

ОШИБКИ В ПИТАНИИ ПРИ НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ И ПУТИ ИХ КОРРЕКЦИИ

Назаренко Л.И., Петрова Ю.Н., Райхельсон К.Л., Барановский А.Ю.

Северо-Западный ГМУ им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург

Назаренко Людмила Ивановна
 191124, Санкт-Петербург, ул. Тверская, д. 16
 Тел.: +7 (812) 235 1093
 E-mail: doctor_nazarenko@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Цель. Уточнить роль питания в развитии неалкогольной жировой болезни печени у пациентов с метаболическим синдромом.

Основные положения. В статье изложены основные представления об этиологии и патогенезе неалкогольной жировой болезни печени. Особое внимание уделено роли питания в развитии данной патологии. Представлены результаты собственных исследований, показывающих взаимосвязь степени ожирения и характера фактического питания с выраженностью морфологических изменений печени у пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени.

Заключение. Дефектами питания при НАЖБП являются: избыточная энергетическая ценность рациона, избыток животных белков и жиров, недостаток пищевых волокон, сложных углеводов, антиоксидантов, витаминов В₁, В₂, РР. Изложены основные направления диетотерапии неалкогольной жировой болезни печени.

Ключевые слова: неалкогольная жировая болезнь печени; питание; ожирение.

SUMMARY

The aim of review. To verify the role of nutrition in development of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in patients with metabolic syndrome.

Original positions. The article contains main conceptions of etiology and pathogenesis of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. Special attention gives to the role of nutrition in development of this case. The are own dates presented, which shows relationship between degree of obesity, factual nutrition and expression of morphological changes in liver in patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease.

Conclusion. Nutrition mistakes in patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease are: excess of energy, animal proteins and fats, deficit of nutrition fibres, carbohydrates, antioxidants, vitamins В₁, В₂, РР. The main directions of diet in patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease Изложены основные направления диетотерапии неалкогольной жировой болезни печени.

To give an account of изложить

Keywords: nonalcoholic fatty liver disease; nutrition; obesity.

В последние годы во всем мире отмечается увеличение числа людей с избыточной массой тела и ожирением [8; 9] и метаболическим синдромом, который включает в себя андронидный тип ожирения, сахарный диабет 2-го типа, артериальную гипертензию, дислипидемию. У части больных с метаболическим синдромом имеет место гиперурикемия, поликистоз яичников, у большинства — неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) [1; 3]. НАЖБП — хроническое

дистрофически дисметаболическое заболевание печени, характеризующееся чрезмерным внутри и внеклеточным накоплением жира в гепатоцитах. Выделяют две основные формы НАЖБП: жировая дистрофия печени и неалкогольный стеатогепатит (НАСГ) с возможным исходом в цирроз печени. При метаболическом синдроме развивается первичная НАЖБП, в том числе в 60–80% случаев — стеатогепатит [4]. Этиологическими факторами вторичной НАЖБП являются:

- лекарственные препараты (глюкокортикоиды, амиодарон, эстрогены, тамоксифен, тетрациклин, нестероидные противовоспалительные препараты и др.);
- синдром мальабсорбции (как следствие наложения илеоюнального анастомоза, расширенной резекции тонкой кишки, гастропластики по поводу ожирения и т.д.);
- быстрое снижение массы тела;
- длительное парентеральное питание;
- голодание;
- воспалительные заболевания толстой кишки;
- синдром избыточного бактериального обсеменения тонкой кишки;
- абеталипопротеинемия;
- липодистрофия конечностей;
- болезнь Вебера–Крисчена;
- болезнь Вильсона–Коновалова;
- острая жировая печень беременных;
- токсическое действие органических растворителей, производных фосфора, яда грибов и др.

