

МЕТАБОЛИТЫ МИКРОФЛОРЫ РАЗЛИЧНЫХ БИОТОПОВ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ БРОНХОЛЕГОЧНОЙ СИСТЕМЫ

Ардатская М. Д.*, Шевцов В. В.** , Жакот А. Н.** , Феданков И. Н.** , Митрохин С. Д.** , Миронов А. Ю.***, Пономарева Е. В.

MICROFLORA METABOLITES OF DIFFERENT HABITATS IN BRONCHOPULMONARY DISEASES

Ardatskaya M. D.* , Shevtsov V. V.** , Zhakot A. N.** , Fedankov I. N.** , Mitrokhin S. D.** , Mironov A. Yu.***, Ponomareva E. V.*

* ФГБУ «Учебно-научный медицинский центр» Управления делами Президента РФ
FSBI "Training and Research Medical Center" of Presidential Administration of the Russian Federation,

** ГБУ Московская городская онкологическая больница № 62 ДЗ г. Москвы
SBI Moscow City Oncology Hospital № 62

*** ГБОУ ВПО Первый Московский медицинский государственный университет им. И. М. Сеченова Минздрава России

Ардатская Мария Дмитриевна
Ardatskaya M. D.

Email: ma@uni-med.ru

Ардатская М. Д. — профессор кафедры терапии и гастроэнтерологии ФГБУ «Учебно-научный медицинский центр» Управления делами Президента РФ, д.м.н.

Шевцов В. В., ГБУ Московская городская онкологическая больница № 62

Жакот А. Н., ГБУ Московская городская онкологическая больница № 62

Феданков И. Н., ГБУ Московская городская онкологическая больница № 62

Митрохин С. Д. — клинический фармаколог ГБУ Московская городская онкологическая больница № 62, д.м.н., профессор

Миронов А. Ю., ГБОУ ВПО Первый Московский медицинский государственный университет им. И. М. Сеченова, д.м.н., профессор

Пономарева Е. В. — аспирант кафедры терапии и гастроэнтерологии ФГБУ «Учебно-научный медицинский центр» Управления делами Президента РФ

Ardatskaya M. D., Department of therapy and gastroenterology FSBI "Training and Research Medical Center" of Presidential Administration of the Russian Federation, MD, PhD, Professor

Shevtsov V. V., SBI Moscow City Oncology Hospital № 62

Zhakon A. N., SBI Moscow City Oncology Hospital № 62

Fedankov I. N., SBI Moscow City Oncology Hospital № 62

Mitrokhin I. D., clinical pharmacologist at the SBI Moscow City Oncology Hospital № 62, MD, PhD, Professor

Mironov A. Yu., SBEI HPE "I. M. Sechenov First Moscow State Medical University Ministry of Healthcare of Russia" MD, PhD, Professor

Ponomreva E. V., Department of therapy and gastroenterology FSBI "Training and Research Medical Center" of Presidential Administration of the Russian Federation, MD, PG student

Резюме

Цель: Изучить содержание и профиль метаболитов бронхо- легочной и кишечной микрофлоры, в частности короткоцепочечных жирных кислот (КЖК) в различных биологических субстратах у больных со злокачественными новообразованиями легких на фоне ХОБЛ и при изолированной ХОБЛ. Оценить их диагностическое и тактическое значение.

Материалы и методы: Проведено обследование 98 пациентов с заболеваниями бронхолегочной системы. Согласно основной нозологии больные разделены на 2 основные группы: ХОБЛ (38 пациентов) и Рак легкого в сочетании с ХОБЛ (далее РЛ) (60 пациентов). Диагноз был верифицирован современными методами обследования. Группа нормы была сформирована из 30 практически здоровых лиц. Группы сопоставимы по полу и возрасту. Проведено микробиологическое исследование мокроты и кала у изучаемых групп больных.

Методом ГЖХ- анализа были определены КЖК в мокроте и кале у больных ХОБЛ, РЛ. У практически здоровых лиц исследования КЖК выполнены в смывах бронхов, полученных при проведении бронхоскопии у 20 человек, исследование КЖК в кале выполнены у 30 человек.

Результаты: Исследование содержания и профиля короткоцепочечных жирных кислот (КЖК) у больных ХОБЛ и раком легких (РЛ) в различных биосубстратах указывало на выраженные изменения микробиоценоза биотопов (бронхо-легочного и кишечного), характеризующихся доминированием в спектре факультативных и остаточных анаэробных микроорганизмов. Причем более выраженные изменения констатируются при РЛ.

Кроме того, изменения параметров КЖК в мокроте могут свидетельствовать об изменении метаболизма эпителиоцитов нижних отделов дыхательных путей (НОДП). Однонаправленные изменения параметров КЖК в мокроте и кале могут указывать как на транслокацию микрофлоры в НОДХ из кишечника, так на возможные системные изменения метаболизма эпителиальных тканей при онкопроцессе.

Определение короткоцепочечных жирных кислот методом ГЖХ-анализа в различных биологических субстратах может быть использовано в обследовании больных РЛ с диагностической целью (для объективизации микрoэкологических нарушений), а также для оценки прогноза течения заболевания и развития осложнений.

Ключевые слова: ХОБЛ, рак легких, микрофлора нижних отделов дыхательных путей и кишечника, короткоцепочечные жирные кислоты.

Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология 2014; 103 (3):46-54

Summary

Purpose: To investigate the content and profile of metabolites of bronchopulmonary and intestinal microflora, especially such as short chain fatty acids (SCFA) in various biological substrates in patients with lung malignant tumors on the background of COPD. Estimate their diagnostic and tactical implication.

Materials and Methods: The study involved 98 patients with diseases of the bronchopulmonary system. According to the basic nosology patients were divided into two main groups: COPD (38 patients), and lung cancer in combination with COPD (hereinafter LC) (60 patients). The diagnosis was verified by modern methods of examination. Group of norm included 30 healthy individuals. Groups matched by gender and age. The microbiological examination of sputum and feces was conducted in the studied groups of patients.

