрической практики. С целью улучшения информированности педиатров о первичных симптомах АБКМ группой ведущих специалистов-экспертов для распознавания и оценки симптомов, возникающих при употреблении коровьего молока у детей, была разработана клиническая шкала CoMiSS [11]. По мнению авторов, использование данной шкалы должно способствовать совершенствованию отбора пациентов для проведения дифференциальной диагностики с заболеваниями со схожими клиническими проявлениями и для подтверждения аллергической природы нарушений, то есть улучшать постановку предварительного диагноза. Однако для подтверждения и постановки клинического

диагноза во многих случаях необходимо применение инвазивных методов лабораторной диагностики. Следовательно, разработка и внедрение в клиническую практику неинвазивной верификации АБКМ у детей первого года жизни является актуальной задачей. Особенное значение имеет диагностика данной патологии на ранней стадии развития, при наличии изолированной гастроинтестинальной симптоматики без признаков поражения кожи. Совершенствование ранней диагностики АБКМ позволит своевременно назначить адекватную терапию, предупредить развитие дефицитных состояний и белково-энергетической недостаточности.

Цель исследования: проанализировать возможности использования оценочной клинической шкалы CoMiSS и неинвазивного определения эндогенных пептидов в копрофильтратах для повышения качества диагностики аллергии к белкам коровьего молока у детей грудного возраста.

### Материал и методы

Проведено клиническое наблюдение и лабораторное обследование 60 детей первого года жизни с подозрением на АБКМ. Для решения поставленных задач все пациенты были разделены на две группы. В 1-ю группу было включено 30 детей с диагностированной АБКМ. Диагностика осуществлялась в соответствии с современными нормативными документами: клинические рекомендации по оказанию медицинской помощи детям с аллергией к белкам коровьего молока (2015), рекомендации ESPGAN (2012) и EAACI (2014) [2, 9, 10]. Пациенты этой группы имели отягощенный аллергоанамнез, у них определяли рецидивирующие высыпания на коже, неустойчивый стул, вздутие живота, кишечные колики, срыгивание, беспокойство

после кормления, недостаточные прибавки в массу тела. 2-ю группу сформировали 30 пациентов аналогичного возраста с клиникой неустойчивого стула, задержкой стула, беспокойством после кормления, немотивированным плачем в течение дня, срыгиванием, вздутием живота, кишечными коликами. Родители детей, вошедших во 2-ю группу, указывали на наличие у себя и/или ближайших родственников в анамнезе различных аллергических заболеваний. В результате комплексного обследования пациентам данной группы был подтвержден диагноз вторичной лактазной недостаточности. Группу контроля составили 20 здоровых детей соответствующего возраста.

Тяжесть кожных проявлений у наблюдаемых пациентов оценивалась согласно индексу SCORAD (Severity Scoring of Atopic Dermatitis), рассчитанному по формуле:

$$A/5 + 7 \times B/2 + C,$$

где А – площадь пораженной кожи в %; В – сумма баллов объективных признаков (эритема, отек, мокнутие, эксфолиация, лихенификация, сухость); С – сумма баллов субъективных признаков (зуд, потеря сна). Легкой формы поражения кожи соответствует SCORAD до 20 баллов, среднетяжелой – 20–40 баллов, тяжелой – более 40 баллов.

Характер стула определяли по Бристольской шкале. Каждому типу стула присваивались баллы: 1-й и 2-й типы – твердый стул (4 балла), 3-й и 4-й типы – нормальный стул (0 баллов), 5-й тип – мягкий стул (2 балла), 6-й тип – жидкий стул, несвязанный с инфекцией (4 балла), 7-й тип – водянистый стул (6 баллов).

Оценку клинических симптомов в группах проводили с помощью шкалы CoMiSS. Каждый из ее параметров оценивали по 6-балльной шкале, суммарное число баллов – от 0 до 33. Если сумма баллов оказывалась меньше 12, диагноз АБКМ был маловероятен, если общая сумма баллов больше или равна 12, то диагноз АБКМ вероятен, и выявленные симптомы, скорее всего, связаны с употреблением коровьего молока [5, 11].

