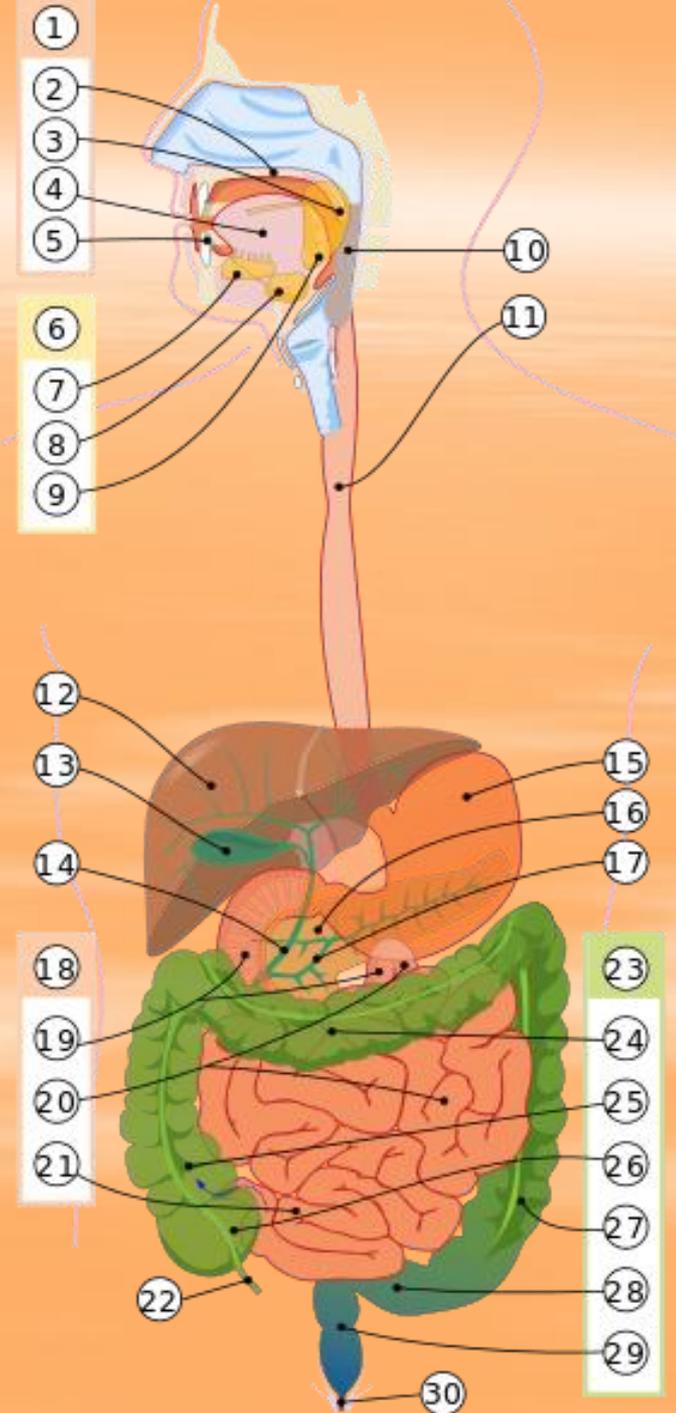


Лабораторная диагностика заболеваний органов пищеварения



Схема пищеварительного тракта в составе пищеварительной системы

- 1 Ротовая полость
- 3 Глотка
- 4 Язык
- 6 Слюнные железы
- 7 Подъязычная железа
- 8 Подчелюстная железа
- 9 Околоушная железа
- 11 Пищевод
- 12 Печень
- 13 Желчный пузырь
- 14 Общий желчный проток
- 15 Желудок
- 16 Поджелудочная железа
- 17 Проток поджелудочной железы
- 18 Тонкая кишка
- 19 Двенадцатиперстная кишка
- 21 Подвздошная кишка
- 22 Аппендикс
- 23 Ободочная кишка
- 24 Поперечная ободочная кишка
- 25 Восходящая ободочная кишка
- 26 Слепая кишка
- 27 Нисходящая ободочная кишка
- 28 Сигмовидная кишка
- 29 Прямая кишка
- 30 Анус



В среднем длина пищеварительного канала взрослого человека составляет 9—10 метров

Отделы ЖКТ:

- Рот, или ротовая полость с зубами, языком и слюнными железами.
- Глотка.
- Пищевод.
- Желудок.
- Тонкая кишка.
- Толстая кишка.

Рвота

- Причины рвоты многообразны — инфаркт миокарда, беременность, лихорадка, различные метаболические нарушения и лекарственные средства. Особенно характерна рвота для заболеваний ЦНС и ЖКТ. Среди заболеваний ЖКТ рвоту наиболее часто вызывает вирусный гастроэнтерит. Рвота в сочетании с болью в животе, задержкой стула и газов указывает на кишечную непроходимость. В большинстве случаев рвота проходит при устранении ее причины. Особую проблему представляет рвота при противоопухолевой химиотерапии, когда отмена препарата невозможна или нежелательна.

Острый понос

- вызывают пищевые отравления (микробные и немикробные), инфекции (вирусные, бактериальные и протозойные) и лекарственные средства. В больничных условиях на первый план выходят недостаточность лактазы, проявившаяся от смены диеты, антибиотики (вызывают дисбактериоз и псевдомембранозный колит) и каловый завал.

Запор

- **Причины запора** многочисленны. Его вызывают многие лекарственные средства, в том числе наркотические анальгетики, алюминийсодержащие антациды, холиноблокаторы и некоторые гипотензивные средства, препараты железа и даже слабительные при длительном использовании. Недостаток клетчатки в рационе, малоподвижный образ жизни, боль при дефекации (геморрой, анальные трещины) — частые причины запора у практически здоровых лиц. Запор — характерное проявление многих заболеваний, например сахарного диабета, гипотиреоза и гиперпаратиреоза. У госпитализированных больных запор встречается особенно часто — к перечисленным причинам тут добавляются изменение привычной обстановки и такие факторы, как, например, сульфат бария, применяемый при рентгенографии желудка. Запор у пожилых требует исключения рака толстой кишки.

Патогенез

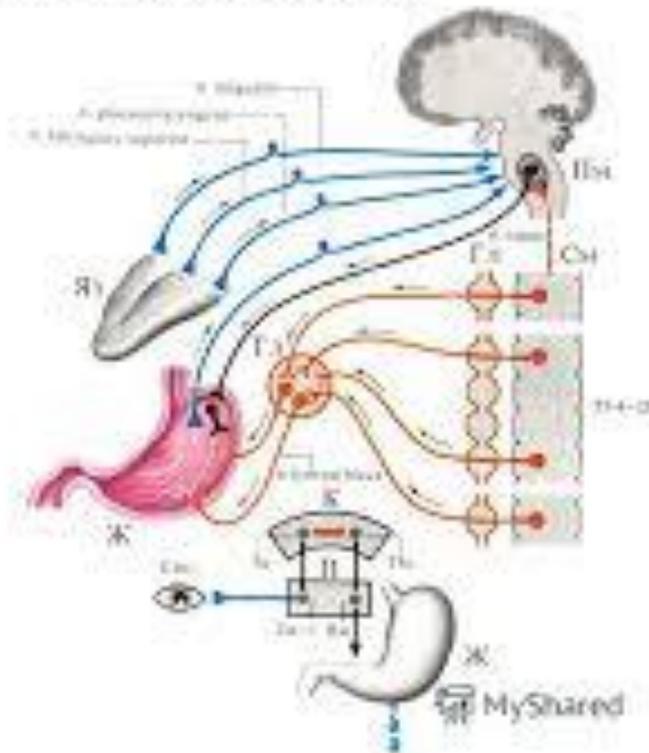
- Нарушения моторики
- Нарушения секреции
- Воспалительные заболевания
- Кровотечения

Регуляция

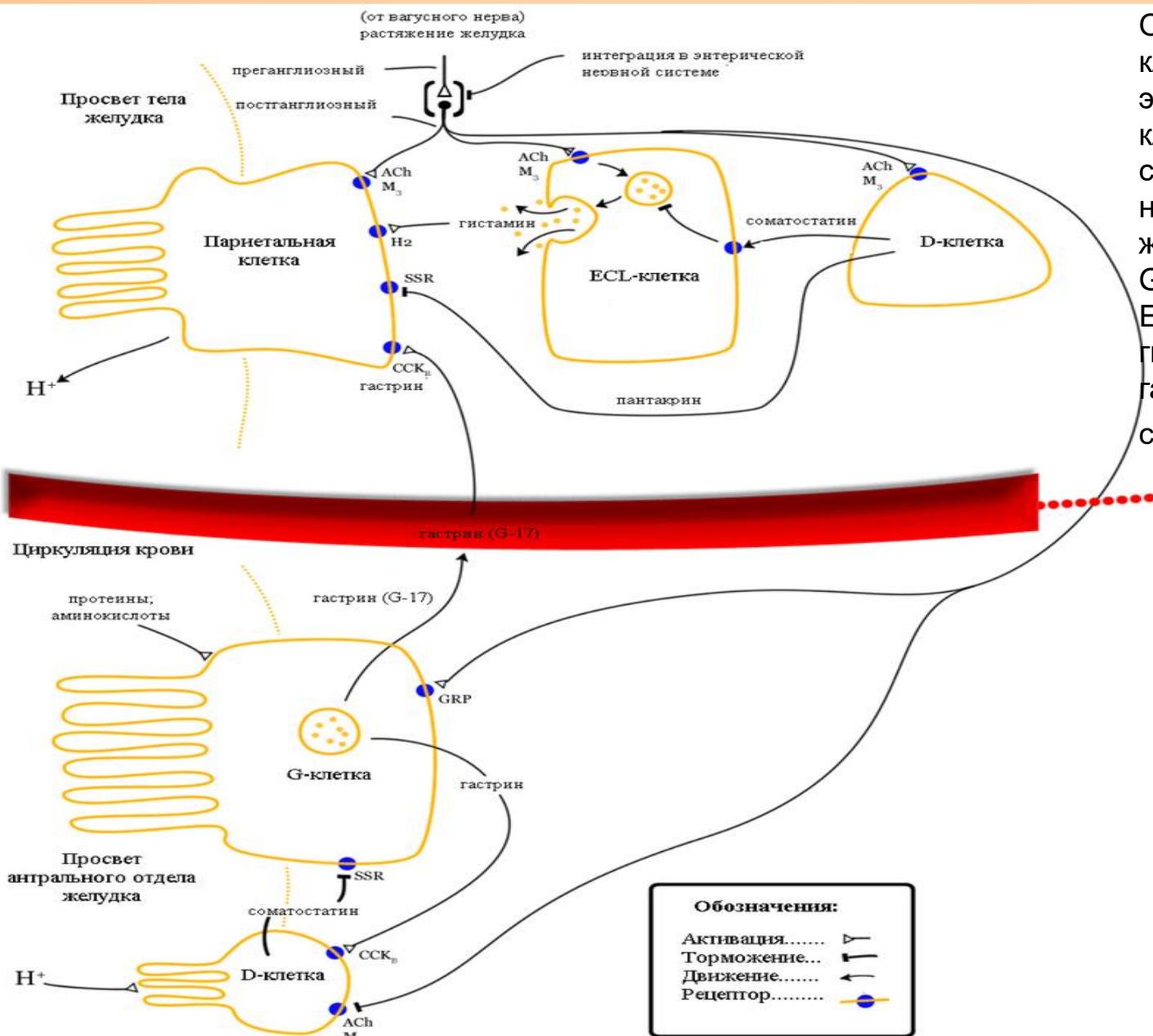
- Нервная
- Гуморальная

Регуляция желудочной секреции

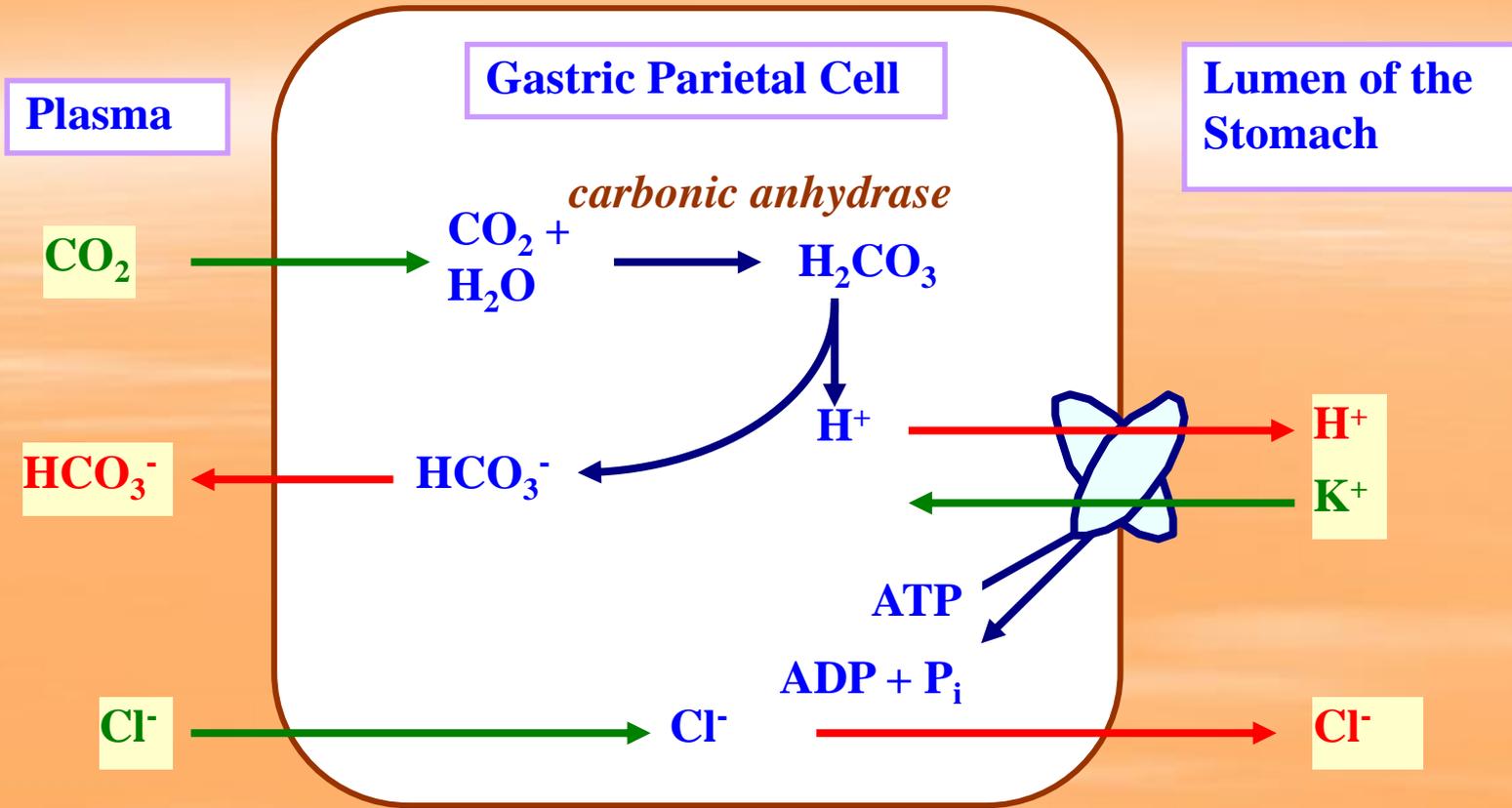
В регуляции секреторной деятельности желудочных желез участвуют нервные и гуморальные механизмы. Функции желудка стимулируются блуждающим нервом. Симпатические нервы оказывают тормозящее влияние.