SCFA in sputum and feces of patients with COPD and LC were identified by GLC method. In healthy individuals the SCFA investigation was performed in bronchial washings, obtained during bronchoscopy in 20 people, the SCFA investigation in feces was performed in 30 people.

Results: Study of the content and profile of short-chain fatty acids (SCFA) in patients with COPD and lung cancer (LC) in various biosubstrates indicate on the obvious changes in microbiocenosis of biotopate (bronchopulmonary and intestinal), characterized by the dominance of residual and facultative anaerobic microorganisms in the spectrum. Except that more pronounced changes are ascertained at LC. Also, changes of the SCFA parameters in the sputum may indicate on the alterations in the metabolism of epithelial cells of the lower respiratory tract (LRT). Unidirectional change the SCFA in sputum and feces can indicate on either translocation of microflora in the LRT out of the intestine, and on the possible systemic changes in the metabolism of epithelial tissue in the oncological process.

The identification of SCFA by GLC method in various biological substrates can be used in examination of patients with lung cancer for diagnostic purposes (for objectification of microecological violations), as well as to evaluate the prognosis of the disease and its complications.

Keywords: COPD, lung cancer, microflora of the lower respiratory tract and intestines, short chain fatty acids.

Ekspierimental'naya i Klinicheskaya Gastroenterologiya 2014; 103 (3):46-54

Актуальность темы

Рак легких занимает лидирующее место по распространенности в структуре онкологической заболеваемости населения нашей страны и составляет по данным на 2007 г. 74,8 на 100000 населения [1]. При этом, в возникновении опухоли немалую роль играет исходное состояние бронхов и легких. Среди больных раком легких большая доля пациентов с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ). По официальным данным Минздравсоцразвития России в стране зарегистрировано около 1 млн. больных ХОБЛ, что составляет 1698 на 100000 населения. Истинная распространенность ХОБЛ среди взрослого населения России по экспертной оценке академика РАМН А. Г. Чучалина превышает 11 млн. человек [2]. Таким образом, хронические воспалительные процессы в бронхах и легочной паренхиме предрасполагают к раку легкого.

Известно, что в дыхательных путях здорового человека более чем в 50 % случаев удается обнаружить зеленящие стрептококки, *Moraxella catarrhalis*, *Corynebacterium* spp., *Bacteroides* spp., фузобактерии, *Candida albicans*, *H. influenzae*. Примерно у 10 % здоровых лиц выделяются *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*, очень редко (менее 1 %) — *K. pneumoniae*, а у недавно подвергавшихся антибактериальной терапии могут быть выявлены *P. aeruginosa* и *E. coli* [3]. В случае развития заболевания резко нарушается нормальный пейзаж населяющих данный биотоп микроорганизмов. Установлена значительная корреляция между ХОБЛ и наличием гемофильной палочки [4]. При этом есть публикации о наличии и анаэробных популяций микроорганизмов [5]. Изучение профиля потенциально патогенных бактерий колонизирующих НДП у пациентов с первичным РЛ показало, что у 30 % пациентов НДП колонизированы различными видами микроорганизмов. Среди микроорганизмов доминировали грамположительные кокки, такие как пневмококк и *Staphylococcus aureus* [6].

У онкологических больных существенно повышен риск развития инфекции, которая являлась причиной гибели примерно 1/3 онкологических больных (28,6–32,0 %) [7]. Повышение частоты инфекционных осложнений связано не только с наличием опухолевой интоксикации, истощения, анемии, длительностью и объемом оперативных вмешательств, с предшествующей химиотерапией или лучевой терапией и др., а также с изменениями микробиоценозов различных биотопов. Последнее резко ухудшает общее состояние пациентов и затрудняет проведение лекарственного лечения в необходимые сроки и в необходимых дозах, ухудшая прогноз лечения больного.

Известно, что основными возбудителями инфекционных легочных осложнений у больных хирургического профиля являются условно-патогенные бактерии грамотрицательного спектра [8]. Подавляющее большинство этих микроорганизмов имеет «первичное или вторичное» гастроэнтерогенное

происхождение [8]. Полисистемный многофакторный бактериологический анализ у больных ОРЛ подтвердил, что динамика контаминации брюшной полости, ЖКТ, кровяного русла, а также легочной ткани зависит от морфофункциональной недостаточности кишечника.

Определенный интерес представляют работы, где приведены результаты наблюдений за состоянием кишечной микрофлоры у больных с патологией респираторного тракта. Так, было установлено, что у 100 % больных ХОБЛ был выявлен дисбиоз кишечника, коррелировавший с тяжестью течения основного заболевания. В фазе обострения у больных ХОБЛ у 49 % выявлены идентичные штаммы условно-патогенных бактерий в микробиотопах кишечника и бронхолегочного аппарата [9].

Таким образом, в процессе лечения пациента, страдающего раком легкого и ХОБЛ чрезвычайно важно знать состояние микрофлоры дыхательной системы и кишечника.

Необходимо отметить, что микробиологический метод, являясь «золотым стандартом» верификации таксономической принадлежности микроорганизмов, обладает рядом издержек. В первую очередь к ним можно отнести длительность получения результатов. Необходимо также помнить о возможности получения ложноположительных и ложноотрицательных результатов, объясняющихся невозможностью воссоздания естественных условий обитания микроорганизмов при проведении исследования, трудностью культивирования анаэробных микроорганизмов и т.д.

В последнее время широкое распространение получило исследование короткоцепочечных жирных кислот (КЖК) в различных биологических субстратах.

КЖК, являясь продуктами жизнедеятельности аэробных и анаэробных популяций микроорганизмов [10,11], могут быть использованы для диагностики состояния микробиоценоза различных биотопов макроорганизма [12].

