

Содержание и профиль летучих жирных кислот в кале у пульмонологических больных до и после антибактериальной терапии (факты и размышления)

**М.Д.Ардатская, О.Н.Минушкин, В.Е.Ноников, В.Н.Бабин, А.В.Дубинин,
Ю.И.Ляховецкий, И.В.Добрякова, Н.М.Фурлотова, И.И.Михайлова**

**Медицинский центр Управления делами Президента РФ,
ИНЭОС РАН, НИФ "Ультрасан", Москва**

У 32 обследуемых больных изучаемой группы, по сравнению с контрольной группой, наблюдается значительное снижение в кишечном содержимом как суммарной концентрации летучих жирных кислот (ЛЖК), так и отдельных кислот, что свидетельствует о весьма сильном подавлении метаболической активности и численности сахаролитических анаэробов как до, так и после проведения антибактериальной терапии. Вместе с тем видно, что глубоких нарушений инфраструктуры микробного ценона не происходит. Применение антибиотиков не является единственной причиной столь резкого снижения концентраций ЛЖК. Наблюдаемый эффект может быть связан с изменением динамики водорода у пульмонологических больных. Полученные данные позволяют по-новому отнести к формированию дисбактериоза у этой группы больных, диагностике, лечению и профилактике.

Выдыхаемом человеком воздухе, наряду с газами, ведущими свое происхождение от собственного метabolизма макроорганизма, определенная доля объема формируется за счет газов, образующихся при метаболизме кишечной микрофлоры [1].

В состав этих газов, в частности, входят водород (H_2), метан (CH_4), углекислый газ (CO_2), которые являются, как известно, продуктами брожения сахаров и аминокислот и образуются в результате жизнедеятельности аутотонной микрофлоры [1]. Наряду с летучими жирными кислотами (ЛЖК), эти газы формируют основную (в количественном отношении) часть спектра низкомолекулярных толстокишечных метаболитов. Вышеозначенные ЛЖК играют важную роль в физиологии толстой кишки человека [2] и физиологии всего организма в целом у некоторых представителей позвоночных, в частности у животных с двухкамерным желудком [9]. Образование водорода и метана тесно связано с продукцией ЛЖК. Однако влияние этих газов на функционирование толстой кишки до настоящего времени не изучено. Более того, насколько нам известно, вопрос о связи между продукцией этих газов и функционированием респираторного аппарата также не ставился.

С другой стороны, можно поставить и обратный вопрос: могут ли нарушения респираторного аппарата оказаться на функционировании нижних отделов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ)?

Настоящее исследование было предпринято с целью изучения возможных связей деятельности ЖКТ и респираторного тракта, опосредованных метаболитами микробного происхождения. В изучении этих связей большим подспорьем может оказаться ингибиторный анализ [10]. Естественными ингибиторами жизнедеятельности толстокишечной микрофлоры являются антибиотики.

Молярные отношения водорода, диоксида углерода, с одной стороны, и ЛЖК, с другой, тесно связаны. Например, уравнение брожения глюкозы выглядит следующим образом:



Тесная скрепленность продукции ЛЖК и низкомолекулярных газов позволяет, по крайней мере, по содержанию ЛЖК в кале оценивать соответствующий вклад водорода и CO_2 . В связи с этим главной задачей настоящей работы были исследование толстоки-

шечных метаболитов, в частности летучих жирных кислот в кале, и оценка газовых метаболитов микрофлоры у больных, страдающих хроническими заболеваниями легких, подвергающихся длительной и массивной антибиотикотерапии.

Обследована группа больных (32), страдающих хроническими заболеваниями легких, проходивших лечение в пульмонологическом отделении ЦКБ. Были также использованы данные по группам сравнения больных с "синдромом раздраженной толстой кишки" (СРТК) в форме запора (СРТК-К) — 32 человека, СРТК в форме диареи (СРТК-Д) — 24 человека, контрольная группа включала 22 здоровых добровольца [3].

Все больные изучаемой группы обследованы по полной программе, включающей общее и биохимическое исследование крови, исследование иммунного статуса, рентгенологическое исследование грудной клетки, исследование функции внешнего дыхания, ЭКГ, исследование мокроты на чувствительность к антибиотикам, ультразвуковое исследование (УЗИ), общий анализ мочи, двукратное бактериологическое исследование кала до и после проведения антибактериальной терапии, копрологическое исследование.

В качестве эталонов использованы коммерческие уксусная, пропионовая, масляная, изомасляная, валерьяновая, изовалерьяновая кислоты различной квалификации, предварительно перегнаные в атмосфере аргона.

