

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2001

УДК [616.24-003.4-004]-07:616.34-008.831-074

*Н.Ю.Каширская, Н.И.Капранов, Н.Ф.Кабанова, Е.А.Калашникова*  
**ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ НЕПРЯМОГО МЕТОДА  
ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПАНКРЕАТИЧЕСКОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ  
ЭЛАСТАЗЫ-1 В СТУЛЕ У БОЛЬНЫХ МУКОВИСЦИДОЗОМ**

Медико-генетический научный центр РАМН, Москва

**DIAGNOSTIC MEANING OF INDIRECT METHOD FOR ELASTASA-1 PANCREATIC FAILURE DETECTION IN  
FAECAL MATERIAL OF CYSTIC FIBROSIS PATIENTS**

*N.Yu.Kashirskaya, N.I.Kapranov, N.F.Kabanova, E.A.Kalashnikova*

**S u m m a r y**

The aim of our work was to search specificity and sensitivity of pancreatic elastase-1 (E-1) immune enzyme detection (*ScheBo*<sup>®</sup> *BioTech*, Germany) in faecal material both to define pancreatic failure in cystic fibrosis (CF) patients and to diagnose CF. The trial group included 128 children. The main subgroup involved 112 CF patients including 4 ones with CF pulmonary form aged from 3 months to 19 years. The control group involved 16 conventionally healthy children of the same age with no obvious digestive injury.

The E-1 concentration in all the control group children was within the normal range (more than 500 mcg/g of the faecal material), thus, the specificity of the method was 100%. Meanwhile, the sensitivity of the pancreatic failure detection in the CF patients was 86.6%. Moreover, we revealed the negative correlation ( $r=0.4$ ;  $p<0.001$ ) between E-1 concentration and a dose of a pancreatic enzyme drug (a lipase unit per 1 kg of the body weight in a day) taken by patients.

Therefore, the faecal detection of E-1 is a simple, exact and non-invasive method for pancreatic failure diagnosing in CF children; therapy with pancreatic enzyme drugs does not influence the result. The E-1 level detection can help to select a pancreatic enzyme replacing dose in CF patients. If the E-1 level is normal, the reasonability of pancreatic enzyme drug administration should be revised. When monitoring E-1 level in CF patients with preserved pancreatic function it is possible to administrate pancreatic enzyme drugs timely.

**Р е з ю м е**

Целью нашей работы было изучение специфичности и чувствительности иммуноферментного метода определения панкреатической эластазы-1 (E1) в стуле (фирма "*ScheBo*<sup>®</sup>-*BioTech*", Германия) как для выявления панкреатической недостаточности у больных муковисцидозом (МВ), так и для установки самого диагноза МВ. В исследуемую группу вошло 128 детей. Основную группу составили больные МВ (112 пациентов), из них 4 с легочной формой МВ, в возрасте от 3 мес до 19 лет. В контрольной группе (16 детей) были условно здоровые дети того же возраста без видимого поражения системы пищеварения.

У всех детей контрольной группы концентрация E1 оказалась в пределах нормы (более 500 мкг в 1 г стула), что говорит о 100% специфичности теста. В то же время чувствительность выявления панкреатической недостаточности у больных МВ составила 93%. Чувствительность метода для постановки диагноза МВ составила 86,6%. Кроме того, нами была выявлена отрицательная корреляция ( $R=0,4$ ;  $p<0,001$ ) между концентрацией E1 и дозой панкреатических ферментов (единица липазы на 1 кг массы в 1 сут), принимаемой больными.

Таким образом, измерение концентрации E1 в стуле является простым, точным, не прямым и неинвазивным методом определения панкреатической недостаточности у детей больных МВ, причем на результат не влияет терапия панкреатическими ферментами. Значение уровня E1 может помочь в подборе дозы заместительных панкреатических ферментов у больных МВ. При нормальных значениях E1 следует пересмотреть необходимость назначения панкреатических ферментов. Исследуя показатели E1 в динамике

у больных МВ с сохранной функцией поджелудочной железы можно выявить время, когда потребуется назначение панкреатических ферментов.

