

«Утверждаю»

Проректор по научной работе
Мордовского государственного университета
профессор



В. Д. Черкасов

2008 г.

О Т Ч Е Т №1

для ООО «Бифилюкс»

Руководитель работы:
доктор медицинских наук профессор


_____ Е. Ю. Еремина
« ____ » _____ 2008 г.

г. Саранск

О Т Ч Е Т №1
о результатах исследования эффективности
синбиотических биокомплексов «Нормофлорины Л и Б»
при хроническом билиарнозависимом панкреатите

ВВЕДЕНИЕ

Хронический панкреатит является довольно распространенной патологией органов пищеварения, имеющей устойчивую тенденцию к росту показателей заболеваемости в большинстве регионов России. Это обусловлено как истинным ростом заболеваемости, так и улучшением качества диагностики заболевания, ставшего возможным благодаря использованию современных технологий ультразвукового сканирования поджелудочной железы, компьютерной томографии, магнитно-резонансной томографии, внедрению биохимических маркеров поражения органа. В России наиболее распространенными вариантами хронического панкреатита являются билиарнозависимый и алкогольный. Длительное течение хронического панкреатита, независимо от его этиологии, сопровождается развитием экзокринной недостаточности поджелудочной железы, существенно ухудшающей качество жизни больных и требующей продолжительной коррекции ферментными препаратами, которые в еще большей степени угнетают функционирование органа. В этой связи результаты длительно проводимой заместительной ферментной терапии больных хроническим панкреатитом далеко не всегда удовлетворяют больного и врача и требуют поиска дополнительных подходов, касающихся более детальных аспектов развития нарушенных кишечных функций вследствие экзокринной недостаточности поджелудочной железы.

Целью настоящего исследования явилось изучение эффективности использования синбиотических биокомплексов «Нормофлорин Л» и «Нормофлорин Б» в комплексной терапии больных хроническим билиарнозависимым панкреатитом.

Синбиотические биокомплексы «Нормофлорин Л» и «Нормофлорин Б», выпускаемые ООО «Бифиликс», содержат в своем составе активные живые клетки лактобактерий («Нормофлорин Л»), бифидобактерий («Нормофлорин Б») в количестве не менее 10^{10} в 1 мл, комплекс витаминов (В1, В2, В3, В6, В12, РР, С, Е), микроэлементы (Fe, Cu, Ca, K, Na, Zn, Mg, Mn, F), органические кислоты, незаменимые аминокислоты, бактериоцины (антибиотикоподобные субстанции), перекись водорода и лизоцим, обеспечивающие антибактериальный эффект в отношении условно-патогенной флоры кишечника, ферменты, а также органический пребиотик лактит.

Дизайн исследования

Под наблюдением находились 20 больных с обострением хронического билиарнозависимого панкреатита в возрасте от 32 до 54 лет (средний возраст - $45,7 \pm 2,6$ лет). У всех больных диагноз хронического панкреатита был подтвержден УЗИ поджелудочной железы, печени и желчевыводящих путей,

ЭГДС, КТ или МРТ поджелудочной железы, исследованием активности амилазы в крови и моче, эластазы в кале. По показаниям проводились другие необходимые исследования.

Сопутствующая или фоновая патология была представлена хроническим холециститом – у 10 больных, желчно-каменной болезнью – у 6, дисфункциональными расстройствами билиарной системы – у 7, хроническим гастродуоденитом – у 9, гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью – у 9 больных. У 2 больных в анамнезе регистрировалась язвенная болезнь желудка, у 4 – язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки, у 3 ранее была произведена холецистэктомия по поводу желчно-каменной болезни.

Методом случайной выборки больные были подразделены на 2 группы – основную и группу сравнения.