Патогенетической основой развития первичной НАЖБП является феномен инсулинорезистентности, для которого характерно снижение чувствительности тканевых рецепторов к эндогенному инсулину, вырабатываемому в нормальном или даже повышенном количестве [1; 3; 6; 14; 19]. Причины инсулинорезистентности недостаточно изучены. В большей части случаев отчетливо прослеживается влияние наследственных факторов, таких как мутации генов, регулирующих процессы окисления свободных жирных кислот (СЖК), окислительное равновесие в клетке и экспрессию фактора некроза опухоли альфа (TNF- α). У пациентов с ожирением наряду с инсулинорезистентностью в развитии метаболических изменений лежит липотоксичность [6]. При ожирении секреция адипокинов, повышающих чувствительность тканей к инсулину (адипонектин), снижается, а секреция адипокинов, снижающих чувствительность тканей к инсулину (резистин, вистафин и др.) повышается. Предполагают увеличение секреции жировой тканью хемокинов, активирующих макрофаги, которые продуцируют цитокины, уменьшающие чувствительность тканей к инсулину. В патогенезе НАЖБП в последние годы изучается роль специфических ядерных рецепторов, таких как PPAR (пероксомный пролифератор-активируемый рецептор), LXR (прегнанный X рецептор), CAR (конститутивный андростанпрегнанный рецептор) и др. [5; 6]. При гиперкалорийной диете, низкой физической активности и, как следствие, чрезмерном увеличении массы жировой ткани, особенно ее висцерального пула, нарушается баланс медиаторов, регулирующих чувствительность рецепторов к инсулину. Полагают, что на формирование инсулинорезистентности оказывают влияние и патологические состояния, сопровождающиеся избыточным бактериальным ростом в кишечнике. Уменьшение чувствительности тканей к инсулину и нарушение поступления

в клетки глюкозы сопровождается усилением липолиза и повышением концентрации СЖК в сыворотке крови. Гиперинсулинемия способствует снижению скорости окисления СЖК в печени и возрастанию синтеза ЛПОИП. Вышеперечисленные факторы способствуют формированию жировой дистрофии гепатоцитов, что в современной модели патогенеза НАЖБП рассматривается как «первый толчок» [11; 13].

У многих пациентов жировая дистрофия печени никогда не прогрессирует до стадии развития некротически-воспалительных изменений и фиброза. Следовательно, помимо стеатоза («первого толчка») для развития стеатогепатита требуется наличие некоторых других факторов («второй толчок») [16; 19]. В патогенезе воспалительных процессов в печени участвуют два основных механизма: оксидативный стресс и TNF/эндотоксин-опосредованное повреждение [2; 7]. Эффектами перекисного окисления липидов (ПОЛ) можно объяснить основную часть наблюдаемых при стеатогепатите гистологических изменений. ПОЛ с повреждением мембран приводит к некрозу клеток и формированию гигантских митохондрий. Активные формы кислорода могут образовываться и в микросомах, где источниками их служат альдегиды, кетоны, пищевые нитрозамины, железо. При НАСГ имеется повышенная экспрессия цитохрома P450 (CYP) 2E1, который играет важную роль в метаболизме этанола и ряда ксенобиотиков. Этот цитохром способен генерировать свободные радикалы из эндогенно вырабатываемых кетонов, альдегидов и пищевых N-нитрозаминов. Возможными медиаторами индукции цитохрома являются кетоны и СЖК на фоне диеты с высоким содержанием жиров. При развитии «окислительного стресса» нарастает и выработка TNF- α , который наряду с реактивными формами кислорода, дикарбоксильными кислотами и дериватами микросомального окисления способствует разобщению процесса окислительного фосфорилирования, истощению митохондриальной АТФ и в итоге — некрозу и апоптозу гепатоцитов.

Роль алиментарного фактора в развитии НАЖБП у человека недостаточно изучена. Так, в исследованиях, проведенных на лабораторных животных, было показано, что к развитию макровезикулярного стеатоза печени приводит рацион с высоким содержанием жиров, насыщенных жирных кислот [12; 15; 17; 21]. В других работах [17; 18] было установлено, что у мышей с ожирением и сахарным диабетом 2-го типа при дефиците в рационе метионина и холина повышается вероятность развития стеатогепатита. Отмечено влияние избытка в рационе жиров, и в частности НЖК, на возникновение НАЖБП [20].