Панкреатическую недостаточность имеют около 85% больных муковисцидозом (МВ). Она проявляется в основном в нарушении ассимиляции жира и стеатореи той или иной степени. Остальные 10—15% больных составляют группу с относительно сохранной функцией поджелудочной железы (ПЖ) без нарушения усвоения жира. Однако, если тщательно исследовать ее функцию у этих больных, то и у них обнаруживаются значительные отклонения от нормы. Выявлено, что у большинства пациентов с клинически сохранной функцией ПЖ уровень липазы колеблется в пределах нижней границы или даже ниже нормы. Установлено, что для предотвращения мальдигестии достаточно секретируется всего от 1 до 2% общей липазы и колипазы. Таким образом, у 85% детей с клинически выраженной панкреатической недостаточностью потеря экзокринной функции составляет 98—99% [2,6].

Изменения внешнесекреторной функции ПЖ при МВ обусловлены первичным генетическим дефектом.

В норме в ацинусе вырабатывается жидкий секрет богатый ферментами и другими белковыми веществами. Секрет, продвигаясь по выводному протоку, становится более жидким за счет поступающих в него анионов и молекул воды. У больных МВ из-за нарушенного анионного транспорта в белковый субстрат не поступает необходимого количества воды, он остается более вязким и скорость его продвижения замедляется, в связи с этим белки осаждаются на стенках мелких выводных протоков, вызывая их обструкцию и полную закупорку. За счет этого и происходит со временем деструкция и атрофия ацинусов и выводных протоков. С прогрессированием заболевания процессы фиброобразования ткани затихают и экзокринная часть ПЖ замещается жировыми клетками (жировая инфильтрация). При дальнейшем течении заболевания в процесс может вовлекаться эндокринная часть ПЖ.

Лабораторные методы определения внешнесекреторной панкреатической недостаточности делятся на 2 основные группы: прямые, непрямые и количественное определение жира в стуле.

С помощью прямых методов определяются панкреатические ферменты (в дуоденальном содержимом) или при стимуляции ПЖ экзогенными гормональными субстанциями (секретин, холецистокинин и др.), или эндогенными нутриентами (жирные кислоты, аминокислоты и др.). Среди прямых методов "золотым стандартом" по своей специфичности и чувствительности остается секретинхолецистокининовый тест, отражающий нарушение выработки энзимов, наблюдаемое уже на ранних стадиях повреждения ацинозной ткани. Однако этот метод требует большого количества времени, является инвазивным и дорогостоящий тестом.

К непрямым методам относят: 1) анализ стула больного — копрологам, количественное содержание жира в стуле, определение трипсина и химотрипсина; определение стеатокрита; 2) определение активности панкреатических маркеров в сыворотке крови или в

моче; 3) дыхательные тесты (определение  $^{14}\text{C}$  —  $^{13}\text{C}$ -липидных производных в выдыхаемом воздухе).

Однако применяемые на практике непрямые методы оказались неспецифичными и нечувствительными, особенно для выявления малой и средней степени панкреатической недостаточности. Таким образом, несмотря на длительное изучение патологии ПЖ до настоящего времени в РФ отсутствуют простые, доступные и адекватные методы диагностики панкреатической недостаточности, а применяемые методы — дороги, трудоемки или малочувствительны.

В последнее 10-летие ученые обратили внимание на давно известный протеолитический фермент ПЖ — эластаза-1 (E1) с молекулярной массой около 28 кД. При физиологическом состоянии концентрация E1 в панкреатическом соке находится между 170 и 360 мкг/мл, которая составляет около 6% от всех секретируемых панкреатических ферментов.

На основе этого открытия в начале 90-х годов немецкой фирмой "ScheBo®-BioTech" был разработан иммуноферментный метод определения панкреатической E1 в стуле и сыворотке крови для выявления хронического и острого панкреатита эластаза-1 копрологический тест, кат. № 07 и эластаза-1 сывороточный тест, кат. № 06).

