

На правах рукописи

АРДАТСКАЯ МАРИЯ ДМИТРИЕВНА

**КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ КОРОТКОЦЕПОЧЕЧНЫХ ЖИРНЫХ
КИСЛОТ ПРИ ПАТОЛОГИИ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА.**

14.00.05 – внутренние болезни

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук

Москва 2003

Работа выполнена на кафедре гастроэнтерологии Учебно-научного центра Медицинского центра Управления делами Президента Российской Федерации

Научный консультант:

Доктор медицинских наук, профессор

Минушкин Олег Николаевич

Официальные оппоненты:

Доктор медицинских наук, профессор

Чорбинская Светлана Алексеевна

Доктор медицинских наук, профессор

Белоусова Елена Александровна

Доктор медицинских наук, профессор,
заслуженный деятель науки РФ

Максимов Валерий Алексеевич

Ведущая организация:

Центральный Научно-исследовательский Институт Гастроэнтерологии

Защита диссертации состоится 15 декабря 2003 года в 14.00 часов на заседании диссертационного совета Д 121.001.01 в Учебно-научном центре Медицинского центра Управления делами Президента РФ.

Адрес: 103875, Москва, ул. Воздвиженка, 6

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Медицинского центра Управления делами Президента РФ (г. Москва, ул. Маршала Тимошенко, д. 21).

Автореферат разослан «-----» ноября 2003 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

Доктор медицинских наук

Н.К.Розова

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.

СРК – синдром раздраженного кишечника (СРК-З – СРК с преобладанием запора; СРК-Д – СРК с преобладанием диареи)

НЯК - неспецифический язвенный колит

ТК - толстая кишка

ХГ – хронический гепатит (ХГ СА – ХГ слабой активности; ХГ УА – ХГ умеренно выраженной активности)

ЦП – хронический гепатит в стадии цирроза печени

ПЭ – печеночная энцефалопатия

СБП – спонтанный бактериальный перитонит

ЖКБ – желчнокаменная болезнь

ХП – хронический панкреатит, ВСН ПЖ– внешнесекреторная недостаточность поджелудочной железы

ЗЛ – заболевания легких;

ХНЗЛ – хронические неспецифические заболевания легких,

ОЗЛ – острые заболевания легких

ЦА – церебральный атеросклероз

ДЭ – дисциркуляторная энцефалопатия

СОТК - слизистая оболочка толстой кишки

ГЖХ - газо-жидкостная хроматография

КЖК – короткоцепочечные жирные кислоты

АИ – анаэробный индекс, С₂ – уксусная кислота, С₃ – пропионовая кислота, IC₄ – изомасляная кислота, С₄ – масляная кислота, IC₅ – изовалериановая кислота, С₅ – валериановая кислота, IC₆ – изокапроновая кислота, С₆ – капроновая кислота

5-АСК – 5-аминосалициловая кислота

БТ – базисная терапия

Г – гепатосан

Д – дюфалак

Э – Энтеросан

Эл – Энтерол

ГК – глюкокортикоидные гормоны, М - метронидазол

АБТ- антибактериальная терапия

Актуальность темы определяется не только большой распространенностью и социальной значимостью патологии желудочно-кишечного тракта, но и различными издержками диагностических методов. К ним можно отнести: трудоемкость и высокую стоимость исследований, отсроченность ряда диагностических процедур в связи с тяжестью имеющейся патологии из-за их инвазивности и сложности; получаемые «ложноположительные» или «ложноотрицательные» результаты исследования, неподдающиеся трактовке и т.п. (Шерлок Ш. 1999, Ивашкин В.Т. 2001, Белоусова Е.А. 1998 и др.). Этот далеко не полный перечень имеющихся недостатков определяет невозможность использования этих методов для установления тяжести патологических нарушений и оценке правильности проводимого лечения в необходимое для врача и пациента время. Функциональные заболевания ЖКТ являются диагнозом «исключения» органической патологии, что делает его правомочным только после проведения всех имеющихся в арсенале врача диагностических процедур (Златкина А.Р., 1999, Минушкин О.Н. 2000, Шептулин А.А. 2001.).

Разнообразие фармакологических средств, относимых к одной группе, имеют различные точки приложения. Подбор препаратов и их дозы для лечения патологии ЖКТ осуществляется в течение длительного времени, что усложняет объективное и экономическое состояние пациентов.

Анализ исследований последних лет (Roediger W.E.W 1994, Cummings J.H. 1997, Ивашкин А.Т. 2001, Белоусова Е.А. 2001, Минушкин О.Н. 2002) свидетельствует о существовании «белых пятен» в развитии ряда заболеваний ЖКТ, гепатобилиарной системы и их осложнений. В этой связи часто упоминают индигенную микрофлору макроорганизма (Бабин В.Н., Дубинин А.В. 1994, Шендеров Б.А.1999). Необходимо отметить, что исторические этапы изучения микрофлоры базировались на микробиологическом подходе с использованием экспериментальных данных (Гамалеи Н.Ф., Перетц Л.Г., Шендеров Б.А. 1960 –1998гг). Это положительно сказалось на познании функций и роли микрофлоры, но микробиологический термин «дисбактериоз» в полном его понимании остался на том же уровне, на каком был внедрен в клинику в конце 60-х годов прошлого века. На настоящий момент это приводит к недооценке основной патологии, переоценке синдрома «дисбактериоза» и полипрагмазии.

Выявленный в последние годы фундаментальный факт обмена низкомолекулярными метаболитами индигенной микрофлоры и макроорганизмом послужил основой для создания принципиально новых методов оценки состояния микробиоценоза (Roediger W.E.W 1987, 1994, Cummings J.H. 1997, Тамм А.О. 1993) и участия ее метаболитов в обеспечении локальных и системных функций макроорганизма (Шендеров Б.А., 1998, Бабин В.Н.и соавт. 1998). В экспериментах установлено, что к метаболитам, ответственным за

энергообеспечение эпителия, поставке субстратов липо- и глюконеогенеза, поддержание ионного обмена, активации местного иммунитета, регуляции и дифференцировке эпителия и др., относят короткоцепочечные монокарбоновые кислоты и их соли, продуцируемые анаэробными микроорганизмами в результате сахаро- и протеолиза (Roediger W.E.W 1994, Cummings J.H. 1997).

Для изучения метаболитов микрофлоры в последние годы используются хроматографические методы: газожидкостная, ионная, высокоэффективная жидкостная хроматография, газохромато-массспектрометрия (Бабин В.Н., Ляховецкий Ю.И. 1996, Иванов А.Н. 1997, Осипов Г.А., Парфенов А.И. 1999). Однако, первый метод исследования обладает трудоемкой пробоподготовкой с потерей 20% общего пула КЖК, неудовлетворительным разделением изомеров кислот (Бабин В.Н., Ляховецкий Ю.И. 1996 и др); другие - использованием дорогостоящих приборов и длительностью исследования (Осипов Г.А. 1995, Иванов А.Н. 1997).

Все вышеизложенное послужило основанием для формулирования цели и задач исследования.

Цель работы: определить место и значение исследования КЖК в различных биосубстратах методом ГЖХ-анализа при патологии ЖКТ.

Задачи исследования:

1. Модифицировать и внедрить метод определения КЖК в различных биологических субстратах с использованием газожидкостной хроматографии (ГЖХ) для скринингового обследования больных с заболеваниями ЖКТ.

2. Изучить содержание КЖК методом ГЖХ-анализа в норме и у больных с патологией ЖКТ.

3. Оценить диагностическое значение изучения КЖК при патологии ЖКТ.

4. Оценить возможность использования КЖК в оценке эффективности лечения больных с патологией ЖКТ.

5. Изучить чувствительность и специфичность исследования КЖК при патологии ЖКТ и традиционного бактериологического исследования кала в диагностике нарушений микробиоценоза кишечника.

6. Оценить перспективу использования и развития метода изучения КЖК при патологии ЖКТ.

Научная новизна. Разработан метод определения КЖК в различных биосубстратах с использованием газожидкостной хроматографии, отличающийся высокой точностью, чувствительностью, дешевой себестоимостью, быстротой получения ответа, высокой воспроизводимостью результатов, что позволило отнести его к скрининговым методам. На основании полученных данных исследования КЖК в различных биологических субстратах

впервые сформулирован новый методический подход, включающий диагностический и лечебные аспекты. Впервые продемонстрирована возможность использования КЖК в качестве диагностических маркеров, в ряде случаев заменяющих инвазивные методы исследования органов ЖКТ, обладающих более высокой специфичностью и чувствительностью по сравнению с традиционными методами исследования при сокращении времени получения результата и снижении стоимости исследования. Впервые создана база данных содержания и спектра КЖК в различных биосубстратах и их динамика при патологии ЖКТ на фоне лечения препаратами различных фармгрупп, что дает возможность оценивать эффективность проводимого лечения, позволяет индивидуализировать подбор лекарственных средств и своевременно изменять тактику терапии.

По результатам работы предложен новый подход в понимании микробиоценоза человека и доказано, что он соответствует требованиям функциональных систем и главному из них саморегуляции.

Практическая значимость работы. Разработка и внедрение нового методического подхода на основе определения КЖК методом ГЖХ-анализа в практику комплексного обследования пациентов с заболеваниями ЖКТ позволяет ускорить и удешевить диагностику ряда заболеваний кишечника, гепатобилиарной системы и поджелудочной железы. На основе созданной базы данных содержания и спектра КЖК в различных биосубстратах, разработана адекватная система прогнозирования и мониторинга клинического течения, степени тяжести, стадии патологического процесса и развития осложнений патологии ЖКТ. Сформулированы адекватные подходы к лечению пациентов с заболеваниями кишечника и гепатобилиарной системы с учетом индивидуальных показаний, включающие своевременную оценку эффективности терапии, подбор эффективной дозы препаратов, проведение комбинированного лечения для достижения максимальной эффективности терапии и предотвращение резистентности. В результате работы разработаны критерии индивидуального подбора фармсредств для лечения патологии кишечника и печени. Новый подход в понимании дисбиотических сдвигов позволяет уменьшить ошибки в диагностике и лечении патологии органов ЖКТ.

Внедрение результатов работы в практику. Материалы диссертации используются в учебных программах на кафедре гастроэнтерологии УНЦ МЦ УДПРФ при чтении лекций в рамках циклов усовершенствования врачей.

Результаты работы внедрены в практику лечебных учреждений Медицинского Центра Управления делами Президента РФ, 51 Городской клинической больницы, кафедры хирургии 1ММА им. И.М.Сеченова, Центрального Военного госпиталя им. Бурденко Н.Н. МО РФ.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Разработан и внедрен в практику способ определения КЖК фракции С2-С6 в различных биологических субстратах методом ГЖХ-анализа, дающий возможность работать с жидкими средами и малыми объемами биологических субстратов (в т.ч. содержащих низкую концентрацию КЖК), обеспечивающий минимальные потери КЖК при пробоподготовке, полное выделение КЖК из субстрата, высокую степень разделения кислот на фракции и получение результата за 8-10 минут. Скорость получения ответа относит данный метод к скрининговым

2. Качественный состав КЖК в различных биологических субстратах коррелирует с результатами клинических и лабораторно-инструментальных показателей у больных с патологией ЖКТ. Исследование КЖК обладает высокой чувствительностью и специфичностью и может быть использовано в качестве:

- уточняющего теста наличия патологии, в частности СРК;
- «промежуточного» неинвазивного теста за слежением распространенности и активности воспалительного процесса в толстой кишке - при НЯК.
- теста, оценивающего дезинтоксикационную функцию печени - при ХГ и ЦП
- маркеров интенсивности портосистемного шунтирования и портальной гипертензии
- диагностического теста наличия и стадии печеночной энцефалопатии
- теста оценки состояния энтерогепатической циркуляции желчных кислот
- теста, определяющего наличие внешнесекреторной недостаточности ПЖ у больных ХП

3. Качественный состав КЖК при заболеваниях кишечника и печени достоверно изменяется в процессе лечения и соответствует клинической динамике; может использоваться в качестве скринингового теста оценки эффективности проводимой терапии, ее коррекции и индивидуальном подборе терапии у больных данных групп.

4. Перспектива использования метода лежит в расширении спектра нозологических форм, их осложнений и лечения с использованием препаратов различных фармгрупп, и не ограничивается гастроэнтерологией, а может быть использован при изучении различных бактериальных пулов в пульмонологической, отоларингологической, стоматологической, урологической, гинекологической и др. дисциплинах.

5. Изучение КЖК при патологии ЖКТ обладает более высокой чувствительностью и специфичностью по сравнению с традиционным бактериологическим исследованием кала, позволяет рассмотреть состояние микробиоценоза на молекулярно-биохимическом уровне и приводит к выводу, что микробное сообщество является саморегулирующейся, самовосстанавливающейся функциональной системой.

Материалы диссертации доложены и представлены на Международном симпозиуме FALK, Санкт-Петербург, 1996, 4-8 Российских гастроэнтерологических неделях, Москва, 1998-2002, 2-ом Съезде научного общества гастроэнтерологов России, Москва, 1999, VI-IX Российском национальном конгрессе "Человек и лекарство", Москва, 1999-2002, на международном симпозиуме Falk по заболеваниям печени, Basel 1999, 3-ем международном конгресса «Парентеральное и энтеральное питание», Москва, 1999, Российских Симпозиумах «Воспалительные и функциональные заболевания толстой кишки» (Левитановские чтения), Москва 1998-2003, на научных сессиях Центрального НИИ Гастроэнтерологии, Москва, 1999-2003, на международном Falk Workshop по ВЗК, Любляны, 2001, на 4--7ой конференции «Гепатология сегодня», 2000, 2003, на 27-31-ой конференциях межрегиональной ассоциации гастроэнтерологов Смоленск (1999-2003) и др.. По материалам диссертации сделано 45 докладов.

Апробация диссертации состоялась 10 июня 2003 года на научно-практической конференции кафедр гастроэнтерологии, эндоскопии, кардиологии, семейной медицины Учебно-научного Центра МЦ УД Президента РФ с участием сотрудников кафедры хирургии и пропедевтики внутренних болезней ММА им. И.М. Сеченова, кафедры гастроэнтерологии Государственного института усовершенствования врачей МО РФ, врачей 51 ГКБ.

Публикации. По теме диссертации опубликована 41 научная работа.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, 4 глав, выводов, практических рекомендаций, указателя литературы и приложений. Материалы диссертации изложены на страницах, представлены в таблицах, иллюстрированы рисунками (хроматограммами), клиническими демонстрациями и примерами. Указатель литературы содержит 168 отечественных и 234 зарубежных источников.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.

Для решения поставленных задач было обследовано 467 больных, проходивших обследование и лечение на базе 51 ГКБ г. Москвы. Контрольную группу составили 70 практически здоровых лиц. Распределение больных по нозологии, полу, возрасту и продолжительности заболевания представлено в таблице 1.

Диагноз у обследованных больных был верифицирован на основании результатов комплексного клинического и лабораторно-инструментального обследования с применением современных диагностических методов (биохимических, вирусологических, рентгенологических, ультрасонографических, эндоскопических, морфологических, микробиологических и др.)

