



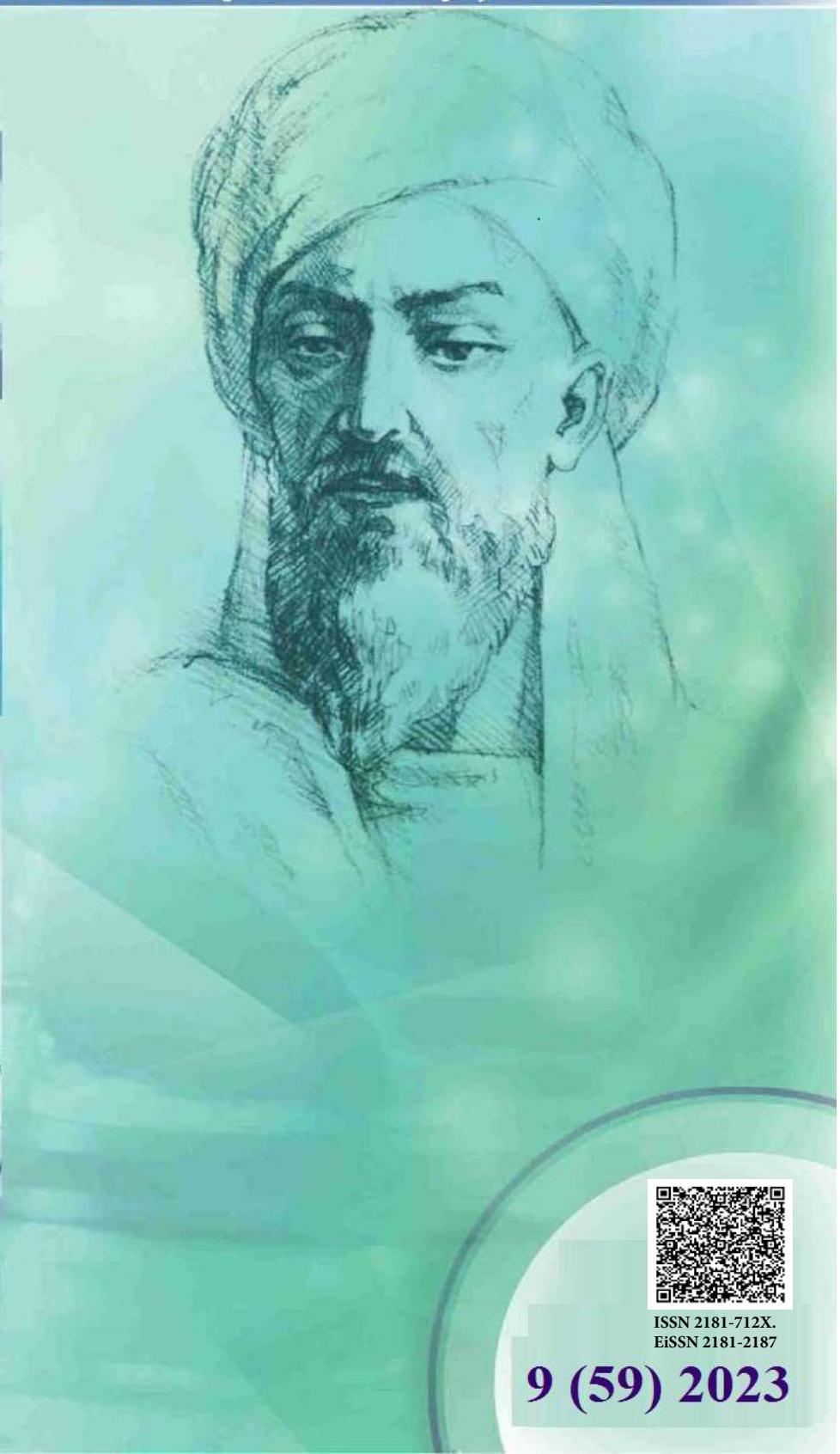
New Day in Medicine
Новый День в Медицине

NDM



TIBBIYOTDA YANGI KUN

Ilmiy referativ, marifiy-ma'naviy jurnal



AVICENNA-MED.UZ



ISSN 2181-712X.
EiSSN 2181-2187

9 (59) 2023

Сопредседатели редакционной коллегии:

**Ш. Ж. ТЕШАЕВ,
А. Ш. РЕВИШВИЛИ**

Ред. коллегия:

М.И. АБДУЛЛАЕВ
А.А. АБДУМАЖИДОВ
А.Ш. АБДУМАЖИДОВ
Р.Б. АБДУЛЛАЕВ
Л.М. АБДУЛЛАЕВА
М.М. АКБАРОВ
Х.А. АКИЛОВ
М.М. АЛИЕВ
С.Ж. АМИНОВ
Ш.Э. АМОНОВ
Ш.М. АХМЕДОВ
Ю.М. АХМЕДОВ
Т.А. АСКАРОВ
М.А. АРТИКОВА
Ж.Б. БЕКНАЗАРОВ (главный редактор)
Е.А. БЕРДИЕВ
Б.Т. БУЗРУКОВ
Р.К. ДАДАБАЕВА
М.Н. ДАМИНОВА
К.А. ДЕХКОНОВ
Э.С. ДЖУМАБАЕВ
Н.Н. ЗОЛОТОВА
А.Ш. ИНОЯТОВ
С. ИНДАМИНОВ
А.И. ИСКАНДАРОВ
Э.Э. КОБИЛОВ
Д.М. МУСАЕВА
Т.С. МУСАЕВ
Ф.Г. НАЗИРОВ
Н.А. НУРАЛИЕВА
Б.Т. РАХИМОВ
Х.А. РАСУЛОВ
Ш.И. РУЗИЕВ
С.А. РУЗИБОЕВ
С.А. ГАФФОРОВ
С.Т. ШАТМАНОВ (Кыргызстан)
Ж.Б. САТТАРОВ
Б.Б. САФОЕВ (отв. редактор)
И.А. САТИВАЛДИЕВА
Д.И. ТУКСАНОВА
М.М. ТАДЖИЕВ
А.Ж. ХАМРАЕВ
А.М. ШАМСИЕВ
А.К. ШАДМАНОВ
Н.Ж. ЭРМАТОВ
Б.Б. ЕРГАШЕВ
Н.Ш. ЕРГАШЕВ
И.Р. ЮЛДАШЕВ
Д.Х. ЮЛДАШЕВА
А.С. ЮСУПОВ
М.Ш. ХАКИМОВ
Д.О. ИВАНОВ (Россия)
К.А. ЕГЕЗАРЯН (Россия)
DONG JINCHENG (Китай)
КУЗАКОВ В.Е. (Россия)
Я. МЕЙЕРНИК (Словакия)
В.А. МИТИШ (Россия)
В.И. ПРИМАКОВ (Беларусь)
О.В. ПЕШИКОВ (Россия)
А.А. ПОТАПОВ (Россия)
А.А. ТЕПЛОВ (Россия)
Т.Ш. ШАРМАНОВ (Казахстан)
А.А. ЩЕГОЛОВ (Россия)
Prof. Dr. KURBANHAN MUSLUMOV (Azerbaijan)
Prof. Dr. DENIZ UYAK (Germany)

ТИББИЁТДА ЯНГИ КУН

НОВЫЙ ДЕНЬ В МЕДИЦИНЕ

NEW DAY IN MEDICINE

Илмий-рефератив, маънавий-маърифий журнал

Научно-реферативный,

духовно-просветительский журнал

УЧРЕДИТЕЛИ:

**БУХАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ
ООО «ТИББИЁТДА ЯНГИ КУН»**

Национальный медицинский
исследовательский центр хирургии имени
А.В. Вишневского является генеральным
научно-практическим
консультантом редакции

Журнал был включен в список журнальных
изданий, рецензируемых Высшей
Аттестационной Комиссией
Республики Узбекистан
(Протокол № 201/03 от 30.12.2013 г.)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

М.М. АБДУРАХМАНОВ (Бухара)
Г.Ж. ЖАРЫЛКАСЫНОВА (Бухара)
А.Ш. ИНОЯТОВ (Ташкент)
Г.А. ИХТИЁРОВА (Бухара)
Ш.И. КАРИМОВ (Ташкент)
У.К. КАЮМОВ (Ташкент)
Ш.И. НАВРУЗОВА (Бухара)
А.А. НОСИРОВ (Ташкент)
А.Р. ОБЛОКУЛОВ (Бухара)
Б.Т. ОДИЛОВА (Ташкент)
Ш.Т. УРАКОВ (Бухара)

9 (59)