Гастроэнтеропанкреатическая эндокринная система

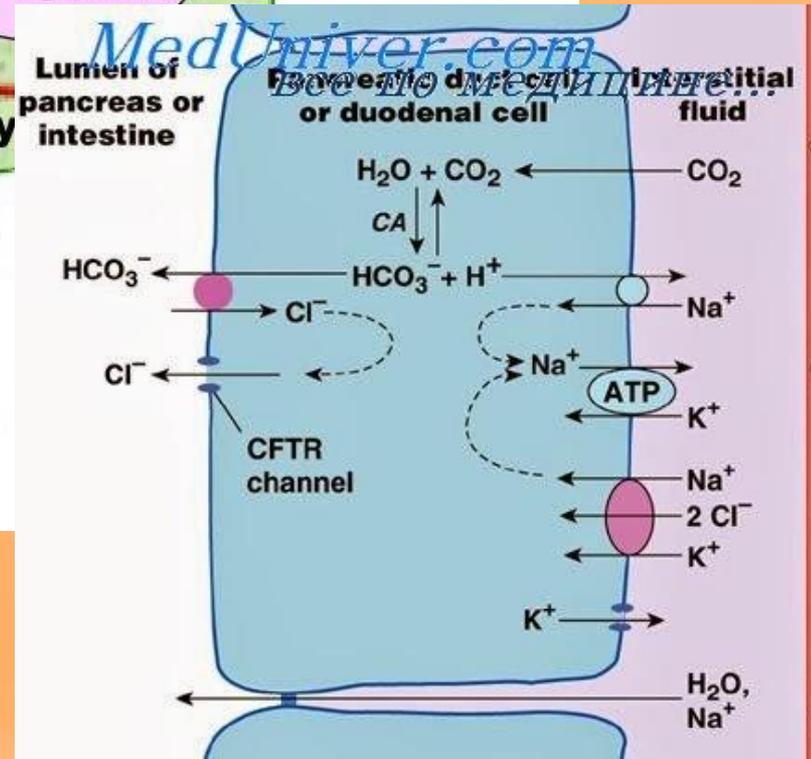
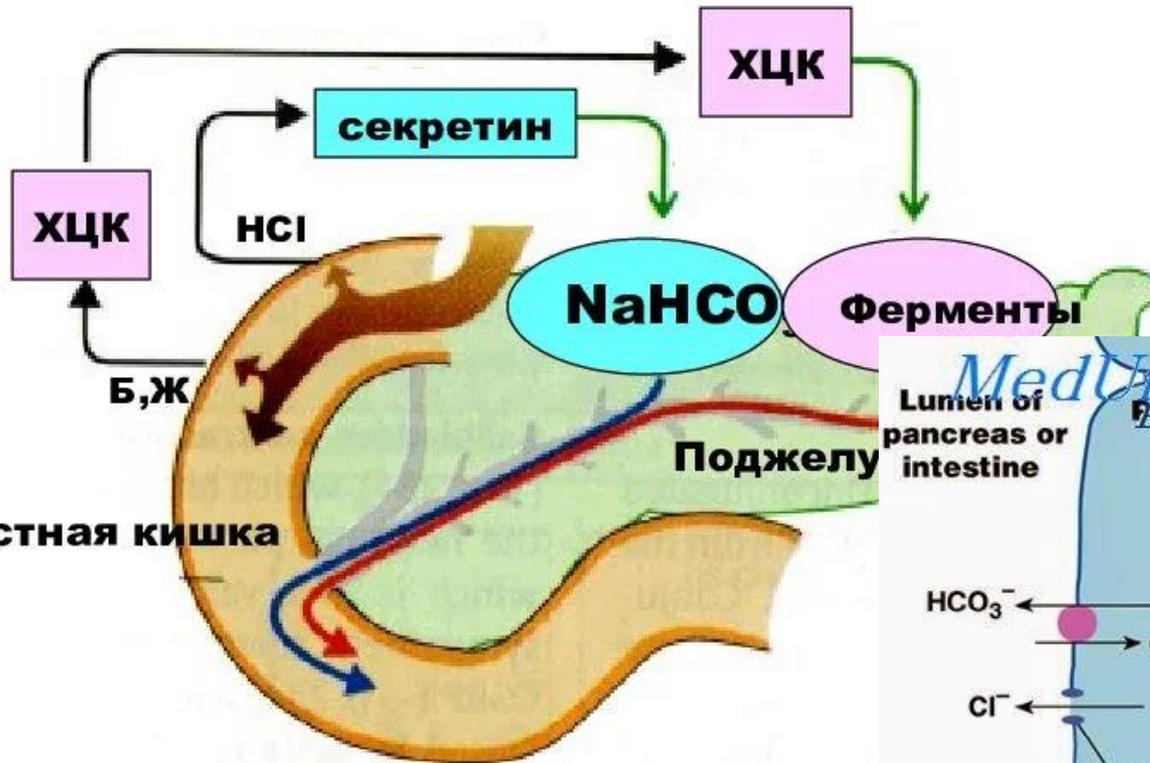


Основными эндокринными клетками желудка являются энтерохромоаффиноподобные клетки (ECL-клетки), которые составляют 35 % нейроэндокринных клеток желудка здорового человека, G-клетки (26 %) и D-клетки. ECL-клетки секретируют гистамин, G-клетки — гастрин, D-клетки — соматостатин.



H^+, K^+ -ATPase

ГУМОРАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ПАНКРЕАТИЧЕСКОЙ СЕКРЕЦИИ: под действием химуса выделяются в кровь дуоденальные гормоны – СЕКРЕТИН и ХОЛЕЦИСТОКИНИН



Механизм подавления секреции поджелудочной железы ингибиторами протонной помпы





Методы исследования желудочного сока

Зондовые

Одномоментный способ

(извлечение жел.содержимого
толстым зондом)

Фракционный способ

Беззондовые

Метод ионообменных смол
Гастроацидотест
эндорадиозондирование

Биохимия желудочного сока

Желудочный сок – бесцветная прозрачная жидкость кислой реакции, содержащая

- HCl*** : - создает оптимум рН для ферментов;
- способствует денатурации белков пищи, подготавливая их к гидролизу;
- регулирует деятельность пищеварительных желез и моторику ЖКТ;
- оказывает бактерицидное действие.

Протеазы: пепсин, желатиназа, химозин (реннин)

Липаза желудка

Гастромукопротеин (внутр.фактор Касла)

Муцин

K^+ , Na^+ , NH_4^+ , Cl^- , PO_4^{3-} , SO_4^{2-}

Низкомолекулярн.орг. в-ва: молочн.к-та, мочеви́на, КрФ, АТФ, глюкоза

- Весь процесс кислотопродукции условно разделен на два основных периода:
- **1 - внепищевая или базальная секреция** - течет рефлекторно под влиянием возникающих в центральной нервной системе импульсов. Импульсы эти появляются при эмоциональных воздействиях или в результате изменения обмена веществ. Спонтанно выделенный в этот период желудочный сок у здоровых людей содержит лишь незначительные количества соляной кислоты и пепсина и обладает низкой переваривающей способностью. второй - пищевая или стимулированная желудочная секреция.
- **2 - пищевая или стимулированная секреция.**
 - три основные фазы:
 - - нейро-рефлекторная;
 - - нейро-гуморальная;
 - - кишечная.

- **Нейро-рефлекторная фаза** регулируется ЦНС через блуждающие нервы, которые осуществляют передачу импульсации к обкладочным и главным клеткам слизистой желудка. Секретированный в эту фазу сок уже обладает переваривающей активностью, так как содержит большое количество пепсина. Передаваемая через блуждающие нервы импульсация стимулирует сократительную активность желудка, что, в свою очередь, ведет к выбросу в кровяное русло гастрина, с появлением которого начинается вторая фаза желудочной секреции.
- **Нейро-гуморальная фаза** характеризуется максимальным выбросом гастрина и появлением значительных количеств соляной кислоты в желудочном соке. Кислота активирует пепсин, находящийся в неактивной форме, и приводит к созданию условий, обеспечивающих адекватное пищеварение. При этом часть желудочного содержимого порционно начинает поступать в кишечник и включает последнюю третью фазу желудочной секреции.
- **Кишечная фаза** начинается с попадания первого пищевого комка в тонкую кишку. В этой фазе механизмами регуляции являются рефлексы с хемо- и барорецепторов кишечника. В зависимости от химического содержания химуса меняется и интенсивность секреции желудка. Следует помнить и о так называемом ингибирующем рефлексе, который заключается в том, что после попадания в 12-перстную кишку пищи наступает подавление секреции и моторики желудка, продолжающееся до того момента, пока кишка не освободится от пищи. Это продолжается 30 - 40 секунд, в течение которых пища находится в 12-перстной кишке.

Собственно слизистая оболочка желудка несет различные функциональные нагрузки. Вся слизистая делится на 2 основные зоны: **зону, продуцирующую соляную кислоту, и зону, выделяющую щелочной секрет.**

Кислотопродуцирующая зона располагается на уровне анатомического тела и кардиального отдела желудка. Верхняя ее граница идет по линии пищеводно-желудочного перехода, а нижняя - приблизительно по линии, идущей от угла желудка на малой кривизне, перпендикулярно большой. В этой зоне, которую для краткости назовём телом желудка, и происходит секреция соляной кислоты.

- **Антральный отдел желудка** содержит клетки, вырабатывающие гастрин, участвующий в стимуляции продукции соляной кислоты, и железы, выделяющие защитную слизь с щелочной реакцией.
- Основной задачей этой слизи является сохранение в неприкосновенности всего массива желудочных клеток, соприкасающихся с агрессивным желудочным содержимым.
- При нарушении продукции защитной слизи, ее разрушении или относительно недостаточном количестве, агрессивная желудочная среда пагубно воздействует на слизистую оболочку желудка, вызывая воспаление - гастриты, или приводя к возникновению язв в желудке.

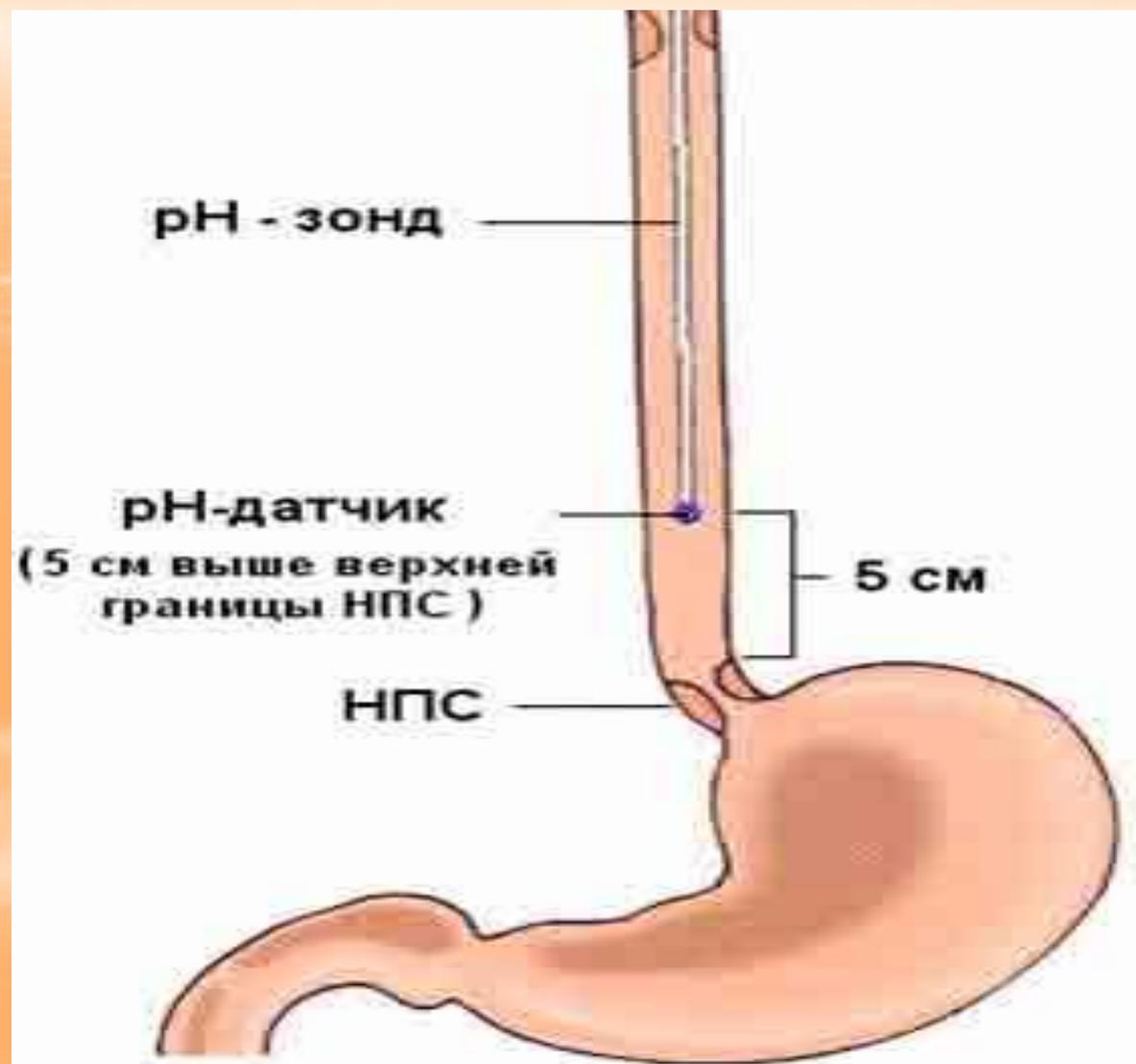
- Таким образом, желудок представляет из себя сложную систему, содержащую как факторы агрессии, так и факторы защиты. Нарушение их взаимодействия и ведет к различным патологическим состояниям, которые можно назвать болезнями желудка. Именно в выяснении отношений между этими факторами и заключена цель внутрижелудочной рН-метрии.
- Ни один другой метод, из имеющихся сегодня, не в состоянии даже приблизиться к ней по степени проникновения в самые потаенные уголки физиологии и патофизиологии желудка.

Единицы измерения кислотности желудочного сока

- Молярная концентрация HCl - мг-эквивалент/литр (*ммоль/л*) соляной кислоты.
- рН - активность ионов водорода,
- Титрационные единицы – объем 0,1н раствора NaOH (в мл), пошедших на титрование 100 мл желудочного сока

Внутрижелудочная рН-метрия

Электрометрический метод измерения кислотности внутри желудка (**внутрижелудочная рН-метрия**), известный уже более 80 лет, благодаря созданию новых ацидогастрометров, переживает в наши дни второе рождение. Метод основан на возникновении разности потенциалов между двумя электродами, один из которых предназначен для сравнения, а второй - для окисления в агрессивной среде. Чем агрессивнее среда, то есть, чем выше активность ионов водорода, тем меньшее значение принимает разность потенциалов. Работу рН-зонда, несущего такие электроды, можно по аналогии сравнить с работой электрической батарейки.



Принципы рН-метрии

- Согласно теории электролитической диссоциации, в растворах вещества неорганической природы – соли, кислоты и щелочи разделяются на составляющие их ионы. В растворе создается динамическая система, содержащая как молекулы вещества, так и составляющие это вещество – ионы. При этом ионы водорода H^+ являются носителями кислотных свойств, а ионы OH^- – носителями щелочных свойств. В сильно разбавленных растворах кислотные и щелочные свойства зависят от концентраций ионов $[H^+]$ и $[OH^-]$. В обычных растворах кислотные и щелочные свойства зависят от активностей ионов a_H и a_{OH} , то есть от тех же концентраций, но с поправкой на коэффициент активности f , который определяется экспериментально.

$$a_H = f \cdot [H^+], \quad a_{OH} = f \cdot [OH^-].$$

Раствор будет

- нейтральным, если $a_H = a_{OH}$,
- кислым, когда $a_H > a_{OH}$,
- щелочным, когда $a_H < a_{OH}$.