Насколько важна роль питания в развитии и прогрессировании НАЖБ у человека? Чтобы ответить на этот вопрос, мы изучили показатели нутриционного статуса и попытались выявить взаимосвязь между этими показателями и степенью стеатоза печени. Обследован 51 пациент с ультразвуковыми

признаками жировой болезни печени (мужчин — 23, женщин — 28, средний возраст — 49,5±1,9 года). В зависимости от степени стеатоза печени больные были поделены на 3 группы. Проводилась антропометрическая оценка нутриционного статуса (измерение роста, массы тела, стандартных кожно-жировых складок, окружности талии, бедер), определялось содержание жира в организме (СЖО). Полученные данные представлены в *табл. 1*.

Во всех группах преобладало ожирение по андронидному типу, при этом средние значения СЖО и ИМТ достоверно не различались и превышали нормальные показатели.

При стеатозе печени I степени наблюдались самые «благоприятные» нутриционные показатели ($p < 0,05$): выявлены пациенты с нормальной

массой тела, 36% имело избыточную массу тела, 52% — ожирение различной степени. Во 2-й группе большинство пациентов (81%) страдало ожирением, преимущественно I и II степени (71,5%). В 3-й группе избыточная масса тела встречалась у 40%, ожирение I и II степени — у 60% больных. Достоверных различий между степенью ожирения при стеатозе II и III степени не отмечалось. Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что развитие стеатоза печени характерно для андронидного типа ожирения и зависит от его степени. Однако при наиболее выраженном стеатозе печени не было выявлено ухудшения нутриционных показателей, что позволяет предположить наличие других

Таблица 1

ПОКАЗАТЕЛИ НУТРИЦИОННОГО СТАТУСА У БОЛЬНЫХ С РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНЬЮ СТЕАТОЗА ПЕЧЕНИ					
Показатели	Единицы измерения	1-я группа n = 25 (49%)	2-я группа n = 21 (41,2%)	3-я группа n = 5 (23,8%)	
Степень стеатоза		I	II	III	
ИМТ	кг/м ²	31,3±1,1	33,9±1,0	32,0±2,1	
Нормальная масса тела	n (%)	3 (12)	—	—	
Избыточная масса тела	n (%)	9 (36)	4 (19)	2 (40)	
I степень ожирения	n (%)	6 (24)	9 (42,9)	1 (20)	
II степень ожирения	n (%)	4 (16)	6 (28,6)	2 (40)	
III степень ожирения	n (%)	3 (12)	2 (9,5)	—	
Тип ожирения	Андронидный	n (%)	13 (52)	15 (71,4)	3 (60)
	Гиноидный	n (%)	9 (36)	6 (28,6)	2 (40)
СЖО	%	32,7±1,3	33,6±1,5	34,8±3,0	

Таблица 2

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ФАКТИЧЕСКОГО РАЦИОНА ПИТАНИЯ			
Нутриенты	Степень стеатоза		
	I (n = 17)	II (n = 18)	III (n = 3)
Белки животного происхождения*, г	50,3±4,8	49,9±4,8	76,8±13
Белки растительного происхождения, г	20,0±2,5	21,4±2,4	20,0±3,4
Жиры животного происхождения*, г	63,2±6,7	74,3±10,8	110,6±32,2
Жиры растительного происхождения, г	31,1±5,7	30,1±3,2	30,6±3,5
Насыщенные жирные кислоты*, г	33,1±2,9	35,0±4,3	51,4±10,7
Углеводы*, г	190,2±12,7	205,0±20,4	214,2±39,5
Клетчатка*, г	15,9±2,8	14,5±0,9	11,7±0,86
Холестерин, г	252,3±68,3	319,3±60,3	333,7±33,7
Энергоценность рациона (ккал)	1938,0±128,8	2095,0±19,9	2536,0±398,8

Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении I и III степени стеатоза.

этиологических или патогенетических факторов прогрессирования заболевания.