Основную группу составили 12 больных в возрасте 32 – 54 лет (средний возраст $44,1 \pm 2,0$ лет), из них 7 женщин и 5 мужчин. Группу сравнения представляли 8 больных в возрасте 34 – 54 лет (средний возраст $46,1 \pm 2,8$ лет). Из них 5 женщин и 3 мужчин (Таблица 1). Длительность течения хронического панкреатита согласно данным анамнеза составляла от 2 до 12 лет (в среднем – 5,3 лет). Контрольную группу составили 9 пациентов из числа добровольцев (7 мужчин и 2 женщины) в возрасте 26 – 35 лет, которым проводилось углубленное обследование, включающее в себя УЗИ, ЭГДС и др., по результатам которого патологии пищеварительных органов выявлено не было.

Таблица 1

Возрастной и половой состав наблюдаемых пациентов

Возраст	Основная группа (12)			Группа сравнения (8)			Всего (20)		
	М	Ж	Всего	М	Ж	Всего	М	Ж	Всего
32-39 лет	1	1	2	-	2	2	1	3	4
40-49 лет	3	5	8	2	2	4	5	7	12
50-54 лет	1	1	2	1	1	2	2	2	4
Итого:	5	7	12	3	5	8	8	12	20

Пациенты обеих групп (основной и группы сравнения) проходили амбулаторное лечение, которое включало в себя в качестве основного курса использование ингибитора протонного насоса в стандартной дозе, спазмолитиков, ферментов (препараты панкреатина в среднетерапевтической дозе). Основной курс лечения продолжался в среднем 30 дней. Критерием прекращения лечения служили исчезновение болевого синдрома, диспепсических расстройств, нормализация стула и стабилизация массы тела.

Больным основной группы наряду с базисной терапией назначались синбиотические биокомплексы «Нормофлорины Л и Б» согласно рекомендаций производителя. Утром больные получали «Нормофлорин Л» по 20 мл, вече-

ром – «Нормофлорин Б» по 20 мл. Курс лечения «Нормофлоринами Л и Б» составил 30 дней, после чего (через 12 – 14 дней после завершения лечения) больным проводилось контрольное обследование, включавшее в себя ЭГДС с получением биопсионного материала слизистой оболочки из начального отдела тощей кишки.

Критерии оценки результатов лечения:

1. Опрос больных, изменение характера жалоб, антропометрия.
2. Результаты контрольных диагностических исследований (УЗИ, ЭГДС, копрограмма, биохимические и другие исследования по показаниям).
3. Результаты специальных методов исследования (исследование активности ферментов, осуществляющих кишечное пищеварение), примененных в соответствии с целью и задачами исследования.

3.1. Изучение амилалитической активности тонкой кишки в зоне полостного и мембранного пищеварения методом Ц.Г. Масевича, А.М. Уголева, Э.К. Забелинского. Метод основан на сравнении амилалитической активности 5 проб или фракций. Фракция С характеризует активность легко смываемой панкреатической α -амилазы, участвующей в полостном пищеварении. Фракции Д1, Д2 и Д3 – это легкодесорбируемая, среднедесорбируемая и труднодесорбируемая фракции α -амилазы, а ЕД – суммарная активность десорбированных фракций α -амилазы. Фракция Г – активность собственно кишечной γ -амилазы, прочно связанной с энтероцитами и реализующей мембранный гидролиз полисахаридов. Показатель ЕД/С характеризует адсорбционные свойства слизистой оболочки тонкой кишки, ЕД+Г – суммарную амилалитическую активность в зоне мембранного пищеварения, ЕД+Г+С – общую амилалитическую активность тонкой кишки, Г/С и (ЕД+Г)/С – отношение активности мембранного пищеварения к полостному.

3.2. Изучение активности кишечных ферментов, осуществляющих мембранное пищеварение (сахаразы, мальтазы, аланинаминопептидазы, щелочной фосфатазы (ЩФ), мембранно-цитозольных дипептидаз) и содержания внутриклеточного белка в гомогенате слизистой оболочки тонкой кишки по методикам, разработанным в Лаборатории физиологии питания института физиологии им. И.П. Павлова РАН.