- Для водных растворов действует уравнение равновесия

- $a_{\text{H}} \times a_{\text{OH}} = K_w,$

- где K_w – ионное произведение воды.

- Константа K_w не зависит от активностей ионов H^+ и OH^- в растворе. Так, если в воду добавить кислоты, то активность ионов H^+ резко возрастает, что, в соответствии с уравнением равновесия, приводит к снижению активности OH^- в растворе. Таким образом, в водных растворах активности ионов H^+ и OH^- связаны между собой. Достаточно указать активность одного из них, чтобы определить активность другого, пользуясь уравнением равновесия. Активность ионов в водных растворах варьирует в довольно широких пределах от 10^{-14} до 10^{-1} .

- **Водородный показатель pH** представляет собой десятичный логарифм активности водородных ионов, взятый с обратным знаком

- $\text{pH} = -\lg a_{\text{H}}$

- Водородный показатель определяет характер реакции раствора. Например, при температуре $22\text{ }^\circ\text{C}$ она нейтральна при $\text{pH} = 7$ ($a_{\text{H}} = 10^{-7}$ моль/л). При $\text{pH} < 7$ ($a_{\text{H}} > 10^{-7}$ моль/л) реакция раствора кислая. При $\text{pH} > 7$ ($a_{\text{H}} < 10^{-7}$ моль/л) реакция раствора щелочная.

- Водородный показатель различных жидкостей человеческого организма лежит в широких пределах. Так в норме pH сыворотки крови равен $7,40 \pm 0,05$, слез – $7,4 \pm 0,1$, кожи – $6,2-7,5$, слюны – $6,35-6,85$, желудочного сока – от $0,9$ и выше.

Ниже в таблице представлено сравнение различных единиц, использующихся для оценки концентрации соляной кислоты и pH. Важно учитывать, что коэффициент активности здесь определен именно для чистого раствора HCl в воде. Для желудочного сока, содержащего много разных компонентов, коэффициент активности будет другим.

Сравнение различных характеристик растворов соляной кислоты

Параметр	Величины				
Молярная концентрация HCl, моль/л	1	0,1	0,01	0,001	0,0001
Массовая концентрация HCl, г/л	36,5	3,65	0,365	0,0365	0,00365
Титрационные единицы*	1000	100	10	1	0,1
Концентрация ионов [H ⁺], моль/л	1	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴
Кэфф. активности – γ (при 25 °С)	0,809	0,796	0,904	0,966	~1
Активность ионов H ⁺ – a _{H⁺} , моль/л	0,809	0,0796	0,00904	0,000966	0,00001
pH раствора при 25 °С	0,092	1,10	2,04	3,02	4,0

* Если титрация производится при помощи 0,1 М раствора NaOH.

- Вопрос об определении внутрижелудочного рН имеет давнюю историю. Однако по ряду причин внедрение его в практику сдерживалось, в частности, из-за отсутствия соответствующих рН-зондов, электродов и регистрирующей аппаратуры.
- В СССР рН-зонд с электродами для внутрижелудочной рН-метрии создал Е.Ю. Линар в 1957 году. Он применил оригинальную конструкцию, которая включала в себя сурьмяно-каломельный датчик рН.
- В 1969-1970 годах в НИИ электронной техники (г. Фрязино Московской обл.), позже переименованном в ГНПП "Исток", академиком Н.Д. Девятковым с сотрудниками впервые в мировой практике был создан промышленный образец рН-зонда, позволяющего определять кислотность в двух отделах желудка, и аппаратура для регистрации рН. Полученные в 1969-1970 годах результаты обследования 189 человек свидетельствовали о большой точности измерений рН непосредственно в желудке (Ю.М. Панцырев и др., 1970). Поскольку в большинстве наблюдений внутрижелудочная рН-метрия сочеталась с аспирационно-титрационным методом, удалось показать параллелизм показателей рН в динамике при обоих методах.
- В дальнейшем в ГНПП "Исток" были созданы оригинальные модификации рН-зондов с тремя, четырьмя и пятью электродами, интраоперационные, эндоскопические, детские рН-зонды для различных возрастных групп, а также разработана вторичная аппаратура, которая позволяла фиксировать величины рН и проводить их обработку.

- Из всех методов измерения рН в настоящее время наиболее часто применяется 24-х часовая рН-метрия. Постулировано, что "золотым стандартом" для диагностики ГЭРБ является именно суточное рН-мониторирование, особенно в сочетании с эзофагеальной манометрией. Эффективность диагностики при этом сочетании достигает 98%.
- С развитием и совершенствованием технических возможностей в последнее время появились приборы, расширяющие границы исследований с использованием длительного (в основном 24 часового) рН мониторинга. Так, появились комплексированные компьютерные приборы производства Научно-производственного предприятия "Исток-Система":
 - - для суточного мониторинга ЭКГ и кислотности в ЖКТ для дифференциальной диагностики загрудинных болей – "Гастроскан-ЭКГ";
 - - для мониторинга одновременно рН и электрической активности ЖКТ (желудка, толстой, двенадцатиперстной, тощей и подвздошной кишок) – "Гастроскан-ГЭМ".

Гастроскан-5М

Компьютерный прибор для внутрижелудочной рН-метрии и диагностики состояния пищевода, желудка и двенадцатиперстной кишки



- В настоящее время оценка внутрижелудочной кислотности с использованием суточной рН-метрии является наиболее информативным и совершенным методом. Главное достоинство метода определения кислотности непосредственно в желудке состоит в его физиологичности в отличие от зондирования желудочным зондом, поскольку аспирация сама по себе провоцирует возникновение рефлюксов желчи в желудок и нарушает нормальный процесс кислотообразования. Кроме того, крайне сложно полностью аспирировать все содержимое желудка. Следствием этого является низкая воспроизводимость результатов аспирационного исследования у одного и того же больного. Важным преимуществом определения рН в течение 24-х часов является возможность оценки суточных ритмов секреции соляной кислоты в желудке.

Показания к проведению рН-метрии

- гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь (ГЭРБ);
- язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки;
- различные формы хронического гастрита;
- болезнь Золлингера-Эллисона;
- оценка действия лекарственных средств, снижающих секрецию, их индивидуальный подбор для больного;
- состояния после резекции желудка.

- Основные исследования, проводимые с помощью определения рН, условно можно подразделить на следующие группы: длительная рН-метрия пищевода, длительный мониторинг рН желудка, кратковременная внутрижелудочная рН-метрия и экспресс рН-метрия.
- **Длительный мониторинг рН пищевода** позволяет определить наличие или отсутствие гастроэзофагеальных рефлюксов, особенно в некоторых клинически неясных случаях.
- **рН-метрия пищевода** необходима в случаях отсутствия выраженных эндоскопических изменений у больных с типичными проявлениями гастроэзофагеальной рефлюксной болезни (ГЭРБ):
- У больных с атипичными проявлениями ГЭРБ:
 - боль в груди, не связанная с заболеваниями сердечно-сосудистой системы, (у больных с нормальными данными коронарографии в 40-50% случаев приступы болей в груди связаны с эпизодами гастроэзофагеального рефлюкса);
 - приступы бронхиальной астмы (по данным различных авторов связь приступов бронхиальной астмы с эпизодами гастроэзофагеального рефлюкса выявляется в 34-89% случаев, а у 20% здоровых лиц в течение жизни отмечались приступы бронхоспазма связанные с забросом кислоты в пищевод).
- У больных с ЛОР заболеваниями (кислотный рефлюкс в 10-50% случаев является причиной патологической охриплости голоса, хронического кашля, хронического ларингита, гранулемы голосовых связок, стеноза глотки или трахеи, а иногда даже неопластических процессов).
- До и после оперативного вмешательства по поводу рефлюкс-эзофагита.
- Для оценки эффективности проводимого лечения (особенно у больных с малосимптомными проявлениями ГЭРБ).

Длительный мониторинг pH желудка позволяет:

- Судить о процессе кислотообразования в течение суток в естественных условиях с оценкой действия различных факторов (пищи, курения и т. д.).
- Оценить действие различных лекарственных препаратов на внутрижелудочную кислотность (блокаторов H₂-рецепторов гистамина, блокаторов H⁺-K⁺-АТФ-азы, антацидов и др.).
- Выявить резистентность к приему различных антисекреторных препаратов.
- Оценить функциональное состояние желудка до и после оперативных вмешательств.
- Подобрать эффективную схему приема антисекреторных препаратов, особенно у больных с кровоточащими язвами.

- Основной задачей **кратковременной внутрижелудочной рН-метрии** является исследование кислотообразующей функции желудка в базальных и стимулированных условиях.
- При **экспресс рН-метрии** определяется только базальный уровень кислотности, т.е. решается вопрос о наличии или отсутствии соляной кислоты и определяется примерный уровень интрагастральной концентрации водородных ионов.

Противопоказания к проведению рН-метрии

Противопоказания к исследованию складываются из

- противопоказаний к введению желудочного зонда и
- противопоказаний к использованию тех или иных стимуляторов или ингибиторов желудочной секреции.

Противопоказания к введению рН-зонда:

желудочное кровотечение (время кровотечения и в течение 10 суток после его завершения);

аневризма аорты;

ожоги, дивертикулы, стриктуры пищевода;

тяжелые формы гипертонической болезни и коронарной недостаточности;

обструкция носоглотки;

тяжелые челюстно-лицевые травмы;

тяжелые формы коагулопатий.

▪ **Относительными противопоказаниями являются:**

- недавние хирургические вмешательства на верхних отделах ЖКТ;
- опухоли и язвы пищевода;
- наличие варикозных вен пищевода;
- кровотечение из верхних отделов ЖКТ (после остановки кровотечения возможно проведение длительной рН-метрии для контроля эффективности действия антисекреторных препаратов предупреждающих развитие повторных кровотечений).

Противопоказания к использованию стимуляторов (гистамин, инсулин):

- тяжелые формы сердечной и легочной недостаточности;
- тяжелые формы гипертонической болезни;
- почечная недостаточность;
- печеночная недостаточность;
- тяжелые формы сахарного диабета;
- тяжелые формы аллергических реакций в анамнезе.
- В качестве стимулятора секреции желудка часто используется пентагастрин. Этот синтетический аналог антрального гормона гастрина является физиологически адекватным возбудителем желудочной секреции, и выгодно отличается от гистамина тем, что не вызывает побочных реакций. При подкожном введении отечественного пентагастрина в обычно применяемой дозе (6 мкг на 1 кг массы тела) секреция соляной кислоты усиливается почти так же, как при использовании субмаксимальных (0,08-0,01 мг/кг) доз солянокислого гистамина.

Противопоказанием к использованию пентагастрина являются: недостаточность кровообращения II-III стадии, нарушения сердечного ритма, выраженная гипотензия.

Описание рН-граммы

- Записанная в цифровом виде в памяти персонального компьютера рН-грамма представляет собой последовательность чисел $pH_i = pH(t_i)$, где $t_i = (i - 1) \times Dt$, $i = 1, \dots, M$. Здесь t - время от начала рН-граммы, Dt - период дискретизации рН-граммы, M - общее количество элементов последовательности.
- **В большинстве работ при исследовании рН-грамм время принято измерять в минутах.**
- На рН-грамме можно выделить следующие участки:
 - участки более или менее постоянного усредненного уровня и амплитуды флуктуаций кислотности (стационарные участки);
 - участки, на которых происходит изменение (повышение или понижение) усредненного уровня или амплитуды флуктуаций кислотности (нестационарные участки).
- С целью дальнейшего анализа введём параметры рН-граммы для участка, заданного начальной точкой i_n , соответствующей моменту времени $t_n = (i_n - 1) \times Dt$, и конечной точкой i_k , соответствующей моменту времени $t_k = (i_k - 1) \times Dt$. Количество точек на участке (включая обе крайние точки) равно $N = i_k - i_n + 1$, что соответствует длительности интервала $t = (N - 1) \times Dt$.

1. Средняя величина рН

$$pH_{cp}(i_n, i_k) = \frac{1}{N} \sum_{i_n}^{i_k} pH_i$$

2. Среднеквадратичная величина рН

$$pH_{cp.kv.}(i_n, i_k) = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i_n}^{i_k} pH_i^2}$$

3. Среднеквадратичное отклонение величины рН

$$\sigma_{pH}(i_n, i_k) = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i_n}^{i_k} [pH_i - pH_{cp}(i_n, i_k)]^2}$$

4. Площадь под участком кривой рН относительно уровня рНотн

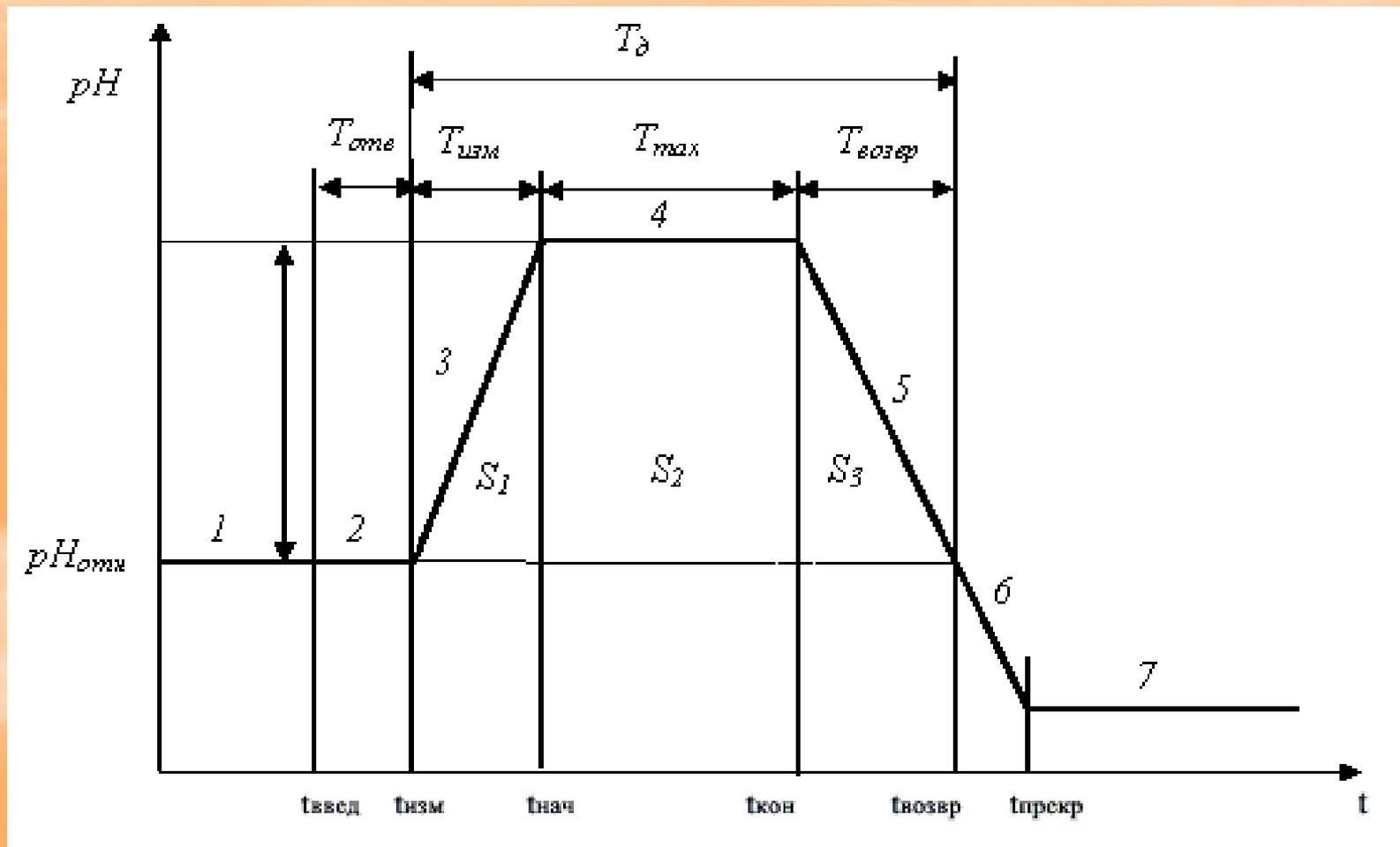
$$S(i_n, i_k, pH_{отн}) = \Delta t \sum_{i_n}^{i_k - 1} (pH_i - pH_{отн})$$

Необходимость введения уровня рНотн связана с тем, что в разных работах при проведении лекарственных тестов, в том числе щелочного теста, за этот уровень принимается либо рНотн = 0, либо некий уровень, получаемый усреднением кривой рН за промежуток времени t1, предшествующий началу изменения уровня кривой.