Панкреатическая E1 человека не изменяет своей структуры при прохождении через желудочно-кишечный тракт, поэтому ее концентрация в каловых массах истинно отражает экзокринную функцию ПЖ. Результаты определения E1 довольно точно коррелируют с инвазивными тестами (секретинпанкреозиминный и секретин-церулиновый тесты) [3,5].

В последние 2 года метод определения E1 стал широко использоваться во многих клиниках Европы и Северной Америки у больных с различной патологией желудочно-кишечного тракта и выраженной панкреатической недостаточностью и доказал свою высокую специфичность (в стуле 93%, в сыворотке 96%) и чувствительность (в стуле 93%, в сыворотке 97%). В

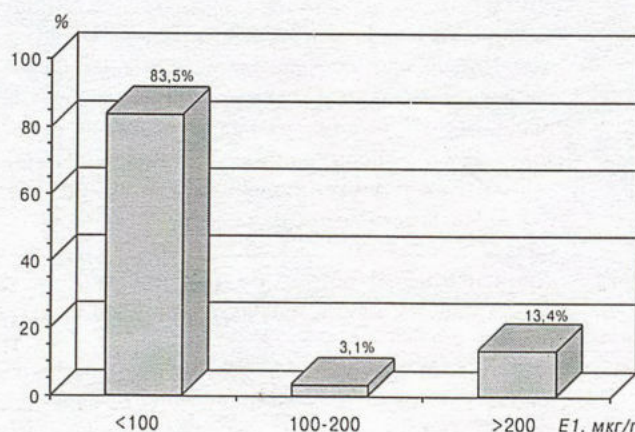


Рис. 1. Распределение больных муковисцидозом (n=112) в зависимости от показателей E1.

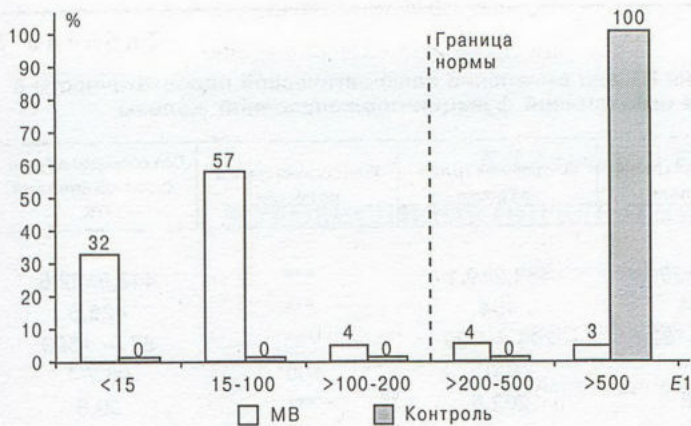


Рис. 2. Распределение больных МВ ( $n=108$ ) и здоровых детей (контроль) ( $n=16$ ) в зависимости от концентрации E1 в стуле.

России данная методика практически не применялась до настоящего времени.

В Российском центре муковисцидоза с 1998 г. мы широко используем иммуноферментный тест определения E1 ("ScheBo® BioTech", Германия) в стуле у больных МВ [1].

Целью нашего исследования являлось изучение специфичности и чувствительности метода определения концентрации E1 в стуле при МВ. В исследуемую группу вошло 128 детей. Основную группу составили 112 больных МВ в возрасте от 3 мес до 19 лет. В контрольной группе были условно здоровые дети, находящиеся на обследовании и лечении в Республиканской детской клинической больнице (Москва, РФ) без видимого поражения желудочно-кишечного тракта.

По уровню E1 в стуле больных МВ разделили на 3 группы: 1-я — с выраженной панкреатической недостаточностью (83,5%), 2-я — с умеренной и легкой степенью (3,1%), 3-я — без панкреатической недостаточности (13,4%) (рис. 1). В 3-й группе оказалось 7 детей, которые, несмотря на нормальные показатели E1, имели признаки синдрома мальабсорбции, что, видимо, можно объяснить сочетанной патологией желудочно-кишечного тракта и гепатобилиарной системы.