Патология кишечника была представлена синдромом раздраженного кишечника (СРК) (больные были отобраны согласно Римским критериям II 1999г), протекающим с различным

Таблица 1. Общая характеристика групп больных.

Группы	Колво(N)	М	Ж	М/Ж	Средний возраст	Продолжительность заболевания
СРК	100	42	58	1:1,4	45,4±8,4	5,3±1,5
НЯК	85	41	44	1:1,1	43,5±7,5	7,2±5,2
ХГ	58	41	17	2,4:1	41,3±4,8	4,3±1,3
ЦП	85	57	28	2,1:1	55,9±8,6	5,3±2,5
ЦА*	30	22	8	2,8:1	55,9±2,8	7,1±3,4
ЖКБ	35	12	23	1:1,9	44,2±5,8	5,9±2,7
ХП	40	29	11	2,5:1	50,2±4,8	3,5±1,2
ЗЛ (ОЗЛ,ХНЗЛ**)	34	15	19	1:1,3	52,4±9,2	**ХНЗЛ 7,9±2,4
Здоровые лица	70	31	39	1:1,3	34,2±7,8	
Всего	537					

типом нарушения стула – СРК с преобладанием диареи (индекс Д) – 65 человек и СРК с преобладанием запора (индекс З) – 35 человек, и неспецифическим язвенным колитом – 85 человек. Диагноз НЯК был верифицирован эндоскопически и морфологически. По характеру течения больные НЯК распределились следующим образом: у 78 (92%)– рецидивирующего течения и у 7 (8%)– непрерывного течения; по распространенности воспалительного процесса: у 35 чел (41%)–дистальное поражение, у 30 (35%)– левостороннее и у 20 (24%)– тотальное; Эндоскопическая активность была определена как минимальная у 27 человек (32%), умеренная – у 48 (56%), резко выраженная – у 10 больных (12%). Согласно степени тяжести легкое течение диагностировано у 38 больных (45%), среднетяжелое– 43 (51%), тяжелое у 4 больных (4%).

Больные с патологией кишечника были обследованы на фоне лечения. В зависимости от варианта терапии больные СРК были разделены на 3 группы: 1 группа – 35 человек СРК-Д на фоне лечения препаратом «Энтеросан», 2 группа – 30 человек СРК-Д на фоне лечения препаратом «Энтерол», 3 группа – 35 человек СРК-З на фоне лечения препаратом «Перистил». Оценка эффективности терапии проводилась по динамике клинических симптомов и данных лабораторно-инструментальных методов обследования.

Проводимое лечение 75 больных НЯК включало монотерапию препаратами 5-АСК («Пентаса», «Салофальк», «Мезакол») в среднетерапевтической дозе 3,0г в течение 28-30 дней до достижения клинической и эндоскопической ремиссии или наступление ремиссии

по одному из показателей или стихание процесса по другому (45 человек (60%)). В случае неэффективности монотерапии (с учетом использования максимальных терапевтических доз 5-АСК), отмеченной у 30 пациентов (40%) проводилось комбинированное лечение препаратами 5-АСК и гидрокортизоном (12 больных), 5-АСК и «Энтеросаном» (11 человек), 5-АСК и метронидазолом (7 человек).

Патологию печени имели 143 пациента. Хронический гепатит вирусной (В,С, В+С, алкогольной и смешанной этиологии), различной активности диагностирован у 58 пациентов. По этиологическому фактору ХГ больные распределились следующим образом: вирусный гепатит установлен у 30 человек: (вирус В – 10 чел, С- 16, В+С- 4); алкогольный¹ - 19 чел, токсический - 2, аутоиммунный 2 типа - 1, криптогенный – 6 человек. По активности процесса: ХГ слабой активности выявлен у 28 пациентов, умеренной активности – у 30 пациентов. Хроническими гепатитом в стадии цирроза печени страдали 85 пациентов. По этиологическому фактору больные распределились следующим образом – вирусный ЦП установлен у 20 человек: (вирус В - 6 человек, С – 8, В+С – 5); алкогольный¹ - 47 человек, токсический-2 человека, аутоиммунный-1 чел, криптогенный – 6 чел. По тяжести процесса - ЦП класса В (по Чайльд Пью) выявлен у 40 больных, класс С – 45 больных.

Стадия ПЭ устанавливалась по совокупности клинических, психоневрологических проявлений и результатов психометрического тестирования с использованием теста связи чисел. По стадиям ПЭ больные распределились следующим образом: исходно 1 стадия выявлена у 7 (8,6%) больных, 2 стадия – у 52 (61,4%), 3 стадия – у 26 больных (30%).

В программу лечения больных с ХГ входило применение гепатопротективных средств (ГП)², дезинтоксикационных мероприятий. Специфической противовирусной терапии больным этой группы не проводилось.

В зависимости от варианта терапии больные с хроническим гепатитом в стадии цирроза печени были разделены на 3 группы: 1 группа – 35 человек на фоне применения гепатопротективных средств (ГП) и базисной терапии (БТ), включающей мероприятия, направленные на коррекцию электролитных нарушений, нормализацию водного баланса, коррекцию портальной гипертензии, 2 группа – 20 человек на фоне применения гепатопротектора «Гепатосан», содержащего лиофилизированные гепатоциты свиньи, и БТ, 3 группа – 30 человек на фоне применения гепатопротекторов (ГП), проведения БТ и включением в схему синтетического дисахарида лактулозы «Дюфалак» (Солвей Фарма).

Эффективность терапии оценивалась на основании динамики клинического симптомокомплекса, результатов лабораторно-инструментальных методов исследования

¹ Алкогольная этиология устанавливалась по полиорганности поражения и оценке клинико-лабораторных признаков с помощью дискриминантного анализа, предложенного Жарковым О.Б., 1989.

² ГП-«Силимарин» (Вилар), «Легалон» (Madaus), «Хофитол» («Фик Медикаль»)

(биохимического исследования, УЗИ, ЭГДС и др). Пациентам ЦП с ПЭ проводилось психометрическое тестирование в динамике.

У 15 пациентов ЦП с резистентным асцитом проведено микробиологическое исследование асцитической жидкости (забор асцитической жидкости осуществлялся при парацентезе или в результате пункции брюшной полости под контролем УЗИ). У 11 пациентов при бактериологическом исследовании асцитической жидкости выявлен рост *E. Coli*, аэробных стафилококков, стрептококков (6 чел), анаэробных бактерий рода *Bacteroides* и рода *Clostridium* (5 человек); у 4 пациентов – роста микрофлоры выявлено не было.

Для определения диагностических маркеров портосистемной энцефалопатии обследована группа (группа сравнения*) пациентов церебральным атеросклерозом с синдромом ДЭ, состоящая из 30 больных. Дисциркуляторный характер энцефалопатии подтверждался анамнестическими, клиническими и инструментальными данными, а также при помощи подсчета суммы баллов по ишемической шкале Хачинского. Всем пациентам проводилось психометрическое тестирование с использованием теста связи чисел.

Группу больных желчнокаменной болезнью составили 35 пациентов. Для оценки влияния нарушения моторно-эвакуаторной функции кишечника на изменение энтерогепатической циркуляции желчных кислот (ЭГЦЖК) и процесс камнеобразования проводилось исследование времени транзита карболена по пищеварительному тракту: у 25 человек (71,4%) выявлено замедление времени транзита ($52,4 \pm 3,1$ час), у 4 (11,5%) и 6 (17,1%) человек соответственно – ускорение времени транзита или норма ($13,5 \pm 2,1$ и $22,6 \pm 2,2$ час).

Хроническим панкреатитом страдали 40 пациентов. По этиологическому фактору пациенты ХП распределились следующим образом- хронический панкреатит алкогольной этиологии был выявлен у 26 (64%) пациентов, билиарнозависимый - у 14 пациентов (36%).

Для верификации внешнесекреторной недостаточности ПЖ у больных ХП проводилось исследование эластазы 1 в кале. Отсутствие внешнесекреторной недостаточности ПЖ выявлено у 18 больных (45%), умеренно-легкая (УЛ) недостаточность выявлена у 5 больных ХП (12,5%), тяжелая (Т) степень – у 17 больных (42,5%). УЗИ-признаки обострения ХП были выявлены в 100% случаев.

Для оценки влияния антибактериальной терапии на микробиоценоз кишечника была обследована группа больных с заболеваниями легких (34 пациента).

По основному заболеванию больные распределились следующим образом: острыми заболеваниями легких (острые очаговые пневмонии) страдали 22 человека; хроническими заболеваниями легких в стадии обострения – 12 человек (хронический бронхит – 5 человек, инфекционно-аллергическая бронхиальная астма – 7 человек).

В программу лечения больных с заболеваниями легких входило назначение антибактериальных средств (перентерального и перорального путей введения) широкого (14 человек) и избирательного (20 человек) спектра действия. Влияние АБТ на состояние микрофлоры кишечника оценивалось динамикой симптомов кишечной диспепсии и результатов бактериологического исследования кала.

Всем больным с патологией кишечника, печени и заболеваниями легких для оценки влияния основной патологии и направленного на нее терапевтического воздействия на состояние кишечной микрофлоры, и больным ЖКБ для оценки влияния изменения кишечного микробиоценоза на нарушение ЭГЦЖК, а также для установления специфичности и чувствительности метода проводилось бактериологическое исследование кала, при котором в 100% случаев исходно был выявлен дисбактериоз кишечника 1-3 степени тяжести (по классификации Эпштейн-Литвак Р.В., Вильшанской Ф.Л., 1977). Исходно изменения определялись в главной, сопутствующей и остаточной микрофлоре. Специфических изменений в составе микрофлоры для каждой из данных патологий выявлено не было.

Методики определения короткоцепочечных жирных кислот (C₂-C₆) в различных биологических субстратах с использованием ГЖХ- анализа.

Разработанные нами способы определения КЖК (C₂-C₆ с изомерами) в биосубстратах складываются из двух этапов: процесса пробоподготовки и непосредственно газожидкостного хроматографического анализа (ГЖХ). В качестве эталонов в работе были использованы коммерческие наборы уксусной, пропионовой, масляной, изо-масляной, валериановой, изо- валериановой, капроновой, изо-капроновой кислот.

В первом случае, анализ образца методом ГЖХ проводится на хроматографе с детектором ионизации в пламени, используя кварцевую капиллярную колонку длиной 30 м., внутренним диаметром 0,25 мм., с неподвижной фазой типа FFAP (сополимер полиэтиленгликоля с тринитротерефталевой кислотой) и толщиной пленки 0,25 мкм. Режим работы – изотермический с температурой термостата 140 С°, с температурой испарителя и детектора 230 С°. Газ-носитель – азот, с давлением на входе в колонку 1,8 ати. Расход газаносителя 2 мл/ мин, водорода 25 мл/ мин, воздуха 300 мл/ мин. Соотношение потоков газаносителя на сброс и в колонку – 50:1. Время анализа – 10 мин.

Процесс пробоподготовки фекальных образцов включал: отбор образца в стерильную пробирку, его взвешивание (вес образца около 2г), гомогенизацию в 3 мл дистиллированной воды и 2 мл "внутреннего стандарта" (α,α -диметилмасляной кислоты). Одна часть получаемого гомогенизата использовалась после центрифугирования (7000 об/мин в течение 10 мин.) для ГЖХ анализа (определение несвязанных КЖК). Во вторую часть вышеуказанного гомогенизата добавляли 2 мл. 1 N раствора соляной кислоты (для

определения суммарного количества кислот), перемешивали и центрифугировали (7000 об/мин в течение 10 мин). Затем микрошприцем вводили пробы надосадочной жидкости объемом 1 мкл в испаритель хроматографа. Данный объем был установлен в результате контрольной работы. Из полученных хроматограмм содержание отдельной кислоты в мг/г образца, определяли по формуле: $P_n = P' \cdot S_n \cdot K_n / S' \cdot P_o$, где P'- вес "внутреннего стандарта" в анализируемом образце, мг, S_n- площадь пика анализируемой кислоты, S'- площадь пика "внутреннего стандарта", P_o- вес анализируемого образца, мг, K_n- весовые поправочные коэффициенты: K₂/уксусная кислота/=2,54 (±0,01); K₃/пропионовая кислота/=1,55 (±0,01); K₄/масляная и изомаляная/=1,19(±0,01); K₅/валериановая и изовалериановая/=1,08 (±0,01).

Определение содержания КЖК в сыворотке крови и асцитической жидкости. Образец сыворотки крови или асцитической жидкости объемом 2 мл. помещали в центрифужную пробирку, добавляли 1 мл. стандартного раствора и подкисляли 6N соляной кислотой. Сфокулированные белки центрифугировали при 7000 об/мин в течение 10 мин. Надосадочную жидкость объемом 1мкл трижды вводили в испаритель хроматографа. Содержание КЖК для каждой кислоты отдельно в мг/ мл пробы определяли по указанной выше формуле.

Чувствительность этого способа недостаточна при малых пробах биологических образцов (меньших чем 2,0 г), а также в случаях низкого содержания кислот в биологических субстратах (спинномозговая жидкость, биоптаты СОТК и др.).

Поставленная задача решается разделением смеси жирных кислот фракции C₂-C₆ методом газожидкостной хроматографии, включающим обработку пробы биологического субстрата водой или водным раствором реагента (как в первом случае), введение надосадочной жидкости в испаритель хроматографа и разделение 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.

Представленная модификация приводит к удешевлению стоимости колонок при сохранении хорошего разделения смесей, содержащих кислоты, способствует увеличению чувствительности способа в определении кислот в более низких концентрациях («следовых»), позволяет снизить вес исследуемого образца, уменьшить расход реактивов при пробоподготовке, обеспечить «долговременность» использования неподвижной фазы при сокращении времени анализа до 8 минут.

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

Запатентованные способы позволяют проводить выделение, разделение и определение КЖК для анализа биологических и иных объектов с высокой точностью.

Определение КЖК в кале методом ГЖХ-анализа обладает более высокой воспроизводимостью результатов по сравнению с бактериологическим исследованием (χ^2 6,56 для $p=0,05$, $DF=4$ и χ^2 3,74, $p=0,05$, $DF=4$ соответственно). Для профиля кислот - χ^2 9,36, $p=0,05$, $DF=4$.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием интегрированной системы статистической обработки и графической визуализации данных STATGRAPHICS и стандартного статистического пакета Microsoft Excel для вероятности 95%. Для протяженных переменных рассчитывали средние величины, их стандартные отклонения и ошибки ($M \pm m$ для $p < 0,05$). Для сравнения средних показателей между изучаемыми группами и подтверждения их достоверности использовали линейный регрессионный анализ с вычислением доверительных интервалов угла наклона (а) и свободного члена (b) в уравнениях регрессии. Для получения количественной оценки характера и достоверности полученных данных рассчитывали множественный коэффициент детерминации R^2 . Для изучения корреляции избранных показателей проводили корреляционный анализ с расчетом коэффициента корреляции (r). Для оценки принадлежности показателей к генеральной совокупности с нормальным распределением оценивалась достоверности полученных различий определялось значение χ^2 (распределение Пирсона) и его статистическая значимость. Для сравнения результатов традиционных методов исследования и результатов изучения КЖК при патологии ЖКТ рассчитывали чувствительность и специфичность.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.