Критерии включения в исследование:

1. Диагноз: «Хронический билиарнозависимый панкреатит в стадии обострения».
2. Согласие участвовать в исследовании, подтвержденное информированным согласием больного в соответствии с программой GCP.

Критерии исключения:

1. Возраст менее 18 лет.
2. Ранее применяемые пробиотики.
3. Наличие онкологических заболеваний и сахарного диабета.
4. Наличие тяжелой сопутствующей патологии, препятствующей проведению полного клинико-лабораторного и инструментального исследования больных.

5. Участие в других клинических исследованиях в течение последних 6 месяцев.

Результаты исследования

У всех включенных в исследование больных хроническим панкреатитом в клинической симптоматике наряду с выраженным в разной степени болевым абдоминальным синдромом имелись симптомы нарушенного кишечного пищеварения, обусловленные расстройством внешнесекреторной функции поджелудочной железы – диарея, неустойчивый стул, стеаторея, вздутие и урчание в животе, изменения копрограммы (стеаторея, креаторея, амилорея). У 12 больных отмечалось похудание от 4 до 9 кг за период обострения и от 7 до 16 кг за весь период заболевания. У 18 больных были выявлены другие симптомы малабсорбции (гиповитаминозы, трофические и электролитные расстройства и др.).

Результаты оценки клинической эффективности лечения пациентов основной группы и группы сравнения представлены в таблице 2. Из них следует, что добавление синбиотических биокомплексов «Нормофлорины Л и Б» в стандартную терапию хронического панкреатита заметно повышает результативность лечения. Особенно это касается симптомов нарушенного кишечного пищеварения (вздутие, урчание в животе, диарея и неустойчивый стул) и всасывания (стабилизация массы тела, исчезновение признаков трофических расстройств и гиповитаминозов).

Таблица 2

Результаты клинической эффективности лечения больных хроническим панкреатитом

Симптомы	Основная группа		Группа сравнения	
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
Абдоминальная боль	12	1	8	2
Вздутие живота	9	0	6	3
Урчание в животе	4	0	2	2
Диарея	9	0	7	2
Неустойчивый стул	3	0	1	1
Желудочные диспепсии	9	1	6	2
Похудание	7	0	5	0
Стеаторея	10	0	7	1
Креаторея	4	0	3	1
Амилорея	5	0	5	1

Болезненность живота при пальпации	9	0	8	2
Трофические расстройства	8	2	5	4
Признаки гиповитаминозов	4	1	3	2

Результаты проведенного исследования показателей полостного и мембранного этапа кишечного пищеварения (Таблица 3) свидетельствовали о том, что у больных хроническим панкреатитом в стадии обострения (в основной группе и, аналогично, в группе сравнения) отмечалось достоверное ($p < 0,05$), по сравнению с контролем, снижение активности полостной (панкреатической) α -амилазы, адсорбированных на слизистой оболочке тонкой кишки фракций панкреатической амилазы (ЕД), амилалитической активности в зоне мембранного пищеварения (ЕД+Г), общей амилалитической активности тонкой кишки (ЕД+Г+С), а также активности мембрансвязанных ферментов - γ -амилазы (Г), аланинаминопептидазы, мальтазы, сахаразы, щелочной фосфатазы, активности мембранноцитозольных дипептидаз и содержания белка в слизистой оболочке тонкой кишки, используемого для ферментсинтетических целей.