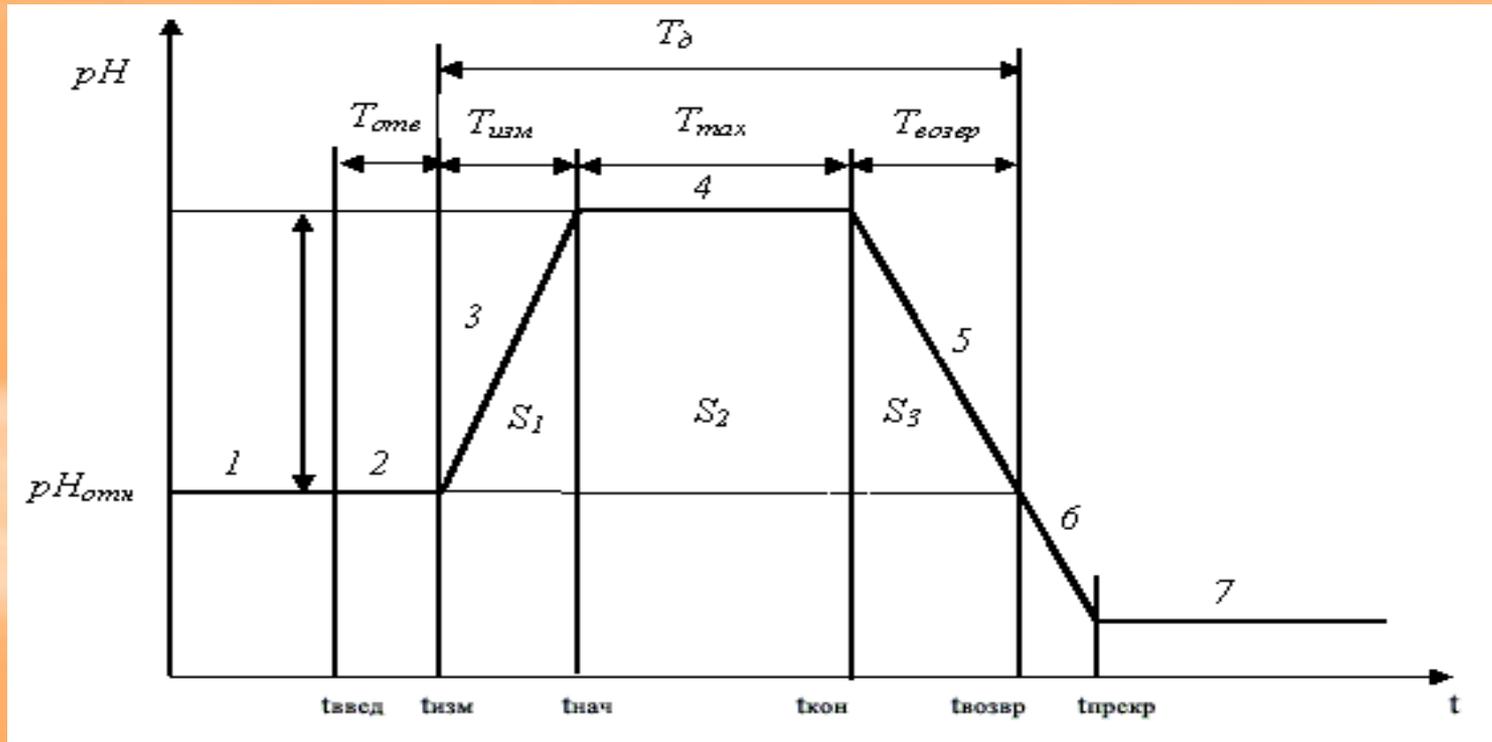
$$pH_{отн} = \frac{1}{N_1} \sum_{i_{отн-N_1+1}}^{i_{отн}} pH_i$$

- Время усреднения целесообразно брать равным $t_1 \sim 5$ мин, а число точек усреднения $N_1 = [t_1 / \Delta t] + 1$. Здесь $[X]$ обозначает целую часть X .
- Площадь, таким образом, измеряется в (рН x мин).
- Изменения среднего уровня кислотности на нестационарных участках могут быть связаны с приемом пищи или лекарств (далее будем это называть введением препарата) или физиологическими процессами в ЖКТ (например, гастроэзофагеальные и дуоденогастральные рефлюксы).

- Типовое исследование ЖКТ состоит во введении тестового препарата в момент $t_{\text{введ}}$ на фоне некоторого стационарного состояния кислотности в ЖКТ. Стилизованная ожидаемая картина изменений pH при таком исследовании представлена на рисунке.



- **Стилизованная рН-грамма, условно представленная в виде ломаной, где**
- 1 - установившееся состояние перед введением препарата;
- 2 - задержка от введения препарата до начала реакции организма;
- 3 - изменение рН, связанное с действием препарата;
- 4 - установившееся состояние под действием препарата;
- 5, 6 - постепенное прекращение действия препарата (наличие двух участков обусловлено тем, что после прекращения действия препарата, уровень рН-граммы может быть как ниже, так и выше исходного установившегося уровня рН);
- 7 - установившееся состояние после прекращения действия препарата.



- Представленная стилизованная картина обычно совмещается со случайными флуктуациями рН, которые иногда полностью скрывают отклик организма на введение препарата.
- Решение о том, есть ли отклик на введение препарата, принимает врач, анализирующий рН-грамму. Он же субъективно расставляет на рН-грамме моменты времени, соответствующие переходам между участками 2 - 7. Определенные врачом моменты времени $t_{изм}$, $t_{нач}$, $t_{кон}$, $t_{возвр}$, $t_{прекр}$ используются в дальнейшем анализе рН-грамм.

Вторая задача анализа нестационарности рН-грамм состоит в выделении на рН-граммах пиков, соответствующих, как правило, различным рефлюксам.

Пики на рН-грамме определяются следующим образом.

Считаем, что в точке $i_{щ} = i + [0,5 \times n]$ находится щелочной пик рН-граммы, если для всех точек $i, i+1, \dots, i + n$, где $0 \leq n \leq K$, выполняется условие

$$pH_i \geq pH_{cp}(i - N_0 \times K, i + N_0 \times K) + \delta pH_{щ}$$

в точках $i - 1$ и $i + n + 1$ это условие нарушается.

- Аналогично, считаем, что в точке $i_k = i + [0,5 \times n]$ находится кислотный пик рН-граммы, если для всех точек $i, i+1, \dots, i+n$, где $0 \leq n \leq K$, выполняется условие

$$pH_i \leq pH_{cp}(i - N_0 \times K, i + N_0 \times K) - \delta pH_x$$

а в точках $i - 1$ и $i + n + 1$ это условие нарушается. Здесь $[X]$ обозначает целую часть X .

Величина N_0 определяет величину окна усреднения. Представляется, что $N_0 = 5$. Величина K определяет максимально допускаемую ширину пика. Представляется, что она определяется условием $DT = K \times Dt$, где $DT \sim 30$ с. Величины $\delta pH_{ц}$ и δpH_k определяются из медико-диагностических задач и приблизительно равны 1 рН.

Параметры, определяемые при кратковременной рН-метрии

- Кратковременная рН-метрия верхних отделов ЖКТ, как правило, включает исследование базальной и стимулированной кислотности, а также проведение различных тестов (щелочного, атропинового, кислотного, лекарственного и т. д.) на фоне базальной и/или стимулированной секреции (БС и/или СС).
- Временные характеристики рН-грамм в разных отделах ЖКТ могут отличаться, поэтому они определяются отдельно для каждого отдела ЖКТ.
- Исследование кислотности проводится в пяти или менее отделах ЖКТ одновременно: в пищеводе, кардиальном отделе желудка (КОЖ), в теле желудка (ТЖ), в антральном отделе желудка (АОЖ) и в двенадцатиперстной кишке (ДПК).
- Применяются следующие параметры.
- **1. Время до начала ответа** на введение препарата $T_{отв}$, (синонимы - время отклика, латентный период) - время от момента введения препарата $t_{введ} = \Delta t \times (i_{введ} - 1)$ до момента начала изменения кислотности по сравнению с её исходной величиной перед введением препарата $t_{изм} = \Delta t \times (i_{изм} - 1)$. Под исходной величиной понимается средняя величина кислотности на участке длительностью $t_1 = \Delta t \times (N_1 - 1)$, определенном непосредственно перед введением препарата. Представляется, что $t_1 \sim 5$ мин.

$$T_{отв} = \Delta t \times (i_{изм} - i_{введ})$$

- 2. **Время до достижения максимального повышения/понижения кислотности** $T_{изм}$, это время от момента $t_{изм} = \Delta t \times (i_{изм} - 1)$ начала изменения усредненного уровня кислотности до момента $t_{нач} = \Delta t \times (i_{нач} - 1)$, в который достигается максимальная/минимальная величина усредненного уровня кислотности.

$$T_{изм} = \Delta t \times (i_{нач} - i_{изм})$$

- 3. **Длительность максимального повышения/понижения кислотности** $T_{мах}$, - это время от момента $t_{нач} = \Delta t \times (i_{нач} - 1)$ начала достижения максимальной/минимальной величины усредненного уровня кислотности, в результате действия препарата, до момента $t_{кон} = \Delta t \times (i_{кон} - 1)$, в который начинается понижение/повышение усредненного уровня кислотности.

$$T_{мах} = \Delta t \times (i_{кон} - i_{нач})$$

- 4. **Время возвращения от максимального повышения/понижения кислотности к исходному уровню** $T_{возвр}$, - это время от момента $t_{кон} = Dt \times (i_{кон} - 1)$, в который начинается понижение/повышение усредненного уровня кислотности до момента $t_{возвр} = Dt \times (i_{возвр} - 1)$ возвращения усредненного уровня кислотности к исходному уровню.

$$T_{возвр} = \Delta t \times (i_{возвр} - i_{кон})$$

Если рН не возвращается к исходному уровню, то величина $T_{возвр}$ не существует.

- 5. **Время действия препарата** T_d - это время от момента $t_{изм} = Dt \times (i_{изм} - 1)$ начала изменения усредненного уровня кислотности, возникшей вследствие введения препарата в момент времени $t_{введ} = Dt \times (i_{введ} - 1)$, до момента $t_{возвр} = Dt \times (i_{возвр} - 1)$ её возвращения к исходному уровню.

$$T_d = \Delta t \times (i_{возвр} - i_{изм})$$

Если уровень рН не возвращается к исходному уровню, то время действия препарата определяется по формуле

$$T_d = \Delta t \times (i_{прекр} - i_{изм})$$

- б. **Щелочное время** (синонимы - время ощелачивания, время защелачивания, время ощелачивающего действия препарата) - применяется, как правило, при проведении щелочного теста

$$T_{\text{щ}} = T_{\text{д}}$$

Скорость изменения кислотности после введения препарата $V_{\text{изм рН}}$

$$V_{\text{изм рН}} = \frac{pH_{\text{ср}}(i_{\text{нач}}, i_{\text{нач}} + N_1 - 1) - pH_{\text{ср}}(i_{\text{введ}} - N_1 + 1, i_{\text{введ}})}{\Delta t \times (i_{\text{нач}} - i_{\text{изм}})}$$

Измеряется в (рН/мин).

8. Скорость возвращения кислотности после прекращения действия препарата $V_{\text{возвр рН}}$

$$V_{\text{возвр рН}} = \frac{pH_{\text{ср}}(i_{\text{прекр}}, i_{\text{прекр}} + N_1 - 1) - pH_{\text{ср}}(i_{\text{кон}} - N_1 + 1, i_{\text{кон}})}{\Delta t \times (i_{\text{прекр}} - i_{\text{кон}})}$$

9. Величина изменения кислотности в результате введения препарата рНизм

$$pH_{\text{изм}} = pH_{\text{ср}}(i_{\text{нач}}, i_{\text{нач}} + N_1 - 1) - pH_{\text{ср}}(i_{\text{введ}} - N_1 + 1, i_{\text{введ}})$$

10. Максимальное повышение рН при проведении щелочного теста DrHщ

$$\Delta pH_{\text{щ}} = pH_{\text{изм}}$$

Определяется для всех отделов ЖКТ кроме пищевода на фоне как БС, так и СС.

11. Индекс агрессивности среды базальный

$$ИАС_{\text{баз}} = pH_{\text{ср.кв}}(i_{\text{н}}, i_{\text{к}})$$

Индекс агрессивности среды базальный рассчитывается для базального времени от начала проведения исследования за вычетом первых нескольких минут, необходимых для прекращения повышенного кислотовыделения, связанного с механическим раздражением желудка, вызванным введением рН-зонда, до момента проведения какого-либо теста или до начала исследования стимулированной кислотности. Индекс рассчитывается отдельно для всех отделов ЖКТ, кроме пищевода.

12. Индекс агрессивности среды стимулированный

$$ИАС_{стим} = pH_{ср.кв} (i_n, i_k)$$

Индекс агрессивности среды стимулированный рассчитывается для времени от момента введения стимулятора до момента проведения какого-либо теста. Индекс рассчитывается отдельно для всех отделов ЖКТ кроме пищевода.

13. Индекс агрессивности среды суммарный

$$ИАС_{стим} = pH_{ср.кв} (i_n, i_k)$$

Суммарный индекс агрессивности среды рассчитывается для всех точек рН-граммы и только для пищевода.

14. Разброс рН базальный

$$R_{\text{баз}} = \sigma_{\text{рН}}(i_n, i_k)$$

Рассчитывается для всех отделов ЖКТ кроме пищевода для того же периода времени, что и ИАСбаз

15. Разброс рН стимулированный

$$R_{\text{стим}} = \sigma_{\text{рН}}(i_n, i_k)$$

Рассчитывается для всех отделов ЖКТ кроме пищевода для того же периода времени, что и ИАСстим.

16. Максимальный рН при проведении щелочного теста рН

$$pH_{\text{щ}} = pH_{\text{ср}}(i_{\text{нач}}, i_{\text{нач}} + N_1 - 1)$$

Определяется для всех отделов ЖКТ кроме пищевода на фоне как БС, так и СС.