1. Результаты изучения КЖК в различных биосубстратах у больных с патологией кишечника (СРК и НЯК).

Изучение абсолютного содержания КЖК у пациентов с СРК и НЯК демонстрирует различные значения концентраций кислот по сравнению с нормой. Абсолютные концентрации КЖК могут быть выражены следующим рядом: СРК-З>Норма>НЯК>СРК-Д ($6,18 \pm 1,12 > 10,51 \pm 2,50 > 11,64 \pm 2,65 > 19,85 \pm 3,61$ мг/г). Представленные изменения абсолютного содержания КЖК в кале при патологии кишечника могут быть связаны с количественным и качественным изменением состава микроорганизмов, среды их обитания, нарушением моторики и другими причинами.

Для объективизации полученных данных нами были рассчитаны профили ($C_n / \Sigma(C_2 + C_3 + C_4)$) уксусной (C2), пропионовой (C3) и масляной (C4) кислот, вносящих основной вклад в общий пул кислот. Результаты изучения данных параметров у больных с патологией кишечника представлены в таблице 2, из которой видно, что у больных СРК-З

отмечается повышение содержания уксусной кислоты, а СРК-Д и НЯК - повышение пропионовой и масляной кислот (повышение масляной кислоты при НЯК выражено больше). Результаты изучения значений Анаэробных индексов³, отражающих окислительно-восстановительный потенциал внутрипросветной среды, что при СРК-З значения АИ смещены в область слабоотрицательных, при СРК-Д и НЯК – в область резкоотрицательных значений по сравнению с нормой (таблица 2).

При изучении соотношения содержания изоокислоты/короткоцепочечные жирные кислоты с неразветвленной цепью ($\Sigma iC_n/C_n, iC_5/C_5$) (таблица 2) отмечены разнонаправленные сдвиги в продукции изомеров кислот при различных формах СРК и НЯК: при СРК-З происходит увеличение значений данных параметров, при СРК-Д- снижение значений, при НЯК- резкое увеличение соотношения изовалериановой кислоты к валериановой.

Анализ изучения профилей и АИ свидетельствует об изменении состава микрофлоры, связанного с переключением метаболизма колоноцитов с цикла Кребса на активацию гексозомонофосфатного шунтирования (ГМШ), что при СРК-З приводит к увеличению продукции токсичных форм кислорода и «аэробизации» среды; при СРК-Д - к активации анаэробного типа гликолиза, угнетению жизнедеятельности облигатных анаэробов за счет блокирования терминальных ферредоксинсодержащих ферментов и активизации условно-патогенных штаммов анаэробов, в частности штаммов условно-патогенных бактериоидов. При НЯКе колоноциты перестают утилизировать КЖК в нормальном режиме (метаболический блок окисления масляной кислоты). Полученные данные согласуются с результатами экспериментальных исследований ряда авторов (Готтшалк Г, 1982, Roediger W.E.W 1994, Шендеров Б.А.1998, Chapman M..A.S., Cole A. 1999, Simpson E.J. et al 2000).

Изменение продукции изоокислот при СРК-З объясняется увеличением активности аэробной микрофлоры (кишечные палочки, фекальные стрептококки рассматриваются как сильнейшие протеолитики) (Готтшалк Г, 1982, Шендеров Б.А.1998, Покровский В.И., 1999), при СРК-Д – увеличением активности анаэробов (рода *Bacteroides* spp.), обладающих слабой протеолитической активностью и усилением экскреции слизи с фекальными массами. Резкое увеличение продукции изоокислот и особенно изовалериановой кислоты при НЯКе, что связано с активизацией «микроорганизмов-гемолитиков», способных к протеолизу, при повышенном содержании крови у больных НЯК вследствие кишечной кровоточивости (гемолитические штаммы аэробов-*E.coli* и анаэробов-Клостридии).

В сыворотке крови у больных НЯК отмечается повышение абсолютного содержания ЖКЖ по сравнению с нормой и группой СРК ($0,503\pm 0,004$; $0,195\pm 0,004$ и $0,193\pm 0,004$ мг/г соответственно). При этом в профиле C_2-C_4 (таблица 2) выявлено снижение доли уксусной

³ АИ – отношение содержания суммы более восстановленных кислот (пропионовой и масляной) к содержанию менее восстановленной уксусной кислоте (Гунзалус И., Стайнер Р. 1963)

Таблица 2. Профили КЖК С2-С4, анаэробные индексы, отношение суммарного содержания отдельных изокислот (изоСп, изоС4, изоС5) к кислотам (Сп, С4, С5) и отдельно изоС5/С5 в фекалиях и сыворотке крови у больных исследуемых групп (СРК и НЯК) и у практически здоровых лиц.

Группа	Субстрат	Уксусная кислота	Пропионовая кислота	Масляная кислота	АИ	IC5/C5	EiCn/Cn
Норма	Кал	0,634±0,004	0,189±0,001	0,176±0,004	-0,576 ±0,012	1,471±0,130	0,430±0,004
	Кровь	0,902±0,006	0,070±0,004	0,027±0,002	-	-	-
СРК-З	Кал	0,689±0,002*,**	0,169±0,006*,**	0,143±0,002*,**	-0,469 ±0,011*,**	4,831±1,120*	0,719±0,011*,**
	Кровь	0,903±0,003	0,072±0,004	0,025±0,003	-	-	-
СРК-Д	Кал	0,568±0,002*,**	0,249±0,007*,**	0,183±0,004*,**	-0,757 ±0,012 *	0,968±0,121*,**	0,299±0,011*,**
	Кровь	0,902±0,003	0,071±0,004	0,025±0,003	-	-	-
НЯК	Кал	0,553±0,002*,**	0,211±0,006*,**	0,236±0,006*,**	-0,808±0,012 *,**	3,134±0,098*	0,411±0,012**,*
	Кровь	0,804±0,004*,**	0,101±0,005*,**	0,096±0,005*,**	-	-	-

Примечание: М±m для p<0,05

* - p<0,05 при сравнении с группой нормы; ** - p<0,05 при сравнении между группами СРК и НЯК

кислоты при увеличении долей пропионовой и, в основном, масляной кислот. Вероятно, это связано с повышенной проницаемостью СОТК при НЯК, что подтверждается нашими данными, т.к. при СРК (таблица 2) нами не было выявлено отклонений от нормы показателей содержания КЖК, что объясняется целостностью СОТК при данной патологии.

Результаты изучения молярных соотношений суммы свободных КЖК и их солей ($\Sigma(RH^+) / \Sigma(RNa^+)$) в норме составляют 2:1, при СРК-З – 1:1, при СРК-Д – 1:1, т.е в норме на 2 молекулы свободных короткоцепочечных жирных кислот приходится 1 молекула натриевой соли КЖК, при СРК- З и СРК-Д – на 1 молекулу свободных КЖК – 1 молекула соли КЖК. Мы связываем данные изменения с изменением моторной активности и сократительной способности кишечника, которая является результатом кислото-чувствительного кальций-зависимого миогенного механизма. Активация Ca^{++}/Na^+ каналов представляет “конечный общий путь” всех механизмов регуляции перистальтики желудочно-кишечного тракта. Полученные данные согласуются с результатами экспериментальных исследований *in vitro* (Yajima T., Cherbut C. 1997,1998).

Профили C_2-C_4 , значения АИ, соотношение изомеров кислот к кислотам с неразветвленной цепью были изучены в фекалиях у больных НЯК в зависимости от локализации воспаления, активности патологического процесса и степени тяжести заболевания (таблица 3). При дистальном поражении профиль пропионовой и масляной кислот изменяется симметрично, в группах с левосторонним и тотальным поражением эти изменения разнонаправлены: при левостороннем язвенном колите возрастает доля масляной кислоты, а при тотальном – пропионовой.. Со стороны изокилот значимые изменения показателей отмечены в отношении изовалериановой кислоты к валериановой ($изоC_5/C_5$)

С увеличением степени эндоскопической активности НЯК (таблица 3) отмечается увеличение доли масляной кислоты ($r=0,88$) и снижение доли пропионовой кислоты. Изменение отношения изокилот к кислотам с неразветвленной цепью и отдельно изовалериановой кислоты также нарастает с увеличением активности язвенного колита ($r=0,89$).

При изучении профилей C_2-C_4 , АИ и отношения отдельных изокилот ($изоC_n$, $изоC_4$, $изоC_5$) к кислотам с неразветвленной цепью (C_n , C_4 , C_5) у больных НЯК с различной клинической степенью тяжести нами не было выявлено диагностически значимых изменений в зависимости от степени тяжести НЯК.

Полученные данные изучения КЖК при различной распространенности воспалительного процесса объясняются тем, что в различных отделах толстой кишки микрофлора представлена разными популяциями микроорганизмов и утилизация и абсорбция данных кислот различны (Roediger W.E.W 1994, Breuer R.I.1997, Sandborn W.J. 1998, Осина В.А. 2002). С увеличением степени эндоскопической активности НЯК

Таблица 3. Профили C2-C4, анаэробные индексы, отношение суммарного содержания отдельных изокислот (изоCn, изоC4, изоC5) к кислотам (Cn, C4, C5) и отдельно изоC5/C5 в фекалиях у больных НЯК с различной распространенностью воспалительного процесса и с различной эндоскопической активностью воспалительного процесса и у практически здоровых лиц.

Группа	Уксусная кислота	Пропионовая кислота	Масляная кислота	АИ	EiCn/Cn	IC5/C5
Норма	0,634±0,004	0,189±0,001	0,176±0,004	-0,576±0,012	0,430±0,040	1,471±0,130
Дистальное поражение	0,564±0,003*	0,218±0,001***	0,217±0,002***	-0,820±0,011*,**	0,370±0,010*	2,301±0,150*
Левостороннее поражение	0,566±0,003*	0,197±0,001*	0,239±0,003***	-0,847±0,010*,**	0,381±0,011	2,662±0,190***
Тотальное поражение	0,523±0,002*	0,242±0,002***	0,232±0,003*	-0,958±0,012*,**	0,312±0,014***	7,359±1,531***
1 степень активности	0,566±0,003*	0,213±0,002*	0,220±0,002***	-0,811±0,011*,**	0,174±0,010***	0,975±0,150***
2 степень активности	0,556±0,003*	0,215±0,002*	0,228±0,002***	-1,026±0,012***	0,441±0,019***	2,972±0,190***
3 степень активности	0,540±0,002*	0,204±0,003*	0,255±0,003***	-0,895±0,010***	0,485±0,021***	6,443±1,531***

Примечание: M±m для p<0,05; * - p<0,05 при сравнении с группой нормы и ** - p<0,05 при сравнении между группами

отмечается увеличение содержания масляной кислоты, что может быть объяснено «метаболическим блоком окисления» масляной кислоты в колоноцитах, регулирующей их пролиферацию и дифференцировку. Нарастание отношения изокилот к кислотам с неразветвленной цепью с увеличением активности язвенного колита связаны с нарушенным муцинообразованием, деструкцией при- и эпителиальных слоев и с усилением активности гемолизирующей микрофлоры вследствие повышения кишечной кровоточивости.

При изучении качественного состава КЖК в сыворотке крови были выявлены те же тенденции, что и изменения в кале, и которые явились их «зеркальным» отображением:

- уменьшение доли уксусной кислоты при повышении долей пропионовой и масляной кислот при легкой степени тяжести и незначительные изменения долей уксусной и пропионовой кислот при повышении доли масляной кислоты при средней степени тяжести;
- снижение долей пропионовой и масляной кислот в профиле кислот C_2-C_4 при 1 степени активности и разнонаправленные изменения профилей пропионовой и масляной кислот при 2-й и 3-й степенях активности: повышение в большей степени пропионовой кислоты при 2 степени и повышение в большей степени масляной кислоты при 3 степени;
- снижение доли уксусной кислоты на фоне повышения доли пропионовой кислоты по мере увеличения распространенности НЯК и разнонаправленное изменение профиля масляной кислоты.

Представленные изменения содержания КЖК в кале и сыворотке крови коррелируют с результатами клинических, лабораторных и инструментальных методов исследования. Таким образом, вышеуказанные параметры КЖК при патологии кишечника могут быть использованы в качестве уточняющего теста наличия патологии, в частности СРК; «промежуточного» неинвазивного теста за слежением распространенности и активности воспалительного процесса в толстой кишке - при НЯК.

Для оценки возможности использования КЖК в качестве маркеров эффективности проводимой терапии и индивидуального выбора фармсредств, исследование КЖК у больных с патологией кишечника были выполнены в динамике.

В зависимости от проводимой терапии больные СРК были распределены на 3 группы: СРК-Д на фоне приема препарата Энтеросан (Э), СРК-Д на фоне приема препарата Энтерол (Эл), СРК-З на фоне приема препарата Перистил (П). Результаты изучения профилей C_2-C_4 , АИ, отношения изокилот к кислотам представлены в таблице 4. На фоне эффективного лечения происходит изменение данных параметров в область нормальных значений. Эти изменения свидетельствуют о нормализации родового состава микрофлоры, смещении окислительно-восстановительного потенциала среды в сторону нормальных значений, что обеспечивает условия для активизации облигатной микрофлоры, и восстановлению

Таблица 4. Профили C2-C4, анаэробные индексы, отношение суммарного содержания отдельных изокислот (изоCn, изоC4, изоC5) к кислотам (Cn, C4, C5) и отдельно изоC5/C5 в фекалиях у больных СРК на фоне лечения в зависимости от эффективности и у практически здоровых лиц (ретроспективная оценка).

Группа		Уксусная кислота	Пропионовая Кислота	Масляная кислота	АИ	EiCn/Cn	IC5/C5
Норма		0.634±0.004	0.189±0.001	0.176±0.004	-0.576(±0.012)	0.430± 0.04	1.471± 0.13
СРК-Д	1 тип до лечения	0,459±0.007* **	0,340±0.007* **	0,201±0.005* **	-1,179(±0.015) *	0,060 ±0,08* **	0,304 ±0,04* **
	После Энтеросана	0,619±0.004	0,176±0.004	0,182±0.002	-0,578(±0.012)	0.417± 0.05	1.461± 0.11
	2 тип до лечения	0,493±0.005* **	0,249±0.006* **	0,258±0.005* **	-1,029(±0.014) *	0,425±0,02* **	1,158±0,18* **
	После Энтерола	0,618±0.006	0,183±0.002	0,195±0.003	-0,612(±0.012)	0.441± 0.04	1.516± 0.,09
СРК-З	3 тип до лечения	0,652±0.003* **	0,179±0.005* **	0,169±0.002* **	-0,558(±0.009) * **	1,087±0,03* **	3,438±1,211* **
	После Перистила	0,632±0.002	0,183±0.003	0,173±0.003	-0,570(±0.012)	0.458± 0.04	1.771± 0.15

Примечание: M±m, где p< 0,05* - p<0,05 при сравнении показателей с нормой, ** - p<0,05 при сравнении показателей между типами.