Таблица 3

Показатели гидролитической функции тонкой кишки у больных хроническим панкреатитом в динамике лечения

Показатель	Контрольная группа	Основная группа		Группа сравнения	
		До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
Активность фракций (мкг/мин/мг) С	15,4±1,9	6,8±0,5*	9,4±1,9	7,2±1,1*	9,9±1,6
Д1	12,3±2,0	7,9±0,7*	11,9±1,8	7,4±0,8*	9,6±1,4
Д2	11,7±1,4	6,9±0,6*	10,1±0,9	5,9±0,7*	9,0±1,8
Д3	9,3±1,3	4,8±0,4*	10,4±1,2	5,3±0,5*	7,6±1,3
Г	14,8±1,4	8,0±0,5*	12,6±1,3	7,6±0,6*	8,4±1,2*
ЕД	32,8±2,3	19,3±1,3*	34,4±2,1	22,3±1,6*	24,6±1,8*
ЕД+Г	55,8±3,1	27,1±1,9*	48,8±3,0	28,4±2,0*	34,6±2,2*
ЕД/С	2,4±0,5	3,4±0,4*	2,5±0,7	3,5±0,4*	3,0±0,5
(ЕД+Г)/С	3,8±0,7	4,5±0,9	3,6±1,0	4,0±0,6	2,8±0,8
Г/С	1,0±0,4	1,3±0,1*	1,05±0,03	1,6±0,2*	0,7±0,1

ЕД+Г+С	68,8±3,2	34,2±3,0*	60,3±4,1	40,4±3,2*	48,6±3,5*
Активность ферментов (мкмоль/мин/г) ААП	26,9±1,7	14,7±1,1*	23,7±2,1	15,4±1,6*	18,1±1,7*
ГВД	290±21	200±29*	228±24	188±15*	204±21
ГФД	273±28	233±34*	265±18,6	219±17*	196±23
ГЛД	395±27	278±17*	356±24,2	251±14*	287±22*
Мальтаза	26,4±2,2	16,7±2,0*	30,6±2,7	17,6±2,2	19,4±2,2
Сахараза	9,6±1,4	5,0±0,5*	9,0±1,0	6,0±0,7*	6,2±1,1*
ЩФ	9,3±1,1	7,2±0,6*	8,3±0,9	8,0±0,6	7,9±0,8*
% ЩФ	37,4±2,6	65,3±2,8*	40,1±2,5	63,7±3,0*	51,7±2,4*
Белок, г/л	117,3±10,6	60,4±3,8*	97,8±8,5	73,8±3,8*	89,3±17,8

Примечания к таблице 2: ААП – аланинаминопептидаза, ГВД – глицинвалиндипептидаза, ГФД – глицилфенилаланиндипептидаза, ГЛД – глицин – L-лейциндипептидаза, ЩФ – щелочная фосфатаза, % ЩФ – степень ингибирования ЩФ в присутствии конкурентного ингибитора трибутирина. * достоверно ($p<0,05$) по сравнению с контролем.

Нарушенным у больных хроническим панкреатитом оказалось также соотношение активности ферментов в зонах полостного и мембранного пищеварения. Об этом свидетельствовало повышение ($p<0,05$) значений соотношений ЕД/С, (ЕД+Г)/С, Г/С. Подобное нарушение соотношения активности пищеварительных процессов в зоне полостного и мембранного пищеварения в сторону последнего является дополнительным фактором, усугубляющим нарушение кишечного пищеварения и создающим избыточную функциональную нагрузку на этапе мембранного пищеварения.

Как известно, функционирование систем, обеспечивающих мембранное пищеварение, является регулируемым на различных уровнях. Кроме того, сами ферменты играют регуляторную роль и контролируют скорость ассимиляции нутриентов. За счет регуляторных свойств кишечных ферментов устанавливаются оптимальные соотношения между темпом гидролиза и всасывания питательных веществ. Сравнительный анализ ферментативного обеспечения основных этапов кишечного пищеварения показал, что выявленные при хроническом панкреатите изменения могут быть причастны к субстратному нарушению регуляторных влияний на слизистую оболочку начального отдела тощей кишки.

Согласно полученным нами данным, у больных хроническим панкреатитом наблюдается ослабление регуляторных свойств щелочной фосфатазы.