У всех обследованных в копрофильтратах определяли содержание эндогенных белков и пептидов – β-дефензина 2, зонулина и эозинофильного катионного протеина (ЭКП) – методом энзим-связанного иммуносорбентного анализа с использованием реактивов фирмы Immundiagnostik (Германия) на иммуноферментном автоматическом двухпланшетном анализаторе EVOLIS Twin Plus производства Bio-Rad (США). Полученные данные обработаны методом вариационной статистики. Результаты принимались как достоверные при  $p < 0,05$ .

Исследование проводилось в два этапа. На первом, согласно инструменту CoMiSS, была осуществлена оценка ведущих клинических симптомов, на втором – в копрофильтратах определяли содержание эндогенных белков и пептидов.

## Результаты исследования

В соответствии с индексом SCORAD установлено, что у 27 детей (90%) 1-й группы кожные проявления встречались в легкой и среднетяжелой форме, два ребенка имели тяжелую форму дерматита, и у одного выявлена изолированная гастроинтестинальная форма АБКМ. Во 2-й группе (вторичная лактазная недостаточность) 18 детей (60%) не имели поражения кожи, у 9 (30%) регистрировали легкие проявления атопического дерматита с преимущественной локализацией процесса на лице, шее, и только у 3 детей (10%) диагностированы среднетяжелые формы кожного синдрома. В группе здоровых детей поражения кожи отсутствовали.

При оценке характера стула в соответствии с Бристольской шкалой в 1-й группе выявлены следующие закономерности. У 10 детей (34%) преобладали запоры (1-й и 2-й типы формы кала), 15 детей (50%) имели жидкий стул (6-й и 7-й типы), и у 5 детей (16%) зафиксирован 5-й тип формы кала. Во 2-й группе водянистый стул (6-й и 7-й типы) определен в 18 случаях (60%), запоры (1-й и 2-й типы) регистрировались у 10 (33%) и размягчение стула – у 2 (7%) детей. Представители контрольной группы на момент обследования имели 4-й и 5-й типы формы кала.

При анализе выраженности клинических симптомов, характерных для АБКМ, в 1-й и 2-й группах суммарное количество баллов по шкале CoMiSS оказалось выше, чем в контроле, но между группами значимо не различалось. Расхождения в степени выраженности таких симптомов, как продолжительность плача, срыгивания, нарушения стула у детей 1-й и 2-й групп оказались недостоверными, а симптомы поражения кожи чаще встречались в 1-й группе. Поражение респираторного тракта не зарегистрировано ни у одного ребенка с вторичной гиполактазией (табл. 1). Это соответствует традиционным представлениям о схожести клинических проявлений пищевой аллергии и вторичной лактазной недостаточности у детей грудного возраста, особенно на начальной фазе заболевания. Следовательно, для подтверждения диагноза АБКМ возникает необходимость дальнейших диагностических мероприятий.

Таблица 1

Оценка клинических симптомов у детей с подозрением на АБКМ

Клинические симптомы	Шкала CoMiSS, баллы (M±m)		
	1-я группа	2-я группа	Контроль
Плач	4,23±0,89 <sup>1</sup>	2,00±1,83	0,75±0,85
Срыгивания	1,63±1,52	1,96±1,32	0,90±0,85
Изменения стула	4,06±1,23 <sup>1</sup>	4,66±0,96 <sup>1</sup>	0,60±0,94
Кожные симптомы	3,06±1,05 <sup>1,2</sup>	0,86±1,30 <sup>1</sup>	0
Респираторные симптомы	0,16±0,46	0	0
Сумма баллов:	13,10±2,49 <sup>1</sup>	10,85±1,98 <sup>1</sup>	2,70±1,44

<sup>1</sup> Разница с группой контроля статистически значима.