Исследование КЖК методом газожидкостного хроматографического анализа (ГЖХ-анализа) обладает высокой чувствительностью и специфичностью в отношении верификации родовой принадлежности микроорганизмов, простотой воспроизведения, возможностью быстрого получения данных [12,13].

Мы полагаем, что изучение данных метаболитов микрофлоры в различных биологических субстратах у больных раком легкого и ХОБЛ открывает возможности улучшения диагностики и тактики ведения данной категории больных.

Цель исследования: Изучить содержание и профиль метаболитов бронхо-легочной и кишечной микрофлоры, в частности короткоцепочечных жирных кислот (КЖК) в различных биологических субстратах у больных со злокачественными новообразованиями легких на фоне ХОБЛ и при изолированной ХОБЛ. Оценить их диагностическое и тактическое значение

Материал и методы исследования

Проведено обследование 98 пациентов с заболеваниями бронхолегочной системы. Согласно основной нозологии больные разделены на 2 основные

группы: ХОБЛ и Рак легкого в сочетании с ХОБЛ (далее РЛ). Количество пациентов в группе ХОБЛ было 38 человек, м/ж –12/1, средний возраст

61,9±18,1 лет, в группе РЛ — 60 человек, м/ж — 14:1, средний возраст 61,5±19,5 лет. Диагноз был верифицирован современными методами обследования.

Группа нормы была сформирована из 30 практически здоровых лиц, м/ж 13:1, средний возраст 47,6±17,4 лет, у которых в результате полного клинического обследования не было выявлено патологии.

У больных раком легкого диагностировано 44 периферических рака (73 %) и 16 центральной локализации (27 %). Согласно стадии онкопроцесса (по системе TNM от 1997 г.) больные распределились следующим образом: T1N0M0 (IA) — 13 (21,7 %), T2N0M0 (IB) — 15 (25 %), T1N1M0 (IIA) — 2 (3,3 %), T2N1M0, T3N0M0 (IIB) — 11 (18,3 %), T1-3N1-2M0 (IIIA) — 18 (30 %), T1-4N1-3M0 (IIIB) — 1 (1,7 %).

Все пациенты получили хирургическое лечение по поводу рака легких. Произведено 43 лобэктоми, 3 билобэктоми, 8 пневмонэктоми, 6 сегментарных резекции легкого. В послеоперационном периоде у 24 пациентов диагностированы пневмонии, что составило 40 %.

Было проведено микробиологическое исследование мокроты и кала исходно у больных группы РЛ и ХОБЛ. При исследовании *мокроты* в группе РЛ из общего количества штаммов микроорганизмов грамположительные бактерии составили 49,5 %, грамотрицательные бактерии — 22,7 %, *Candida albicans* — 27,8 %, при ХОБЛ — грамположительные бактерии составили 73,1 %, грамотрицательные бактерии — 7,7 %, *Candida albicans* — 19,2 %.

При микробиологическом исследовании *кала* у пациентов группы РЛ и ХОБЛ исходно выявлены изменения в составе главной, факультативной

и остаточной микрофлоры толстой кишки. Бактериологически фиксировалось снижение количества бифидо- и лактобактерий, преобладала кишечная палочка с измененными свойствами (лактозонегативная, гемолитическая), выявлялись факультативные и условно- патогенные энтерококки, золотистый и эпидермальный стафилококк, В- гемолитический стрептококк, синегнойная палочка, отмечалось повышение количества клостридиальной флоры и грибов рода кандиды. Согласно степени выраженности дисбактериоза больные распределились следующим образом. В группе РЛ ост. констатирована у 1,7 % больных, 1ст. — у 25,3 %, 2ст. — 38 %, 3ст. — у 35 %; в группе ХОБЛ — 0 ст. — у 12,3 % больных, 1 ст. — у 39 %, 2 ст. — 34 %, 3 — у 14,7 % больных.

Методом ГЖХ- анализа были определены КЖК (уксусная (C2), пропионовая (C3), изомаляная (изо-C4), масляная (C4), изовалериановая (изо-C5), валериановая (C5), изокапроновая (изо-C6) и капроновая (C6) кислоты) в мокроте и кале у больных ХОБЛ, РЛ. У практически здоровых лиц исследования КЖК выполнены в смывах бронхов, полученных при проведении бронхоскопии у 20 человек, исследование КЖК в кале выполнены у 30 человек.

Статистическая обработка результатов. Для сравнения средних показателей относительного содержания отдельных короткоцепочечных жирных кислот (pCn) между изучаемыми группами и подтверждения их достоверности использовали линейный регрессионный анализ с вычислением доверительных интервалов угла наклона (a) и свободного члена (b) в уравнениях регрессии.

Результаты исследования

Результаты изучения абсолютной концентрации КЖК, относительного содержания C2-C4 (уксусной, пропионовой, масляной) кислот (т.е. долевого участия кислоты в общем пуле кислот с длиной цепи атомов углерода C2-C4: $pCn = Cn / (C2 + C3 + C4)$ и значений анаэробного индекса (АИ)¹, отражающего окислительно-восстановительный потенциал внутриполостной среды, в мокроте у больных ХОБЛ, РЛ и у практически здоровых лиц представлены в таблице 1.

Как видно из таблицы у больных ХОБЛ и РЛ отмечается повышение абсолютной концентрации КЖК по сравнению с нормой.

Результаты относительного содержания C2-C4 демонстрируют достоверное повышение относительного содержания пропионовой и масляной кислот при снижении содержания уксусной кислоты у больных раком легких и ХОБЛ по сравнению с нормой. Причем более выраженные изменения констатируются при РЛ.

Значения АИ в группе ХОБЛ и РЛ смещены в область более отрицательных значений по сравнению с нормой. При этом значения АИ при РЛ отклоняются в более отрицательную область по сравнению с группой ХОБЛ.