17. Площадь достижения максимального повышения/понижения кислотности S_1 (при проведении щелочного теста это площадь достижения ощелачивающего эффекта)

$$S_1 = S(i_{\text{изм}}, i_{\text{нач}}, pH_{\text{ср}}(i_{\text{везд}} - N_1 + 1, i_{\text{везд}}))$$

Определяется для всех отделов ЖКТ кроме пищевода на фоне как БС, так и СС. Измеряется в (рН x мин).

18. **Площадь максимального повышения/понижения кислотности S_2**

$$S_2 = S(i_{нач}, i_{кон}, pH_{ср}(i_{введ} - N_1 + 1, i_{введ}))$$

Определяется для всех отделов ЖКТ кроме пищевода на фоне как БС, так и СС.

19. **Площадь возвращения от максимального повышения/понижения кислотности S_3**

$$S_3 = S(i_{кон}, i_{возвр}, pH_{ср}(i_{введ} - N_1 + 1, i_{введ}))$$

Определяется для всех отделов ЖКТ кроме пищевода на фоне как БС, так и СС.

20. **Площадь действия препарата S_d** (в случае проведения щелочного теста используются термины: площадь ощелачивания, площадь защелачивания, общая площадь ощелачивания, щелочная площадь $S_{щ}$)

$$S_d = S(i_{изм}, i_{возвр}, pH_{ср}(i_{введ} - N_1 + 1, i_{введ})) = S_1 + S_2 + S_3$$

Определяется для всех отделов ЖКТ кроме пищевода на фоне как БС, так и СС.

21. **Площадь ощелачивающего действия препарата $S_{ощ}$** (используется редко)

$$S_{ощ} = S(i_{нач}, i_{возвр}, pH_{ср}(i_{введ} - N_1 + 1, i_{введ})) = S_2 + S_3$$

Определяется для всех отделов ЖКТ кроме пищевода на фоне как БС, так и СС.

22. **Суммарная площадь действия препарата** $S_{д.сум}$ (используется редко)

$$S_{д.сум} = S(i_{изм}, i_{возвр}, 0)$$

Определяется для всех отделов ЖКТ кроме пищевода на фоне как БС, так и СС.

23. **Индекс ощелачивания**

$$J_{щ} = \frac{S_{щ}}{pH_{ср}(i_{введ} - N_1 + 1, i_{введ})}$$

Определяется для всех отделов ЖКТ кроме пищевода на фоне как БС, так и СС. Измеряется в минутах.

24. **Индекс нейтрализации** (синоним - индекс щелочной нейтрализации).

Индекс нейтрализации - это отношение площади защелачивания в ТЖ к площади защелачивания в АОЖ

$$I_{нейтр} = \frac{S_{щ. тела}}{S_{щ. антрума}}$$

25. **Темп секреции водородных ионов** ТСВИ

$$ТСВИ = V_{возвр} pH$$

26. **Кардиоззофагеальный индекс** (отношение индексов агрессивности КОЖ и пищевода)

$$КЭИ = \frac{ИАС_{КОЖ}}{ИАС_{пищ}}$$

Вычисляются на фоне как БС, так и СС.

27. **Индекс соотношения пищевод/кардия** - отношение индексов агрессивности пищевода и КОЖ

$$ИПК = \frac{ИАС_{пищ}}{ИАС_{КОЖ}}$$

28. **Индекс соотношения кардия/тело** - отношение индексов агрессивности КОЖ и ТЖ

$$ИКТ = \frac{ИАС_{КОЖ}}{ИАС_{ТЖ}}$$

29. **Индекс кислотнейтрализации** (отношение индексов агрессивности ТЖ и АОЖ)

$$ИКН = \frac{ИАС_{ТЖ}}{ИАС_{АОЖ}}$$

Вычисляются на фоне как БС, так и СС.

30. **Индекс дуоденальной ацидификации** (отношение индексов агрессивности АОЖ и ДПК)

$$ИДА = \frac{ИАС_{АОЖ}}{ИАС_{ДПК}}$$

Вычисляются на фоне как БС, так и СС.

31. **Дуоденогастральные рефлексy** - наличие щелочных пиков в АОЖ с $DpHщ \geq 3$.

Перечисленные параметры охватывают весь спектр параметров, встречающихся в научных гастроэнтерологических публикациях. Эти параметры, естественно, не являются самоцелью, а используются в корреляционно-диагностических исследованиях заболеваний ЖКТ.

Параметры, определяемые при длительной рН-метрии

Длительный мониторинг кислотности (суточная рН-метрия) содержимого верхних отделов

желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) в последнее время приобрёл большое значение в связи с широким распространением гастроэзофагеальной рефлюксной болезни (ГЭРБ) и её внепищеводных проявлений, включая такие заболевания, как рефлюкс-индуцированная бронхиальная астма, поражения гортани и глотки и т.п.

Длительная рН-метрия проводится на фоне обычной жизни пациента и включает в себя анализ откликов различных отделов ЖКТ как на те или иные действия пациента (сон, курение и т.д.), так и на приём тех или иных раздражителей (пища, лекарства и т.д.).

Исследование кислотности проводится, как правило, в трёх точках ЖКТ, выбираемых врачом в зависимости от стоящей перед ним диагностической задачи. В частности, при диагностике ГЭРБ важно регистрировать параметры кислых рефлюксов, регистрируемых в пищеводе на уровне 5 см выше верхнего края нижнего пищеводного сфинктера.

При анализе длительных рН-грамм применяются следующие параметры.

1. **Общее время исследования** - $t_{\text{общ}}$.
2. **Время исследования "стоя"** - $t_{\text{стоя}}$.
3. **Время исследования "лёжа"** - $t_{\text{лежа}}$.
4. **Заданный промежуток времени, выделенный на рН-грамме** - T .
5. **Время консумции** - интервал времени, за которое показатели рН после приема пищи возвращаются к исходным значениям. При этом первые пять минут после приема пищи не учитываются. Этот параметр рассчитывается только для тела желудка и его антрального отдела.
6. **Кислотный рефлюкс** - закисление пищевода ниже уровня - $\text{pH} = 4$.
7. **Щелочной рефлюкс** - защелачивание пищевода выше уровня - $\text{pH} = 7$.

8. **Время с $pH > m$** : за всё время исследования - $t_{pH > m}^{общ}$, за период в положении "стоя" - $t_{pH > m}^{стоя}$, за период в положении "лёжа" - $t_{pH > m}^{лёжа}$, за заданный промежуток времени T - $t_{pH > m}^T$.

9. **Время с $pH < M$** : за всё время исследования - $t_{pH < M}^{общ}$, за период в положении "стоя" - $t_{pH < M}^{стоя}$, за период в положении "лёжа" - $t_{pH < M}^{лёжа}$, за заданный промежуток времени T - $t_{pH < M}^T$.

10. **Время с $m \leq pH < M$** : за всё время исследования - $t_{m \leq pH < M}^{общ}$, за период в положении "стоя" - $t_{m \leq pH < M}^{стоя}$, за период в положении "лёжа" - $t_{m \leq pH < M}^{лёжа}$, за заданный промежуток времени T - $t_{m \leq pH < M}^T$.

11. **Количество кислотных рефлюксов**: общее, за всё время исследования - $N_{кр}^{общ}$, за период в положении "стоя" - $N_{кр}^{стоя}$, за период в положении "лёжа" - $N_{кр}^{лёжа}$, за заданный промежуток времени T - $N_{кр}^T$.

12. **Количество щелочных рефлюксов**: общее, за всё время исследования - $N_{щр}^{общ}$, за период в положении "стоя" - $N_{щр}^{стоя}$, за период в положении "лёжа" - $N_{щр}^{лёжа}$, за заданный промежуток времени T - $N_{щр}^T$.

13. **Количество кислотных рефлюксов с продолжительностью более 5 минут за всё время исследования** - $N_{кр}^{>5}$.

14. Количество щелочных рефлюксов с продолжительностью более $T_{щр}$ минут за всё время исследования - $N_{щр}^{>T_{щр}}$

15. Продолжительность самого длительного кислого рефлюкса - $T_{кр}^{max}$ в мин.

16. Продолжительность самого длительного щелочного рефлюкса - $T_{щр}^{max}$ в мин.

17. Пищеводный клиренс (от англ. clearance - очищение): общий, за всё время исследования - $ПК_{общ}$, за период в положении "стоя" - $ПК_{стоя}$, за период в положении "лёжа" - $ПК_{лежа}$.

$$ПК_{общ} = \frac{t_{pH < 4}^{общ}}{N_{кр}^{общ}}$$

$$ПК_{стоя} = \frac{t_{pH < 4}^{стоя}}{N_{кр}^{стоя}}$$

$$ПК_{лежа} = \frac{t_{pH < 4}^{лежа}}{N_{кр}^{лежа}}$$

В основном используется $ПК_{лежа}$, т.к. в этом случае исключается влияние гравитации.

18. Индекс рефлюкса (доля времени, занимаемая кислыми рефлюксами): общий, за всё время исследования - $ИР_{общ}$, за период в положении "стоя" - $ИР_{стоя}$, за период в положении "лёжа" - $ИР_{лежа}$.

$$ИР_{общ} = \frac{t_{pH < 4}^{общ}}{t^{общ}}$$

$$ИР_{стоя} = \frac{t_{pH < 4}^{стоя}}{t^{стоя}}$$

$$ИР_{лежа} = \frac{t_{pH < 4}^{лежа}}{t^{лежа}}$$

19. **Рефлюкс-индекс** (число эпизодов кислого рефлюкса в час): общий, за всё время исследования - $RI_{\text{общ}}$, за период в положении "стоя" - $RI_{\text{стоя}}$, за период в положении "лёжа" - $RI_{\text{лежа}}$

$$RI_{\text{общ}} = 60 \frac{N_{\text{кр}}^{\text{общ}}}{t^{\text{общ}}}$$

$$RI_{\text{стоя}} = 60 \frac{N_{\text{кр}}^{\text{стоя}}}{t^{\text{стоя}}}$$

$$PI_{\text{лѐжа}} = 60 \frac{N_{\text{кр}}^{\text{лѐжа}}}{t_{\text{лѐжа}}}$$

20. Показатель DeMeester. Информация, полученная при 24-х часовой рН-метрии, позволяет точно установить, в течение какого времени слизистая оболочка пищевода подвергается воздействию соляной кислоты, оценить эффективность пищевода клиренса, сопоставить возникновение рефлюксов с ощущениями больного. Для этого принято использовать следующие показатели:

- Процент времени, в течение которого $\text{pH} < 4$, за весь период исследования.
- Процент времени, в течение которого $\text{pH} < 4$, при вертикальном положении тела пациента.
- Процент времени, в течение которого $\text{pH} < 4$, при горизонтальном положении тела пациента.
- Общее число рефлюксов за сутки $N_{\text{цр}}^{24\text{ч}}$.
- Число рефлюксов продолжительностью более 5 минут каждый $N_{\text{кр}}^{>5}$.
- Длительность наиболее продолжительного рефлюкса $T_{\text{кр}}^{\text{max}}$ в минутах.
- Нормальные значения этих показателей приведены в таблице.

Таблица 1. Нормальные показатели 24-х часовой рН-метрии (по DeMeester, 1993).

Показатели	Среднее значение	Стандартное отклонение	Максимальная величина	95%-ное отклонение
Время с $\text{pH} < 4$, общее, %	1,51	1,4	6	4,5
Время с $\text{pH} < 4$, стоя, %	2,2	2,3	9,3	8,4
Время с $\text{pH} < 4$, лёжа, %	0,6	1	4	3,5
Число рефлюксов	19	12,8	56	47
Число рефлюксов продолжительностью более 5 мин	0,8	1,2	5	3,5
Наиболее продолжительный рефлюкс, мин	6,7	7,9	46	20
Показатель DeMeester				14,7

Патологическими считаются результаты, превышающие 95%-ное отклонение от средних величин (последняя графа таблицы). Но это не дает оснований для диагностирования у больного патологического рефлюкса. Для решения этой проблемы предложен "составной" показатель, который вычисляется как сумма шести "параметрических" показателей. Каждый "параметрический" показатель вычисляется в виде увеличенной на единицу нормированной на стандартное отклонение разности между показателем больного и его средним значением.

$$\frac{\text{Данные пациента} - \text{Среднее значение}}{\text{Стандартное отклонение}} + 1$$

Средние значения показателей и их стандартные отклонения берутся из таблицы. "Составной" показатель, он же показатель DeMeester также приведен в таблице. Показатель DeMeester определяется только для 24-х часового исследования и только в пищеводе.

Общая формула для вычисления показателя DeMeester

$$DM = \frac{100 \cdot t_{pH < 4}^{общ} / t^{общ} - 1,5}{1,4} + \frac{100 \cdot t_{pH < 4}^{стоя} / t^{стоя} - 2,2}{2,3} + \frac{100 \cdot t_{pH < 4}^{лежа} / t^{лежа} - 0,6}{1} + \frac{N_{кр}^{общ} - 19}{12,8} + \frac{N_{кр}^{>5} - 0,8}{1,2} + \frac{T_{кр}^{max} - 6,7}{7,9} + 6.$$

Таблица 2. Пример расчёта показателя DeMeester

Показатели	Данные пациента	Среднее значение	Стандартное отклонение	Расчет
Время с pH < 4, общее, %	0,567	1,51	1,4	$(0,567 - 1,51) / 1,4 + 1 = 0,326$
Время с pH < 4, стоя, %	0,562	2,2	2,3	$(0,562 - 2,2) / 2,3 + 1 = 0,288$
Время с pH < 4, лежа, %	0,59	0,6	1	$(0,59 - 0,6) / 1,0 + 1 = 0,99$
Число рефлюксов	23	19,0	12,8	$(23 - 19,0) / 12,8 + 1 = 1,313$
Число рефлюксов продолжительностью более 5 мин	0	0,8	1,2	$(0 - 0,8) / 1,2 + 1 = 0,333$
Наиболее продолжительный рефлюкс, мин	0,333	6,7	7,9	$(0,333 - 6,7) / 7,9 + 1 = 0,194$
Показатель DeMeester	$0,326 + 0,288 + 0,99 + 1,313 + 0,333 + 0,194 = 3,444$			

21. **Индекс кислотности (Acidity Index, кислотный индекс)** предложен R. Tutuian et al. (2004) для оценки интегральной кислотности в исследуемом отделе ЖКТ.

$$ИК = 1000 \times t_{0,8 \leq pH < 1}^T / T + 100 \times t_{1 \leq pH < 2}^T / T + 10 \times t_{2 \leq pH < 3}^T / T + t_{3 \leq pH < 4}^T / T$$

или в более удобной для восприятия форме

$$ИК = (1000 \times (\% \text{ времени с } 0,8 \leq pH < 1) + 100 \times (\% \text{ времени с } 1 \leq pH < 2) + 10 \times (\% \text{ времени с } 2 \leq pH < 3) + (\% \text{ времени с } 3 \leq pH < 4)) / 100\%$$

Индекс вычисляется в интересующем врача отделе ЖКТ за исследуемый период времени T. Рассчитывается для пищевода и желудка.

22. **Индекс симптома** характеризует связь имеющегося у пациента симптома (загрудинная боль, приступ астмы и т.д.) с наличием рефлюкса

$$ИС = \frac{\text{Число симптомов при } pH \leq 4}{\text{Общее количество симптомов}} \times 100\%$$

23. **Осцилляторный индекс** (по Vandenplas Y.)

$$ОИ = \% \text{ времени с } 3,75 \leq pH \leq 4,25$$

Естественно, параметры, определяемые при кратковременной рН-метрии, могут рассчитываться и при длительной рН-метрии на любом, заданном врачом, промежутке времени.