Для изучения значимости алиментарного фактора в генезе НАЖБП мы проанализировали химический состав фактического рациона путем анализа 7-дневных пищевых дневников у 38 больных, из них 22 (57,9%) женщины, 16 (42,1%) мужчин, средний возраст — 47,8±1,9 года. По данным ультразвукового исследования у всех пациентов определялись признаки жировой болезни печени I–III степени. Полученные данные представлены в *табл. 2*.

Как видно из данных таблицы, в рационе больных с I степенью стеатоза по сравнению с остальными группами достоверно ниже количество жиров животного происхождения, насыщенных жирных кислот и углеводов. Вместе с тем в их рационе выше количество клетчатки ($p<0,05$). Следует отметить, что количество клетчатки было ниже рекомендуемой нормы во всех трех группах больных. Кроме того, больные 2-й и 3-й групп употребляли в пищу большее количество холестерина. Для рациона больных со стеатозом 3-й степени характерны: самая высокая энергетическая ценность, наибольшее количество белков, жиров животного происхождения, насыщенных жирных кислот, холестерина, наименьшее количество клетчатки. Патологические изменения в печени по данным ультрасонографии нарастают прямо пропорционально увеличению энергоценности рациона.

Содержание белков животного происхождения в рационе обследованных больных было взаимосвязано с ультрасонографическими и морфологическими характеристиками НАЖБП. Так, увеличение в рационе количества белков животного происхождения сопровождалось нарастанием дистального затухания звука при УЗИ и развитием стеатогепатита, характеризующегося наличием фиброза не только 3-й зоны, но и портального тракта ($p<0,05$). Вероятно, повышенное потребление белков животного происхождения имеет значение в прогрессировании стеатогепатита (*рис. 1*).

Кроме того, в рационе всех обследованных больных было выявлено увеличенное количество жиров, преимущественно за счет жиров животного

происхождения. Мужчинам было свойственно избыточное употребление в пищу холестерина. Вклад жиров (и, в частности, НЖК) в энергетическую ценность рациона значительно превысил рекомендуемые нормы (*рис. 2*).

Нами была выявлена достоверная взаимосвязь между выраженностью экзогенности печени при УЗИ и количеством употребляемого больными холестерина (*рис. 6*). Дистальное затухание звука было характерно для больных с большим содержанием в рационе НЖК ($p<0,05$). Это согласуется с литературными данными, свидетельствующими о непосредственном влиянии избытка в рационе жиров, особенно НЖК, на возникновение НАЖБП [28].

Количество употребляемых больными углеводов и их доля в энергетической ценности суточного рациона были значительно меньше рекомендуемых норм физиологических потребностей (*рис. 3*). Кроме того, в питании обследованных мужчин отмечалось недостаточное количество витаминов А и В₂, а в рационе женщин — витаминов А, С, В₁, В₂, РР.

Содержание витаминов в рационе больных было взаимосвязано с ультразвуковыми и морфологическими данными. Так, при дефиците в рационе β-каротина достоверно чаще наблюдалось развитие стеатогепатита с интенсивным воспалительным процессом, соответственно ультрасонографически выявлялась гепатомегалия (*рис. 4, 5*). Значительное повышение экзогенности печени отмечено у больных, употреблявших в пищу витамин С в недостаточном количестве ($p<0,05$) (*рис. 6*). Возможно, снижение употребления β-каротина и витамина С, являющихся антиоксидантными факторами, ведет к прогрессированию стеатоза печени.

Таким образом, у обследованных нами пациентов были выявлены следующие дефекты фактического питания, влияющие на течение НАЖБП:

- избыточная энергетическая ценность;
- увеличение потребления продуктов животного происхождения, являющихся источником белков и жиров, в том числе насыщенных жирных кислот и холестерина;
- недостаточное потребление сложных углеводов (особенно овощей и фруктов);