Жирным шрифтом выделены опорные критерии выбора группы фармсредств

процессов протеолиза. Представленные параметры КЖК соотносятся с динамикой клинико-инструментального симптомокомплекса и результатами бактериологического исследования кала, указывающими на увеличение количества больных с 0-1 степенью дисбактериоза, и могут служить критериями эффективности лечебной коррекции.

У больных СРК с неэффективным лечением изменений в указанных параметрах КЖК отмечено не было или происходило усугубление имеющихся нарушений.

Кроме того, при ретроспективном анализе зависимости указанных параметров КЖК (профиль C_2-C_4 , АИ, $iCn/Cn, iC_5/C_5$) и эффективности терапии, нами были выявлены типы изменений КЖК, которые могут являться предикторами ответа на проводимое лечение (таблица 4). Терапия с использованием Энтеросана привела к ремиссии патологии при 1-ом типе СРК-Д, характеризующимся резким увеличением пропионовой кислоты и резким снижением уровня $iCn/Cn, iC_5/C_5$. Терапия с использованием Энтерола была эффективна при 2-м типе, характеризующимся равнодолевым увеличением пропионовой и масляной кислот и незначительным снижением уровня $iCn/Cn, iC_5/C_5$. Терапия Перистилом в группе СРК-3 (3 тип) была эффективна при резком увеличении уксусной кислоты и изокилот.

Полученные данные изменения КЖК у больных СРК-Д объясняются механизмом действия препаратов. Энтеросан (обладает в частности бактериостатическим действием на Γ -анаэробов) и Энтерол (изменяет внутриполостную кишечную среду, оказывает действие на клостридиальную флору и др.) являются препаратами непосредственно воздействующим на микрофлору и механизм их действия объясняется составом. Использованный в лечении СРК-3 препарат Перистил такой способностью не обладает. По нашему мнению, нормализация моторно-эвакуаторных расстройств кишечника, приводит к естественной деконтаминации условно-патогенной микрофлоры и изменению внутриполостного окислительно-восстановительного потенциала. С восстановлением среды обитания, происходит активизация метаболизма и увеличение численности облигатной микрофлоры, что, в свою очередь, влияет на презептимальный и эпителиальный барьер защиты кишечной стенки и чувствительность рецепторного аппарата кишечника.

– Как указывалось выше, больные НЯК были распределены по результатам оценки эффективности лечения (клиническим и эндоскопическим).

Результаты изучения КЖК (таблица 5) показали, что у больных НЯК после эффективного лечения препаратами 5-АСК в качественном составе КЖК после лечения отмечается тенденция к формированию нормального соотношения C_2-C_4 , значений АИ, соотношения изокилот к кислотам. Это связано, по всей вероятности, с изменением метаболической активности анаэробных популяций, с увеличением количества абсорбирующих единиц (функционирующих колоноцитов) и с нормализацией пассажа по толстой кишке. Представленные изменения содержания КЖК четко согласуются с

Таблица 5. Профили КЖК С2-С4, анаэробные индексы, отношение суммарного содержания отдельных изокислот (изоСn, изоС4, изоС5) к кислотам (Сn, С4, С5) и отдельно изоС5/С5 в фекалиях у больных НЯК в зависимости от эффективности проводимого лечения и у практически здоровых лиц (ретроспективная оценка).

Группа	Уксусная кислота	Пропионовая Кислота	Масляная кислота	АИ	EiCn/Cn	iC5/C5
Норма	0.634±0.004	0.189±0.001	0.176±0.004	-0.576±0.012	0.430± 0.04	1.471± 0.13
НЯК до лечения (группа эффективной монотерапии 5-АСК) (1 тип)	0.553±0.003*	0.211±0.002*	0.236±0.003*	-0.947±0.014*	0.414±0.003*	3.134±0.003*
НЯК после эффективной монотерапии 5-АСК	0.589±0.004**	0.190±0.001**	0.225±0.003**	-0.740±0.013**	0.420±0.004**	0.947±0.003**
Неэффективная монотерапия 5-АСК (2 тип)	0.418±0.006*	0.268±0.003*	0.312±0.004*	-1.387±0.015*	0.122±0.006*	9.219±0.004*
после лечения 5-АСК и гидрокортизоном	0.629±0.003**	0.198±0.001**	0.171±0.002**	-0.590±0.012**	0.173±0.003**	0.619±0.002**
Неэффективная монотерапия 5-АСК (3 тип)	0.496±0.004*	0.235±0.004*	0.268±0.003*	-1.014±0.015*	0.781±0.004*	2.100±0.003*
после лечения 5-АСК и метронидазолом	0.572±0.004**	0.195±0.004**	0.175±0.004**	-0.647±0.012**	0.485±0.004**	1.502±0.004**
Неэффективная монотерапии 5-АСК(4 тип)	0.564±0.003*	0.251±0.003*	0.184±0.003*	-0.771±0.013*	0.169±0.003*	0.981±0.003*
после лечения 5-АСК и энтеросаном	0.618±0.004**	0.192±0.002**	0.178±0.003**	-0.598±0.012**	0.347±0.004**	1.263±0.003**

Примечание: М±м, где р< 0,05; * - р<0,05 при сравнении с группой нормы и между группами; ** - р<0,05 при сравнении показателей до и после лечения. **Жирным шрифтом** выделены опорные критерии выбора группы фармсредств

динамикой результатов клинических, клинико-лабораторных и инструментальных методов исследования на фоне лечения (отсутствие патологических примесей, снижение частоты дефекаций, улучшение консистенции кала, положительная эндоскопическая динамика) и могут служить критериями эффективности лечебной коррекции.

У больных с отсутствием положительного эффекта монотерапии 5-АСК исходно качественного состава КЖК носили более грубый характер и в процессе монотерапии 5-АСК, оказавшейся неэффективной, было отмечено усугубление имевшихся нарушений. По всей вероятности, это можно считать неблагоприятным прогностическим признаком в отношении эффективности монотерапии 5-АСК. Возможно, это связано с усилением активности НЯК на фоне затянувшегося обострения и усугублением морфо-функциональных нарушений в эпителии СОТК, а следовательно и метаболического блока окисления масляной кислоты в колоноцитах, который в свою очередь инициируется и/или усугубляется интестинальной потерей жидкости и нарушением обмена ионов Na^+ и H^+ , в регуляции которых через цАМФ-зависимые системы участвует пропионовая кислота. Наши данные согласуются с исследованием ряда авторов (Sartor R.B. 1995, Белоусова Е.А. 1998, 2002).

Больным НЯК при неэффективности монотерапии 5-АСК проводилось комбинированное лечение с анализом клинико-эндоскопических показателей и параметров КЖК (как было указано выше).

При дальнейшем ретроспективном анализе зависимости указанных параметров КЖК (профиль $\text{C}_2\text{-C}_4$, АИ, $i\text{Cn/Cn}$, $i\text{C}_5/\text{C}_5$) и эффективности моно- и комбинированной терапии, нами были выявлены 4 типа изменений КЖК, которые могут являться предикторами ответа на проводимое лечение (таблица 5). Монотерапия с использованием препаратов 5-АСК привела к ремиссии патологии у больных НЯК с 1-ым типом КЖК, характеризующимся равнодолевым увеличением пропионовой и масляной кислот и незначительным снижением уровня $i\text{Cn/Cn}$. Комбинированная терапия препаратами 5-АСК и гидрокортизоном была эффективна при 2-м типе, характеризующимся резким повышением относительного содержания пропионовой и масляной кислот в суммарном содержании $\text{C}_2\text{-C}_4$, резким снижением отношения $i\text{Cn/Cn}$ цепью и повышением отношения содержания $i\text{C}_5/\text{C}_5$. Комбинированная терапия 5-АСК и метронидазолом оказалась эффективной при 3 типе, характеризующимся повышением относительного содержания масляной кислоты в суммарном содержании $\text{C}_2\text{-C}_4$, резким повышением значений отношения содержания изокилот к кислотам и $i\text{C}_5/\text{C}_5$. Комбинированная терапия 5-АСК и Энтеросаном привела к ремиссии НЯК у больных при резком повышении процентного содержания масляной кислоты в суммарном содержании $\text{C}_2\text{-C}_4$, резком снижении отношения $i\text{Cn/Cn}$ и $i\text{C}_5/\text{C}_5$ (4 тип).

Отмеченные изменения показателей КЖК при разных типах могут быть связаны с доминированием различных звеньев патогенеза НЯК. Так при 2-ом типе ведущее место в формировании заболевания, по всей вероятности, играли аутоиммунные нарушения, за счет нарушения, с одной стороны, муцинообразования, дифференцировки и пролиферации эпителиоцитов СОТК, с другой стороны, состава микрофлоры толстой кишки, которые приводили к активации иммунокомпетентных клеток и самоподдерживающегося воспалительного каскада, который вовлекал некоторые или все провоспалительные и противовоспалительные медиаторы, вследствие нарушенного регулирования местного (СОТК) и системного звеньев иммунной системы. 3-ий тип КЖК у больных НЯК вероятно обусловлен изменением внутрипросветной среды и активизацией анаэробной (род *Clostridium*) микрофлоры. У больных 4-го типа в развитие заболевания вносили вклад как выраженные нарушения приэпителиального гликокаликсного слоя, так и активизация сапрофитных штаммов анаэробных популяций микроорганизмов (в частности родов бактероидов (Г-), являющихся основными продуцентами пропионовой кислот).

Таким образом, параметры КЖК могут служить не только критериями оценки эффективности проводимого лечения, но и критериями выбора фармсредств для дифференцированного лечения патологии кишечника.

2. Результаты изучения КЖК в различных биосубстратах у больных с патологией печени (ХГ и ЦП).

Методом ГЖХ были изучены абсолютное содержание и профили КЖК в сыворотке крови и кале у больных с патологией печени. Абсолютные концентрации КЖК в сыворотке крови могут быть выражены следующим рядом: ЦП(С)>ЦП(В)>ХГ(УА)>ХГ(СА)>Норма($0,488 \pm 0,051 > 0,459 \pm 0,061 > 0,372 \pm 0,041 > 0,251 \pm 0,071 > 0,195 \pm 0,021$ мг/г).

Результаты изучения суммарного абсолютного и относительного количества C_2-C_4 в сыворотке крови представлены в таблице 6. При ХГ происходит достоверное повышение доли уксусной кислоты при снижении долей пропионовой и масляной кислот, причем доля масляной кислоты достоверно снижается с увеличением активности ХГ. При ХГ в стадии цирроза печени отмечается достоверное снижение доли уксусной кислоты при увеличении долей пропионовой и масляной кислот. При увеличении тяжести ЦП происходит дальнейшее снижение доли уксусной кислоты и возрастание долей пропионовой и масляной кислот.

Как известно, пропионовая кислота является одним из промежуточных субстратов окисления жирных кислот и служит субстратом для образования в печени пропионил-КоА и/или метилмалонил-КоА, обладающих регуляторными функциями в углеводном и

липидном обмене организма хозяина. Масляная кислота вовлекается в биосинтез жирных кислот и холестерина (Cohn H.O., Roth K.S. 1996, Покровский В.М., Коротько Г.Ф. 2000). Изменение уровней С3 и С4 при патологии печени обусловлено функциональным состоянием клеток печени. Кроме того, повышение уровней С3 и С4 при ЦП, может быть обусловлено приобретенным дефицитом ферментов, участвующих в утилизации КЖК, в частности пропионил-КоА- и изовалерилКоА – дегидрогеназы, вследствие печеночно-клеточной недостаточности и как снижением утилизации данных кислот для синтеза холестерина, что было подтверждено расчетом коэффициентов корреляции уровня С3 и С4 и показателей сывороточного холестерина ($r_1=0,83$ и $r_2=0,84$ соответственно).

Нами было проанализировано абсолютное содержание КЖК с длиной цепи атомов углерода более 3, изомеров КЖК и отдельно изовалериановой кислоты в сыворотке крови (таблица 6). Установлено, что у больных ХГ значения данных параметров в сыворотке крови имеют тенденцию к повышению по отношению к норме. У больных ЦП отмечается достоверное повышение показателей суммарного абсолютного содержания высших кислот, изокилот и изоС5 в сыворотке крови как по отношению к группе нормы, так и к группе больных ХГ. При увеличении тяжести ЦП происходит достоверное нарастание этих показателей в сыворотке крови.

Таким образом, изменения, отмеченные в профиле уксусной, пропионовой и масляной кислот по отношению к норме в совокупности с повышением абсолютного содержания КЖК, суммарного абсолютного содержания высших кислот, изокилот и изоС5 в сыворотке крови, можно связать как с функциональной несостоятельностью печеночной клетки адекватно метаболизировать вышеуказанные КЖК, так и с их непосредственным вкладом в токсическую нагрузку на поврежденную печень. Наши наблюдения согласуются с данными литературы (Clausen M.R. et al 1991, Demigne C. 1994, Шерлок Ш, Дули Дж. 1999), указывающими на токсическое влияние повышенного содержания отдельных КЖК. Это позволяет нам отнести данные параметры к маркерам, отражающим *детоксицирующую функцию печени*.

Нами было изучено относительное содержание КЖК с длиной цепи атомов углерода более 3, изомеров КЖК и изоС5 в сыворотке крови. Результаты исследования представлены в таблице 6. Установлено, что у больных ХГ значения данных параметров в сыворотке крови фактически не изменены по отношению к норме и не зависят от активности ХГ. У больных ЦП отмечено достоверное повышение указанных кислот как по отношению к группе нормы, так и к группе больных ХГ, причем с увеличением тяжести ЦП происходит достоверное нарастание относительного содержания КЖК с длиной цепи атомов углерода более 3, изомеров КЖК и изоС5 в сыворотке крови.

Таблица 6. Результаты изучения суммарного абсолютного (мг/мл) и относительного количества С2-С4 относительного количества высших кислот (С3+изоС4+...+С6), изокислот (изоС4+изоС5+изоС6), изо- С5 в сыворотке крови у больных с заболеваниями печени и у практически здоровых лиц.

