

# **Современные диагностические возможности определения внешнесекреторной недостаточности поджелудочной железы и оценка эффективности ферментозаместительной терапии у больных хроническим панкреатитом**

**О.Н. Минушкин, М.Д. Ардатская, А.В. Сергеев, Л.В. Масловский**

Несмотря на большое количество лабораторных и инструментальных исследований, нерешенным вопросом остается выбор лабораторного метода, позволяющего проводить оценку вне-шнесекреторной недостаточности поджелудочной железы (ВСН-ПЖ), осуществлять мониторинг несостоятельности ПЖ и оценивать эффективность проводимой терапии [11].

Для выявления ВСН ПЖ используются:

1. Зондовые методы изучения экзокринной функции ПЖ: прямые (СПЗТ) и непрямые (тест Лунда).

2. Бессондовые методы выявления внешнесекреторной недостаточности ПЖ (дыхательные, оральные, изучение содержания панкреатических ферментов или пищевых компонентов в кале) [9, 11].

Интуационные тесты с аспирацией duodenального содержимого и внутрипротоковый секретиновый тест (ВПСТ) с аспирацией чистого панкреатического сока являются "золотым стандартом" в диагностике ВСН ПЖ, их чувствительность и специфичность превышают 90% [9, 10]. К недостаткам

кам этих тестов можно отнести низкую переносимость исследования пациентами, значительные затраты времени, необходимость специального оборудования и реагентов, проведение зондирования под рентгенологическим контролем, отсутствие стандартизации исследования и единых нормативов оценки. Группа неинвазивных тестов отличается простотой проведения и значительно меньшими затратами времени, что позволяет осуществлять динамическое наблюдение за внешнесекреторной функцией ПЖ. Однако эти тесты уступают инвазивным методам по чувствительности и специфичности исследования, особенно в диагностике ранних стадий ВСН ПЖ [6, 9, 11, 13].

В настоящее время обращает на себя внимание ИФА-метод определения фекальной эластазы-1 ( $E_1$ ), который является чувствительным, неинвазивным тестом для диагностики панкреатической недостаточности.  $E_1$ -тест тесно коррелирует с результатами зондовых тестов [9]. К достоинствам метода также относится простота его прове-

дения, отсутствие необходимости отменять проводимую ферментную терапию или соблюдать специальную диету. Однако Е<sub>1</sub> недостоверно выявляет все случаи со слабой и умеренной панкреатической недостаточностью [7, 12, 14]. Кроме того, использование зарубежных реагентов резко увеличивает стоимость исследования.

Поэтому поиск новых неинвазивных скрининговых тестов, обладающих чувствительностью и специфичностью в оценке экзокринной функции ПЖ при снижении стоимости исследования, должен продолжаться.

Как известно, процесс внеклеточного пищеварения в организме разделяется на внутриполостное и мембранные, частью которого является симбионтное пищеварение. Кишечная флора разлагает органические соединения, присутствующие в химусе, с образованием ряда органических кислот, аммонийных солей органических кислот, аминов [5]. Большое внимание уделяется низкомолекулярным метаболитам индигенной микрофлоры макроорганизма, в частности короткоцепочечным жирным кислотам (КЖК).

Доказано, что продукты жизнедеятельности микрофлоры могут служить интегральными характеристиками ее состояния. Мы полагаем, что КЖК могут служить маркерами, косвенно характеризующими нарушение полостного пищеварения.

Цель работы – оценить возможность использования КЖК в диагностике ВСН ПЖ и эффективности ферментной терапии. Разработать способ определения КЖК методом газожидкостной хроматографии (ГЖХ).

Нами разработан способ определения КЖК (фракции С<sub>2</sub>–С<sub>6</sub> с изомерами) методом газожидкостной хроматографии.

Метод включает обработку пробы биологического субстрата водой или водным раствором реагента, в частности 2 мл 1Н раствора соляной кислоты, центрифугирования, введения надосадочной жидкости в испаритель хроматографа с детектором ионизации в пламени и разделения на кварцевой капиллярной колонке длиной 32–40 метров с внутренним диаметром 0,28–0,35 мм с использованием в качестве неподвижной фазы пленки сополимера полиэтиленгликоля с терефталевой кислотой. При этом используют пленку толщиной 0,26–0,35 мкм, и температуру термостата поддерживают равной 145–155°C. Газ-носитель – азот, с давлением на входе в колонку 1,8 ати. Расход газа-носителя 2 мл/мин, водорода 25 мл/мин, воздуха 300 мл/мин. Соотношение потоков газа-носителя на сброс и в колонку – 50:1. Для количественного определения КЖК в пробу исследуемого биоматериала добавляют α,α-диметилмасляную кислоту. Время анализа составляет 8 минут.