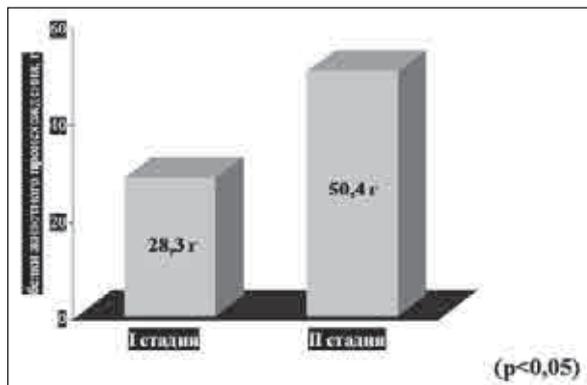


Рис. 1. Зависимость стадии стеатогепатита (Brunt E., 2000) от содержания белков животного происхождения

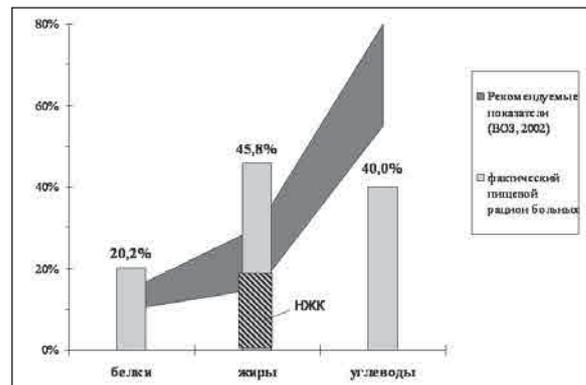


Рис. 2. Доля белков, жиров и углеводов в энергетической ценности суточного рациона

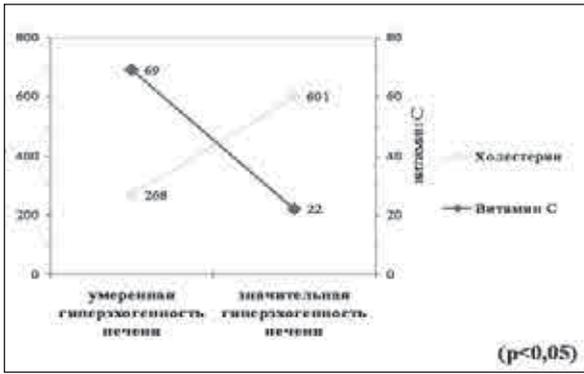


Рис. 3. Зависимость выраженности эхогенности печени (по данным УЗИ) от содержания холестерина и витамина С

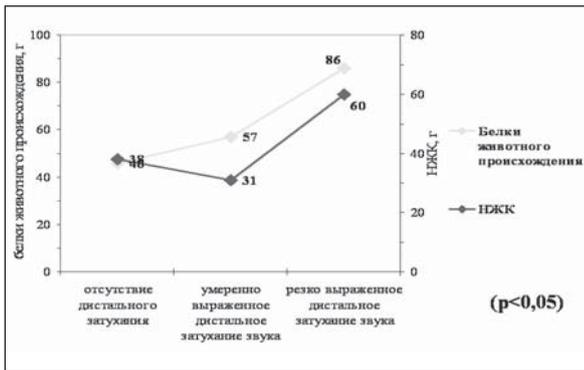


Рис. 4. Зависимость выраженности дистального заглушения звука (по данным УЗИ) от содержания белков животного происхождения и насыщенных жирных кислот (НЖК)

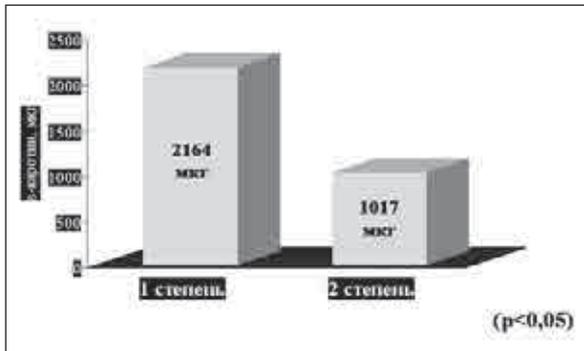


Рис. 5. Зависимость степени стеатогепатита (Brunt E., 2000) от содержания β-каротина

- дефицит пищевых волокон;
- снижение количества естественных антиоксидантов (витаминов С, Е, А, β-каротина);
- снижения содержания витаминов В₁, В₂, РР, участвующих в обмене энергии, углеводов, белков и жиров.