Были изучены суммарное относительное содержание изокапроновой (ΣiCn) и отношение содержания изовалериановой кислоты к валериановой кислоте

(iC5/C5) (таблица 1). Достоверное повышение данных показателей отмечено в группе РЛ.

При детальном анализе относительного содержания C2-C4 кислот у пациентов с ХОБЛ были выявлены 2 типа изменений их частотного содержания: в одном случае отмечалось повышение уровня уксусной кислоты выше средних значений, в другом — доминировало повышение пропионовой и масляной кислот. Мы разделили пациентов на две подгруппы в зависимости от имеющихся изменений. Подгруппу ХОБЛ с относительным содержанием уксусной кислоты меньше среднего значения обозначили как 1 тип, а подгруппу с содержанием уксусной кислоты больше среднего как 2 тип. Анализ профилей короткоцепочечных жирных кислот в мокроте методом (ГЖХ) среди указанных групп представлен в таблице № 2.

Как видно из представленных данных в подгруппе с 1 типом изменений профиля C2-C4 кислот отмечается достоверное повышение суммарного абсолютного содержания КЖК в мокроте по сравнению со 2-м типом. Однако данный показатель имеет меньшие значения по сравнению с группой РЛ.

При 1-м типе относительное содержание пропионовой кислоты достоверно повышено по сравнению со 2-м типом, достигая значений РЛ. Относительное содержание уксусной кислоты резко снижено по сравнению с показателями 2-го типа ХОБЛ, и практически достигает значений уровня

1 АИ – это отношение суммы концентраций (С) восстановленных кислот к менее восстановленным: (Спропионовая+Смасляная)/Суксусная (Гунзалус И., Стайнер Р., 1963).

Таблица № 1

Результаты изучения абсолютного содержания КЖК, профилей С2-С4 кислот, значения АИ, суммарного относительного содержания изокислот и отношение изокислот к кислотам с неразветвленной цепью iC5/C5 в мокроте у исследуемых групп больных ХОБЛ, РЛ и нормой.

Примечание:

М±м, где * — p<0,05 при сравнении с группой нормы, ** — p<0,05 при сравнении между группами. N- количество пациентов.

Группа	Σ	pC2	pC3	pC4	АИ	iC5/C5	ΣiCn
Норма (20)	0,032± ±0,012	0,906± ±0,011	0,085± ±0,007	0,009± ±0,003	-0,104± ±0,009	1,35± ±0,21	0,031± ±0,008
ХОБЛ (38)	0,201± ±0,045***	0,846± ±0,0014***	0,127± ±0,009***	0,027± ±0,005*	-0,190± ±0,012***	1,76± ±0,37**	0,059± ±0,010
Рак (60)	0,463± ±0,117***	0,795± ±0,012***	0,174± ±0,010***	0,031± ±0,006*	-0,257± ±0,019***	5,01± ±2,11***	0,082± ±0,019***

Таблица № 2

Результаты изучения абсолютного содержания КЖК, профилей С2-С4 кислот, значения АИ, суммарного относительного содержания изокислот и отношение изокислот к кислотам с неразветвленной цепью iC5/C5 в мокроте у исследуемых групп больных ХОБЛ (1 и 2 тип) и РЛ.

Примечание:

М±м, где ** — p<0,05 при сравнении между группами, *** — p<0,05 при сравнении между типами. N — количество пациентов.

Группа	Σ	pC2	pC3	pC4	АИ	iC5/C5	ΣiCn
среднее	0,201± ±0,045***	0,846± ±0,0014***	0,127± ±0,009***	0,027± ±0,005	-0,190± ±0,012***	1,76± ±0,37**	0,059± ±0,010
ХОБЛ							
1 тип N=20	0,216± ±0,035***	0,803± ±0,009***	0,168± ±0,009***	0,029± ±0,004***	-0,245± ±0,012***	1,79± ±0,31	0,032± ±0,007***
2 тип N=18	0,180± ±0,021***	0,913± ±0,014***	0,074± ±0,006***	0,013± ±0,005***	-0,095± ±0,012***	1,07± ±0,29	0,069± ±0,009***
Рак N=60	0,463± ±0,117***	0,795± ±0,012***	0,174± ±0,010***	0,031± ±0,006	-0,257± ±0,019***	5,01± ±2,11**	0,082± ±0,019**

Таблица № 3

Результаты изучения абсолютного содержания КЖК, профилей С2-С4 кислот, значения АИ, суммарного относительного содержания изокислот и отношение изокислот к кислотам с неразветвленной цепью iC5/C5 в мокроте у исследуемых больных РЛ в зависимости от локализации (центральный и периферический)

Примечание:

М±м, где * — p<0,05 при сравнении с группой нормы, ** — p<0,05 при сравнении между группами. N- количество пациентов.

Группа	Σ	pC2	pC3	pC4	АИ	iC5/C5	ΣiCn
Норма N20	0,032± ±0,012	0,906± ±0,011	0,085± ±0,007	0,009± ±0,003	-0,104± ±0,009	1,35± ±0,21	0,031± ±0,008
Центр. N16	0,512± ±0,076*	0,812± ±0,012***	0,167± ±0,010***	0,020± ±0,005***	-0,231± ±0,012	4,47± ±1,31*	0,061± ±0,012*
Периф. N44	0,477± ±0,069*	0,772± ±0,009***	0,191± ±0,011***	0,037± ±0,006***	-0,295± ±0,018***	6,159± ±1,94*	0,084± ±0,008*

Таблица № 4

Результаты изучения абсолютного содержания КЖК, профилей С2-С4 кислот, значения АИ, суммарного относительного содержания изокислот и отношение изокислот к кислотам с неразветвленной цепью iC5/C5 в мокроте у исследуемой группы больных РЛ в зависимости от развития осложнений.

Примечание:

М±м, где * — p<0,05 при сравнении с группой нормы, ** — p<0,05 при сравнении между группами. N- количество пациентов.