Достоверность способа подтверждена в контрольных опытах на модельных смесях кислот. Ошибка не превышала 2–4%. Чувствительность методики 96±2%. Воспроизводимость результатов 98±2%.

## Материал и методы исследования

Обследована группа из 40 пациентов, страдающих хроническим панкреатитом (ХП): женщин – 11 (28%), мужчин – 29 (72%). Средний возраст составил 50,2 года. По этиологии пациенты распределились следующим образом: хронический алкогольный панкреатит установлен у 64% пациентов, билиарнозависимый – у 36%. Контрольную группу составили 70 практически здоровых лиц.

Диагноз ХП был верифицирован современными клинико-лабора-

торными и инструментальными методами исследования (УЗИ брюшной полости, рентгенография, изучение амилазы в сыворотке крови).

Для определения экзокринной недостаточности поджелудочной железы всем больным проводилось исследование эластазы в кале.

## Результаты исследования и их обсуждение

Данные фекального эластазного теста показали наличие экзокринной недостаточности ПЖ в 55% случаев. При этом тяжелая степень ВСН ПЖ (содержание эластазы менее 100 мкг/г кала) определялась в 42,5 % и умеренно-легкая степень ВСН ПЖ – в 12,5% от общего числа больных. Результаты эластазного теста, свидетельствующие об отсутствии экзокринной недостаточности ПЖ, получены в 45% случаев.

Тридцать пациентов с ХП из исследуемой группы получали терапию препаратом креон 10 000 в дозе 1 капсула 3–4 раза в день в течение 3 недель, с оценкой содержания Е<sub>1</sub> и КЖК до и после лечения. У 11 пациентов при этом исходно имелась ВСН ПЖ по данным Е<sub>1</sub> (тяжелая степень у 4 и умеренная у 7 пациентов) и 19 пациентов не имели ВСН ПЖ. Критерием эффективности терапии являлась динамика болевого и диспепсического синдромов. Диспепсический синдром был практически полностью купирован к концу лечения у всех больных, положительная динамика наблюдалась в отношении болевого синдрома у 96 % пациентов, у 75% болевой синдром был полностью купирован. У больных с тяжелой степенью ВСН ПЖ слабый эффект от лечения потребовал увеличения дозы креона до 2 капсул 3 раза в день.

Суммарная концентрация КЖК в группе ХП была увеличена в 1,7 раза по сравнению с нормой и составляла 19,8±2,2 мкг/г. Результаты изучения относительного содержания КЖК в кале у больных ХП и у практически здоровых лиц представлены в табл. 1.

Как видно из табл. 1, основной вклад в общий пул КЖК вносят уксусная, пропионовая и масляная кислоты, поэтому были рассчитаны профиля кислот с числом углеродных атомов С<sub>2</sub>–С<sub>4</sub> (уксусная, пропионовая и масляная) – табл. 2: rCn = Cn/(C<sub>2</sub> + C<sub>3</sub> + C<sub>4</sub>) в зависимости от степени выраженности внешнесекреторной недостаточности ПЖ.

Анализ профилей КЖК с числом углеродных атомов С<sub>2</sub>–С<sub>4</sub> у больных исследуемых подгрупп свидетельствует о прямо пропорциональном снижении доли уксусной кислоты и повышении пропионовой и масляной кислот при увеличении выраженности внешнесекреторной панкреатической недостаточности. Для количественной оценки изменения окислительно-восстановительного баланса в полости кишечника был рассчитан анаэробный индекс (АИ). АИ – это отношение суммы концентраций (С) восстановленных кислот к менее восстановленным: (Спропионовая+Смасляная)/Суксусная. У больных ХП окислительно-восстановительный баланс продуктов смешен в сторону восстановленных кислот и, соответственно, АИ отклоняется в сторону более отрицательных значений по сравнению с нормой (-0,576) и составляет -0,972 – -1,049 ед.