Группа	Абс / Отн	С2	С3	С4	Е(С2+С3+С4)	Σ (С3+изоС4+...+С6)	Σ (изоСn)	ИзоС5
Норма	Абс	0,164±0,01	0,013±0,004	0,005±0,001	0,182±0,01	0,030±0,003	0,008±0,002	0,004±0,001
	Отн	0,902±0,006	0,071±0,005	0,027±0,002	1	0,158±0,006	0,040±0,007	0,019±0,002
ХГ СА	Абс	0,230±0,01	0,011±0,003	0,005±0,001	0,246±0,01	0,030±0,003 **	0,009±0,002 **	0,004±0,002**
	Отн	0,935±0,007* **	0,045±0,004* **	0,021±0,002* **	1	0,117±0,009 **	0,034±0,005 **	0,014±0,003**
ХГ УА	Абс	0,330±0,005	0,023±0,005	0,006±0,001	0,359±0,01	0,040±0,004 **	0,013±0,002 **	0,007±0,003**
	Отн	0,920±0,008* **	0,063±0,003* **	0,016±0,002* **	1	0,111±0,005 * **	0,034±0,005**	0,019±0,002**
ЦП класс В	Абс	0,350±0,005	0,034±0,005	0,024±0,001	0,408±0,01	0,109±0,009 * **	0,042±0,005*,**	0,014±0,002* **
	Отн	0,858±0,005* **	0,083±0,004* **	0,059±0,002* **	1	0,257±0,010 * **	0,117±0,008 * **	0,049±0,003* **
ЦП класс С	Абс	0,367±0,007	0,037±0,001	0,026±0,001	0,430±0,01	0,119±0,007 * **	0,044±0,009 * **	0,015±0,002* **
	Отн	0,853±0,008* **	0,086±0,004* **	0,061±0,005* **	1	0,268±0,010 * **	0,125±0,008 * **	0,061±0,004* **

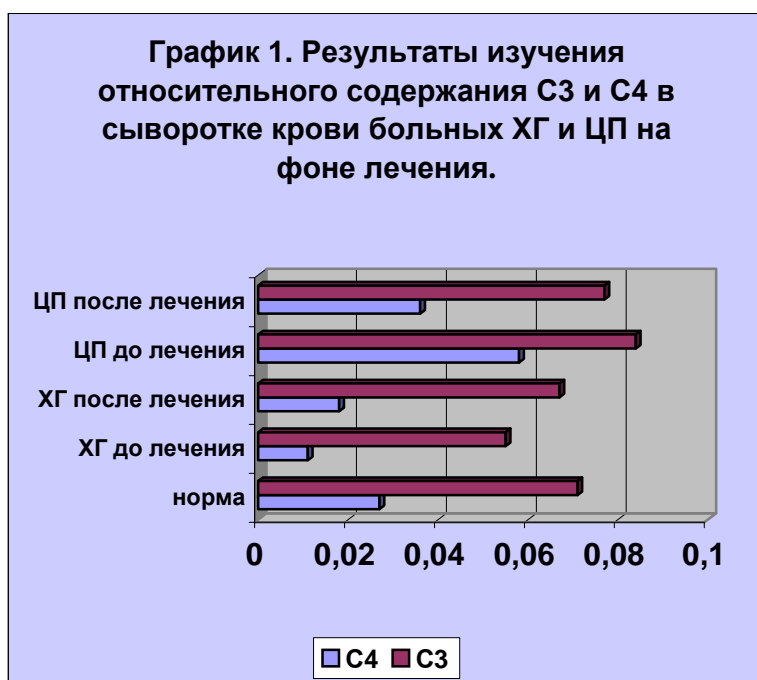
Примечание: М±m, p < 0,05, * p < 0,05 при сравнении показателей с нормой, ** p < 0,05 при сравнении показателей между группами ХГ и ЦП.

Установленный факт динамического повышения концентраций вышеуказанных кислот при заболеваниях печени подтверждает возможность использования КЖК для оценки детоксицирующей функции печени. Однако, выявленные достоверные изменения относительного содержания вышеуказанных показателей в сыворотке крови у больных ЦП не могут быть связаны только со снижением детоксицирующей функции поврежденных гепатоцитов, а объясняются и портальной гипертензией с шунтовым сбросом метаболитов, в частности КЖК, в центральный кровоток. Этот тезис был подтвержден нами при динамическом обследовании 10 больных ХГ, у которых в процессе наблюдения (около 1,5 лет) заболевание прогрессировало в цирроз печени. Наши данные по содержанию КЖК в сыворотке крови соотносятся с клинико-инструментальными данными обследования больных ЦП и, таким образом, могут служить маркерами *портальной гипертензии и шунтового сброса*.

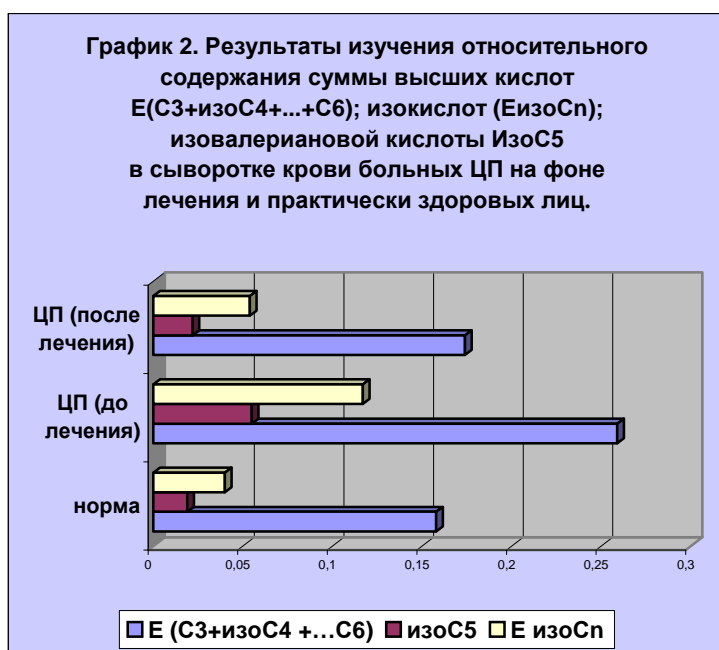
Как известно, КЖК имеют бактериальное происхождение и проникают в кровяное русло путем абсорбции из кишечника (Cummins J.H. 1994, Mortensen P.V. 1995). Учитывая полученные результаты суммарного содержания высших кислот (С3-С6), изооксалат и изоС5 в сыворотке крови у больных ЦП, мы проанализировали соответствующие показатели в кале, исходя из положения, что повышение данных концентраций сыворотки крови может быть связано с увеличением продукции «токсичных» метаболитов (изомеры КЖК, высшие кислоты) микрофлорой кишечника. Результаты изучения этих показателей в кале у больных с патологией печени, как при ХГ, так и при ЦП, свидетельствуют о тенденции к увеличению абсолютных концентраций данных кислот и их относительного содержания по сравнению с нормой. Однако, различий в показателях высших кислот, изомеров КЖК и изоС5 между группами ХГ и ЦП не обнаружено. Таким образом, изменения количественного и качественного содержания вышеуказанных параметров в сыворотке крови у больных ЦП не могут быть связаны только с увеличением продукции данных кислот микрофлорой кишечника, а напрямую зависят от патологического процесса в печени: наличие портальной гипертензии и шунтового сброса метаболитов в центральный кровоток.

Для оценки возможности использования КЖК в качестве маркеров эффективности проводимой терапии при патологии печени, исследование КЖК были выполнены в динамике на фоне лечения. У больных с патологией печени (ХГ и ЦП) на фоне лечения в сыворотке крови отмечено снижение суммарного абсолютного содержания КЖК (с $0,32 \pm 0,08$ до $0,25 \pm 0,07$ мг/г при ХГ; и с $0,47 \pm 0,08$ до $0,37 \pm 0,08$ мг/г при ЦП), за счет снижения С₂-С₄ кислот, высших кислот и изомеров. В относительном содержании С₃-С₄ кислот у больных ХГ и ЦП на фоне лечения, представленном на графике 1, отмечено достоверное увеличение относительного содержания этих кислот при ХГ. При ЦП отмечается обратная зависимость: на фоне лечения достоверно снижается содержание данных кислот в сыворотке крови. Кроме того, при изучении относительного содержания

высших кислот, изокислот и изовалериановой кислоты в сыворотке крови больных ЦП, отмечено их достоверное снижение на фоне лечения (график 2).



Определяемые ГЖХ-методом концентрации КЖК в сыворотке крови, а также введенные нами на основе биохимических изменений параметры (профили C_2-C_4 , относительное содержание высших кислот, изокислот и $изоC_5$ в сыворотке крови при ХГ и ЦП четко соотносятся с клинической симптоматикой, данными лабораторного и инструментального исследований



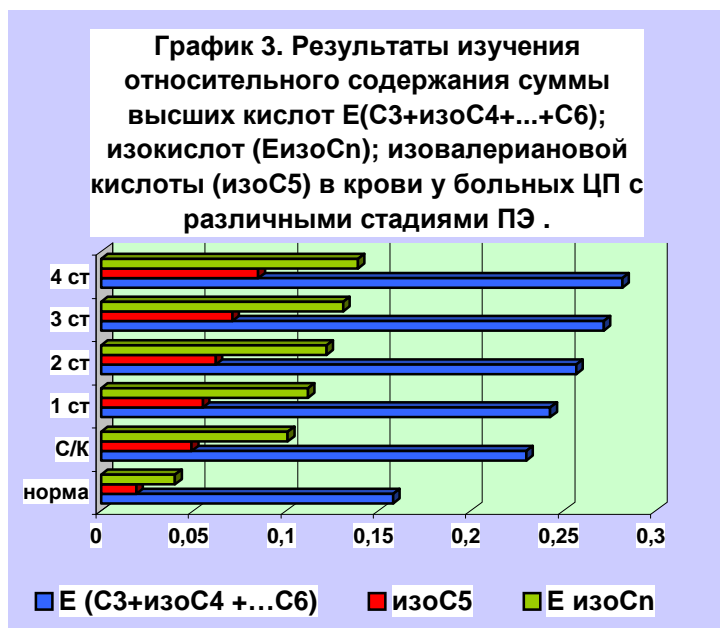
и имеют достоверные изменения в процессе лечения.

Полученные нами данные изменения профилей уксусной, пропионовой и масляной кислот у больных ХГ и ЦП исходно и на фоне лечения подтверждают возможность их использования в качестве маркеров, отражающих функциональное состояние гепатоцитов и, в первую очередь, детоксицирующую функцию печени, о чем свидетельствует положительная динамика со стороны биохимических

показателей, отражающих функциональное состояние клеток печени.

Изменение суммарного относительного содержания высших кислот, изокислот и $изоC_5$ в сыворотке крови у больных ЦП после проведенного лечения отражает уменьшение шунтового сброса метаболитов прежде всего в связи с уменьшением портального давления, что подтверждается данными инструментальных методов исследования (достоверное снижение объема селезенки, уменьшение диаметра селезеночной вены, увеличения числа больных с менее выраженной степенью ВРВП).

Как указывалось, больным ЦП проводилось клиническое и психометрическое тестирование для определения динамики стадии ПЭ на фоне лечения. Установлено увеличение количества больных с субклинической и I стадией ПЭ после лечения (6 (7%) и 45 (53%) пациентов соответственно).



Уменьшилось количество пациентов со 2-ой и 3-ей стадией ПЭ (16 (18,8%) и 8 (9,4%) пациентов соответственно. 4-ая стадия диагностирована у 10 пациентов (11,8%)

Мы изучили зависимость между относительным содержанием высших кислот, изомеров КЖК и изовалериановой кислоты и стадией ПЭ. Результаты этого изучения (график 3) демонстрируют прямо пропорциональное нарастание данных параметров с утяжелением стадии ПЭ.

Коэффициенты корреляции стадии ПЭ и относительного содержания высших кислот, изокилотов и отдельно изовалериановой кислоты составили $r_1=0,76$, $r_2=0,87$, $r_3=0,83$ соответственно.

Наиболее распространенной патогенетической моделью ПЭ является на настоящий момент «гипотеза глии», при которой большое значение уделяется эндогенным бактериальным нейротоксинам: в частности аммиаку, меркаптанам, средне и короткоцепочечным жирным кислотам, которые вызывают отек и функциональные нарушения астроглии (Dahl D.R. 1968, Шерлок Ш, Дули ДЖ. 1999). Полученные данные содержания КЖК могут свидетельствовать об их прямом и опосредованном токсическом действии: оказывая деполяризующее влияние на мембраны астроцитов, они являются синергистами в отношении других нейротоксинов. Полученные нами данные подтверждают данную гипотезу и согласуются с результатами исследований ряда авторов (Комаров Ф.И., 1995, Gibson G.R., Macfarlane G.T. 1995, Подымова С.Д. 2001).

Нами были изучены чувствительность и специфичность исследования КЖК в сыворотке крови и результатов психометрического тестирования больных ЦП с ПЭ. Установлено, что чувствительность исследования КЖК в сыворотке крови составила 93%, специфичность – 92%. Чувствительность и специфичность психометрического тестирования составила 77% и 82% соответственно, что согласуется с данными литературы (Шерлок Ш. 1999, Подымова С.Д. 2001).

Исследование КЖК в сыворотке крови и кале больных ЦП с синдромом ПЭ проводилось в динамике на фоне лечения. У больных с достигнутой эффективностью

Таблица 7. Относительное содержание уксусной (С2), пропионовой (С3), масляной (С4) кислот в профиле С2-С4, относительное количество высших кислот с длиной цепи атомов углерода более 3 (С3+изоС4+...+С6); суммы изокилот ($\Sigma(\text{изоСn})=\text{изо С4}+\text{изоС5}+\text{изоС6}$) и изоС5 в профиле С2-С6 в сыворотке крови и кале у больных ЦП с ПЭ, определяющие назначение фармпрепаратов определенной группы.

Группа	Субстрат	С2	С3	С4	$\Sigma(\text{С3}+\dots+\text{С6})$	$\Sigma\text{изоСn}$	ИзоС5
Норма	кровь	0,902±0,006	0,071±0,005	0,027±0,002	0,158±0,006	0,040±0,007	0,019±0,002
	Кал	-	-	-	0,436±0,015	0,068±0,004	0,042±0,009
ПЭ 1 тип (использование препаратов, влияющих на продукцию КЖК в кишке (Дюфалак))	кровь	0,859±0,005*	0,085±0,004*	0,058±0,002*	0,259±1,010*	0,117±0,008*	0,055±0,007*
	Кал	-	-	-	0,547±0,020*,**	0,111±0,8**	0,089±0,004**
ПЭ 2 тип (препараты с сочетанным действием: влияющих на абсорбцию и утилизацию КЖК в кишечнике и повышающих их утилизацию клетками печени (Гепатосан))	кровь	0,848±0,005*,**	0,091±0,004*,**	0,062±0,002*,**	0,267±0,010*,**	0,125±0,008*,**	0,073±0,007*,**
	Кал	-	-	-	0,539±0,020*,**	0,098±0,002*,**	0,085±0,004*,**
ПЭ 3 тип (ГП в повышенных терапевтических дозах (силимар, карсил))	кровь	0,831±0,005*,**	0,098±0,004*,**	0,074±0,002*,**	0,261±0,007 *	0,119±0,006 *	0,061±0,005 *
	Кал	-	-	-	0,471±0,020*	0,074±0,012*	0,053±0,014*

Примечание: * - $p < 0,05$ при сравнении показателей с группой практически здоровых лиц, ** - $p < 0,05$ при сравнении показателей между выделенными типами,

Жирным шрифтом выделены опорные критерии выбора группы фармсредств

терапии происходило достоверное снижение относительного содержания высших кислот, изомеров КЖК и изовалериановой кислоты в сыворотке крови, что выражалось в купировании клинических проявлений ПЭ или снижении ее стадии. При неэффективной терапии показатели КЖК не менялись или происходило усугубление имеющихся нарушений. При ретроспективном анализе зависимости указанных параметров КЖК и эффективности терапии, нами были выявлены типы изменений КЖК, которые могут являться предикторами ответа на проводимое лечение (таблица 7). Терапия с применением Дюфалака, влияющего на продукцию КЖК в кишечнике, привела к купированию клинических симптомов ПЭ у больных с 1-ым типом изменения КЖК, характеризующимся повышением относительного содержания суммы кислот с числом атомов углерода более 3, суммы изомеров КЖК, изовалериановой кислоты преимущественно в кале. Терапия с использованием препарата Гепатосан, имеющего 2 фазы действия: метаболизация токсичных метаболитов на уровне кишечника и протективное действие на клетки печени, приводящее к увеличению утилизации данных веществ на уровне гепатоцитов, была эффективна у больных с 2-ым типом, характеризующимся сочетанным выраженным повышением данных параметров как в сыворотке крови, так и кале. Применение гепатопротективных средств, влияющих на повышение утилизации токсичных метаболитов клетками печени, в максимальных терапевтических дозах привело к купированию симптомов ПЭ при третьем типе, характеризующимся резким изменением профиля С2-С4 в сыворотке крови.