Наши данные в основном совпадают с результатами, полученными Н.В. Топильской, Б.С. Когановым (2011), которые выявили избыточную энергетическую ценность рациона, избыток животных белков, жиров при недостатке пищевых волокон у пациентов с НАЖБП. Однако наблюдаемые нами пациенты употребляли недостаточное количество углеводов, в то время как в рационе пациентов вышеуказанных авторов [10] общее количество

углеводов превышало норму преимущественно за счет моно- и дисахаридов.

Из анализа дефектов питания пациентов с первичной НАЖБП вытекают основные пути его коррекции:

1. Уменьшение энергетической ценности рациона для снижения массы тела. Лучшим вариантом в данном случае является программа медленного похудения, когда в месяц теряется 2–3 кг жира. Быстрое похудение (например, во время лечебного голодания или соблюдения очень низкокалорийных диет) приводит к мобилизации большого количества жирных кислот и поступлению их в печень, что может усилить уже имеющийся оксидативный стресс в ней. Для расчета энергетической ценности рекомендуемого рациона необходимо определить величину основного обмена по формуле Харриса — Бенедикта (или по формуле ВОЗ) с учетом реальной массы тела. Полученную величину умножить на коэффициент физической активности, который чаще всего составляет 1,3 (для лиц с морбидным ожирением, ведущих малоподвижный образ жизни) или 1,4 (для лиц умственного труда и работников с низкой физической активностью). От полученной величины следует отнять 500–1000 ккал. ВОЗ рекомендует чаще использовать дефицит энергии 600 ккал.

2. Ограничение животных белков. Общее количество белков может быть несколько выше физиологической нормы (1,0–1,5 к/кг идеальной массы тела) за счет растительных (полезно включать в рацион соевые продукты). Часто продукты, которые являются источником животного белка (мясо, птица), содержат также насыщенные жирные кислоты и холестерин.

3. Уменьшение общего количества жиров (26% суточной энергоценности рациона) за счет животных. Увеличение квоты растительных жиров — источников моно- и полиненасыщенных жирных кислот.

4. Ограничение продуктов, богатых холестерином (субпродукты, яичные желтки, икра и др.). Общее количество холестерина в рационе не должно превышать 300 мг/сут.

5. Ограничение простых углеводов (сахар, мед, варенье и другие сладости) при нормальном содержании сложных углеводов (овощи, фрукты, цельнозерновые продукты). Энергетическая ценность рациона за счет углеводов — 50–60 %, за счет простых углеводов — не более 10%.

6. Увеличение количества пищевых волокон (20–30 г в сутки). Можно использовать биологически активные добавки к пище, содержащие растворимые и нерастворимые пищевые волокна. Пищевые волокна являются пребиотиками, способствуют росту нормальной микрофлоры кишечника, тем самым улучшая функциональное состояние печени.

7. Усиление естественной антиоксидантной защиты печени. Это продукты, богатые витамином С (шиповник, черная смородина, облепиха, сладкий перец, цитрусовые, капуста белокочанная и др.), витамином Е (растительные масла, проростки злаков и др.), витамином А (твердые нежирные сыры), каротиноидами (морковь, тыква, зелень, зеленый чай,

томаты, абрикосы и др.), цинком (устрицы, говядина, соевый лецитин), медью (огурцы, шиповник, орехи, отруби, бобовые и др.), селеном (морепродукты, мясо, капуста, пшеница)