Группа	Σ	pC2	pC3	pC4	АИ	iC5/C5	ΣiCn
Норма N20	0,032± ±0,012	0,906± ±0,011	0,085± ±0,007	0,009± ±0,003	-0,104± ±0,009	1,35± ±0,21	0,031± ±0,008
Ослож. N24	0,571± ±0,081***	0,730± ±0,024***	0,229± ±0,021***	0,041± ±0,009***	-0,369± ±0,021***	7,12± ±2,0***	0,085± ±0,016***
Б\Осл. N36	0,381± ±0,056***	0,803± ±0,031***	0,172± ±0,011***	0,025± ±0,004***	-0,245± ±0,004***	4,15± ±1,5***	0,060± ±0,013***

С2 при РЛ. Данные изменения относительного содержания С2 и С3 кислот сказываются на значениях АИ, которые отклоняются в область резко отрицательных значений, достоверно не отличаясь от значений АИ при РЛ.

Проведено изучение параметров КЖК в мокроте у больных РЛ в зависимости от локализации опухолевого процесса (таблицы № 3). Как видно из таблицы, суммарное абсолютное содержание КЖК может быть выражено следующим образом (Σ КЖК

(С2-С4) норма < Σ КЖК (С2-С4) периферический рак < Σ КЖК (С2-С4) центральный рак) (мг/г).

В профиле С2-С4 кислот в мокроте у больных РЛ с различной локализацией онкопроцесса отмечается различной выраженности снижение относительного содержания уксусной кислоты (pC2периф.<С2 центр.) при нарастании уровней пропионовой и масляной кислот (pC3, pC3периф.>pC3, pC4центр.), что сказывается на отклонении значений АИ в область более отрицательных

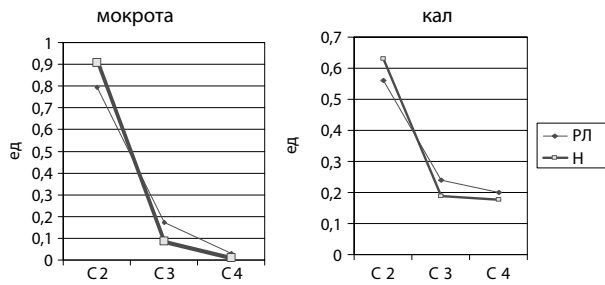


График 1.
Результаты исследования относительного содержания КЖК (C2–C4) в мокроте и кале у больных РЛ и в норме.

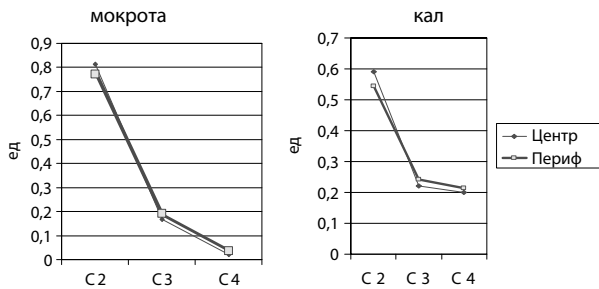


График 2.
Результаты исследования относительного содержания КЖК (C2–C4) в мокроте и кале у больных РЛ, в зависимости от локализации.

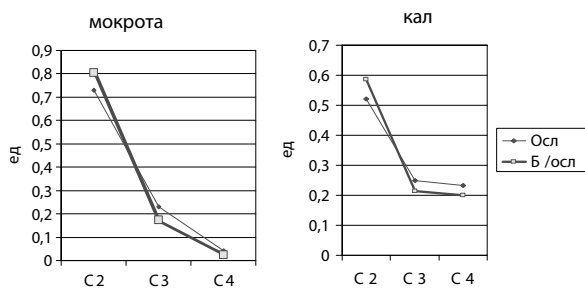


График 3.
Результаты исследования относительного содержания КЖК (C2–C4) в мокроте и кале у больных РЛ, в зависимости от наличия осложнений.

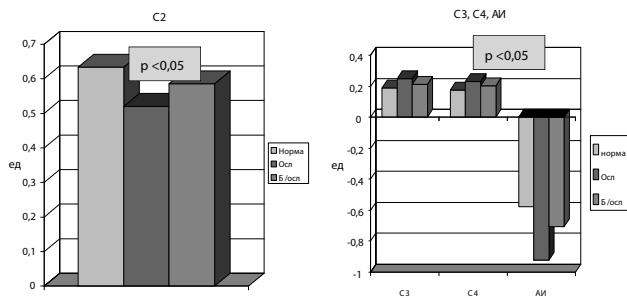


График 4.
Относительное содержание уксусной (C2), пропионовой (C3) и масляной (C4) кислот, значений AI в кале у пациентов исследованных групп, в зависимости от наличия осложнений.

значений (AIпериф.<AI центр). Показатели суммарного относительного содержания изокилот и отношения изоC5/C5 повышены по отношению к нормальным значениям.

Ретроспективно мы изучили исходные параметры КЖК в мокроте у больных РЛ в зависимости от развития послеоперационных осложнений (таблицы № 4). Как видно из таблицы, суммарное абсолютное содержание КЖК может быть выражено следующим образом (Σ КЖК (C2-C4) норма

< Σ КЖК (C2-C4) без осложнений < Σ КЖК (C2-C4) с осложнениями) (мг/г).

В профиле C2-C4 кислот в мокроте у больных РЛ в зависимости от наличия осложнения отмечается различной выраженности снижение относительного содержания уксусной кислоты (pC2 с осложнением < C2 без осложнений) при нарастании уровней пропионовой и масляной кислот (pC3, pC4 с осложнением > pC3, pC4 без осложнений), что сказывается на отклонении значений AI в область более

отрицательных значений (АИ с осложнениями < АИ без осложнений.). Показатели суммарного относительного содержания изокислот и отношения изоС5/С5 повышены при развитии послеоперационных осложнений (изоСн, изоС5/С5 норма < изоСн, изоС5/С5 без осложнений < изоСн, изоС5/С5 с осложнениями).