Нормальными показателями E1 следует считать более 200 мкг/г стула, легкая, или средняя, панкреатическая недостаточность считается при показателях

Таблица 1  
Частота встречаемости мутации  $\Delta F508$  по странам среди обследованных больных

Страна	Гомозиготы по $\Delta F508$		Число обследованных больных	Число хромосом	Общее число аллелей $\Delta F508$	
	абс.	%			абс.	%
Польша	150	38,1	394	788	464	58,9
Греция	15	19,2*	78	156	73	46,8
Россия	22	27,8	79	158	78	49,4
Всего...	187	33,9	551	1102	615	55,8

\* Достоверное отличие от группы из Польши.

100—200 мкг/г стула, выраженная панкреатическая недостаточность — менее 100 мкг/г стула.

Нами была выявлена четкая зависимость концентрации E1 с наличием в гомо- и гетерозиготном состоянии самой распространенной, тяжелой мутации  $\Delta F508$ . Так, у гомозигот по  $\Delta F508$ -мутации была выявлена достоверно более тяжелая степень поражения внешнесекреторной функции ПЖ, чем у больных с другими генотипами.

Для изучения чувствительности метода и его специфичности мы сравнили показатели E1 больных МВ с уже доказанной другими методами панкреатической недостаточностью с показателями контрольной группы. У всех детей контрольной группы концентрация E1 оказалась в пределах нормы (более 500 мкг/г стула), что говорит о 100% специфичности теста. В то же время чувствительность выявления панкреатической недостаточности у больных МВ составила 93% (рис. 2). Если же взять всю группу обследованных больных, то чувствительность метода для постановки диагноза МВ составила 86,6% (см. рис. 2). Полученные данные согласуются с результатами подобных исследований, проведенных за рубежом. Так, по данным H.G. Terbrack и соавт. [4], чувствительность метода определения E1 составила 85%, при специфичности метода 99%.

Кроме того, нами была выявлена отрицательная корреляция ( $|R|=0,295$ ;  $p=0,005$ ) между концентрацией

Таблица 2

Чувствительность метода определения E1 для выявления панкреатической недостаточности среди всех обследованных больных МВ и по странам

E1, мкг/г стула	Вся группа больных МВ	Больные МВ из Польши	Больные МВ из Греции	Больные МВ из России	С панкреатической недостаточностью
Средняя	102,0±9,8	100,5±10,8	119,5±7,1	94,0±21,0	35,0±3,3
Медиана	19	16	46,5	18,0	17
Диапазон	0 — 1810	0 — 1810	4 — 742	0 — 1036	0 — 285
Чувствительность	87,2*	87,8*	84,6*	86,6*	88,3**

Специфичность метода и пограничные значения определения Е1 для выявления панкреатической недостаточности в контрольной группе и в группе больных МВ без нарушения экзокринной функции поджелудочной железы

Е1, мкг/г стула	Вся контрольная группа **	Контрольная группа из Польши	Контрольная группа из Греции	Контрольная группа из России	Все обследованные с сохранной функцией ПЖ
Средняя	625,8±25,8	753,3±29,9	454,2±9,1	***	440,9±22,5
Медиана	523	714	464	***	426,5
Диапазон	159 — 1802	159 — 1802	205 — 720	***	87 — 1566
Специфичность	98,5*	97,1*	100*	100*	96,7**
Пограничные значения	200,5**	198	202,5	***	99,5

Примечание. \* — по границе на уровне 200 мкг/г, \*\* — по уровню, определяющему отсутствие или наличие панкреатической недостаточности, \*\*\* — 1054, 734, 662, 551 и 12 показателей > 500 мкг/г, которые нельзя математически обработать.

Е1 и дозой панкреатических ферментов (единица липазы на 1 кг массы в 1 сут), принимаемой больными.