Оно проявляется в виде повышенной чувствительности фермента к действию модификатора трибутирина, являющегося его конкурентным ингибитором.

Выявленное ослабление регуляторных свойств щелочной фосфатазы означает сужение диапазона ферментативных адаптаций. Это может приводить к снижению способности тонкой кишки поддерживать постоянство своей структуры и функций при изменении уровня функциональной нагрузки, а также свидетельствовать о ферментативной недостаточности на уровне взаимодействия, то есть в условиях естественного полисубстратного пищеварения. Оказалось, что изменение данного показателя даже в большей степени, чем снижение активности мембрансвязанных ферментов, коррелировало с развитием клинических симптомов нарушенного кишечного пищеварения в группе обследованных пациентов.

Полученные в ходе исследования данные свидетельствуют о том, что в развитии симптомов нарушенного кишечного пищеварения и всасывания при хроническом билиарнозависимом панкреатите участвует не только изменение внутриполостного кишечного пищеварения, обусловленное внешнесекреторной недостаточностью поджелудочной железы, но и нарушение мембранного пищеварения, механизмы которого сложны, многоплановы и пока, к сожалению, недостаточно изучены.

Возможными причинами выявленных нарушений мембранного этапа кишечного пищеварения при хроническом билиарнозависимом панкреатите выступают:

- а) нарушения полостного пищеварения, приводящее к смещению активной пищеварительной зоны дистальнее и в зону мембранного (мембранно-цитозольного) пищеварения;
- б) нарушение рН-статирования энтеральной среды вследствие характерного для панкреатита дефицита секреции бикарбонатов;
- в) изменение сложных нейро-гуморальных и гормональных регуляторных влияний в условиях множественного поражения сопряженных пищеварительных органов, свойственного хроническому панкреатиту;
- г) нарушение моторики гастродуоденальной зоны, кишечника и билиарного тракта;
- д) изменение состава, количества и ритмичности выделения желчи;
- е) многокомпонентные медикаментозные влияния, изменяющие функционирование пищеварительных органов и механизмы их регуляции;
- ж) неизбежное при хроническом панкреатите и сопряженной с ним патологии развитие дисбиотических расстройств в кишечнике.

Развитие кишечного дисбиоза у абсолютного большинства больных хроническим панкреатитом в еще большей степени ухудшает течение заболевания, особенно проявления экзокринной недостаточности поджелудочной железы. Дисбиоз способствует повышению проницаемости кишечной стенки,

прогрессированию интоксикации, усугублению нарушения пищеварения и всасывания, всех видов обмена веществ. В этой связи использование препаратов синбиотического ряда при хроническом панкреатите представляется патогенетически оправданным.

Спектр механизмов нарушения кишечного пищеварения при хроническом билиарнозависимом панкреатите не ограничивается перечисленными выше. Но очевидно, что не зависимо от того, какой из механизмов преобладает в каждом конкретном случае, итогом является сложное нарушение всего пищеварительно-транспортного конвейера, а не только полостного пищеварения. В этой связи представляется актуальным, с одной стороны, изучение влияния терапии, проводимой традиционно больным хроническим панкреатитом, на активность кишечных ферментов, осуществляющих как полостное, так и мембранное пищеварение, а, с другой - поиск способов, улучшающих результаты лечения за счет позитивного влияния на этап мембранного кишечного пищеварения.

Основанием для изучения влияния синбиотических биокомплексов «Нормофлорины Л и Б» на показатели активности ферментов полостного и мембранного кишечного пищеварения явилось комплексное позитивное воздействие «Нормофлоринов» на пищеварительную систему, включающее в себя доказанное влияние на кишечный биоценоз, иммунную систему, структуру кишечного эпителия и активность ферментов мембранного этапа при других заболеваниях органов пищеварения (Ткаченко Е.И. и соавт., 2006; Еремина Е.Ю., 2006; 2007).