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

Таблица 2

Содержание эндогенных пептидов и белков в копрофильтраатах

Пептиды и белки	Содержание в копрофильтраатах, нг/мл (M±m)		
	1-я группа	2-я группа	Контроль
β-дефензин 2	39,12±4,32 <sup>1</sup>	28,01±3,74	21,96±3,06
Зонулин	1,75±0,16 <sup>1,2</sup>	1,16±0,15 <sup>1</sup>	0,75±0,01
ЭКП	518,74±63,17 <sup>1,2</sup>	176,93±22,59	192,50±21,15

<sup>1</sup> Разница с группой контроля статистически значима.<sup>2</sup> Разница со 2-й группой статистически значима.

На втором этапе исследования было показано, что увеличение содержания β-дефензина 2 в копрофильтраатах характерно только для детей с АБКМ (1-я группа). Концентрация пептида зонулина в копрофильтраатах у детей 1-й группы была в 1,5 раза выше, чем у детей 2-й группы (гиполактазия) и в 2,3 раза выше показателей контроля. Уровень ЭКП у пациентов с АБКМ в 2,9 раза превышал таковой у детей с вторичной гиполактазией и был в 2,7 раза выше показателей, характерных для здоровых детей (табл. 2) Следовательно, учитывая, что длительно нераспознанный синдром мальабсорбции ведет к формированию несостоятельности естественных барьеров слизистой оболочки желудка и кишечника, обуславливая нарушения водно-электролитного баланса и развитие белково-энергетической недостаточности, определение β-дефензина 2, зонулина и ЭКП в копрофильтраатах может быть рекомендовано для неинвазивного мониторинга аллергического воспаления в кишечнике на ранних стадиях заболевания еще до развития полидефицитных состояний [8].

#### Обсуждение полученных данных

Диагностика АБКМ у детей раннего возраста по-прежнему вызывает бурные дискуссии среди педиатров и аллергологов ввиду отсутствия универсальных диагностических тестов. В 2014 г. на базе педиатрического отделения Брюссельского университета проводился научный семинар, в ходе которого ведущие клиницисты-эксперты разных стран в области детской гастроэнтерологии и аллергологии разработали и утвердили оценочную шкалу CoMiSS, предназначенную для улучшения диагностики АБКМ. Предварительные итоги клинических исследований с использованием данной шкалы показывают, что прогностическая ценность этого инструмента в общей детской популяции достигает 80% [6]. Шкала CoMiSS облегчает постановку предварительного диагноза, способствуя отбору пациентов для проведения дальнейшей дифференциальной диагностики. Полученные нами данные по применению этой шкалы свидетельствуют о схожести клинической симптоматики АБКМ и вторичной лактазной недостаточности у детей грудного возраста. Не установлено статистически достоверных различий суммарной оценки выраженности клинических симптомов между группами младенцев с АБКМ и лактазной недостаточностью. Это говорит о малой эффективности инструмента

CoMiSS для диагностики АБКМ у детей грудного возраста. Следовательно, его клинические критерии не являются универсальными и требуют дальнейшего совершенствования.

В педиатрической практике для постановки диагноза АБКМ, как правило, требуются инвазивные методы лабораторной диагностики. При поражении желудочно-кишечного тракта особое место занимают лабораторные тесты, оценивающие повреждение слизистой оболочки путем оценки кишечной проницаемости. Наше исследование показало, что определение содержания β-дефензина 2, зонулина и ЭКП в копрофильтраатах можно использовать для неинвазивного мониторинга АБКМ у детей грудного возраста. Увеличение концентрации данных пептидов при интолерантности к белку коровьего молока свидетельствует о более глубоких и длительных изменениях в слизистой оболочке тонкой кишки при этом заболевании, по сравнению с вторичной гиполактазией.

#### Заключение

Инструмент CoMiSS улучшает постановку предварительного диагноза АБКМ у детей раннего возраста, способствует отбору пациентов для проведения дальнейшей дифференциальной диагностики. Совместное применение оценки кожного синдрома и индекса SCORAD, шкалы CoMiSS и определения содержания в копрофильтраатах β-дефензина 2, зонулина и ЭКП облегчает диагностику АБКМ у младенцев. Внедрение в повседневную клиническую практику биомаркеров, определяемых в копрофильтраатах, позволит улучшить диагностику данного заболевания, избегая инвазивных методов исследования и провокационных диет.