В 2000 г. мы принимали участие в международном исследовании (Россия, Польша, Греция) по выявлению показателя Е1 стула, являющегося наиболее точной границей между больными МВ и здоровыми людьми, а также между больными МВ с сохранной ПЖ и с панкреатической недостаточностью.

В исследование всего было включено 569 больных МВ в возрасте от 1 мес до 31 года (средний возраст 10,7±0,3 года). У 201 пациента было проведено количественное изучение выделенного жира со стулом (*no Van de Kamer*). На основании полученных данных 171 больной МВ был квалифицирован как имеющий панкреатическую недостаточность, 30 пациентов оказались с сохранной функцией ПЖ. Контрольную группу составили 199 человек в возрасте от 2 мес до 40 лет (средний возраст 12,1±0,5 года) без каких-либо выявленных заболеваний со стороны желудочно-кишечного тракта.

551 больной был генотипически обследован. Частота встречаемости мутации ΔF508 у больных МВ в гомозиготном состоянии из Польши была достоверно ( $p<0,05$ ) выше, чем у греческих больных, россияне заняли среднюю позицию и достоверно не отличались от обеих групп (табл.1).

Нами были подтверждены рекомендуемые фирмой-изготовителем нормативы. Концентрация Е1 ниже 200 мкг/г стула указывала на наличие нарушения экзокринной функции ПЖ, а меньше 100 мкг/г — на клинически выраженную стеаторею.

Чувствительность метода для выявления панкреатической недостаточности среди всех больных МВ составила 87,2%, среди больных с доказанной другими методами панкреатической недостаточностью — 88,3% (табл.2). Специфичность метода оказалась высокой — от 97,1 до 100% (средняя 98,5%) (табл.3).

По нашим данным, показатель Е1 стула, соответствующий первому центилу, для контрольной группы (здоровые люди) составил 173 мкг/г стула, для больных МВ с сохранной функцией ПЖ — 90 мкг/г стула.

Таким образом, при наличии показателя Е1 у людей без МВ ниже 173 мкг/г можно с большой долей вероятности говорить о наличии у них панкреатической недостаточности. Для определения панкреатической недостаточности у больных МВ необходимо, чтобы значения Е1 были ниже 90 мкг/г стула.

Таким образом, измерение концентрации Е1 в стуле является простым, точным, не прямым и неинвазивным методом выявления панкреатической недостаточности у детей и взрослых. При проведении теста у больных МВ на результат не влияет терапия панкреатическими ферментами. Значение уровня Е1 может помочь в подборе дозы заместительных панкреатических ферментов у больных МВ: чем ниже показатели Е1, тем выше суточная доза панкреатических ферментов на 1 кг массы. При нормальных значениях Е1 следует пересмотреть необходимость в назначении панкреатических ферментов. Исследуя показатели Е1 в динамике у больных МВ с сохранной функцией ПЖ, можно определить время, когда потребуется назначение панкреатических ферментов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Кабанова Н.Ф. Клиническое значение современных заместительных панкреатических ферментов в комплексном лечении больных муковисцидозом: Автореф. дис.... канд. мед. наук. М.; 2000.
2. Каширская Н.Ю., Капранов Н.И. Поражение органов пищеварения и их коррекция при муковисцидозе. Рус. мед. журн. 1997; 5 (14): 892—898.
3. Loser C., Molgaard A., Folsch U.R. Faecal elastase 1: a novel, highly sensitive, and specific tubeless pancreatic function test. Gut 1996; 39 (4): 580—586.
4. Terbrack H.G., Gurtler K.N., Huls G. et al. Human faecal elastase in children. Mschr. Kinderheilk. 1996; 144: 901—905.
5. Soldan W., Henker J., Sprossig C. Sensitivity and specificity of quantitative determination of pancreatic elastase 1 in feces of children. J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 1997; 24: 53—55.
6. Watkins L. Lipid digestion and absorption. Pediatrics 1985; suppl.: 151—156.