- Инфекция, вызванная *Helicobacter pylori*, занимает одно из первых мест в мире по распространенности.
- К *H.pylori*-ассоциированным болезням относятся хронический гастрит, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки.
- Не исключается роль этого микроорганизма в развитии MALT-лимфомы и аденокарциномы желудка.

Helicobacter pylori

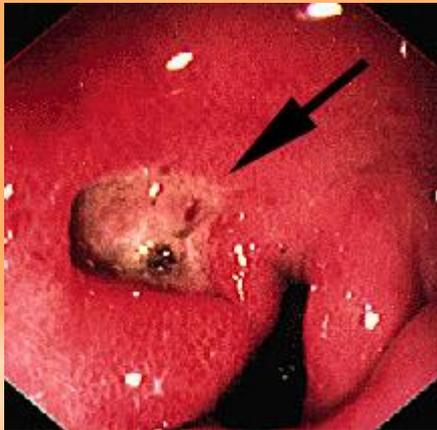
- *H pylori* is a spiral shaped bacterium that is found in the gastric mucus layer or adherent to the epithelial lining of the stomach. *H pylori* causes more than 90% of duodenal ulcers and more than 80% of gastric ulcers
- 50% of world population is infected and is the cause of:
- Duodenal/gastric ulcers and gastric cancer





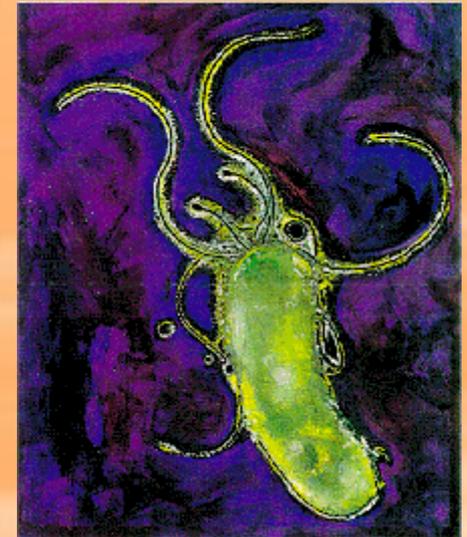
Scientific method at work

Observation: Association between ulcers and bacterial infection:



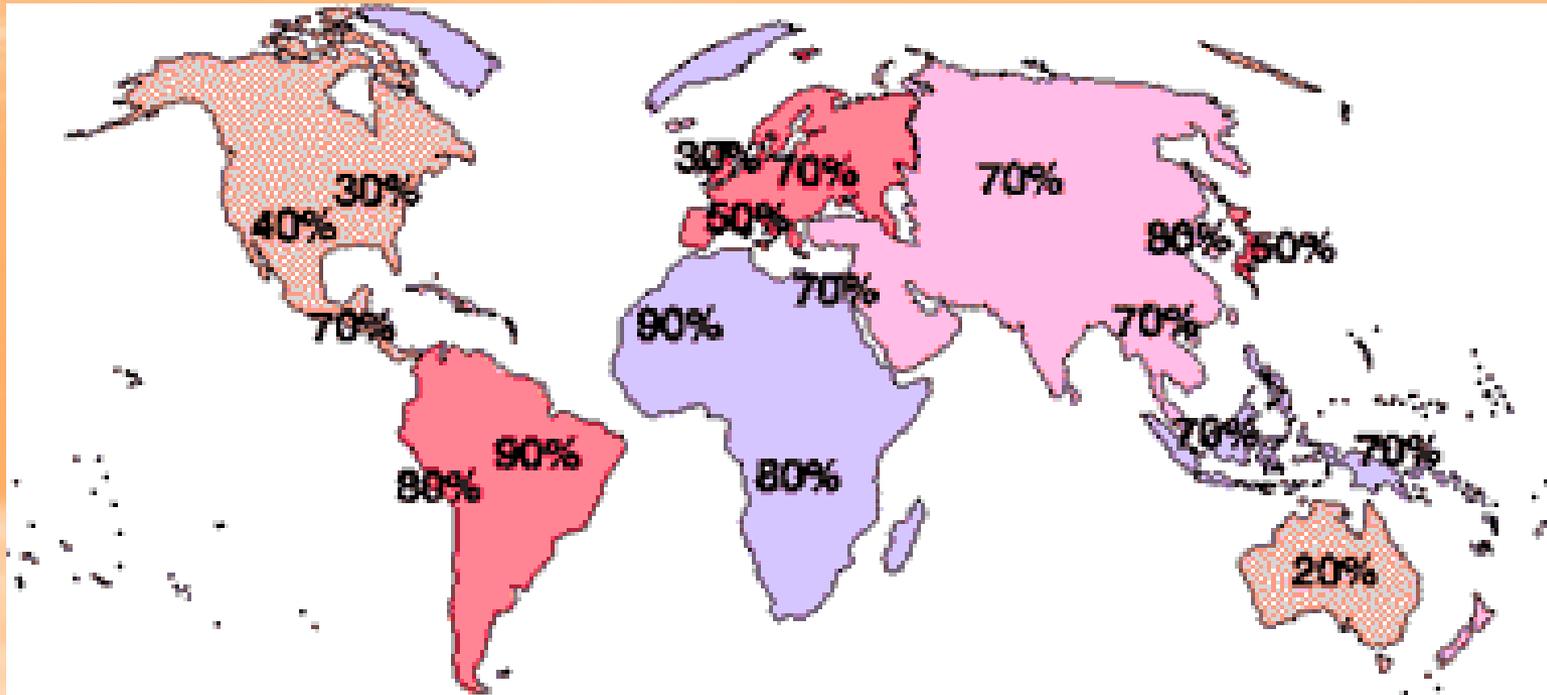
95% of patients with gastritis were infected

100% of patients with duodenal ulcers were infected

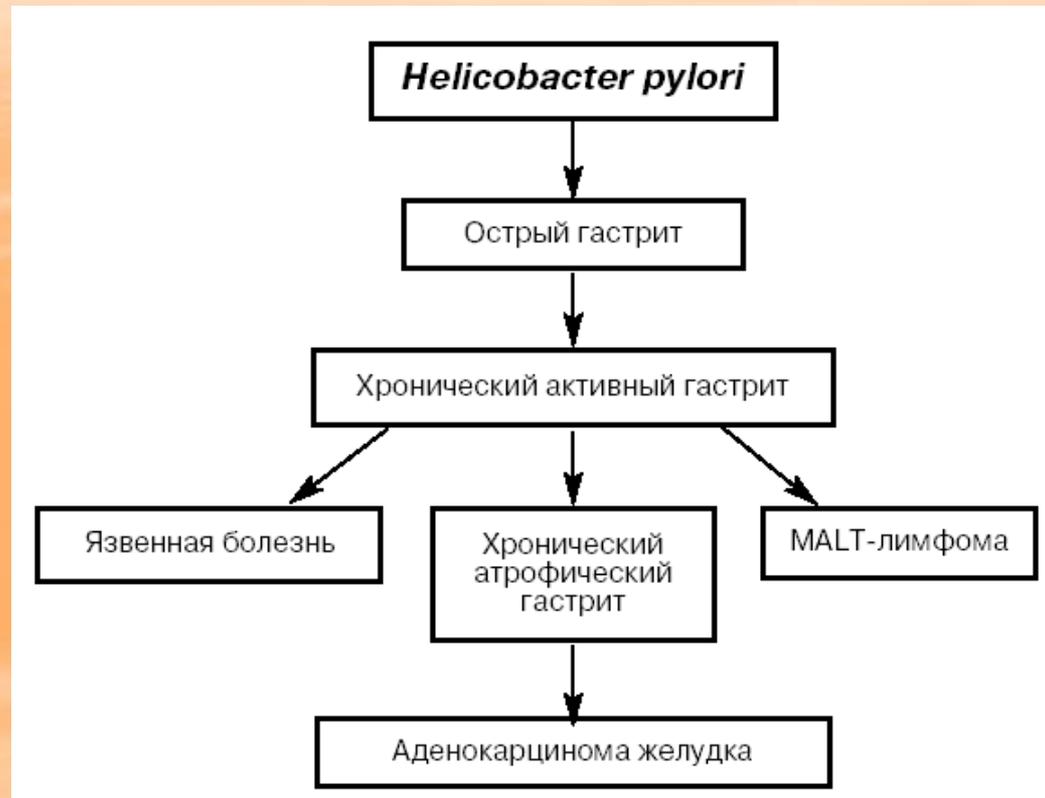


But association is not the same as causality!

Распространенность хеликобактериоза



- Открытие *Helicobacter pylori* явилось революцией в представлениях о патогенетических особенностях развития таких болезней, как хронический гастрит, язвенная болезнь и рак желудка (рис. 1).



- Рис. **Helicobacter pylori**-ассоциированные болезни (в абсолютном большинстве случаев инфицирование *H. Pylori* ограничивается развитием хронического активного гастрита, который относительно редко переходит в другие заболевания)

Различные штаммы *H. pylori* оказывают дифференцированное повреждающее действие на слизистую оболочку желудка; соответственно наличию факторов агрессии варьирует и выраженность клинической симптоматики. Некоторые штаммы возбудителя несут «ассоциированный» белок – т.н. **Cag A (cytotoxin-associated gene)** - маркер продукции мощного цитотоксина, а, значит, и высокой вирулентности штамма), другие способны к выработке «вакуольного токсина»; обе субстанции стимулируют синтез желудочным эпителием интерлейкина-8, участвующего в индукции изъязвлений слизистой желудка.

Определяемый фрагмент
ДНК

гомологичные участки последовательности
гена *CagA Helicobacter pylori*

Чувствительность анализа

чувствительность - не менее 2×10^3 г.-экв.
H. pylori генотипа *cagA* в мл пробы

Исследуемый материал

биоптаты антрального отдела желудка,
двенадцатиперстной кишки

Состав комплекта (на 50
образцов)

1. ПЦР-буфер - 180 мкл
2. Раствор дНТФ - 180 мкл
3. $MgCl_2$ - 150 мкл
4. Смесь праймеров *CagA* - 120 мкл
5. Таг-полимераза (5ед/мкл) - 15 мкл
6. Контрольная ДНК *CagA* - 25 мкл
7. Вода деионизованная - 1 мл
8. Минеральное масло - 1 мл

Положительный контроль

нативная ДНК *H. Pylori* генотипа *CagA*

Методы диагностики инфицирования *H. pylori*

- Инвазивные методы (эндоскопическое исследование с биопсией слизистой)
 - 1. Быстрый уреазный тест** (синоним CLO-тест или HLO-тест). В основе теста лежит измерение pH среды (раствора) под воздействием аммиака и гидрокарбонатных ионов, образующихся при расщеплении мочевины уреазой *H. pylori*. По времени изменения окраски судят о степени бактериальной обсемененности. Для выраженной и умеренной обсемененности характерно малиновое окрашивание, соответственно, в течение первого и второго часа. Имеются тест-системы, в которых результат учитывается через 24 часа. Чувствительность и специфичность, соответственно, 88%-95% и 95%-100% [7]. Тест может давать ложноотрицательные результаты при наличии в желудке крови и на фоне приема блокаторов протонного насоса, антагонистов H_2 -рецепторов, антибактериальных препаратов с антихеликобактерной активностью.

- **2. Гистологический метод** является "золотым" стандартом верификации *H. pylori*. Методы окраски: по Giemsa, гематоксилин-эозин. Метод позволяет верифицировать инфекцию, оценить степень обсемененности, состояние слизистой. Чувствительность и специфичность, соответственно, 93%-96% и 98%-99% [7]. Основным недостатком метода является отсрочка в получении результата и возможность ложноотрицательных результатов на фоне антисекреторной терапии.

3. Бактериологический метод может быть рекомендован, когда стандартная антихеликобактерная терапия оказалась неэффективной. Чувствительность и специфичность, соответственно, 80%-98% и 100% [7]. Чувствительность метода снижается на фоне антисекреторной терапии.

- **4. Молекулярный метод.** В основе метода - полимеразная цепная реакция (ПЦР). Выявляют фрагменты rDNA (рДНК) или ure-генов (UreG, UreE, UreF, UreH, UreI) *H. pylori* в биоптате или любой биологической жидкости, ткани. Чувствительность и специфичность ПЦР приближается к 100%.
Используется в экспресс-диагностике и позволяет идентифицировать различные штаммы *H. pylori*. Van Doorn и соавторы использовали ПЦР для определения устойчивости *H. pylori* к антибактериальным препаратам, в первую очередь, макролидам [8].

Неинвазивные методы

- **1. Дыхательный тест с ^{13}C -мочевинной.** Этот тест является основным в оценке эффективности антихеликобактерной терапии и верификации инфицирования *H. pylori*, когда эндоскопия не проводится. Суть теста - расщепление уреазой *H. pylori* мочевины с образованием аммиака и CO_2 . У пациента берут пробу выдыхаемого воздуха до и через 30 минут после приема фруктового сока, содержащего 75 мг мочевины, меченой ^{13}C . Используя инфракрасный спектрометр, определяют содержание $^{13}\text{CO}_2$. Тест положительный, если разница в концентрации $^{13}\text{CO}_2$ превышает 5,0. Для уменьшения вероятности ложноотрицательных результатов пациент перед тестом не должен в течение 4 недель принимать препараты антихеликобактерной терапии.

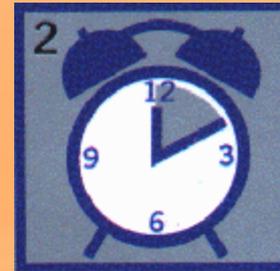
Чувствительность - 90%-96%

Специфичность - 88%-98%.

Дыхательный тест с ^{13}C -мочевиной



Take ^{14}C Urea tablet



Wait 10 min



Exhale



Insert Card

2. Определение в биологических жидкостях (цельная кровь, сыворотка) антител к *H. pylori* или его антигенов (кал).

- 2.1. **Быстрый цельнокровный тест.** В основе - реакция латекс-агглютинации. Наиболее доступен. Чувствительность - 67%-88% и специфичность - 75-91%.

2.2. **Быстрый серологический тест.** В основе - твердая фаза фермент-связывающего иммуносорбентного анализа (enzyme-linked immunosorbent assay - ELISA). Чувствительность и специфичность - 88%-94% и 74%-88%.

2.3. **Тест ELISA.** Чувствительность - 86%-94% и специфичность - 78%-95%.

В связи с тем, что после эрадикации *H. pylori* антитела в крови могут сохраняться не менее 6 месяцев, тесты 2.1-2.3 не применимы в оценке эффективности антихеликобактерной терапии (высока вероятность ложноположительных результатов).

2.4. **Каловый антигенный тест.** Чувствительность - 96%-100% , специфичность - 63%-93%.

Гастропанель

- Комплексный анализ крови, включающий специфические белки пищеварительного тракта (**гастрин-17, пепсиноген I и II**) и **IgG-антитела к *H. pylori***, который используется для неинвазивной оценки состояния слизистой оболочки желудка и скрининга атрофического гастрита.
- **Метод исследования**
- Иммуноферментный анализ (ИФА).

Интерпретация

- Пациенты с нормальной слизистой оболочкой желудка: IgG-антитела к *H. pylori* – отрицательный результат, пепсиноген I и II и гастрин-17 – в пределах нормы. При этом риск серьезных заболеваний желудка (рака желудка и язвы желудка) очень низкий. Гастроскопия не показана. Две трети пациентов с диспепсией относятся именно к этой группе.
- Пациенты с геликобактериозом без атрофического гастрита: IgG-антитела к *H. pylori* – положительный результат, пепсиноген I и II и гастрин-17 – в пределах нормы. Такой результат исследования свидетельствует о наличии хронического неатрофического (поверхностного, гиперацидного) *H. pylori*-ассоциированного гастрита. Риск рака желудка низкий, но все же существует. Риск язвы желудка или двенадцатиперстной кишки повышен. Вопрос о гастроскопии решается в индивидуальном порядке. Также может быть рекомендована антибиотикотерапия против *H. pylori*.
- Пациенты с атрофическим гастритом.