2023

сентябрь

УДК 616-903

ГАЗОВАЯ ХРОМАТО- МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ В КЛИНИЧЕСКОЙ ОЦЕНКЕ ОСТРЫХ И ХРОНИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА РАЗНОЙ ЭТИОЛОГИИ

Леонтьева Н.И.¹ E-MAIL: leonteva-nina@yandex.ru

Жиленкова О.Г.¹, Затевалов А.М.¹, Соловьева А.И.¹, Хренников Б.Н.², Антипят Н.А.²

¹ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора, Москва, Россия

²ГБУЗ «Инфекционная клиническая больница №1», Москва, Россия

✓ Резюме

Важную роль в патогенезе острых кишечных заболеваний (ОКИ) играет состояние микробиоты человека. Среди новейших методов ее оценки значительное место занимает метод газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС), позволяющий одновременно идентифицировать большое количество микроорганизмов из разных биотопов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ).

Целью настоящей работы явилась оценка состояния микробиоты у пациентов с острыми и хроническими заболеваниями ЖКТ разной этиологии методом ГХ-МС. Метод позволил выявить значительные нарушения в микробиоме, увеличение микробных маркеров разных представителей условно-патогенной микрофлоры как aerobicного так и anaerobicного звена, грибов и вирусов, а также снижение метаболитов нормофлоры.

Таким образом, метод ГХ-МС расширил возможности лабораторной диагностики заболеваний ЖКТ.

Ключевые слова: газовая хромато-масс-спектрометрия, острые кишечные инфекции, кровь, биоптаты, бактерии, вирусы.

GAS CHROMATOGRAPHY- MASS SPECTROMETRY IN THE CLINICAL ASSESSMENT OF ACUTE AND CHRONIC DISEASES OF THE GASTROINTESTINAL TRACT OF VARIOUS ETIOLOGIES

Leontieva N.I.¹, e-mail: leonteva-nina@yandex.ru

Zhilenkova O.G.¹, Zatevalov A.M.¹, Solovyova A.I.¹, Khrennikov B.N.², Antipyat N.A.²

¹BUN "Moscow Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology named after G.N. Gabrichevsky" of Rospotrebnadzor, Moscow, Russia

²GBUZ Infectious Diseases Clinical Hospital No. 1, Moscow, Russia

✓ Resume

The state of the human microbiota plays an important role in the pathogenesis of acute intestinal diseases (AI). Among the newest methods for its assessment, a significant place is occupied by the gas chromatography-mass spectrometry method, which makes it possible to simultaneously identify a large number of microorganisms from different biotopes of the gastrointestinal tract (GIT).

The purpose of this work was to assess the state of the microbiota in patients with acute and chronic gastrointestinal diseases of various etiologies using GC-MS.

The method made it possible to identify significant disturbances in the microbiome, an increase in microbial markers of various representatives of opportunistic and pathogenic microflora, both aerobic and anaerobic, fungi and viruses, as well as a decrease in metabolites of normal flora.

Thus, the GC-MS method has expanded the capabilities of laboratory diagnosis of gastrointestinal diseases.

Keywords: gas chromatography-mass spectrometry, acute intestinal infections, blood, biopsies, bacteria, viruses.

TURLI ETIOLOGIYA BO'LGAN O'TKIR VA SURUNKALI OSHQOZON-ICHAK YO'LLARINING KASALLIKLARINI KLINIK BAHOLASHDA GAZ XROMATOMASSA SPEKTROMETRIYASI

Leonteva N.I.1 E-Pochta: leonteva-nina@yandex.ru
Jilenkova O.G.1, Zatevalov A.M.1, Solovyova A.I.1, Xrennikov B.N.2, Antipyat N.A.2

¹FBUN nomidagi Moskva Epidemiologiya va mikrobiologiya ilmiy-tadqiqot instituti.

G.N.Gabricheskij" Rospotrebnadzor, Moskva, Rossiya

²GBUZ "1-sonli yuqumli klinik shifoxona", Moskva, Rossiya

✓ Rezyume

O'tkir ichak kasalliklari (AI) patogenezida inson mikrobiotasining holati muhim rol o'ynaydi. Uni baholashning eng yangi usullari orasida gaz xromatografiyasi-mass-spektrometriyasi (GC-MS) usuli muhim o'rinn tutadi, bu bir vaqtning o'zida oshqozon-ichak traktining (GIT) turli biotoplaridan ko'p miqdordagi mikroorganizmlarni aniqlash imkonini beradi.