Нами были изучены параметры КЖК в кале в зависимости от характера заболевания (ХОБЛ и РЛ), локализации онкопроцесса и развития послеоперационных осложнений.

Суммарное абсолютное содержание КЖК в кале в зависимости от изучаемых связей может быть выражено следующим образом: в зависимости от характера заболевания (Σ КЖК (С2-С4) рак ($3,90 \pm 1,31$) < Σ КЖК (С2-С4) ХОБЛ ($4,81 \pm 1,29$) < Σ КЖК (С2-С4) норма) ($10,51 \pm 2,50$) (мг/г), в зависимости от

локализации — (Σ КЖК (С2-С4) периферический ($3,85 \pm 1,12$) < Σ КЖК (С2-С4) центральный ($4,12 \pm 1,10$) < Σ КЖК (С2-С4) норма) ($10,51 \pm 2,50$) (мг/г), в зависимости от развития осложнений — (Σ КЖК (С2-С4) без осложнений ($3,98 \pm 1,16$) < Σ КЖК (С2-С4) с осложнениями ($4,61 \pm 1,34$) < Σ КЖК (С2-С4) норма) ($10,51 \pm 2,50$) (мг/г).

Результаты изучения профиля С2-С4 кислот представлены на графиках 1–3, из которых видна динамика изучаемых параметров, аналогичная изменениям выявленным в мокроте.

Достоверность изменений параметров КЖК в различных биосубстратах у исследуемых групп больных подтверждаются результатами регрессионного линейного анализа (уравнения линейной регрессии, коэффициентом детерминации).

Обсуждение полученных результатов

Изменения содержания и спектра КЖК у больных исследуемых групп ХОБЛ и РЛ в различных биологических субстратах можно обсудить со следующих позиций.

Как известно, короткоцепочечные жирные кислоты, являясь метаболитами сахаролитической и протеолитической индигенной аэробной и анаэробной микрофлоры [10,14,15], могут служить отображением состояния микробиоценоза различных биотопов макроорганизма, а также использоваться для оценки возможной транслокации микрофлоры в нерезидентные ниши [11,12,14].

Установленное повышение абсолютной концентрации КЖК в мокроте у больных ХОБЛ и РЛ свидетельствуют об увеличении численности и активности микроорганизмов в трахеобронхиальном дереве. Анализ качественного содержания КЖК, свидетельствующий о повышении пропионовой и масляной кислот, указывает на активизацию анаэробных микроорганизмов, в частности родов бактероидов, клостридий и фузобактерий, продуцирующих данные кислоты. К этому же выводу приводит анализ значений АИ, свидетельствующий о смещении окислительно-восстановительного потенциала внутриполостной среды в область резко отрицательных значений, при котором жизнедеятельность облигатных анаэробов угнетается (за счет блокирования терминальных ферридоксинсодержащих ферментов), и происходит активизация факультативных анаэробов. Причем более значительные изменения отмечаются при РЛ в сочетании с ХОБЛ и отмечаются практически у всех больных с данной патологией.

При этом, у пациентов с изолированной ХОБЛ нами были выявлены 2 типа изменений: в одном случае отмечалось повышение уровня уксусной кислоты выше средних значений, в другом — доминировало повышение пропионовой и масляной кислот. В первом случае, это свидетельствует об активизации факультативных и остаточных аэробных микроорганизмов (продуцирующих в основном уксусную кислоту), что подтверждается смещением значений АИ в менее отрицательную область. По всей вероятности, это является «благоприятным» типом заболевания.

Во втором случае, как было указано выше, изменения параметров КЖК связаны с резкой

активизацией анаэробных микроорганизмов, продуцирующих данные кислоты. Таким образом, пациенты ХОБЛ с данным типом изменения спектра КЖК в мокроте должны подвергаться тщательному динамическому наблюдению в плане высокого риска развития неопроцесса в трахеобронхиальном дереве («неблагоприятный тип»). Разнообразные изменения микробиоценоза нижних дыхательных путей при ХОБЛ были отмечены в работах зарубежных авторов, свидетельствующих о разнообразии видов а- и анаэробных бактерий, которые включали Proteobacteria, Bacteroidetes, Actinobacteria и Firmicutes. Streptococcus, Prevotella, Moraxella, Haemophilus, Acinetobacter, Fusobacterium и Neisseria [5,16], что согласуется с результатами исследования, в т.ч. микробиологического, мокроты у наших пациентов.

Нами проведен анализ суммарного относительного содержания изокислот и отношения изовалериановой кислоты к валериановой у больных ХОБЛ и РЛ в сочетании с ХОБЛ, и выявлено достоверное повышение показателей во втором случае.

Известно, что аэробные микроорганизмы — кишечные палочки, стрептококки, некоторые бациллы, другие условно-патогенные микроорганизмы рассматриваются как сильнейшие протеолитики. Некоторые виды анаэробов (*Bacteroides* spp), также предпочитают белок в качестве источника азота, но обладают более низкой способностью к протеолизу. Таким образом, с одной стороны, это связано с повышением активности условно-патогенной флоры, в первую очередь, аэробной, сохраняющей свою жизнеспособность при низких значениях окислительно-восстановительного потенциала среды, что согласуется с результатами микробиологического исследования мокроты у наших пациентов. С другой стороны, данный факт (повышения указанных параметров (изоСн и изоС5/С5)) может быть объяснен с позиции деструкции приэпителиального и эпителиального слоя кишечной стенки. Известно, что эпителиальная слизь представляет собой молекулы, в которых к полипептидному остову прикреплены боковые поли- и олигосахаридные звенья, что является метаболическим субстратом для протеолитической микрофлоры. Увеличение кровотока при наличии опухоли приводит к повышению

активности аэробных и анаэробных микроорганизмов, способных к гемолизу (гемолитические штаммы аэробов- *E.coli* и анаэробов- некоторые штаммы клостридий, бактероидов и др.) [10]. Это также согласуется с результатами микробиологического исследования мокроты у наших пациентов.