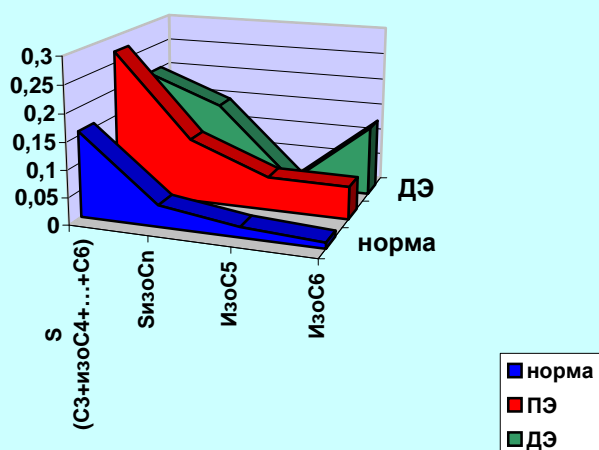
Таким образом, изучение КЖК у больных ЦП с ПЭ доказывает возможность их использования в качестве диагностических маркеров ПЭ, маркеров мониторинга стадии ПЭ на фоне проводимого лечения и оценки его эффективности, а также для объективизации выбора фармсредств для индивидуального лечения.

3. Результаты изучения КЖК в сыворотке крови у больных с церебральным атеросклерозом с синдромом ДЭ* (группа сравнения).

Для уточнения правильности выбранных опорных диагностических критериев ПЭ, исследования КЖК в сыворотке крови, были выполнены у больных ЦА с ДЭ. Результаты исследования качественного состава КЖК представлены на графике 4. Как было установлено, у больных ПЭ в сыворотке крови происходит достоверное изменение профиля С2-С4, выражающееся в увеличении уровней пропионовой и масляной кислот; повышение уровня изовалериановой кислоты. Значения коэффициента отношения изоС6/изоС5 составляют 0,92-1,94. У больных ДЭ выявлен профиль С2-С4 соответствующий нормальным значениям. Отмечено достоверное повышение уровня изокапроновой кислоты (изоС6/С6) и значения коэффициента отношения изоС6/изоС5 равны 4,4-6,82. Нами были изучены чувствительность и специфичность исследования КЖК и результатов психометрического тестирования для данных патологий. Установлено, что чувствительность и специфичность исследования КЖК в сыворотке крови для диагностики ПЭ составляет 93% и 92% соответственно, а в отношении ДЭ

(учитываются диагностические маркеры ДЭ) – 90% и 93% соответственно, что превосходит аналогичные критерии психометрического тестирования (соответственно 77% и 82% для ПЭ, 80% и 82% для ДЭ). Однако специфичность психометрического тестирования для каждой патологии составила 20%, по сравнению с исследованием КЖК (с учетом опорных для ПЭ и ДЭ параметров), где показатель был равен 87%.

График 4. Качественный состав КЖК (высшие кислоты, сумма изокилот, изоС5, изоС6) в сыворотке крови у больных изучаемых групп.



Полученные результаты содержания КЖК в сыворотке крови больных ЦА с ДЭ могут быть связаны с реализацией двух взаимодействующих причин при данной патологии: с одной стороны, с повышением синтеза холестерина при сохранной функции печени, о чем свидетельствует повышенный уровень β -холестерина и неизменный профиль С2-С4 КЖК) и, с другой стороны, с

нарушением механизма обратной связи, регламентирующего снижение синтеза холестерина печенью при повышенной концентрации его в сыворотке крови, что согласуется с результатами экспериментальных исследований ряда авторов (Марри Р. и соавт 1993, Cohn R.M., Roth K.S. 1996).

Отмеченное повышение концентрации изоС6 кислоты, которая участвует в биосинтезе длинноцепочечных жирных кислот, нейтральных жиров (моно-, ди- и триглицеридов), дифосфатидилглицерина и др., связано с повышением уровня триглицеридов (коэффициент корреляции уровня изокапроновой кислоты и триглицеридов $r=0,81$), которые в совокупности с гиперхолестеринемией обсуждаются в качестве возможных звеньев патогенеза дисциркуляторной энцефалопатии (Верещагин Н.В. и соавт 1997, Яхно Н.Н. 2000).

4. Результаты изучения КЖК в различных биосубстратах у больных с ЖКБ.

У больных с ЖКБ средняя суммарная концентрация КЖК в кале незначительно повышена по сравнению с нормой за счет увеличения всех КЖК ($14,48 \pm 1,82$ и $10,51 \pm 2,51$ мг/г), содержание КЖК в сыворотке крови сопоставимо с нормой.

Результаты изучения качественного состава КЖК в кале и сыворотке крови представлены в таблице 8. В профиле С2-С4 кислот в кале больных ЖКБ отмечается достоверное повышение долей пропионовой и масляной кислот. Значения АИ смещены в сторону резко отрицательных значений. В содержании изокилот и отношении изокилот

Таблица 8. Результаты исследования профилей С2-С4 в кале и анаэробных индексов у группы больных ЖКБ и у практически здоровых лиц.

Заболевание	Субстрат	Уксусная кислота	Пропион. Кислота	Масляная кислота	АИ	ДАИ(N)
Норма	Кал	0.634±0.004	0.189±0.001	0.176±0.004	-0.576 (±0.012)	
	Кровь	0,902±0,006	0,071±0,005	0,027±0,002	-	-
ЖКБ	Кал	0.561±0.002*	0.239±0.006*	0.199±0.002*	-0.781(±0.011)*	0.205
	Кровь	0,909±0,006*	0,053±0,004*	0,036±0,002*	-	-

Примечание: М±m, p<0,05 * p<0,05 по сравнению с нормой.

Таблица 9. Результаты исследования профилей С2-С4 и анаэробных индексов у групп больных с заболеваниями легких на фоне АБТ и у практически здоровых лиц.

Заболевание		Уксусная кислота	Пропион. Кислота	Масляная кислота	АИ	ДАИ (N)	ДАИ леч
Норма	Абс	5.88±1.22	1.79±0.55	1.72±0.55			
	отн	0.634±0.004	0.189±0.01	0.176±0.004	-0.576 (±0.009)		
ХНЗЛ	Абс	0.91±0.11	0.26±0.09	0.19±0.05			
	Отн	0.669±0.021*	0.191±0.021*	0.140±0.021*	-0.495 (±0.009)*	-0,081	
ХНЗЛ (АБТ)	Абс	1,33±0.11	0.39±0.09	0.32±0.09			
	Отн	0.654±0.021	0.190±0.021*	0.156±0.021	-0.529 (±0.005)	-0,047	0,035
ОЗЛ	Абс	2,02±0.07	0,61±0.11	0.38±0.11			
	Отн	0.672±0.021*	0.202±0.021*	0.126±0.021*	-0.488 (±0.002)*	-0,088	
ОЗЛ (АБТ)	абс	2,04±0.09	0.59±0.11	0.36±0.11			
	отн	0.683±0.021	0.198±0.031	0.119±0.031	-0.464 (±0.009)	-0,112	-0,024

Примечание: М±m для p<0,05, *p<0,05 по сравнению с нормой

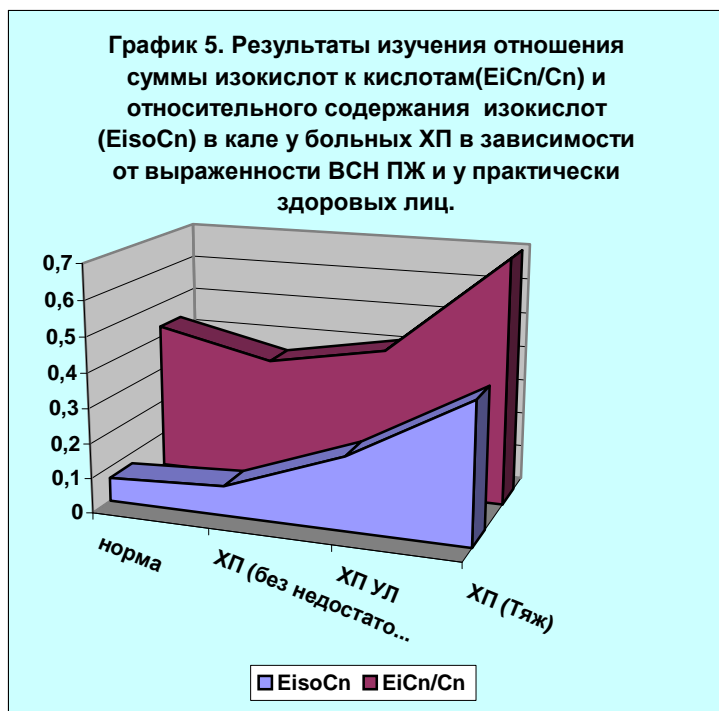
к кислотам достоверных изменений выявлено не было. При анализе зависимости изменения состава КЖК и характера моторно-эвакуаторных расстройств кишечника связи не установлено. В сыворотке крови в профиле С2-С4 (таблица 8) происходит достоверное снижение доли пропионовой и увеличение доли масляной кислоты.

Нами были рассчитаны коэффициенты корреляции содержания пропионовой кислоты в сыворотке крови и уровнем холестерина ($r_1=0,75$); масляной кислоты с уровнем триглицеридов ($r_2=0,78$).

Полученные данные содержания КЖК в сыворотке крови и кале могут быть использованы в диагностике нарушений энтерогепатической циркуляции желчных кислот и холестерина. Имеющиеся изменения профиля С2-С4 в сыворотке крови отражают нарушение липидного обмена, о чем свидетельствует высокая корреляционная связь изучаемых показателей и уровня липидов. Изменения КЖК, выявленные в кале, объясняются усилением активности анаэробных родов микроорганизмов (в частности сапрофитных штаммов бактероидов, клостридий и др., являющихся основными продуцентами пропионовой и масляной кислот), участвующих в 7-альфа-дегидроксилировании первичных желчных кислот, а не нарушением моторно-эвакуаторной функции кишечника. Наши данные согласуются с экспериментальными исследованиями (Шендеров Б.А. 1998, Blum Н.Е. 1998, Петухов В.А. 2003).

5. Результаты изучения КЖК в кале у больных с хроническим панкреатитом с внешесекреторной недостаточностью ПЖ и без нее.

Абсолютная концентрация КЖК в кале у больных ХП с внешесекреторной недостаточностью превышает нормальные показатели в 2-2,5 раза.



В профиле кислот С2-С4 наблюдается достоверное повышение уровня пропионовой (с $0,262 \pm 0,011$ до $0,276 \pm 0,011$) и масляной кислот (с $0,231 \pm 0,011$ до $0,241 \pm 0,011$) при увеличении выраженности ВСН ПЖ. Достоверные изменения выявлены также в относительном содержании изокилот и в отношении содержания изокилот к кислотам с неразветвленной цепью.

Результаты данного изучения представлены на графике 5. Отмечено прямо пропорциональное повышение содержания изокилот и значений отношения содержания отдельных изомеров кислот к кислотам с неразветвленной цепью в зависимости от выраженности

панкреатической недостаточности. При анализе зависимости изменения состава КЖК и характера моторно-эвакуаторных расстройств кишечника связи не установлено.

Изучение зависимости уровня эластазы и изокислот в кале у больных ХП показало высокую степень корреляции изучаемых показателей ($r=0,797$).

Таким образом, полученные результаты повышения уровня абсолютного содержания КЖК, относительного содержания пропионовой и масляной кислот в совокупности с увеличением продукции изокислот в кале у больных ХП могут быть связаны с увеличенной сахаролитической и протеолитической активностью микрофлоры вследствие повышенного содержания не утилизируемых пищеварительных субстратов: белков, жиров и углеводов вследствие ВСН ПЖ, что согласуется с экспериментальными данными (Готтшалк. Г. 1982, Шендеров Б.А. 1998, Коротько Г.Ф. 2000, Петухов В.А. 2003

Мы полагаем, что данный метод можно рекомендовать в качестве скринингового диагностического теста для предварительного суждения о том есть или нет панкреатическая недостаточность, а затем использовать специфические тесты диагностики внешнесекреторной недостаточности ПЖ.

6. Результаты изучения КЖК в кале у больных с заболеваниями легких на фоне антибактериального лечения.

Для оценки влияния антибактериальной терапии на изменение состава микрофлоры проведено изучение КЖК у группы больных с заболеваниями легких. Результаты этого изучения представлены в таблице 9. Установлено, что исходно имеется значительное снижение концентраций КЖК в кале, особенно выраженное в подгруппе больных с ХНЗЛ, и изменение качественного состава КЖК и значений АИ. На фоне лечения не происходило значительных изменений со стороны состава КЖК. В ряде случаев была отмечена тенденция к повышению абсолютной концентрации КЖК, формированию нормопрофиля и смещению АИ в сторону нормальных значений.