Ushbu ishning maqsadi GC-MS yordamida turli xil etiologiyalarning o'tkir va surunkali oshqozon-ichak kasalliklari bilan og'igan bemorlarda mikrobiota holatini baholash edi. Usul mikrobiomadagi sezilarli buzilishlarni, opportunistik mikrofloraning turli vakillarining, ham aerob, ham anaerob, zamburug'lar va viruslarning mikrobial belgilarining ko'payishini, shuningdek, normal flora metabolitlarining kamayishini aniqlashga imkon berdi.

Shunday qilib, GC-MS usuli oshqozon-ichak kasalliklarini laboratoriya diagnostikasi imkoniyatlarini kengaytirdi.

Kalit so'zlar: gaz xromatografiyasi-mass-spektrometriya, o'tkir ichak infektsiyalari, qon, biopsiya, bakteriyalar, viruslar.

Актуальность

Заболевания желудочно - кишечного тракта занимают лидирующее место в инфекционной патологии человека. Как отмечают многие исследователи, в последнее время в этиологии заболеваний ЖКТ большое значение имеют микст-инфекции, клиническая диагностика которых часто затруднена.

Важную роль в патогенезе ОКИ играет исходное состояние микробиоты пациента как эндогенного фактора, обеспечивающего сохранение здоровья. Микробиота кишечника представляет собой гомеостатическую пленку, покрывающую кишечную стенку, слизистую оболочку и кожу в виде «чулка». Микрофлора кишечника, являясь «невидимой» весит около 2 кг и насчитывает порядка 10^{14} клеток. Это число превышает в десять раз количество клеток человека [13]. Микроорганизмы кишечника прикреплены к твердой поверхности и организованы в так называемые биопленки, сбалансированные по видовому составу и функциональному распределению. Четкая организация биопленки обеспечивает ее физиологическую и функциональную стабильность, что заключается в обеспечении гомеостаза органов, функциональность которых зависит от населяющих их микробов [2,11, 7-9].

При оценке состояния микробиоценоза кишечника необходимо оценивать состав микробного слоя пристеночной микробиоты, поскольку в этом отделе происходит усвоение пищевого химуса, синтез биологически активных веществ (ферментов, витаминов, антибиотиков, токсинов и прочее). Отсутствие баланса в их продукции часто приводит к развитию патологических состояний разного характера: кишечные расстройства, кожные заболевания, половые дисфункции, сердечная недостаточность. В то же время микрофлора фекалий составляет, в основном, полостную (свободноживущую, или планктонную), чем пристеночную биопленку.

В течение многих десятилетий оценка состояния микробиоты осуществлялась трудоемким, длительным и дорогим микробиологическим методом. В последние годы в медицинскую практику стали внедряться ОМИК-технологии, основанные на секвенировании ДНК микроорганизмов. Значительную роль среди новейших методов оценки состояния сложных микробиоценозов начинает играть оригинальный метод хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС), основанный на прямом извлечении из анолита и детектировании по времени выхода на

селективном масс спектрометре 126 высших жирных кислот, гидроксикислот, спиртов, альдегидов и стеринов, карбоновых и фенилкарбоновых кислот, специфических для микроорганизмов. Это дает возможность оценить и одновременно идентифицировать в образце до 170 микроорганизмов, что позволяет использовать этот метод для оценки микробиоценозов разных биотопов ЖКТ. Вместе с пробоподготовкой и расчетом состава микробного сообщества по отдельной программе стандартная процедура занимает около 3 часов [6].

Цель исследования: оценка состояния микробиоты у пациентов с острыми и хроническими заболеваниями желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) разной этиологии методом газовой хромато- масс-спектрометрии (ГХ-МС).

Материал и методы

В период 2019 - 2022 гг наблюдалась 192 пациента обоего пола (мужчины-80, женщины-112) в возрасте от 25 до 75 лет. Из них в условиях инфекционного стационара ГБУЗ «ИКБ №1» ДЗ г. Москвы – 50 больных, амбулаторно - 142. В работе использован комплекс клинико-лабораторных исследований, включающих клинические наблюдения, бактериологические, физико - химические, молекулярно - генетические, вирусологические, инструментальные исследования с гистологическим и физико - химическим изучением венозной крови и биоптатов разных отделов желудка и кишечника, а также статистические и биоинформационные исследования с применением математических приемов.