#### Литература

- Вишнева Е.А., Намазова-Баранова Л.С., Турти Т.В. [и др.]. Аллергия к белкам коровьего молока. Подходы и алгоритмы лечения // Вопросы современной педиатрии. 2012. Т. 11, № 3. С. 65–69.
- Диагностика и лечение аллергии к белкам коровьего молока у детей грудного и раннего возраста: практические рекомендации / под ред. А.А. Баранова, Л.С. Намазовой-Барановой, Т.Э. Боровик, С.Г. Макаровой. М.: Педиатр, 2014. 48 с.
- Казюкова Т.В. Аллергия к белкам коровьего молока: стратегия выбора лечебного питания (обзор литературы) // Эффективная фармакотерапия. Педиатрия. 2013. № 3. С. 31–34.
- Макарова С.Г., Намазова-Баранова Л.С., Боровик Т.Э. [и др.]. Гастроинтестинальные проявления аллергии на белок коровьего молока у детей // Медицинский совет. 2014. № 1. С. 28–34.
- Петровская М.И., Намазова-Баранова Л.С., Винярская И.В. [и др.]. Лингвистическая ратификация и оценка психометрических свойств русскоязычной версии специализированного вопросника flir для оценки качества жизни членов семьи ребенка с пищевой аллергией: первые результаты // Педиатрическая фармакология. 2015. Т. 12, № 6. С. 651–656.
- CoMiSS – инструмент, позволяющий повысить осведомленность о симптомах аллергии на белок коровьего молока и оценить их эволюцию // Вопросы современной педиатрии. 2016. Т. 15, № 1. С. 112.
- Шуматова Т. А., Приходченко Н. Г., Ефремова И. В. [и др.]. Клинико-лабораторный анализ энтеральной нутритивной поддержки детей с тяжелыми формами нарушения кишечного всасывания // Тихоокеанский мед. журнал. 2013. № 1. С. 38–41.

8. Шумагова Т. А., Шишацкая С. Н., Зернова Е. С. [и др.]. Современные маркеры в диагностике пищевой непереносимости у детей грудного возраста // Тихоокеанский медицинский журнал. 2015. № 3. С. 55–58.
9. Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines. EAACI, 2014. 278 p.
10. Koletzko S., Niggemann B., Arato A. [et al.]. Diagnostic approach and management of cow's milk protein allergy in infants and children: ESPGHAN GI committee practical guidelines // J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2012. Vol. 55. No. 2. P. 221–229.
11. Vandenplas Y., Dupont C., Eigenmann P. [et al.]. A workshop report on the development of the Cow's Milk-related Symptom Score awareness tool for young children // Acta Paediatr. 2015. Vol. 104, No. 4. P. 334–339. doi: 10.1111/apa.12902.
12. Vandenplas Y., Marchand J., Meyns L. Symptoms, diagnosis, and treatment of cow's milk allergy // Curr. Pediatr. Rev. 2015. Vol. 11, No. 4. P. 293–297.

Поступила в редакцию 20.07.2016.

#### IMPROVING THE DIAGNOSIS OF COW'S MILK PROTEIN ALLERGY IN INFANTS

T.A. Shumatova<sup>1</sup>, S.N. Shishatskaya<sup>1</sup>, E.S. Zernova<sup>1</sup>, A.N. Ni<sup>1</sup>, E.Yu. Katenkova<sup>1</sup>, N.G. Prikhodchenko<sup>1</sup>, L.A. Grigoryan<sup>1</sup>, S.V. Egorova<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Pacific State Medical University (2 Ostryakova Ave. Vladivostok 690950 Russian Federation), <sup>2</sup> Regional Clinical Center of Specialized Medical Care (30/37 Ubovichka St. Vladivostok 690091 Russian Federation)

**Objective.** The research objective is to analyze the possibilities of using the rating clinical scale CoMiSS and the determination of endogenous proteins and peptides in coprofiltrates for the improvement of diagnosis of cow's milk protein allergy (CMPA) in infants.