Широко распространено мнение, что только антибиотики являются мощным ингибитором роста и жизнедеятельности микрофлоры, и служат причиной развития антибиотикоассоциированной диареи (Mortensen P.V., Breuer R.I. 1993, Ивашкин В.Т., Шептулин А.А. 2002). Однако, полученные результаты свидетельствуют о значительных дисбиотических сдвигах кишечного микроценоза в исследуемой группе уже исходно, а применение антибиотиков не только не приводило к дальнейшему снижению, а напротив позволило обнаружить тенденцию к увеличению суммарной концентрации.. Данный феномен может быть обусловлен косвенным воздействием на микрофлору, обусловленным легочной патологией (развитие гипоксии). Для доказательства этого было проведено исследование КЖК в кале больных с атопической бронхиальной астмой, где мы получили такое же низкое содержание кислот. Мы связали этот эффект с изменением динамики водорода. Неполное высвобождение H_2 в легких, обусловленное наличием патологии, приводит к возврату и накоплению его в полости кишечника. Это в

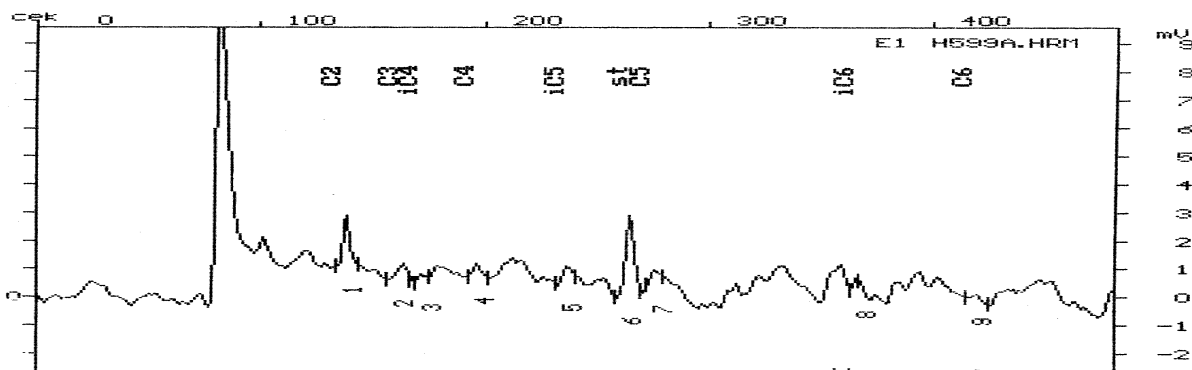
свою очередь вызывает смещение окислительно-восстановительного потенциала внутрипросветной среды в сторону резкоотрицательных значений, при которых блокируются ферредоксинсодержащие ферменты, обеспечивающие жизнедеятельность облигатных анаэробов. Лечение основной патологии приводило к нормализации и восстановлению кишечного микробиоценоза.

Однако, у 4 пациентов на фоне лечения АБТ развилась диарея, что сопровождалось усугублением имеющихся изменений в содержании КЖК. Включение в терапию Энтерола привело к купированию диареи и привело к нормализации спектра КЖК.

Рассматривая перспективу использования метода следует иметь в виду, что работы последнего времени по изучению **резистентных к лечению форм асцита** установили высокий процент их инфицированности (Аншелевич Ю. 2000, Runyon В.А., Squier S. Et al 2000, Sola R., Andreu M. Et al 2002). Учитывая последнее, мы хотели обсудить использование изучения КЖК для диагностики бактериального асцит-перитонита при ЦП исходя из возможности заселения (транслокации) микрофлоры стерильных в норме полостей. Результаты изучения абсолютного суммарного содержания КЖК в асцитической жидкости у больных ЦП выявило 2 варианта изменений (рисунок 1): абсолютная концентрация КЖК в асцитической жидкости

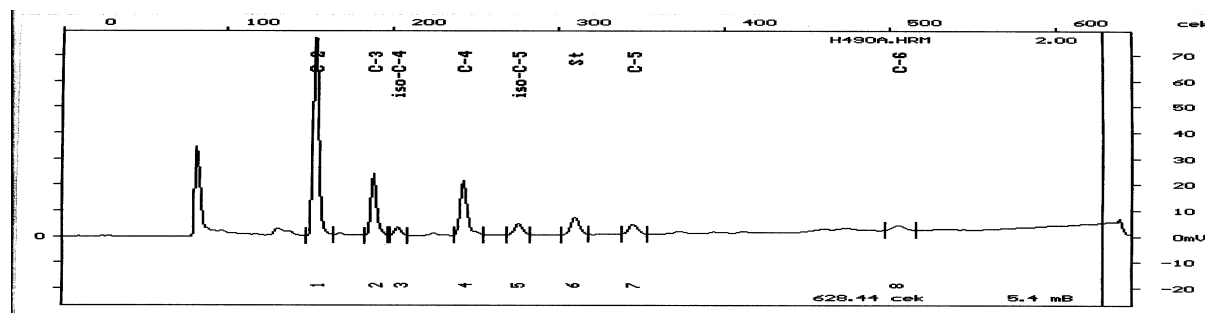
Рисунок 1. Хроматограмма разделения КЖК в асцитической жидкости.

А - Больная С., 43 года. Хронический гепатит алиментарной этиологии в стадии цирроза



печени. Асептический асцит.

В – Больная П., 40 лет. Хронический гепатит смешанной этиологии (вирусной и



алкогольной) в стадии цирроза печени. Бактериальный асцит-перитонит.

сопоставима с абсолютными концентрациями КЖК в сыворотке крови больных ЦП: 0,751- 0,99 м/г и 0,56 мг/г соответственно; во втором случае отмечается повышение концентраций КЖК в асцитической жидкости более 1,27 мг/г с изменением профиля С2-С4 и изокислот.

Мы предположили, что преобладание в профиле различных кислот связано с транслокацией определенных родов микроорганизмов в брюшную полость. Результаты микробиологического исследования асцитической жидкости подтвердили правильность трактовки наблюдаемого изменения уровня КЖК. Назначение антибактериальной терапии приводило к достоверному изменению количественного состава и профиля КЖК.

Таким образом, исследование КЖК в асцитической жидкости может быть использовано в диагностике инфицирования асцита и развитии спонтанного бактериального перитонита при ЦП, дифференцированном выборе антибактериального средства и оценке эффективности проводимого лечения. В настоящее время мы имеем недостаточно данных, чтобы обсуждать зависимость уровня КЖК в асцитическом содержимом от рефрактерности асцита. Исследования по данному вопросу продолжаются.

При патологии желчевыводящей системы перспективу исследования можно видеть в проведении дифференцированного лечения больных с ЖКБ с учетом нарушения различных звеньев ЭГЦЖК и холестерина, а также для формирования групп риска и профилактики камнеобразования, что было подтверждено нами на примере растворения холестериновых камней у больных ЖКТ с использованием препарата Энтеросан и изучении КЖК у больных с некалькулезным хроническим холециститом. При ХП данный метод можно использовать не только для диагностики ВСН ПЖ, но и оценки эффективности заместительной терапии. Расширение базы данных лечения патологии кишечника и печени открывает возможности дифференцированного лечения больных с целью повышения эффективности проводимой терапии и снижения стоимости лечения.

По- нашему мнению, область применения данного подхода не исчерпана и не ограничивается гастроэнтерологической дисциплиной. В конечном итоге мы будем иметь метод, уточняющий как диагностическую сторону, так и позволяющий подобрать индивидуальную схему лечения.

* * *

Изучение чувствительности и специфичности исследования КЖК в кале в отношении анаэробно-аэробных популяций микроорганизмов с учетом выявленных достоверных параметров, установленных при каждой патологии ЖКТ, показали более высокие значения по сравнению с традиционным бактериологическим исследованием. Чувствительность и специфичность исследования КЖК в среднем составила 81% и 87% соответственно. Чувствительность и специфичность бактериологического исследования – 66% и 41% соответственно. Мы не нашли зависимости показателей КЖК и видового

состава и численности родов микроорганизмов, определяемых при бактериологическом исследовании. Кроме того, по результатам микробиологического исследования не было выявлено каких либо специфических изменений, характерных для каждой патологии ЖКТ. Возможно, это связано с трудностью определения большинства представителей кишечной микрофлоры, тем более их штаммовой принадлежности, и других показателей, определяющих среду их обитания и жизнедеятельности.

Необходимо отметить, что вне зависимости от включения препаратов, влияющих на микробиоценоз кишечника в комплекс терапевтического воздействия, патогенетическая терапия основного заболевания привела к стабилизации, или наметила тенденцию к нормализации дисбиотических сдвигов в кишечнике. Это свидетельствует о динамичности изменений со стороны микрофлоры и саморегуляции этой системы при установлении ремиссии основной патологии.

Из полученных данных следует, что необходимо в корне пересмотреть термин «дисбактериоз» как понятие стабильного нарушения микробиоценоза при патологии ЖКТ, т.к. наши данные свидетельствуют о микробиоценозе как о саморегулирующейся, самовосстанавливающейся и функциональной открытой биосистеме. Ее можно по праву отнести к мягким константам функций макроорганизма. Соответственно, подходы к лечению нарушений микробиоценоза, а, следовательно, к лечению патологии органов ЖКТ, должны быть пересмотрены с учетом полученных данных.

ВЫВОДЫ.

1. Разработан и внедрен в практику способ определения КЖК методом ГЖХ-анализа в различных биологических субстратах, дающий возможность работать с жидкими средами и малыми объемами биологических субстратов, обеспечивающий низкие потери КЖК при пробоподготовке, полное выделение КЖК из субстрата, высокую степень разделения кислот на фракции и получение результата за 8-12 минут.

2. Нормальная концентрация КЖК в кале составляет от 8,01 до 13,01 мг/г, и характеризуется качественным содержанием уксусной кислоты от 0,630 до 0,638 ед, пропионовой кислоты от 0,187 до 0,192 ед, масляной кислоты от 0,172 до 0,180 ед., значениями отношения содержания изокилот к кислотам с неразветвленной цепью от 0,424 до 0,434, отношением $\text{изоC}_5/\text{C}_5$ от 1,341 до 1,601 ед. Предложен расчетный показатель- Анаэробный Индекс, характеризующий окислительно-восстановительный потенциал внутрипросветной среды. Значения АИ в норме равны $-0,564 - -0,584$ ед, Рассчитанные молярные соотношения суммы свободных КЖК и их солей ($\Sigma (\text{R}^-\text{H}^+) / \Sigma (\text{R}^-\text{Na}^+)$) составляют 2:1.

Нормальная концентрация КЖК в сыворотке крови составляет от 0,174 до 0,216 мг/г и характеризуется содержанием уксусной кислоты от 0,898 до 0,908 ед, пропионовой кислоты от 0,066 до 0,076 ед, масляной кислоты от 0,024 до 0,030 ед, содержанием высших кислот 0,152 до 1,164 ед, суммы изокилот от 0,033 до 0,047 ед, отдельно C_5 от 0,019 до 0,022 ед.

3. Изучение содержания и спектра КЖК в различных биосубстратах может быть использовано в диагностике заболеваний ЖКТ.

3.1. При патологии кишечника:

-СРК-Д, характеризуется повышением абсолютной концентрации КЖК, повышением содержания пропионовой и масляной кислот, отклонением АИ в отрицательную область, снижением отношения содержания изомеров кислот к кислотам в кале;

-СРК-З, характеризуется снижением абсолютной концентрации КЖК, повышением содержания уксусной кислоты, отклонением АИ в слабоотрицательную область, повышением отношения содержания изомеров кислот к кислотам в кале;

Расчитанные молярные соотношения суммы свободных КЖК и их солей ($\Sigma (R^-H^+) / \Sigma (R^-Na^+)$) в кале при различных вариантах СРК составляют 1:1;

- Распространенность воспалительного процесса НЯК характеризуется изменением содержания КЖК в кале: о дистальном поражении свидетельствует равнозначное повышение содержания пропионовой и масляной кислот; о левостороннем поражении - повышение содержания масляной кислоты; о тотальном поражении - увеличение содержания пропионовой кислоты и выражается более отрицательными значениями АИ по мере распространения НЯК;

-Усиление активности воспалительного процесса при НЯК характеризуется нарастанием содержания масляной кислоты и отношения содержания изомеров кислот к кислотам в кале.

3.2 У больных с заболеваниями печени

- состояние детоксицирующей функции печени характеризуется повышением в сыворотке крови абсолютной концентрации КЖК, высших кислот, изомеров КЖК и изменением содержания пропионовой и масляной кислот: снижением C_3 и C_4 при ХГ, повышением - при ЦП;

- интенсивность портальной гипертензии и портосистемного шунтирования характеризуется повышением абсолютной концентрации и содержания высших кислот, изокилот и отдельно изовалериановой кислоты; в сыворотке крови

- наличие печеночной энцефалопатии характеризует повышение содержания высших кислот, изокилот и отдельно изовалериановой кислоты в сыворотке крови. При нарастании стадии ПЭ происходит возрастание данных параметров;

- инфицирование асцита характеризует повышение абсолютной концентрации КЖК в асцитической жидкости выше 1,27 мг/г и является показанием к лечению антибактериальными средствами.

3.3. У больных ЖКБ нарушение энтерогепатической циркуляции желчных кислот и холестерина характеризуется совокупным изменением состава КЖК в различных биосубстратах: повышением содержания пропионовой и масляной кислот в кале; снижением содержания пропионовой кислоты и возрастанием содержания масляной кислоты в сыворотке крови

3.4. У больных ХП функциональную недостаточность ПЖ, характеризует совокупное повышение содержания пропионовой, масляной кислот, изокилот и отношения изокилот к кислотам в кале. При нарастании степени выраженности внешнесекреторной панкреатической недостаточности происходит возрастание данных параметров.

4. Быстрота получения результата позволяет использовать КЖК в качестве скринингового теста для динамической оценки эффективности проводимого лечения заболеваний ЖКТ и его коррекции.

5. Изучение КЖК в кале обладает высокой чувствительностью и специфичностью (в среднем 81% и 87% соответственно) по сравнению с традиционным бактериологическим исследованием кала (66% и 41% соответственно), и позволяет с новых позиций рассмотреть вопросы зубиоза и дисбактериоза кишечника.

6. Ближайшая перспектива использования метода изучения КЖК – диагностика инфицированности асцита с возможным подбором спектра антибактериальной терапии, а также расширение спектра нозологических форм, их осложнений и лечения с использованием препаратов различных фармгрупп. Этот же метод позволяет изучать метаболиты микрофлоры в других бактериальных пулах, что делает возможным экстраполировать данный методический подход в другие области практической медицины.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.

1. Использование при ГЖХ-анализе кварцевых капиллярных колонок с неподвижной фазой типа FFAP позволяет полностью изменить методику пробоподготовки в сторону упрощения ее технологии: позволяет работать с жидкими средами и малыми количествами исследуемого биоматериала (фекальные образцы – до 1 г, сыворотка крови – до 1 мл, спинномозговая жидкость – до 0,5 мл), т.к. при указанном режиме работы хроматографа в испаритель вводится 1 мкл образца.

2. У больных с СРК-Д целесообразна: терапия энтеросаном с исходным увеличением содержания пропионовой кислоты и резким снижением значений отношения содержания изокилот к кислотам; терапия энтеролом - с исходно равнозначным увеличением содержания пропионовой и масляной кислот и незначительно сниженных значениях отношения содержания изокилот к кислотам.

3. У больных НЯК целесообразна: монотерапия препаратами 5АСК при увеличении содержания пропионовой и масляной кислот и незначительном снижении отношения содержания изокилот к кислотам; комбинированная терапия 5-АСК и глюкокортикоидными гормонами - при увеличении содержания пропионовой и масляной кислот, снижении отношения содержания изокилот к кислотам и повышении отношения содержания изовалериановой к валериановой кислоте; комбинированная терапия препаратами 5-АСК с метронидазолом - при повышении содержания масляной кислоты и повышении отношения содержания изокилот к кислотам; комбинированная терапия

препаратами 5-АСК и энтеросаном – при повышении содержания пропионовой кислоты и резком снижении отношения содержания изокилот к кислотам.