Таблица 1

Результаты изучения суммарного и относительного количества С<sub>2</sub>–С<sub>4</sub> в кале у больных с ХП в зависимости от недостаточности ПЖ, установленной по данным эластазного теста (Е<sub>1</sub>, мкг/г), и у практически здоровых лиц

	E <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>	АИ	EiCn/Cn	ИзоCn
Норма	–	0,626±0,011	0,191±0,011	0,183±0,011	-0,576(±0,009)	0,430±0,009	0,068±0,009
ХП (без недост)	343,5±30,8	0,507±0,010*	0,262±0,011*	0,231±0,011*	-0,972(±0,011)*	0,355±0,006	0,085±0,009
ХП (УЛ)	154,0±26,8	0,499±0,009*	0,268±0,011*	0,233±0,011*	-1,004(±0,012)*	0,415±0,008	0,095±0,011
ХП (тяж)	48,9±21,4	0,481±0,009*	0,279±0,011*	0,239±0,011*	-1,049(±0,012)*	0,544±0,011***	0,194±0,013***

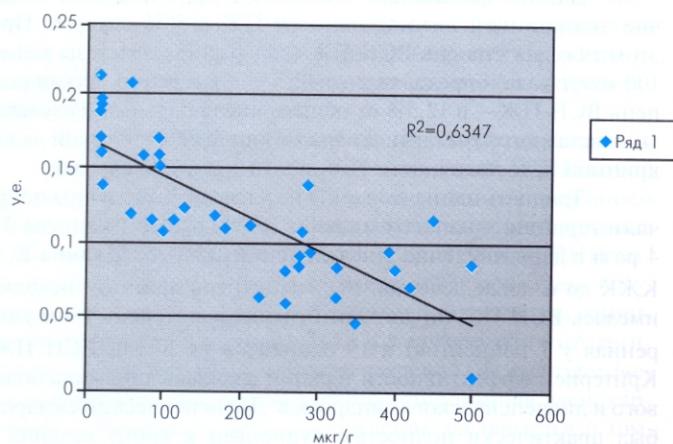
Примечание: M±m, p<0,05; УЛ-умеренно легкая.

\*p<0,05 при сравнении с нормой.

\*\* p<0,05 при сравнении между подгруппами в зависимости от недостаточности.

**Таблица 2**  
Результаты исследования КЖК в кале у больных с ХП (n=40) и практически здоровых лиц (n=70) с учетом диагностических критериев ХП

Опорные критерии ХП(КЖК)	Наличие ХП	Отсутствие ХП
Положительный результат	32	12
Отрицательный результат	8	58



**Рис. Изучение корреляции уровня эластазы (x) и изокислот (y) в кале больных ХП.**

Результаты изучения отношения отдельных изокислот к кислотам с неразветвленной углеродной цепью свидетельствуют о нарастании продукции изомеров кислот при увеличении выраженности экзокринной панкреатической недостаточности. Причем достоверное изменение индексов отношения изокислот к кислотам и продукции изомеров КЖК наблюдается при тяжелой степени панкреатической недостаточности.

Нами была рассчитана чувствительность и специфичность исследования КЖК при ХП. За опорный диагностический критерий приняли достоверное увеличение относительного содержания изокислот в кале у больных ХП. Чувствительность исследования КЖК у больных ХП составила 80%, специфичность – 81,4% (см. табл.2).

Нами был также проведен анализ корреляции уровня эластазы и изокислот в кале у больных ХП. Коэффициент корреляции составил R=0,797, (рисунок).

Результаты изучения абсолютного содержания КЖК в кале у больных ХП до и после лечения представлены в табл. 3 и 4.

В табл. 3 демонстрируется динамика изменений уровня КЖК на фоне ферментной терапии у пациентов с различной степенью ВСН ПЖ, установленной по данным E<sub>1</sub> теста. У пациентов без ВСН ПЖ на фоне лечения отмечено повышение

содержания уксусной кислоты и достоверное снижение уровня пропионовой и масляной кислот, т.е. отмечается тенденция к нормализации уровня изокислот и АИ. У пациентов с умеренной степенью ВСН ПЖ на фоне лечения имеется тенденция к повышению содержания C<sub>2</sub> и снижению концентраций C<sub>3</sub>–C<sub>4</sub>, отмечается некоторое повышение содержания изокислот, уменьшение отрицательных значений АИ. У пациентов с тяжелой степенью ВСН ПЖ на фоне лечения не происходит существенных изменений уровней C<sub>2</sub>–C<sub>4</sub>, АИ и уровня изокислот.

Соотношение отдельных изокислот к кислотам с неразветвленной углеродной цепью у пациентов с различной степенью ВСН ПЖ к концу лечения не изменялось.

Мы изучали динамику E<sub>1</sub> и КЖК на фоне эффективной терапии в зависимости от положительной клинической динамики. Результаты представлены в табл. 4. На фоне лечения у пациентов с диареей, запорами и энтероподобными болями отмечено повышение содержания уксусной кислоты и достоверное снижение уровней пропионовой и масляной кислот, нормализация значений АИ. Уровень изокислот существенно не менялся.