Детальный анализ результата теста позволит определить, какой отдел желудка поражен.

- Пепсиноген I и соотношение пепсиноген I / пепсиноген II – снижены, гастрин-17 – повышен, IgG-антитела к *H. pylori* – отрицательный или положительный результат. Такой результат свидетельствует об атрофическом гастрите тела желудка. Риск рака желудка, а также дефицита витамина B12, кальция и железа существенно повышен. Рекомендуется проведение гастроскопии.
- Пепсиноген I и соотношение пепсиноген I / пепсиноген II – в пределах нормы, гастрин-17 – снижен, IgG-антитела к *H. pylori* – положительный результат. Такой результат свидетельствует об атрофическом гастрите антрального отдела желудка. Риск рака желудка повышен. Рекомендуется проведение гастроскопии. Также может быть назначена антибиотикотерапия против *H. pylori*.
- Пепсиноген I и соотношение пепсиноген I / пепсиноген II – снижены, гастрин-17 – снижен, IgG-антитела к *H. pylori* – положительный результат. Такой результат свидетельствует об атрофическом пангастрите – состоянии, которое является самым значимым фактором риска рака желудка. Рекомендуется проведение гастроскопии. Также может быть назначена антибиотикотерапия против *H. pylori*.

Референсные значения

- Гастрин 17: 1 - 10 пмоль/л.
- Пепсиноген I: 30 - 165 мкг/л.
- Пепсиноген II: 3 - 15 мкг/л.
- Антитела (Ig G) к *Helicobacter pylori*: 0,0 - 29,9 EIU.

Норма	IgG-антитела к <i>H. pylori</i> – отрицательный результат, пепсиноген I и II и гастрин-17 – в пределах нормы
Хронический неатрофический (поверхностный, гиперацидный) <i>H.pylori</i> -ассоциированный гастрит	IgG-антитела к <i>H. pylori</i> – положительный результат, пепсиноген I и II и гастрин-17 – в пределах нормы
Атрофический гастрит тела желудка	Пепсиноген I и соотношение пепсиноген I / пепсиноген II – снижены, гастрин-17 – повышен, IgG-антитела к <i>H. pylori</i> – отрицательный или положительный результат
Атрофический гастрит антрального отдела желудка	Пепсиноген I и соотношение пепсиноген I / пепсиноген II – в пределах нормы, гастрин-17 – снижен, IgG-антитела к <i>H. pylori</i> – положительный результат
Атрофический пангастрит	Пепсиноген I и соотношение пепсиноген I / пепсиноген II – снижены, гастрин-17 – снижен, IgG-антитела к <i>H. pylori</i> – положительный результат

Болезнь Крона

— гранулематозный энтерит, регионарный энтерит, трансмуральный илеит, регионарно-терминальный илеит)

— тяжёлое хроническое иммуноопосредованное гранулематозное воспалительное заболевание желудочно-кишечного тракта, которое может поражать все его отделы, начиная от полости рта и заканчивая прямой кишкой, с преимущественным поражением терминального отрезка подвздошной кишки и илеоколитом в 50 % случаев.

Характеризуется трансмуральным (затрагивающим все слои пищеварительной трубки) воспалением, лимфаденитом, образованием язв и рубцов стенки кишки. Болезнь Крона бывает как у взрослых, так и у детей. Вместе с имеющим много общих патофизиологических и эпидемиологических характеристик язвенным колитом образует группу — воспалительные заболевания кишечника.

Болезнь Крона	Язвенный колит
Трансмуральное воспаление	Воспаление слизистой (возможно трансмуральное воспаление при высокой активности язвенного колита)
Гранулёмы в стенке кишки и лимфатических узлах (или микрогранулемы)	Отсутствие гранулём (редко гранулёмы, связанные с криптами при высокой активности заболевания)
Абсцессы крипт встречаются редко	Абсцессы крипт обычная находка
Число бокаловидных клеток в норме	Уменьшение <u>бокаловидных клеток</u>
Слизистая утолщена или норма	Слизистая оболочка истончена
Поверхностный эпителий в норме	Поверхностный эпителий уплощен
Отсутствие псевдополипов слизистой	Псевдополипы слизистой
Фиброз подслизистой достаточно часто	Фиброза подслизистой оболочки, как правило, нет

Эпидемиология

Случаи болезни описаны повсеместно, однако наиболее часто она встречается в Северной Европе и Северной Америке (всего около 300 000 больных в Северной Америке). Каждый год регистрируются 2—3 новых случая на 1000 человек. Тем не менее, с 1970-х годов число случаев заболеваемости растет, особенно в развивающихся странах[3]. Болезнь у большинства заболевших начинается в возрасте 15—35 лет, но есть и второй пик повышенной заболеваемости — после 60 лет. Люди европеоидной расы болеют чаще по сравнению с африканцами или азиатами. Повышенная частота отмечается у ашкеназских евреев — примерно в 6 раз чаще, чем у других этнических групп. Соотношение мужчины: женщины примерно 1,1—1,8:1 (мужчины чаще).

Диагностические исследования. Кровь

- — характерны: анемия (как правило, смешанного генеза: анемия хронических заболеваний с дефицитом железа), лейкоцитоз, тромбоцитоз, ускорение СОЭ и повышение С-реактивного белка. Возможно снижение железа, сывороточного ферритина, витамина В12 (в случае поражения проксимальных отделов кишечника и желудка), диспротеинемия с гипоальбуминемией (как результат нарушения всасывания в кишечнике). В иммунограмме: часто — повышение гипергаммаглобулинемия (IgG), иногда отмечается селективный дефицит IgA
- Определение ASCA (антител к *Saccharomyces cerevisiae*), в сложных случаях диагностически помогает подтвердить, может служить дополнительным серологическим маркером в диагностике болезни Крона;

Диагностические исследования

Анализы кала — с целью исключения инфекционной причины энтерита и колита.

- Включают бактериологические тесты на определения шигел, сальмонел, иерсиний, кампилобактера, клостридий (*Cl. Difficile*), туберкулёзной палочки, дизентерийной амёбы, различных гельминтов и паразитов.

Кальпротектин

— белок, продуцируемый нейтрофилами слизистой оболочки кишечника.

- Его уровень повышен при болезни Крона и язвенном колите, кроме того, этот показатель повышен при инфекционных поражениях кишечника, онкологических заболеваниях.
- Высокий уровень кальпротектина отражает активность воспаления в слизистой оболочке кишечника, а также является предиктором близкого обострения у пациентов с болезнью Крона в фазе ремиссии.
- Редко при наличии активности болезни Крона уровень кальпротектина остается нормальным. По всей видимости, это связано с преимущественным поражением подслизистой и/или мышечной оболочки кишки, где нет нейтрофилов, продуцирующих кальпротектин.

Колоноскопия и эндоскопия с биопсией

- В настоящее время «золотым стандартом» диагностики болезни Крона является проведение илеоколоноскопии
- Обязательным условием является забор множественных биоптатов из всех отделов толстой кишки (не менее 2-х) и подвздошной кишки (как поражённых, так и интактных) с последующим гистологическим исследованием биоптатов.
- Значимым прогрессом в диагностике болезни Крона тонкой кишки является использование эндокапсулы, что позволяет осмотреть тонкую кишку.

Острый панкреатит.

- — остро протекающее асептическое воспаление поджелудочной железы демаркационного типа, в основе которого лежат некробиоз панкреатоцитов и ферментная аутоагрессия с последующим некрозом и дистрофией железы и присоединением вторичной гнойной инфекции.
- **Летальность**, несмотря на применение современных методик консервативного и оперативного лечения, высокая: общая 7—15 %, при деструктивных формах — 40—70 %.

Симптомы, течение, осложнения

- Чёткой клинической картины нет. В связи с этим для точной диагностики острого панкреатита необходим целый ряд дополнительных исследований.
- Жалобы на острую боль в животе, тошноту, рвоту дуоденальным содержимым, не приносящую облегчения, вздутие живота. Как правило, из-за интоксикации и рвоты наступает нарушение водно-электролитного баланса, обезвоживание, которое играет важную роль в патогенезе заболевания. Могут появляться геморрагические синюшные пятна на левой боковой стенке живота, иногда с желтоватым оттенком (симптом Грея Тернера). Возможно возникновение пятен у пупка (симптом Куллена).
- Возникновение острого панкреатита возможно на фоне хронического панкреатита. Острый панкреатит отличается от понятия «обострение хронического панкреатита».
- Наиболее частой причиной гибели больных острым панкреатитом в первые дни заболевания является эндогенная интоксикация, сопровождающаяся развитием циркуляторного гиповолемического шока, отёка головного мозга, острой почечной недостаточностью.

Лабораторная диагностика острого панкреатита

- Повышение активности ферментов в сыворотке крови (амилазы, липазы, трипсина и ингибиторов трипсина) является ведущим лабораторным признаком острого панкреатита.
- Основная причина гиперферментемии - нарушение оттока панкреатического сока, обусловленное воспалительным отеком органа и сдавлением протоков поджелудочной железы.
- Важное условие гиперферментемии - сохранение секреторной функции поджелудочной железы.

- В большинстве случаев при остром панкреатите увеличение активности амилазы крови наблюдается в первые часы или сутки от начала заболевания. Гиперферментемия сохраняется 1-3 суток, а затем активность фермента снижается до нормы. Это подчеркивает необходимость проведения исследования в первые дни заболевания, чтобы избежать диагностических ошибок.

α -Амилаза

(диастаза, α -1,4-D-глюкан:4-глюкан гидролаза; КФ 3.2.1.1) – фермент катализирующий гидролиз полимеров глюкозы по месту α -1,4-гликозидных связей до декстринов и мальтозы.

Активность проявляется в присутствии ионов Ca^{2+} , Cl^- , Br^- , NO_3^- , PO_4^{3-}

Изоэнзимные типы:

- панкреатическая амилаза (P-тип)
- слюнная амилаза (S-тип)

Методы определения активности α -амилазы

Амилокластические

Йодометрические

Турбидиметрические и нефелометрические

Вискозиметрические

Редуктометрические

Методы, основанные на использовании хромогенных субстратов

Методы «сухой химии»

Требования к исследуемому материалу

- Для определения α -амилазы следует использовать сыворотку или гепаринизированную плазму крови,
т.к. все антикоагулянты, за исключением гепарина, ингибируют амилазу (~ на 15%), поскольку способны связывать ионы Ca^{2+} .
- Фермент весьма устойчив, его активность не меняется при хранении в течение 4 дней при комнатной температуре, 2 недель — при +4 °С, 1 года — при —25 °С и 5 лет — при —75 °С.

Методы, основанные на использовании крахмала (амилокластические методы)

Трудности при использовании крахмала в качестве субстрата:

- образцы крахмала значительно отличаются по многим параметрам, в частности по соотношению амилозы и амилопектина. Длина цепи молекулы крахмала зависит от способа его получения и метода приготовления раствора
- крахмал нерастворим в воде, образует коллоидоподобные растворы
- размер частиц в растворе зависит от температуры

Более предпочтительно применение в качестве субстрата неразветвленной фракции крахмала - амилозы

Достоинства и недостатки амилокластических методов

- недороги,
- просты,
- быстры
- чувствительны,
- ограничены особенностями взаимодействия йод—амилоза, требуют контроля и трудно сопоставимы из-за различий в субстрате.

Тем не менее они продолжают использоваться в виде готовых тест-систем и подходят для скринирующего метода. Американская ассоциация клинической химии (ААСС) выбрала йодометрический метод для скрининга амилазы

Йодометрические методы

Йодометрические методы оказались наиболее популярными.

- В ставшем классическим **йодометрическом методе Вольгемута** ряд последовательных разведений исследуемого образца инкубируют с крахмалом и определяют то разведение исходного материала, которое обеспечивает полный гидролиз крахмала в течение определенного промежутка времени.
- В других популярных вариантах амилокластического метода скорость реакции оценивают по количеству крахмала, расщепленного в ходе инкубации. Избыток крахмала определяют по изменению поглощения комплекса йод—крахмал.

Этапы гидролиза крахмала

- Крахмал → эритродекстрины → ахродекстрины → альтиотетроза → мальтоза

Окраска при взаимодействии с I_2 зависит от длины цепи:

- > 30 остатков – синяя окраска
- 8-12 остатков – красная
- < 5 остатков – нет окрашивания

Турбидиметрические и нефелометрические методы

- основаны на способности амилазы снижать мутность суспензии субстрата в результате ферментативной деградации его молекул

Вискозиметрические методы

- основаны на изменении вязкости инкубационной среды в ходе гидролиза крахмала амилазой.

В настоящее время не используются

Редуктометрические методы

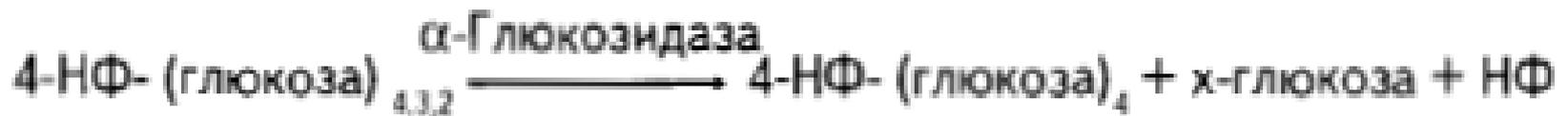
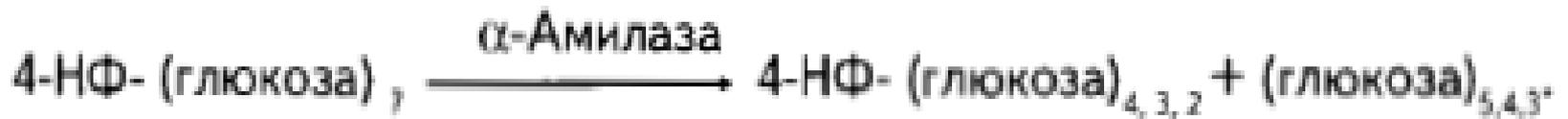
- методы, в которых скорость ферментативной реакции контролируют путем определения образующихся при гидролизе крахмала «редуцирующих» соединений — мальтозы, декстринов.
- Впервые данный метод применил *M. Somogyi* в 1938 г.

Методы, основанные на использовании хромогенных субстратов

- Наиболее перспективными хромогенными субстратами явились олигосахариды глюкозы с присоединенным к ним с редуцирующего конца остатком 4-нитрофенола (4-НФ).
- Например, 4-НФ-Г7 – 4-НФ производное мальтогептозы при гидролизе под действием амилазы образует смесь свободных олигосахаридов (Г5, Г4, Г3) и 4-НФ-Г2 (9%), 4-НФ-Г3 (31%) и 4-НФ-Г4 (60%).

- При добавлении α -глюкозидазы происходит гидролиз 4-НФ-Г4 до 4-НФ и олигосахарида;
- 4-НФ-Г3 и 4-НФ-Г2 гидролизуются до свободного 4-НФ и глюкозы.
- Панкреатический изофермент гидролизует субстрат с большей скоростью, чем слюнный изофермент, в соотношении 1,8 : 1.