4. Для оценки эффективности проводимого лечения у больных с патологией кишечника необходимо учитывать, что положительная эффективность проводимой терапии характеризуется отклонением в сторону нормальных значений абсолютной концентрации КЖК, нормализацией содержания уксусной, пропионовой и масляной кислот, значений анаэробного индекса и отношения изокилот к кислотам с неразветвленной цепью. Отсутствие положительной динамики указанных показателей или усугубление их нарушений свидетельствует о неэффективности проводимого лечения.

5. При снижении дозы действующего вещества до поддерживающей и для оценки ее эффективности у больных с патологией кишечника целесообразно 1 раз в 2 недели в течение месяца, а затем 1 раз в месяц проводится контроль уровня КЖК в фекалиях. При положительном эффекте отмечается стабильность или тенденция к улучшению определяемых показателей. Усугубление имевшихся нарушений свидетельствует о неэффективности назначенной дозы и требует коррекции дозы препарата.

6. При мониторинге выраженности ПЭ, а также при снижении дозы препарата до поддерживающей и для оценки ее эффективности у больных с ПЭ целесообразно 1 раз в 2 недели в течение месяца, а затем 1 раз в месяц проводится контроль уровня КЖК в сыворотке крови. При положительном эффекте отмечается стабильность или тенденция к улучшению определяемых показателей. Усугубление имевшихся нарушений свидетельствует о неэффективности назначенной дозы и требует коррекции дозы препарата.

7. При выборе фармпрепарата для лечения ПЭ следует учитывать изменения качественного состава короткоцепочечных жирных кислот фракции C_2-C_6 с изомерами в сыворотке крови и кале. При повышении содержания суммы высших кислот, изомеров КЖК, изовалериановой кислоты преимущественно в кале целесообразно назначения препаратов, влияющих на продукцию КЖК в кишечнике (Дюфалак); повышение данных параметров в сыворотке крови определяет назначение препаратов, влияющих на их утилизацию клетками печени (гепатопротекторы), при сочетанном повышении данных параметров в сыворотке крови и кале - назначение препаратов, влияющих как на их продукцию, так и на утилизацию клетками печени (Гепатосан).

8. Изучение КЖК в кале у больных ЗЛ на фоне АБТ демонстрирует изменение состава микрофлоры исходно. Усугубление изменения содержания КЖК на фоне лечения требует коррекции микробиоценоза с использованием препаратов-пробиотиков для предотвращения развития антибиотико-ассоциированной диареи.

Список работ, опубликованных по теме диссертации.

1. Митрохин С.Д., Ардатская М.Д., Никушкин Е.В., Зайцева О.Н., Ритчик Л.А., Михайлова И.И., Олейниченко Е.В., Иванников И.О., Крючков М.И., Иванов А.А.,

Дубинин А.В., Бабин В.Н. Комплексная диагностика, лечение и профилактика дисбактериоза (дисбиоза) кишечника в клинике внутренних болезней. Методические рекомендации.// под редакцией проф. Минушкина О.Н., д.м.н. Минаева В.И.-М.-1997.- 45 с.

2. Елизаветина Г.А., Ардатская М.Д., Минушкин О.Н. Хронические заболевания кишечника. Современный взгляд на этиологию, патогенез, диагностику и лечение (обзор)// Кремлевская медицина. Клинический Вестник. – 1998- N 2-с 22-25

3. Минушкин О.Н., Елизаветина Г.А., Ардатская М.Д., Масловский Л.В. Роль ""Энтерола"" в лечении и профилактике дисбактериоза кишечника //Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии - 1998 - N 5- т VIII- с292.

4. Бабин В.Н. Минушкин О.Н. Дубинин А.В. Домарадский И.В., Кондракова О.Н., Ардатская М.Д. Молекулярные аспекты симбиоза в системе хозяин-микробиота// Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии –1998- N 6-с. 76-82

5. Минушкин О.Н., Ардатская М.Д., Бабин В.Н., Дубинин А.В. Исследование короткоцепочечных жирных кислот в кале при сочетанной патологии толстой кишки и легких.// Материалы научно-практической конференции «Сочетанные гастроэнтерологические заболевания. Взаимосвязанные поражения органов ротовой полости и органов пищеварения». Смоленск.- 1999- с.226-231

6. Арутюнян Э.Э., Ардатская М.Д., Елизаветина Г.А., Минушкин О.Н., Иконников Н.С. Динамика содержания короткоцепочечных жирных кислот (КЖК) у больных неспецифическим язвенным колитом (НЯК) на фоне лечения препаратом «Пентаса». Российский гастроэнтерологический журнал- 1999- т. 3- N 4- с. 92-93.

7. Минушкин О.Н., Ардатская М.Д., Бабин В.Н., Домарадский И.В., Дубинин А.В.. Дисбактериоз кишечника (лекция).// Российский медицинский журнал.- 1999-N 3-с 40-44

8. Ardatskaya M.D., Minushkin O.N., Prikhno N.I., Ikonnikov N.S., Babin V.N Investigation of short chain acids in liver diseases in different biological substrates// Falk symposium 'N 115 Liver Cirrhosis and its development' XI International Congress of Liver Diseases, Basel 1999, p 4.

9. Ардатская М.Д., Минушкин О.Н., Прихно Н.И., Дубинин А.В.. Летучие жирные кислоты и их диагностическое и прогностическое значение в гастроэнтерологической клинике.// Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии.- .2000- N 5- т. X- с 63-70.

10. Минушкин О.Н., Елизаветина Г.А., Ардатская М.Д., Прописнова Е.П., Балыкина В.В. Клиническая эффективность «Перистила» в терапии синдрома раздраженного кишечника.// Материалы 28 конференции «Перспективные направления в изучении патогенеза, новые технологии диагностики и лечения в гастроэнтерологии», Смоленск-2000-с329-332

11. Ардатская М.Д. Диагностическое значение содержания короткоцепочечных жирных кислот при синдроме раздраженного кишечника.// Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии, N 3, т.Х, с 36-41, 2000
12. Минушкин О.Н., Елизаветина Г.А., Масловский Л.В., Гладских Л.В., Ардатская М.Д. Клиническая эффективность Гепатосана и Энтеросана- медикаментозных препаратов на натуральной основе.// Кремлевская Медицина.- 2000 - N1- с 100-101.
13. Ульянова Л.И., Ардатская М.Д., Елизаветина Г.А., Прихно Н.И., Иконников Н.С., Арутюнян Э.Э., Минушкин О.Н. Оценка пробиотической эффективности препарата «Энтеросан» при хронической патологии ЖКТ по данным изучения маркеров метаболической активности кишечной микрофлоры.// Кремлевская медицина.-2000 -N 1- с 60-63
14. Ардатская М.Д. Метаболические эффекты пищевых волокон.// // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии- 2001-N4 - т.ХI.- Приложение N14 – с91-102.
15. Минушкин О.Н., Ардатская М.Д., Масловский Л.В. Роль кишечной микрофлоры в патогенезе желчнокаменной болезни (по результатам изучения короткоцепочечных жирных кислот в кале).// Материалы 29-ой конференции «Функциональные заболевания и расстройства функций. Гастроэнтерологическая онкология». Смоленск- 2001-с77-83.
16. Ардатская М.Д., Елизаветина Г.А., Масловский Л.В., Зверков И.В., Минушкин О.Н. Клинические возможности использования метаболитов кишечной микрофлоры в диагностике и тактике лечения больных с СРК.// Материалы 29-ой конференции «Функциональные заболевания и расстройства функций. Гастроэнтерологическая онкология»/Смоленск- 2001- с 3-11
17. Ардатская М.Д., Минушкин О.Н., Иконников Н.С. Метаболиты кишечной микрофлоры и печеночная энцефалопатия: использование в диагностике, прогнозировании течения и оценке лечения.// Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии- 2001-N4 - т.ХII- с33-38.
18. Минушкин О.Н., Ардатская М.Д., Дубинин А.В. Дисбактериоз кишечника: современные аспекты изучения проблемы, принципы диагностики и лечения. (обзор)// Терапевтический Архив - 2001 -N 2- с 67-72.
19. Прихно Н.И., Минушкин О.Н., Ардатская М.Д., Масловский Л.В., Иконников Н.С. Изучение состава короткоцепочечных жирных кислот в фекалиях и сыворотке периферической крови у пациентов, страдающих желчекаменной болезнью и значения КЖК для изучаемого заболевания.// Клиническая Медицина – 2001-N 4- с 37-40.
20. Минушкин О.Н., Ардатская М.Д., Елизарова Н.А. Короткоцепочечные жирные кислоты в диагностике печеночной энцефалопатии и оценке эффективности препаратов лактулозы (Дюфалака). // Клиническая фармакология и терапия. –2001 - N10(5) - с.9-12
21. Ардатская М.Д., Арутюнян Э.Э., Минушкин О.Н. Оценка эффективности лечения препаратами 5-АСК и тактика выбора терапии больных НЯК (по данным изучения

содержания летучих жирных кислот в фекалиях и сыворотке крови).// Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии, 2001, т. XII, N 6, с.65-70.

22. Ardatskaya M.D., Minushkin O.N., Arutunian E.E/. Efficacy of 5-ASA treatment and therapeutic tactics in patients with ulcerative colitis (according to volatile fatty acids levels in serum and fecal masses). Update in inflammatory bowel diseases, Falk Workshop. Ljubljana (Slovenia), 2001, P.1.

23. Минушкин О.Н., Елизаветина Г.А., Ардатская М.Д. Лечение функциональных расстройств кишечника и желчевыводящей системы, протекающих с абдоминальными болями и метеоризмом.// Клиническая фармакология и терапия. – 2002-N 11 (1) - с 1-4.

24. Ардатская М.Д., Арутюнян Э.Э., Прихно Н.И., Минушкин О.Н.. Клинические аспекты изучения короткоцепочечных жирных кислот при патологии желудочно-кишечного тракта. //Материалы 30-ой конференции Межрегиональной конференции «Современные аспекты патогенеза, перспективы диагностики и лечения в гастроэнтерологии», Смоленск- 2002-с. 154-162

25. Минушкин О.Н., Ардатская М.Д., Елизарова Н.А. Диагностическое значение мониторинга короткоцепочечных жирных кислот при печеночной энцефалопатии.// Кремлевская медицина №1, с34-38, 2002

26. Минушкин О.Н., Арутюнян Э.Э., Ардатская М.Д. Позволяет ли изучение короткоцепочечных жирных кислот выбрать фармпрепарат для адекватного лечения больных неспецифическим язвенным колитом?//Российский медицинский журнал.- 2002-N5-с15-19.

27. Арутюнян Э.Э., Ардатская М.Д., Минушкин О.Н. Изучение короткоцепочечных жирных кислот у больных неспецифическим язвенным колитом. //Кремлевская медицина.- 2002 - №1 - с.21-25

28. Елизарова Н.А., Ардатская М.Д., Минушкин О.Н. Выбор терапевтической тактики при печеночной энцефалопатии (по данным изучения КЖК в различных биосубстратах). // труды 31 конференции «Негативные последствия лечения. Сочетанные болезни органов пищеварения и отягощение их другой патологией; различные аспекты диагностики и лечения в гастроэнтерологии.-Смоленск-Москва-2003-с.251-258.

29. Ардатская М.Д., Минушкин О.Н., Масловский Л.В., Сергеев А.В.. Короткоцепочечные жирные кислоты и внешнесекреторная недостаточность поджелудочной железы у больных с хроническим панкреатитом.// труды 31 конференции «Негативные последствия лечения. Сочетанные болезни органов пищеварения и отягощение их другой патологией; различные аспекты диагностики и лечения в гастроэнтерологии.-Смоленск-Москва-2003-с.209-215

30. Минушкин О.Н., Ардатская М.Д., Елизарова Н.А. Диагностика и дифференциальная диагностика энцефалопатий различного генеза (по данным изучения короткоцепочечных жирных кислот (КЖК) в сыворотке крови). // труды 31 конференции «Негативные последствия лечения. Сочетанные болезни органов

пищеварения и отягощение их другой патологией; различные аспекты диагностики и лечения в гастроэнтерологии.-Смоленск-Москва-2003-с.287-296.

31. Минушкин О.Н., Ардатская М.Д., Сергеев А.В., Масловский Л.В. Исследование короткоцепочечных жирных кислот у больных с хроническим панкреатитом с внешнесекреторной недостаточностью поджелудочной железы и без нее.// Российский медицинский журнал. – 2003- №6-с.34-36

32. Минушкин О.Н., Ардатская М.Д., Елизарова Н.А. Короткоцепочечные жирные кислоты (КЖК) и возможность использования их изучения в диагностике энцефалопатии различного генеза. //Клиническая Медицина.- 2003-№ 12- с.

33. Иконников Н.С., Ардатская М.Д., Дубинин А.В., Бабин В.Н., Минушкин О.Н., Кондракова О.А., Алешкин В.А. Патент на изобретение. «Способ разделения смеси жирных кислот фракции С2-С7 методом газожидкостной хроматографии» N 2145511, 2000

34. Ардатская М.Д., Иконников Н.С., Минушкин О.Н. Патент на изобретение «Способ разделения смеси жирных кислот фракции С2-С6 методом газожидкостной хроматографии» N 2002119447, приоритет от 23.07.2002, положительное решение о выдаче.

35. Гладских Л.В., Минушкин О.Н., Ардатская М.Д. Патент на изобретение «Способ лечения хронических заболеваний кишечника, ассоциированных дисбактериозом», № 2001134578 приоритет от 24.12.2001, положительное решение о выдаче.

36. Ардатская М.Д., Минушкин О.Н., Иконников Н.С. Патент на изобретение «Способ определения инфицированного выпота брюшной полости и способ лечения заболеваний, сопровождающихся выпотом в брюшную полость», №2002122771, приоритет от 26.08.2002.

37. Ардатская М.Д., Минушкин О.Н., Елизарова Н.А. Патент на изобретение «Способ дифференциальной диагностики энцефалопатий» №2002129364 приоритет от 05.11.2002.

38. Минушкин О.Н., Ардатская М.Д., Елизарова Н.А. Патент на изобретение «Способ выбора фармпрепарата для лечения печеночной энцефалопатии», N 2003106374, приоритет от 07.03.2003.

39. Минушкин О.Н., Ардатская М.Д., Елизарова Н.А. Диагностика печеночной энцефалопатии и выбор фармпрепарата для лечения печеночной энцефалопатии. Методические рекомендации МЦ УД Президента РФ, 2003, подписано к печати

40. Минушкин О.Н., Ардатская М.Д. Диагностика синдрома раздраженного кишечника и выбор фармпрепарата для лечения СРК. Методические рекомендации МЦ УД Президента РФ, 2003, подписано к печати

41. Минушкин О.Н., Ардатская М.Д., Семенова Э.Э. Диагностика неспецифического язвенного колита и выбор фармпрепарата для лечения НЯК. Методические рекомендации МЦ УД Президента РФ, 2003, подписано к печати