Результаты и обсуждение

Проведенные комплексные обследования позволили диагностировать у 55 пациентов (32,8%) криптоспоридиоз; у 63 пациентов (32,8%) хеликобактериоз; у 22 больных (11,5%) герпесвирусную инфекцию (ВПГ 1 и 2 типов, ЦМВ, ВЭБ, ВПГ 6 типа), а у 52 пациентов (28,6%) микст-инфекцию: хеликобактериоз и герпесвирусную инфекцию (таблица 1.). Гистологическое исследование биоптатов слизистой оболочки желудка у 35 пациентов (56,5%) выявило хеликобактерную инфекцию и хронический антральный гастрит В (таблица 1.).

У пациентов с острой кишечной инфекцией вирусной этиологии при исследовании крови и биоптатов методом ГХ-МС была выявлена бактериально - вирусная ассоциация, а в биоптатах - сочетанная грибково – бактериально - вирусная микрофлора.

При исследовании образцов крови и биоптатов у наблюдавшихся пациентов с хроническими заболеваниями ЖКТ отмечалось значительное превышение маркеров грибов рода *Aspergillus*, грамотрицательного аэроба *Prevotella*, грамположительных аэробов рода *Nocardia*, в комбинации с бактериями рода *Clostridia*, при дефиците основных представителей нормальной микрофлоры ЖКТ: бифидобактерий, лактобацилл, пропионобактерий и эубактерий. Известно, что высокое содержание в биоптатах желудка пациента с эрозивным эзофагитом ассоциации бактерий рода *Clostridium* (*Cl. hystolyticum*, *Cl. propionicum*, *Cl. ramosum*, *Cl. mucosalis*, *Cl. perfringens*), обладающих ферментами патогенности (гиалуронидазой, дезоксирибонуклеазой, каллогеназой, протеиназой и др. токсинами), вызывает нарушение в структуре клеток, распад оболочек эритроцитов и часто приводит к некрозу тканей. Присутствие в микробиоценозе бактерий родов *Proteus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Herpes*-вирусов (вирусов простого герпеса 1 и 2 типов, вируса Эпштейн-Барра, цитомегаловируса), активирует деятельность *Cl. perfringens*, усиливая токсическое воздействие микробов. При этом у наблюдавшихся пациентов данной патологией часто отмечалась ассоциация *Helicobacter pylori* с вирусами простого герпеса, криптоспоридиями и бластроцистами (таблица 2). Гистологически в биоптатах выявлялись воспалительные изменения слизистой оболочки, свойственные бактериально-вирусной этиологии.

Как было установлено ранее в проведенных исследованиях [1], метод детектирования микроорганизмов по жирным кислотам (ЖК) - сродни генетическому (ПЦР, определение последовательности нуклеотидов 16sРНК), поскольку состав жирных кислот детерминирован в ДНК и воспроизводится путем репликации участка генома транспортными РНК и последующего синтеза ЖК в митохондриях по матричным РНК [1]. Поэтому профиль ЖК бактерий является их визитной карточкой или фингерпринтом как отпечатки пальцев людей [4]. При этом установлена стабильность жирных кислот у индивидуума [14]. По этому методу построена хемодифференциация микроорганизмов, которая используется как метод их идентификации и

подтверждения таксономического положения [12]. Особенности состава ЖК теперь используют наряду с другими параметрами в бактериальной таксономии [5] и клинической бактериальной диагностики [3].

Итак, применение хромато- масс-спектрометрического метода дало возможность измерить численность более 50 таксонов микроорганизмов кишечника не только в фекалиях, но и в отделах самого кишечника, путем анализа их маркеров (жирных кислот) как в крови, так и непосредственно в биоптатах, полученных при интестиноскопии и колоноскопии с ретроградной илеоскопией. Достоинством метода является отсутствие необходимости культурального выделения возбудителя, экспрессность получения результата и значительная экономическая выгода [15].