Для выделения суммы ЛЖК образцы кала объемом 1–3 мл, отбирались стеклянной трубкой диаметром 5 мм из стерильной чашки Петри, замораживались и переносились в мерный цилиндр объемом 15 мл, заполненный 10 мл дистilledированной воды. После размораживания объем образца замерялся и суспензия переводилась в кубовую колбу прибора для перегонки с паром. Добавлялось несколько капель 70% H_2SO_4 до pH 2–3 по универсальному индикатору, после чего проводилась перегонка.

**M.D.Ardatskaya, O.N.Minushkin,
V.E.Nonikov, V.N.Babin, A.V.Dubinin,
Yu.I.Ljakhovetsky, I.V.Dobrjakova,
N.M.Furletova, I.I.Mikhailova**

Content and profile of volatile fatty acids in pulmonologic patients before and after antibacterial therapy (facts and considerations)

32 patients of the experimental group showed a considerable reduction of both the summary concentration of volatile fatty acids and separate acids in their intestinal contents comparing to the controls. It demonstrates rather strong inhibition of metabolic activity and number of saccharolitic anaerobes before and after antibacterial therapy. However, one can see no deep impairments of the infrastructure of the microbial cenosis. Administration of antibiotics is not the only reason of such sharp decrease in the volatile fatty acids concentration. The effect observed can be determined by the hydrogen dynamics changes in pulmonologic patients. The date obtained allow to assess the status of these patients from a new angle, to understand better the process of dysbacteriosis formation.

Собиралось 350—400 мл дистиллята, затем в собранный раствор добавлялся 0,1н NaOH до pH 9 по универсальному индикатору.

Раствор, полученный на предыдущей стадии, упаривался в вакуме водоструйного насоса на роторном испарителе досуха. Конечный остаток серовато-белого цвета в течение 10 минут откачивался на масляном насосе при 10^{-2} торр. Затем к остатку добавлялись 2 мл серного эфира, суспензия подкислялась 2—5 каплями 70% H_2SO_4 и несколько раз встряхивалась. Немедленно после этого микролитровым шприцем отбирались образцы объемом 1—2 микролитра и вводились в датчик хроматографа "Хром-41" с плазменно-ионизационным детектором. Использовалась колонка из нержавеющей стали с внутренним диаметром 3 мм х 1,2 мм. Неподвижная жидкая фаза — 15% Carbowax 20 м, модифицированный терефталевой кислотой. Твердая фаза — Cromaton N-AW. Регламент работы: температура термостата колонки 84,5°C, давление на входе 0,56 атмосфер, температура испарителя 200°C. Газ-носитель — азот, 30 мл в мин. Для повышения точности измерений предварительно проводилось определение коэффициентов чувствительности.

При сопоставлении данных определения ЛЖК в кишечном содержимом прежде всего отмечено значительное снижение концентраций ЛЖК в кишечном содержимом больных исследуемой группы. Суммарная концентрация была снижена не только по сравнению с нормой, но даже по сравнению с группой больных с СРТК-К, где суммарная концентрация ЛЖК была понижена по сравнению с нормой практически в 3 раза. Наблюдаемые значения более соответствовали содержанию ЛЖК в слюне [4].

На этом фоне содержание уксусной кислоты варьирует от 5,21 до 14,4 ммоль/л, пропионовой — от 2,67 до 5,04 ммоль/л, масляной — от 0,08 до 6,86 ммоль/л. Концентрации отдельных кислот значительно менее вариабельны по сравнению с контрольной группой и группами сравнения. Таким образом, можно констатировать значительное снижение как общего содержания, так и отдельных ЛЖК. Наблюдаемые сдвиги подтверждаются при анализе частот отдельных кислот. Частоты рассчитывались для группы С2-С4 без учета н-масляной и более тяжелых кислот.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что у исследуемой группы больных наблюдаются значительные дисбиотические сдвиги кишечного микроценоза. Эти сдвиги обусловлены весьма сильным подавлением метаболической активности и численности сахаролитических анаэробов, являющихся основными продуцентами ЛЖК. При этом глубоких изменений инфраструктуры микробного ценоза не происходит.

Наблюдаемый феномен может быть обусловлен либо прямым воздействием антибиотиков на аутофлору, либо косвенным воздействием на микрофлору толстой кишки легочной патологии, либо воздействием обеих причин.

Для подтверждения такой возможности необходимо проанализировать набор антибиотиков, воздействию которых подвергались больные исследуемой группы. В табл.1 приведены соответствующие данные, из которых видно, что основу схем составляли линкомицин (50%), не обнаруживающий высокую эффективность к грамотрицательным анаэробам, и левомицетин (34%), обладающий широким спектром действия как на грамотрицательные, так и грамположительные микроорганизмы [5].