Нами проведен анализ изменения параметров КЖК у больных раком легкого в сочетании с ХОБЛ в зависимости от локализации опухолевого процесса. Наиболее выраженное повышение содержания пропионовой и масляной кислот (что еще раз подтверждает факт активизации в основном анаэробной флоры) было отмечено при периферическом раке. При центральной локализации процесса изменения были менее выражены.

Данный факт можно объяснить адгезивными способностями различных представителей микрофлоры и их способностью к транслокации. Исследование аэробных и анаэробных неспороносных бактерий, изолируемых при различных патологических состояниях, показало, что большинство штаммов бактероидов, фузобактерий, клостридий, а также *E. coli* отличались от нормальных представителей тех же групп микроорганизмов необычной способностью к адгезии к несвойственным для них клеткам макроорганизма [10,11,14,17], т.е. к более дистальным отделам дыхательных путей. С другой стороны, при центральном раке происходит обтурация нижележащих отделов трахеобронхиального дерева, что может сказываться на результатах исследования мокроты [5].

Мы изучили исходные параметры КЖК в мокроте пациентов РЛ в зависимости от наличия послеоперационных осложнений, и выявили наиболее значимые изменения у пациентов с развившимися в последующем послеоперационными осложнениями. Таким образом, изучение содержания и спектра КЖК может быть также использовано и для оценки прогноза послеоперационного периода с целью проведения профилактических мероприятий.

Рассмотрение изменений содержания и спектра КЖК в мокроте у пациентов РЛ только с позиции оценки изменений микробиоценоза данного биотопа будет не полным без обсуждения биохимической сущности изучаемых метаболитов.

Как известно, КЖК задействованы в местных и системных метаболических и синтетических процессах макроорганизма: участвуют в регуляции ионного обмена, микроциркуляции, секреции слизи, влияют на адгезию и размножение патогенной и условно-патогенной флоры, активируют местный иммунитет, восполняют энергетические потребности эпителия (все КЖК), влияют на пролиферацию и дифференцировку эпителиоцитов (в частности пропионовая и масляная кислоты) и др..

Таким образом, изменение количественного и качественного содержания КЖК в данном биотопе указывает на резкое изменение метаболических, иммунологических и физических процессов, происходящих в нижних дыхательных путях.

Изменение абсолютных концентраций КЖК при наличии опухолевого процесса, возможно, связано с особенностями метаболизма опухоли. Для опухолевых клеток типичен аэробный гликолиз — гликолитическое расщепление глюкозы до

лактата в присутствии кислорода. Дефицит АТФ, связанный с нарушением образования конденсата пируват-ацетил-коА, компенсируется ускорением распада глюкозы. Гликолиз в опухолевых клетках служит основным источником энергии, и, т.о., все вышеуказанное сказывается на изменениях абсолютного содержания КЖК [18].

Изменение качественного содержания пропионовой и масляной кислот в мокроте при РЛ можно объяснить следующим образом.

Как известно, к факторам регулирующим пролиферацию, относятся циклические нуклеотиды, причем цАМФ подавляет пролиферацию и способствует дифференцировке клеток, а цГМФ стимулирует пролиферацию [19]. Учитывая факт сопряженности содержания пропионовой кислоты и цАМФ [12,15], повышение ее долевого участия может объясняться изменением пролиферации и дифференцировки эпителиальных тканей, в частности эндобронхиального эпителия.

Повышение масляной кислоты в мокроте у больных РЛ, возможно, связано с уменьшением утилизации бутирата эпителиоцитами (подобные изменения наблюдаются при аденокарциноме толстой кишки за счет формирования «метаболического блока окисления» масляной кислоты [12]) в условиях изменения метаболизма в опухолевых клетках. Установлено, что этот процесс инициируется и/или усугубляется в условиях нарушения микробиоценоза того или иного биотопа.

Повышение уровня изокилот при наличии опухолевого процесса, по-видимому, связано, с одной стороны, с разрушением пристеночного слоя в области опухоли и нарушением муцинообразования, а, с другой стороны, с активизацией белкового синтеза, особенно ядерных белков гистоновой и негистоновой природы. В экспериментах установлено, что вокруг опухоли идет процесс воспалительной пролиферации, которая сопровождается ростом уровня альфа-1 — гликопротеинов, участвующих в фибриллогенезе коллагена [18].

Нами были изучены параметры КЖК в кале у изучаемых групп больных, а также у больных РЛ в зависимости от локализации процесса и развития осложнений. Было установлено снижение абсолютной концентрации КЖК в кале во всех случаях, что свидетельствовало об угнетении метаболической активности толстокишечной микрофлоры. Динамика параметров КЖК (относительного содержания С2-С4 кислот, значений АИ, суммарного относительного содержания изокилот, отношения изоС5/С5) в кале была аналогичной динамике в мокроте, что свидетельствовало об идентичных изменениях микробиоценоза в исследуемых биотопах, возможно, за счет транслокации микроорганизмов.

Для транслокации микроорганизмов важным моментом является целостность эпителиальных барьеров. Для возникновения «эндоинфекций» огромное значение имеет наличие нарушений, обуславливающих дефекты в клеточных и гуморальных иммунных механизмах специфической и неспецифической защиты, которые имеют место быть при онкологическом заболевании и могут способствовать транслокации микроорганизмов из кишечника в нижние дыхательные пути.