Биокомплексы «Нормофлорины Л и Б» обладают детоксикационным эффектом, участвуют в формировании биопленки, предотвращающей адгезию чужеродных микробов. За счет содержащихся в «Нормофлоринах» органических кислот внутрикишечный рН нормализуется до оптимального слабощелочного. За счет высокого содержания антиоксидантов «Нормофлорины» обладают способностью к подавлению свободных радикалов. За счет утилизации непереваренных пищевых веществ, активного влияния на метаболизм белков, азот- и углеродсодержащих соединений, холестерина, билирубина, желчных кислот, пополнения организма витаминами, микро- и макроэлементами и аминокислотами они способны оптимизировать обмен веществ у больных хроническим панкреатитом.

После завершения 30-ти дневного курса лечения в стадии клинической ремиссии заболевания показатели активности кишечных ферментов претерпевали у большинства обследованных больных хроническим билиарнозависимым панкреатитом позитивные изменения, выраженность которых была различной в основной группе и группе сравнения.

У обследованных пациентов основной группы в большей степени ($p < 0,05$), чем в группе сравнения, возростала общая амилалитическая активность тонкой кишки, причем преимущественно за счет наиболее измененных в стадии обострения фракций, причастных к осуществлению мембранного

этапа кишечного пищеварения – активности десорбированных фракций амилазы (ЕД), фракции Г (мембрансвязанной γ -амилазы), амилалитической активности в зоне мембранного пищеварения (ЕД+Г). В большей степени, чем в группе сравнения, повышалась активность аланинаминопептидазы, дипептидаз, сахаразы, мальтазы и содержание белка. В основной группе пациентов нормализовалось нарушенное в стадии обострения хронического панкреатита соотношение амилалитической активности в зоне полостного и мембранного пищеварения (ЕД/С, (ЕД+Г)/С, Г/С), восстанавливались регуляторные свойства мембрансвязанных кишечных ферментов, определяемые по степени ингибирующего влияния на активность щелочной фосфатазы ее конкурентного ингибитора трибутина.

Выявленное различие результатов исследования, полученных в основной группе и в группе сравнения могло быть опосредовано позитивным влиянием «Нормофлоринов Л и Б» на кишечный биоценоз, изменением внутрижелудочного и внутрикишечного рН, их возможным самостоятельным действием на ферментсинтетические функции тонкой кишки, изменениями регуляторных (нервных, гормональных, гуморальных) факторов, обмена веществ, в том числе опосредованно через нормализацию кишечного биоценоза или сочетанием данных механизмов.

Полученные данные позволяют сделать следующие **выводы**:

1. Клинические симптомы нарушенных кишечных функций у больных хроническим билиарнозависимым панкреатитом обусловлены расстройством не только полостного, но и мембранного этапа кишечного пищеварения.
2. Нарушения мембранного этапа кишечного пищеварения проявляются снижением активности мембрансвязанных кишечных ферментов (γ -амилазы, мальтазы, щелочной фосфатазы, аланинаминопептидазы), мембранноцитозольных дипептидаз, а также амилалитической активности в зоне мембранного пищеварения и адсорбционных свойств слизистой оболочки тонкой кишки в отношении панкреатической α -амилазы.
3. Отмечаемые изменения показателей мембранного этапа кишечного пищеварения у больных хроническим билиарнозависимым панкреатитом, ответственные за развитие симптомов кишечной диспепсии, могут быть успешно скорректированы с помощью включения в основной курс терапии синбиотических биоконплексов «Нормофлорины Л и Б».
4. Назначение биоконплекса «Нормофлоринов Л и Б» способствует повышению клинической эффективности лечения больных хроническим билиарнозависимым панкреатитом.
5. Спектр положительных эффектов и показаний к использованию синбиотических биоконплексов «Нормофлорины Л и Б» может быть расширен в связи с их выявленным позитивным влиянием на мембранный этап кишечного пищеварения при хроническом билиарнозависимом панкреатите.