**Methods.** The study included 60 infants of the first year of life with suspected CMPA: 30 infants with CMPA (the 1<sup>st</sup> group), and 30 infants with the secondary lactase deficiency (the 2<sup>nd</sup> group). The control group included 20 healthy infants. We assessed clinical symptoms using CoMiSS instrument and cutaneous syndrome based on SCORAD index, determined in coprofiltrates endogenous proteins and peptides:  $\beta$ -defensin 2, zonulin, eosinophilic cationic protein.

**Results.** In the monitoring groups the total number of points on the scale CoMiSS the score was higher than in the control group, but not significantly different between groups. The differences in the severity of symptoms of lactase deficiency were also unreliable and symptoms of skin lesions were more common in the 1<sup>st</sup> group. The defeat of the respiratory tract is not registered in any of the child with a secondary hypolactasia. An increase in the  $\beta$ -defensin 2 in coprofiltrates was typical only for children with the CMPA, zonulin content in children of the 1<sup>st</sup> was 1.5 higher than that of children in the 2<sup>nd</sup> group, and 2.3 times higher than the control parameters. The level of eosinophil cationic protein in patients with the CMPA was 2.9 times higher than that of children in the 2<sup>nd</sup> group, and it was 2.7 times higher than in healthy children.

**Conclusions.** The widespread use of SCORAD index and the tool CoMiSS, and the analysis of the content of endogenous proteins and peptides in coprofiltrates can improve the diagnosis of the CPMA in infants by avoiding invasive research methods and provocative diets.

**Keywords:** lactase deficiency, endogenous proteins and peptides, CoMiSS, SCORAD.

Pacific Medical Journal, 2016, No. 4, p. 19–22.

УДК 618.177/.39-06:616-056.43-085

DOI: 10.17238/PmJ1609-1175.2016.4.22–25

## Некоторые иммунологические механизмы невынашивания беременности и бесплодия при полинозе и возможные пути их коррекции

Г.И. Цывкина, Н.В. Григорьева, Г.А. Луценко, О.В. Петрова

Краевой клинический центр современных видов медицинской помощи (690091, г. Владивосток, ул. Убоевича, 30/37)

Обследованы 22 женщины с полинозом, имевшие в анамнезе эпизоды невынашивания беременности, и 31 женщина с полинозом, но без отягощенного акушерского анамнеза. Изменения иммунологических параметров у пациенток с полинозом имели схожую клиническую картину. Однако в группе с привычным невынашиванием беременности отмечалась высокая активность NK-клеток с цитотоксическим фенотипом. У женщин без отягощенного акушерского анамнеза NK-клетки определялись в пределах нормальных показателей и при беременности меняли свой фенотип на иммуносупрессивный.

**Ключевые слова:** истинные киллеры, T-лимфоциты, аллергия, плацента.

Классически привычным невынашиванием беременности, по рекомендации ВОЗ, принято называть ситуацию трех или более последовательных невынашиваний, однако в России практические врачи подразумевают под этим термином невынашивание более двух беременностей и устанавливают этот диагноз женщинам с двумя и более самопроизвольными прерываниями гестации. По определению ВОЗ, самопроизвольные выкидыши – потери беременности до 22 недель с массой плода менее 500 г, преждевременные роды – роды с 22 до 37 полных недель беременности с массой плода

от 500 г. В России ранними считаются выкидыши до 12 недель беременности, поздними – выкидыши в 12–22 недели. Ранее бытовало мнение, что основные причины привычного невынашивания – инфекции и хромосомные аномалии, недостаток прогестерона и анатомические дефекты. Современное обследование – сонография, гистеросальпингография, лапароскопия, биопсия эндометрия, хромосомный анализ клеток родителей и плодов, измерение уровня прогестерона, – по данным литературы, позволяет обнаружить причину только 50% невынашиваний. Есть основание предполагать, что оставшиеся причины в основе имеют иммунные механизмы. Так, большинство привычных выкидышей сопровождается иммунными нарушениями, в частности

Цывкина Галина Ивановна – канд. мед. наук, доцент, заведующая региональным центром клинической аллергологии и иммунологии ККЦСВМП; e-mail: galatsyvkina@mail.ru