С другой стороны, однонаправленные изменения параметров КЖК в мокроте и кале могут быть объяснены и с позиций стрессового воздействия (влияния) заболевания на организм. Особенность метаболической организации эпителиальных клеток состоит в том, что они чувствительны к воздействию неблагоприятных факторов. При этом происходит переключение метаболизма эпителиоцитов с цикла Кребса на анаэробный вариант гликолиза [10,17,20,21]. Такое изменение стратегии

метаболизма приводит к тому, что меняется трофическая база эпителиоцитов. Последние перестают всасывать и утилизировать КЖК, в первую очередь пропионат и бутират. Происходит «автономизация» эпителиальной подсистемы от микробов-сахаролитиков, а затем и разрыв метаболических взаимосвязей внутри микроценоза [11,17,21].

Однако эти факты требуют дальнейшего исследования и обсуждения.

Таким образом:

1. Исследование содержания и профиля короткоцепочечных жирных кислот (КЖК) у больных ХОБЛ и раком легких (РЛ) в различных биосубстратах (в мокроте и кале) указывает на выраженные изменения микробиоценоза биотопов (bronхо-легочного и кишечного), характеризующихся доминированием в спектре факультативных и остаточных анаэробных микроорганизмов. Причем более выраженные изменения констатируются при РЛ. Кроме того, изменения параметров КЖК в мокроте могут свидетельствовать об изменении

метаболизма эпителиоцитов нижних отделов дыхательных путей (НОДП).

2. Определение короткоцепочечных жирных кислот методом ГЖХ-анализа в различных биологических субстратах может быть использовано в обследовании больных РЛ с диагностической целью (для объективизации микробиологических нарушений), а также для оценки прогноза течения заболевания (развитие РЛ на фоне ХОБЛ) и развития осложнений.

Литература

1. *Имянитов Е. Н.* Рак лёгкого в начале XXI века // Русский медицинский журнал. — 2007. — № 5. — С. 400.
2. Клинические рекомендации. Хроническая обструктивная болезнь легких / под редакцией А. Г. Чучалина. — М. — Атмосфера, 2003.
3. Сепсис и септический шок. 9-й Европейский конгресс анестезиологов. Актуальные проблемы анестезиологии и реанимации. Архангельск-Тромсе: 1995; 125–39.
4. *Hilty M., Burke C., Pedro H. et al.* Disordered microbial communities in asthmatic airways // PLoS One. — 2010. — V. 5: e8578
5. *Cabrera-Rubio R., Garcia-Núñez M., Setó L. et al.* // J Clin Microbiol. Microbiome diversity in the bronchial tracts of patients with chronic obstructive pulmonary disease. — 2012- Nov; 50 (11):3562–8. Epub 2012 Aug 22.
6. *Dancewicz M., Szymankiewicz M., Bella M. et al.* Bronchial bacterial colonization in patients with lung cancer // Pneumonol. Alergol. Pol. — 2009. — Vol. 77, № 3. — P. 242–247.
7. *Дронова О. М.* Внутрибольничные инфекции в онкологической клинике: Автореф. Дис. ... д-ра мед. наук. — М., 1991. — 45 с.
8. *Van Saene H. K. F., Silveshi M. A., de la Gal (Eds)* Infection control in the intensive Care Unit. // Springer Milano 1998; 223–38.
9. *Осипов П. Ю.* Клинико-эпидемиологические сопоставления при различных видах дисбиоза у больных хроническим бронхитом: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Самара. — 2003. — 24 с
10. *Готтшалк Г.* Метаболизм бактерий. // Перевод с английского, М., Мир. 1982., С.230
11. *Шендеров Б. А.* Медицинская микробная экология и функциональное питание. Москва, 1998, в трех томах.
12. *Ардатская М. Д.* Клиническое значение короткоцепочечных жирных кислот при патологии желудочно-кишечного тракта. Докт. дис., М., 2003., С.299.
13. Патент 2220755 Российская Федерация МПК 7B01D15/08, G01N30/48. Способ разделения смеси жирных кислот фракции C2-C6 методом газожидкостной хроматографии. (текст) / Иконников Н. С., Ардатская М. Д., Минушкин О. Н. Заявители и патентообладатели «Учебно-научный медицинский центр» УД ПРФ Ардатская М. Д., Иконников Н. С., Минушкин О. Н., (RU) / № 2002119447, заявл. 23.07.2002, опубл. 10.01.2004 Бюл. № 1–28с.: илл.
14. *Минушкин О. Н., Ардатская М. Д., Бабин В. Н., Домарадский И. В., Дубинин А. В.* Дисбактериоз кишечника. // Российский Медицинский журнал, № 3, 1999, с 40–45
15. Short Chain Fatty Acides. // Congress Short Report Falk Symposium, comp. by Scheppach W. — Strasbourg, 1993. — 50 p.
16. *Erb-Downward J. R., Thompson D. L., Han M. K. et al.* Analysis of the lung microbiome in the «healthy» smoker and in COPD // PLoS ONE. — 2011/ — V. 6. — e16384. DOI: 10.1371 / journal.pone.0016384
17. *Бабин В. Н., Домарадский И. В., Дубинин А. В., Кондракова О. А.* Биохимические и молекулярные аспекты симбиоза человека и его микрофлоры. // Росс. хим. журн. (ЖРХО им. Менделеева). — 1994. — Т. 38. — № 6. — С. 66–78.
18. *Бышевский А. Ш., Терсенов О. А.* Биохимия для врача. Екатеринбург, «Уральский рабочий», 1994.
19. *Федоров Н. А.* Циклические пуриновые нуклеотиды 3,5-АМФ и 3,5-ГМФ как факторы регуляции пролиферации и дифференцировки гемопоэтических клеток. // Успехи современной биологии, 1975, Т. 79, вып.2, с.225–240.
20. *Дубинин А. В., Бабин В. Н., Раевский П. М.* Трофические, регуляторные связи кишечной микрофлоры и макроорганизма (к патогенезу синдрома раздраженной толстой кишки) // Клиническая медицина. — 1991 — N7 — с.24–28.
21. Метаболизм бактерий. Пер. с англ., под редакцией И. Гунзалус, Р. Стайнер, Москва, Издательский центр «ГЕО», 1963, 450 с.