У пациентов без положительной клинической динамики, происходило усугубление имеющихся изменений параметров КЖК (долевое участие C<sub>2</sub>–C<sub>4</sub>, АИ, уровень изокислот).

Повышение уровня абсолютного содержания КЖК в кале у больных ХП могут быть связаны с увеличенной метаболической активностью микрофлоры, вследствие повышенного содержания неутилизируемых пищеварительных субстратов: белков, жиров и углеводов. Как известно, КЖК с длиной цепи атомов углерода более 3 являются конечным продуктом распада длинноцепочечных жирных кислот [8]. В нашем случае, наблюдается повышение суммарной концентрации КЖК в основном за счет увеличения количества кислот с длиной цепи атомов углерода более 3, что возможно связано с недостаточностью липазы у больных ХП с экзокринной недостаточностью.

**Таблица 3**  
Результаты изучения относительного количества C<sub>2</sub>–C<sub>4</sub> в кале у больных с ХП в зависимости от недостаточности ПЖ, установленной по данным эластазного теста (E<sub>1</sub>, мкг/г), на фоне проведенной ферментной терапии

Группа		E1	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>	АИ	EiCn/Cn	ИзоCн
ХП (без недост)	До лечения	458,81±31,00	0,454±0,009	0,285±0,011	0,260±0,011	-1,2±0,009	0,360±0,008	0,087±0,009
	После лечения	428,68±38,00	0,523±0,011	0,244±0,009*	0,232±0,009*	-0,91±0,008	0,364±0,008	0,082±0,008
ХП (УЛ)	До лечения	167,14±14,70	0,502±0,010	0,266±0,009	0,232±0,011	-0,992±0,009	0,413±0,011	0,089±0,011
	После лечения	191,0±59,2	0,555±0,012	0,234±0,011	0,211±0,008	-0,801±0,008	0,419±0,012	0,095±0,009
ХП (Тяж)	До лечения	45,75±32,5	0,369±0,009	0,307±0,012	0,323±0,009	-1,707±0,011	0,561±0,009	0,164±0,010
	После лечения	38,25±30,00	0,355±0,009	0,339±0,011	0,306±0,012	-1,925±0,011	0,567±0,008	0,174±0,012

Примечание: M±m, p<0,05

\* p<0,05 при сравнении с нормой.

**Таблица 4**  
Результаты изучения относительного количества C<sub>2</sub>–C<sub>4</sub> в кале у больных с ХП на фоне проводимой ферментной терапии у больных с ХП с положительной динамикой симптомов кишечной диспепсии

Группа		E1	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>	АИ	EiCn/Cn	ИзоCн
ХП с диареей	До лечения	230,33±24,32	0,513±0,011	0,264±0,012	0,223±0,010	-0,949±0,009	0,420±0,009	0,071±0,008
	После лечения	271,57±30,80	0,557±0,011	0,242±0,011*	0,201±0,012*	-0,795±0,008	0,434±0,009	0,079±0,010
ХП с запорами	До лечения	418,6±23,9	0,434±0,011	0,296±0,012	0,268±0,009	-1,300±0,011	0,438±0,010	0,091±0,012
	После лечения	330±25	0,518±0,009	0,261±0,011*	0,221±0,010*	-0,928±0,011	0,429±0,007	0,085±0,013
ХП с энтероподобными болями	До лечения	485,3±31,2	0,471±0,009	0,329±0,011	0,200±0,008	-1,120±0,012	0,447±0,009	0,064±0,012
	После лечения	406,3±28,1	0,689±0,008	0,256±0,012*	0,155±0,009*	-1,040±0,012	0,452±0,011	0,073±0,011

Примечание: M±m, p<0,05

\* p<0,05 при сравнении с нормой.

Пропионовая и масляная кислоты являются продуктами брожения углеводов сахаролитическими анаэробными микроорганизмами [4]. Повышение относительного содержания данных кислот у больных ХП также может быть связано с наличием панкреатической недостаточности. Как известно, кислоты с разветвленной цепью (изомеры КЖК) являются продуктами протеолиза [4]. Увеличение процента данных кислот в общем пуле может быть связано с рядом причин: с увеличением времени кишечного транзита и, следовательно, с увеличением времени контакта субстрата и микрофлоры [1], с повышенной активностью микроорганизмов-гемолитиков, в частности анаэробных родов *Clostridium difficile* и аэробных гемолитических штаммов *E. Coli*, с увеличением белковосодержащих продуктов в просвете кишечника, обусловленных деструкцией презептических и эпителиальных слоев [3]. Ни одной из этих причин не наблюдается у больных с ХП, поэтому повышение содержания изомеров кислот может быть связано только с наличием внешнепанкреатической недостаточности. Учитывая это, мы провели анализ корреляции уровня фекальной эластазы и содержания изокислот у исследуемой группы больных. Полученный коэффициент корреляции ( $R=0,79$ ) подтверждает факт возможного использования изокислот в качестве критерия, позволяющего оценивать внешнесекреторную панкреатическую недостаточность.