Выводы

1. При комплексном обследовании крови и биоптатов разных отделов ЖКТ у наблюдавшихся пациентов с острыми и хроническими заболеваниями ЖКТ методом ГХ-МС были обнаружены значительные нарушения в микробиоте, которые характеризовались наличием вирусно-бактериальных и бактериально-вирусно- грибковых ассоциаций.
2. Гистологические исследования биоптатов разных отделов ЖКТ наблюдавшихся пациентов выявили наличие воспалительных изменений слизистой оболочки ЖКТ, свойственные сочетанной бактериально-вирусной инфекции.
3. Примененный метод ГХ-МС в оценке состояния микробиоты кишечника расширил возможности лабораторной диагностики заболеваний пищеварительного тракта, особенно при сочетанной этиологии.
4. Достоинством метода является отсутствие необходимости культурального выделения возбудителя, экспрессность получения результата и значительная экономическая выгода.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Албертс Б., Брей Д., Льюис Дж., Рэфф М., Робертс К., Уотсон Дж. Молекулярная биология клетки. /М. Мир. 1986.
2. Белобородова Н.В., Осипов Г.А. Гомеостаз малых молекул микробного происхождения и его роль во взаимоотношениях микроорганизмов с хозяином. // Вестник РАМН. 1999;16(7):25-31.
3. Вейант Р., Масс У., Холлис Д., Джордан Дж., Кук Э., Дейншвар М. Определитель нетривиальных патогенных грамотрицательных бактерий. / М. Мир, 1999;612-783.
4. Митрука Б.М. Применение газовой хроматографии в микробиологии и медицине. / М. Медицина, 1978.
5. Определитель бактерий Берджи. Под ред. Дж.Хоулта и др. /М. Мир, 1997;1,2:638.
6. Осипов Г.А., Парфенов А.И., Верховцева Н.В., Ручкина И.Н., Курчавов В.А., Бойко Н.Б., Рогатина Е.Л. Клиническое значение исследования микроорганизмов слизистой оболочки кишечника культурально-биохимическим и хромато - масс - спектрометрическим методами. // Экспериментальная клиническая гастроэнтерология. 2003;4:59-67.
7. Турова Е.С., Осипов Г.А. Изучение структуры микробного сообщества, активного в биотрансформации минералов железа в каолине. // Микробиология. - 1996;65(5):682-689.
8. Физиология человека, гл.18, Функция крови, Под ред. Р. Шмидта и Г.Тевса. М.Мир,1996;2:414-430.
9. Шендеров Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. Издание в 3-х томах, Т1. М. Грант, 1998.
10. Шеховцова Н.В., Осипов Г.А., Верховцева Н.В., Певзнер Л.А. Анализ липидных биомаркеров в породах архейского кристаллического фундамента. Международная конференция по бактериальной палеонтологии. // Тезисы докладов. Москва, 24 - 25 мая 2002г.
11. Beloborodova N.V., Osipov G.A. 2000. Small molecules originating from microbes(SMOM) and their role in microbes-host relationship. // Microb. Ecol. Heal. Dis., SCUP. 2000;12:12-21.
12. Chemical Methods in Bacterial Systematics (1985) (Goodfellow, M. and Minnikin, D.E., Eds.), Acad. Press, London - Toronto

13. Manual of Clinical Microbiology. 5-th ed. Editor in Chief - Albert Balows. Washington, 1991;317-318.
14. Shekhovtsova N.V., Osipov G.A., Verkhovtseva N.V., Pevzner L.A. Analysis of lipid biomarkers in rocks of the Archean crystalline basement. // Proceedings of SPIE. 2003;4939:160-168.
15. Stead D.E., Sellwood J.E., Wilson J., Viney J. Evaluation of a commercial microbial identification system based on fatty acid profiles for rapid, accurate identification of plant pathogenic bacteria. // J.Appl.Bacteriol. 1992;72:315-321.

Поступила 20.08.2023

Таблица 1. Микробиологическая характеристика кишечника наблюдавшихся пациентов

* Обозначения: *H.pylori*- пилорический хеликобактер; ВПГ- вирус простого герпеса.

Общее число	Криптоспоридии		<i>H.pylori</i> (+)		<i>H.pylori</i> (-) + ВПГ		<i>H.pylori</i> (+) + ВПГ	
192	абс. число	% ± m	абс. число	% ± m	абс. число	% ± m	абс. число	% ± m
	55	28,6±3,261	63	32,8±3,388	22	11,5±2,302	52	27,1±3,208

Таблица 2. Результаты газовой хромато- масс-спектрометрии биоптатов

Общее кол-во	Группы пациентов							
	<i>H.pylori</i> +		<i>H.pylori</i> (+) + вирусные ассоциации		Криптоспоридии (+) + бластоцисты		<i>H.pylori</i> (+) + бластоцисты (центральный отдел желудка)	
	абс. число	% ± m	абс. число	% ± m	абс. число	% ± m	абс. число	% ± m
62	35	56,5±6,296	22	35,5±6,077	10	16,1±4,668	59	95,1±2,742