Таблица 1

ИСПОЛЬЗОВАННЫЕ АНТИБИОТИКИ У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ЛЕГКИХ

Антибиотик	Число больных	Частота применения, %
Линкомицин	6	50
Левомицетин	4	34
Гентамицин	1	8
Цифрон	1	8

Так как основным продуцентом ЛЖК являются грамотрицательные палочки семейства *Bacteroidaceae*, нельзя утверждать, что непосредственной причиной наблюданного эффекта служит только антибиотикотерапия. Мы проанализировали динамику концентраций кислот до и после антибиотикотерапии. Результаты анализа приведены в табл.2

Анализ этих результатов показывает, что применение антибиотиков не является единственной причиной столь драматического снижения концентрации ЛЖК, так как уже при поступлении у больных отмечался этот эффект, а применение антибиотиков не только

приводило к дальнейшему ее снижению, но и, напротив, обнаруживало тенденцию к увеличению.

Таблица 2

ИЗУЧЕНИЕ ДИНАМИКИ КОНЦЕНТРАЦИЙ ЛЖК ДО И ПОСЛЕ ПРОВЕДЕНИЯ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ

	Кислота		
	уксусная	пропионовая	масляная
Рост концентрации (число случаев)	5	3	3
Снижение концентрации (число случаев)	0	2	2

С этим выводом согласуются и результаты микробиологического исследования кала до и после антибактериальной терапии [7], которые показали, в частности, что бифидофлора, являющаяся, как известно, одним из базовых родов микробного ценоза, но не продуцирующая ЛЖК, у наших больных значительно снижена (около 10^7 микробных клеток в 1 г) как до, так и после применения антибиотиков.

Можно было бы попытаться связать наблюдаемый эффект с изменением динамики водорода. Известно, что водород, выделяемый анаэробами, диффундирует в эпителиальный слой и подслизистую, затем в кровяное русло, где захватывается гемоглобином и транспортируется в легкие. Природа комплексообразования гемоглобина с водородом, как и с другими малыми молекулами (метан, инертный газ), изучена еще недостаточно [6]. Поэтому в настоящее время трудно обсуждать механизм, регулирующий высвобождение водорода из эритроцитов в альвеолах легких. Однако можно предположить, что по тем или иным причинам, например при спазме или обструкции бронхиального дерева у пульмонологических больных, процесс высвобождения водорода затрудняется, что приводит к нарушению транспортной цепи и накоплению H_2 в просвете толстой кишки. Последнее приводит к значительному смещению окислительно-восстановительного потенциала в отрицательную область, где перестают работать ферредоксинсодержащие терминальные ферменты окислительно-восстановительных систем, обеспечивающих жизнедеятельность сахаролитических анаэробов [1]. Это обстоятельство приводит к глубоким дисбиотическим нарушениям в толстой кишке. В настоящее время очень трудно оценить значимость этого второго механизма для возникновения дисбиоза.

Данных, для того чтобы подтвердить это положение, еще недостаточно, необходимо оценить газовый состав выдыхаемого воздуха у этой группы больных (в частности, изучить соотношение CO_2 , CH_4 , H_2) [8]. Но уже полученные данные позволяют по-новому отнести к формированию дисбактериоза толстой кишки у этой группы больных, его диагностике, лечению и профилактике.

ЛИТЕРАТУРА

- Готтшалк Г./Метаболизм бактерий. — М.: Мир, 1982.
- Дубинин А.В., Бабин В.Н., Раевский П.М./Клин. мед. — 1991. — N 7. — С.24—28
- Дубинин А.В., Ляховецкий Ю.И., Ардатская М.Д., Бабин В.Н./Мат. научно-практик. конф. "Спорные, противоречивые и нерешенные вопросы в гастроэнтерологии. Обоснование клинического использования препарата Нормазе"/Под ред. проф. Е.И.Зайцевой.— Москва—Смоленск, 1993. — С.93—96.
- Кондракова О.А., Чен Н.В., Бабин В.Н. и др./Об. тез. научно-практик. конф. "Дисбиотические состояния человека — пути профилактики и лечения". — Пермь, 1992. — С.11—12.
- Машковский М.Д. /Лекарственные средства. — М.: Медицина, 1991.
- Неорганическая биохимия. Т.2. — М.: Мир, 1978.
- Полосухина В.А., Ужегова Е.Б., Бабаджанова С.С. // Тер.арх. — 1989. — T.61, N 3. — С.110—113.
- Тамм А.О., Сийург У.Х., Микельсаар М.Э. // Антибиотики и химиотерапия. — 1989 — T.34, N 6, — С.409—414.
- Физиология сельскохозяйственных животных./Под ред. Н.А.Шманенкова. — Л.: Наука, 1978.
- Эмануэль Н.М., Кнорре Д.Г. Курс химической кинетики. — М., 1962.