8. Максимальное разнообразие суточного продуктового набора во избежание развития дефицитов тех или иных нутриентов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беляков Н.А., Сеидова Г.Б., Чубриева С.Ю., Глухов Н.В. Метаболический синдром у женщин (патофизиология и клиника). — СПб.: Издательский дом СПб МАПО. — 2005. — 440 с.
2. Буевров А.О. Оксидативный стресс и его роль в повреждении печени // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. — 2002. — Т. XII. — №4. — С. 21—25.
3. Гарднер Д., Шобек Д. Базисная и клиническая эндокринология (пер. с англ. под ред. Г.А. Мельниченко). — М. — БИНОМ. — 2010. — 463 с.
4. Драпкина О.М. Неалкогольная жировая болезнь печени и метаболический синдром // Гастроэнтерология. — 2008. — №1 (приложение consilium medicum). — С. 31—33.
5. Ивашкин В.Т., Маевская М.В. Липотоксичность и метаболические нарушения при ожирении // Рос. журн. гастроэнт., гепатол. — 2010. — Т. XX. — №1. — С. 4—14.
6. Ивашкин В.Т. Ядерные рецепторы и патология печени. Часть 1-я // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. — 2010. — Т. XX. — №3. — С. 4—9.
7. Мамаев С.Н., Багомедова Н.В., Богомолов П.О. и др. Цитокиновая система при неалкогольном стеатогепатите // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. 2007. — Т. 17. — №4. — С. 30—35.
8. Ожирение (клинические очерки) / Ред. Барановский А.Ю., Воробина Н.В. — СПб.: Диалект, 2007. — 240 с.
9. Ожирение. Руководство для врачей / Ред. Н.А. Беляков, В.И. Мазуров. — СПб.: Издательский дом СПбМАПО, 2003. — 519 с.
10. Топильская Н.В., Каганов Б.С. Диетотерапия неалкогольной жировой болезни печени // Материалы конгресса «Гепатология сегодня». — М., 2011. — С. 65.
11. Angulo P., Keach J.C., Batts K.P., Lindor K.D. Independent predictors of liver fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis // Hepatology, 1999. — Vol. 30. — P. 1356—1362.
12. Brunt E.M., Janney C.G., Di Bisceglie A.M. et al. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions // Am. J. Gastroenterol., 1999. — Vol. 94. — P. 2467—2474.
13. Day C., Saksena S. Nonalcoholic steatohepatitis: definitions and pathogenesis // J. Gastroenterol. Hepatol., 2002. — Vol. 17. — P. 377—384.
14. Cai D., Yuan D.F., Frantz P.A. et al. Local and systemic insulin resistance resulting from hepatic activation of IKK- β and NF- κ B // Nat. Med., 2005. — Vol. 11. — P. 183—190.
15. Hamaguchi M., Kojima T., Takeda N. et al. The Metabolic Syndrome as a Predictor of Nonalcoholic Fatty Liver Disease // Annals of Internal Medicine, 2005. — Vol. 143. — P. 722—728.
16. Perez-Carreras M., Del Hoyo P., Martin M.A. et al. Defective hepatic mitochondrial respiratory chain in patients with nonalcoholic steatohepatitis // Hepatology, 2003. — 38 (4). — P. 999—1007.
17. Rinella M.E., Green R. The methionine-choline deficient dietary model of steatohepatitis does not exhibit insulin resistance // J. Hepatol., 2004. — Vol.40 (1). — P. 47—51.
18. Sahai A., Malladi P., Xiaomin P. et al. Obese and diabetic db/db mice develop marked liver fibrosis in a model of nonalcoholic steatohepatitis: role of short-form leptin receptors and osteopontin // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol., 2004. — Vol. 287. — P. 1035—1043.
19. Sanyal A.J., Campbell-Sargent C., Mirshahi F. et al. Nonalcoholic steatohepatitis: association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities // Gastroenterology, 2001. — Vol. 120. — P. 1183—1192.
20. Wang D., Wei Y., Pagliassotti M.J. Saturated fatty acids promote endoplasmic reticulum stress and liver injury in rats with hepatic steatosis // Published online ahead of print. — November 3, 2005. — 2005—0570.
21. Varman T. Samuel, Z. Liu, X. et al. Samuel Mechanism of Hepatic Insulin Resistance in Non-alcoholic Fatty Liver Disease // J. Biol. Chem., 2004. — Vol. 279. — P. 32345—32353.