Учитывая высокую специфичность и чувствительность КЖК, при быстроте получения ответа и низкой стоимости исследования, можно рекомендовать данный метод для определения наличия ВСН ПЖ в качестве альтернативы инвазивным и дорогостоящим методам исследования.

Анализ изменений КЖК на фоне эффективной ферментной терапии (купирование болевого синдрома, симптомов кишечной диспепсии) свидетельствует о нормализации численности резидентной микрофлоры и ее активности вследствие восстановления моторной функции кишечника и процессов полостного пищеварения. Данный факт подтверждается тем, что у группы больных с неудовлетворительной клинической динамикой симптомов кишечной диспепсии увеличение дозы креона приводило к нормализации параметров КЖК. Отсутствие динамики со стороны iCn и снижение уровня  $E_1$  у части пациентов с умеренной степенью ВСН ПЖ, по-видимому, объясняется функционированием механизма обратной связи (разрушение рилизинг-пептидов секретина и холецистокинина трипсином ферментного препарата опосредованно приводит к торможению секреции способности ПЖ). У пациентов с тяжелой степенью ВСН ПЖ отрицательная динамика параметров КЖК наблюдалась при незначительной положительной динамике симптомов кишечной диспепсии, что потребовало увеличения дозы ферментных препаратов с хорошим ответом на лечение (клиническим и динамикой КЖК).

Таким образом, рекомендуется использовать тест КЖК для уточнения степени ВСН ПЖ, скрининговой оценки эффективности проводимой терапии и для подбора дозы ферментных препаратов в случае недостаточной эффективности терапии.

## Выводы

1. На основании проведенного исследования установлены параметры КЖК ( $EiCn/Cn$ ,  $iCn$ ), которые коррелируют с данными  $E_1$ -теста ( $R=0,797$ ) и могут быть использованы в качестве теста, определяющего наличие ВСН ПЖ у пациентов с ХП для проведения других специальных методов исследования
2. Профили  $C_2-C_4$ , АИ могут быть использованы в качестве скринингового теста в оценке эффективности проводимой ферментной терапии и коррекции дозы ферментных препаратов.

## Литература

1. Ардатская М.Д. // Рос. журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 2000. – № 3. – С. 36–41.
2. Ардатская М.Д., Иконников Н.С., Минушкин О.Н. Способ разделения смеси жирных кислот фракции  $C_2-C_6$  методом газожидкостной хроматографии Патент РФ № 2002119447, приоритет от 23.7.2002.
3. Арутюнян Э.Э., Ардатская М.Д., Минушкин О.Н. // Кремлевская медицина. – 2002. – № 1. – С. 21–25.
4. Готтшалк Г. Метаболизм бактерий / Пер. с англ. – М.: Мир, 1982. – 445 с.
5. Коротько Г.Ф. Секреция поджелудочной железы. – 2002.
6. Минушкин О.Н. // Materia Medica. – 2003. – № 2–3.
7. Ammann S.T. // Pancreas. – 1996. – Vol. 13. – P. 226–230.
8. Cohn R.M., Roth K.S., Biochemistry and Disease Williams and Wilkins A.Waverly Company. Baltimore, 1996 – 587 p.
9. Dominiguez E., Hieronymus C., Sauerbruch T., Malfertheiner P. // Am. J. Gastr. – 1995. – Vol. 90. – P. 1834–1837.
10. Geenen J.E., Meyerson S.M., // Clin. Perspectives. – 1998. – № 5. – P. 9–20.
11. Lanckish P.J. // Int J. Pancreatol. – 1993. – № 1. – P. 9–20.
12. Lanckish P.J. // Gut. – 1998. – Vol. 42. – P. 551–554.
13. Runci M., Layer P. // P. Marfelleiner et al.. Diagnostics procedures in pancreatic disease Springer Verlag. – 1997. – P. 253–260.
14. Vitcomb J. // Gastroenterology. – 2001. – Vol. 120. – P. 682–707.