- Совместное действие амилазы и α-глюкозидазы на субстрат приводит к тому, что более 30% продуктов реакции составляет свободный НФ.
- Свободный НФ обнаруживают по поглощению при 405 нм.
- α-глюкозидаза не действует на олигосахариды, содержащие больше 4 молекул глюкозы в цепи;



Проблемы при использовании 4-НФ-олигосахаридов глюкозы

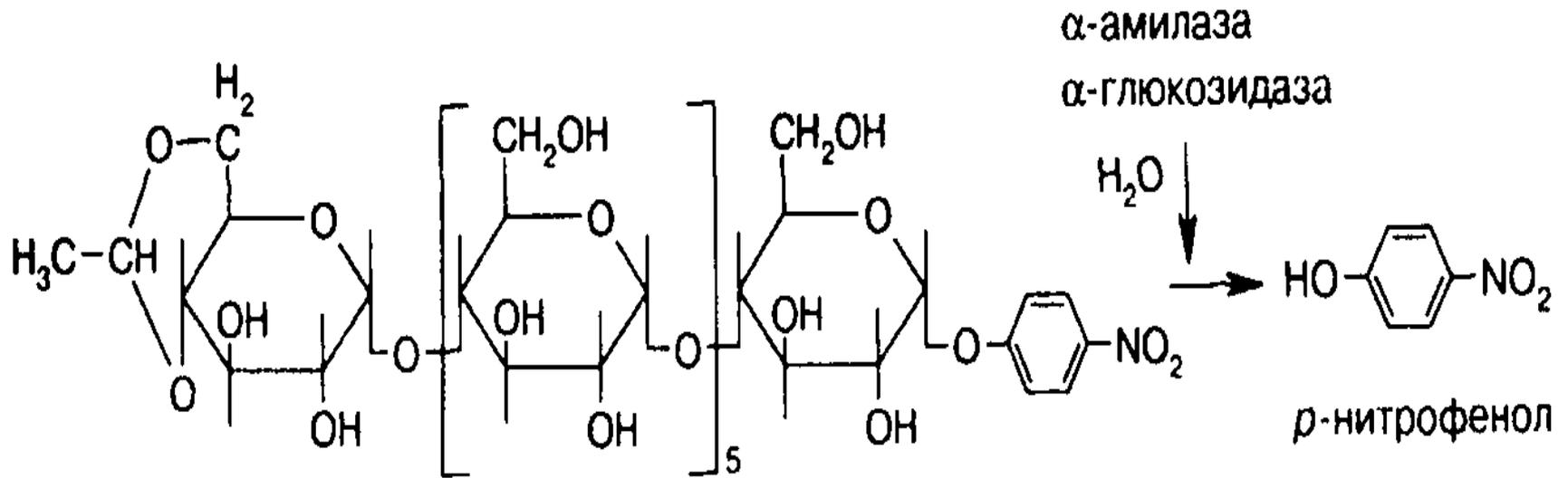
- низкая стабильностью субстрата в реакционной среде, обусловленная медленным гидролизом 4-НФ-гликозидов α -глюкозидазой;
- неспособностью 4-НФ выступать в качестве эффективного индикатора активности амилазы.

Пути преодоления проблем

- Повышение стабильности субстрата достигается ковалентным связыванием «блокирующих» групп — либо 4,6-этилиден (этилиден-защищенный субстрат — EPS), либо 3-кетобутилиден — с нередуцирующим концом молекулы.
- «Блокированный» субстрат обеспечивает более выгодные условия гидролиза: а именно, этилиден-4-НФ-Г7 как субстрат фрагментируется на 4-НФ-Г2 (40%), 4-НФ-Г3 (40%) и 4-НФ-Г4 (20%). В результате увеличивается высвобождение 4-НФ; в то же время пропорционально уменьшается скорость реакции.

Использование в качестве субстратов

4-нитрофенилгликозидов с 4,6-этилиденовой защитой



Образование *p*-нитрофенола под действием α -амилазы и α -глюкозидазы из 4,6-этилиден- Γ_7 -1-4-нитрофенил-(Γ_1)- α -D-мальтогептазида

Пути преодоления проблем

- В настоящее время налажен выпуск рекомбинантной α -глюкозидазы (рекомбинантный фермент AGH-211 — *Toyobo Co.*, Япония), способный полностью гидролизовать нитрофенилированные субстраты.
- В результате расщепления одной гликозидной связи при участии амилазы высвобождается одна молекула 4-НФ.
- Эксперты IFCC оптимизировали данный метод при 37°C и предложили его в качестве референтного.

«Прямые» методы (без использования α -глюкозидазы)

- метод, основанный на использовании 2-хлор-п-нитрофенола (CNP) в составе субстрата 2-хлор-п-нитрофенил- α -мальтотриозида (CNP-G3) в реакции



Принципы выбора методов определения активности α -амилазы

1. Использовать субстрат с известной структурой, качеством, разумной стоимостью и известными продуктами реакции.
2. Реакция не должна зависеть от изменений условий реакции (pH , белок, концентрации глюкозы, соотношение между объемом среды и образца).
3. Использовать непрерывный метод измерения и поддерживать кинетику нулевого порядка и lag-фазу не более 3 мин.
4. Метод должен быть достаточно чувствительным при температуре 30 °С.
5. Метод должен быть нечувствительным к вмешательству эндогенной глюкозы.

Методы исследования изоферментного спектра амилазы

- электрофорез и изоэлектрическое фокусирование,
- ионообменная хроматография,
- метод, основанный на селективном ингибировании,
- метод иммунопреципитации моноклональными антителами и иммуноингибировании.

В клинической практике с точки зрения надежности, точности, скорости выполнения предпочитают методы, основанные на селективном ингибировании изофермента моноклональными антителами.

Доступен метод с использованием моноклональных антител, в котором используется действие 2 ингибирующих моноклональных антител к слюнной амилазе. После обработки амилазы антителами активность ее панкреатического изофермента определяют с использованием EPS-4-NP-G7 в качестве субстрата

- Считается, что более специфичным тестом при диагностике острого панкреатита является определение активности липазы в плазме.
- Активность панкреатической липазы при остром панкреатите повышается несколько позже, чем активность амилазы, и остается высокой около 10-12 суток.
- При одновременном определении активностей липазы и амилазы диагностическая специфичность этих тестов в отношении острого панкреатита достигает 90 %.

- Амилаза – единственный фермент плазмы крови, постоянно присутствующий в моче.
- Следует помнить, что уровень **амилазы мочи** при остром панкреатите далеко не всегда соответствует повышенной активности амилазы крови: уровень амилазы мочи может быть нормальным, а амилазы крови – резко повышенным.
- При нетяжелом панкреатите нормальная активность амилазы в сыворотке объясняется ее быстрой экскрецией, при этом содержание амилазы в моче повышено.
- Макроамилаземия может быть результатом низкой экскреции почками. В этих условиях амилаза соединяется с другими белками (с Ig) с образованием высокомолекулярных комплексов, в результате чего ее почечный клиренс снижается. Клинических последствий данное состояние не имеет, но может привести к ошибочному заключению о наличии патологии поджелудочной железы.
- Кроме того, нормальная или низкая активность фермента в сыворотке не исключает диагноз острого панкреатита, причем нередко наиболее тяжелых клинических форм заболевания. В этих последних случаях идет речь о резком снижении функциональной способности поджелудочной железы, обусловленном выраженными некротическими изменениями в органе (панкреонекроз, острый гнойный панкреатит).

Изменение биохимических показателей крови при остром панкреатите

- Повышение активности АлАТ и АсАТ в течение первых пяти дней заболевания.
- Иногда отмечается снижение $[Ca^{2+}]$ в сыворотке крови до 2 мМ/л и ниже.
- Примерно у 15-25% больных повышается уровень билирубина.
- Усиление протеолиза вызывает накопление среднемолекулярных пептидов в крови и их выделение с мочой.
- При тяжелых панкреатитах в плазме может обнаруживаться метгемальбумин.
- Повышение отношения активности α -амилазы к клиренсу креатинина.

Амилазокреатининовый клиренс

- отношение клиренсов α -амилазы и креатинина:

$$\frac{\alpha\text{-Ам}_{\text{мочи}} \cdot \text{Кр}_{\text{сыв}}}{\text{Кр}_{\text{мочи}} \cdot \alpha\text{-Ам}_{\text{сыв}}} \times 100$$

В норме – 1-4%

Величина показателя $> 6\%$ указывает на наличие острого панкреатита

Для оценки тяжести острого панкреатита используют критерии Ренсона.

ПРИ ПОСТУПЛЕНИИ

возраст > 55 лет

лейкоцитоз > 16 000 мкл⁻¹

глюкоза плазмы > 200 мг% (11,1 ммоль/л)

активность ЛДГ > 350 ед/л

активность АсАТ > 250 ед/л

ЧЕРЕЗ 48 ЧАСОВ

снижение гематокрита > 10% к исходному

повышение АМК > 5 мг% (1,8 ммоль/л)

p_aO_2 < 60 мм рт. ст.

дефицит оснований > 4 мэкв/л

уровень кальция < 8 мг% (2,0 ммоль/л)

секвестрация жидкости > 6 л

Наличие трех и более критериев означает неблагоприятный прогноз.

Лечение острого панкреатита заключается в поддержании жизненно важных функций и борьбе с осложнениями.

- Повышение активности ферментов в крови наблюдается при обострении хронического панкреатита, хотя у 25% больных с этим заболеванием уровень амилазы и других ферментов в крови нормальный. Это связано с недостаточностью функции поджелудочной железы и с отсутствием препятствий для нормального оттока секрета железы в двенадцатиперстную кишку. При обострении хронического панкреатита также повышение активности щелочной фосфатазы и гамма-глутамилтранспептидазы, что связано с нарушением проходимости желчных путей. Отмечается увеличение уровня гамма-глобулина, сиаловых кислот, серомукоида, «средних пептидов».

Эндокринная недостаточность при ХП

- При остром и хроническом панкреатитах в большинстве случаев наблюдаются значительные изменения углеводного обмена, в частности, гипергликемия и глюкозурия. При остром панкреатите эти нарушения чаще носят преходящий характер и обусловлены вовлечением в воспалительный процесс островков Лангерганса. Купирование воспаления, как правило, приводит к нормализации этих показателей. При хроническом панкреатите обнаружение гипергликемии и глюкозурии свидетельствует о развитии необратимых склеротических изменений в поджелудочной железе и развитии сахарного диабета.
- У больных хроническим панкреатитом изменения, выявляемые при так называемой двойной нагрузке глюкозой, в определенной степени могут отражать функциональное состояние поджелудочной железы. Появление при исследовании двугорбой кривой или превышение исходного уровня глюкозы в крови на протяжении более трех часов свидетельствует о снижении функции органа.

Тесты функции поджелудочной железы

- **прямые**, при которых анализируется жидкость, аспирированная из железы, определение концентрации бикарбоната и активностей амилазы или трипсина в секрете поджелудочной железы, полученном после приема пищи (проба Лунда) или после введения секретина и холецистокинина.
- **непрямые**, не требующие введения пациенту зонда.
 - тесты с дилауратом флюоресцеина и р-амино-бензойной кислотой (ПАБК). В них использован принцип измерения величины всасывания этих веществ, которое зависит от состояния поджелудочной железы.

Тест с дилауратом флюоресцеина

- основан на том, что данный индикатор при пероральном введении гидролизуется в кишечнике панкреатической эстеразой до флюоресцеина. который всасывается в кишечнике, конъюгируется в печени до глюкуронида флюоресцеина и экскретируется почками с мочой, в которой может быть измерена его концентрация.
- Величина экскреции сравнивается с полученной после приема такого же количества флюоресцеина, что позволяет исключить влияние на процесс метаболизма печени, кишечника и почек.
- Однако известно, что активность панкреатической эстеразы зависит (и требует) от присутствия желчных солей, поэтому данный тест характеризует больше объединенную панкреато-билиарную функцию. По его результатам можно ошибочно предполагать дисфункцию поджелудочной железы, в то время как нарушено желчевыделение.

Тест с дилауратом флюоресцеина

Процедура	Результаты
День 1-й (тест): дать пациенту внутрь 0,5 ммоль дилаурата флюоресцеина; обеспечить адекватное потребление жидкости и собрать мочу в течение 10 ч; измерить количество выделенного с мочой флюоресцеина	$\frac{\text{Экскреция флюоресцеина в 1-й день}}{\text{Экскреция флюоресцеина во 2-й день}} \times 100 = \frac{\text{Тест}}{\text{Контроль}} \text{ индекс}$
День 2-й (контроль): дать пациенту внутрь 0,5 ммоль флюоресцеина; повторить процедуру 1-го дня	Функция поджелудочной железы в норме: $\frac{\text{Тест}}{\text{Контроль}} \text{ индекс} > 30 \%$ Панкреатическая недостаточность: $\frac{\text{Тест}}{\text{Контроль}} \text{ индекс} < 20 \%$

Тест с ПАБК

- В тесте с ПАБК внутрь принимается бензоилтирозил-ПАБК вместе со следовым количеством меченной изотопом ПАБК.
- Для высвобождения ПАБК из бензоилтирозил-ПАБК необходим панкреатический химотрипсин.
- В моче одновременно измеряют концентрацию ПАБК и радиоактивность и по величине соотношения введенного и экскретированного количества делают заключение о функциональном состоянии поджелудочной железы.
- Меченая ПАБК применяется для устранения влияния экстрапанкреатических факторов.

Копрологическое исследование в диагностике экзокринной недостаточности поджелудочной железы

- При нарушении панкреатической секреции часто изменяется внешний вид испражнений: они приобретают сероватый цвет, гнилостный запах, содержат большое количество жира (стеаторея), переваренных мышечных волокон (креаторея). При микроскопии выявляется хорошо сохранившаяся поперечная полосатость мышечных волокон, концы их остаются острыми. Объем испражнений значительно увеличивается (полифекалия).
- В результате сравнительно низкой чувствительности и специфичности, исследование кала, имеющее само по себе довольно ограниченное диагностическое значение, необходимо сопоставлять с общей клиникой заболевания и результатами других методов исследования.

Синдром мальабсорбции

Клинические проявления	Причины
Задержка невоссываемых питательных веществ Понос ¹ , стеаторея Неприятные ощущения и вздутие живота ¹ Метеоризм ¹	Недостаточность панкреатических ферментов (при хроническом панкреатите и муковисцидозе) Недостаточность солей желчных кислот (заболевания печени и закупорка желчных протоков)
Сниженное всасывание питательных веществ Анемия ¹ (недостаточность железа, фолата и витамина В ₁₂)	Кишечные заболевания (целиакия, спру, болезнь Крона, частичная резекция)
Глоссит, ангулярный стоматит ¹ (недостаточность железа) Остеомаляция и рахит (недостаточность витамина D) Отек (гипоальбуминемия)	Бактериозы (операции на желудке, внутренние свищи, стриктуры, дивертикулез тощей кишки)
Кровоточивость (недостаточность витамина К) Снижение массы тела ¹ , отставание в росте у детей	

¹ Наиболее частые проявления.

Примечание. В отдельных случаях причин развития мальабсорбции может быть несколько.

Лабораторная диагностика синдрома мальабсорбции

Таблица 6-10. Простые тесты для диагностики мальабсорбции

Сывороточный альбумин, фосфат, активность ЩФ

Развернутый анализ крови

Эритроцитарные индексы (средний объем эритроцитов, среднее содержание гемоглобина в эритроцитах)

Содержание в сыворотке железа, ферритина

Витамин В₁₂, фолат

Протромбиновое время

Лабораторная диагностика синдрома мальабсорбции

Тест абсорбции ксилозы

Процедура	Результаты
Пациент не принимает пищу в течение ночи; перед проведением теста мочевого пузыря следует опорожнить	Нормальная концентрация ксилозы в плазме через 60 мин $> 1,3$ ммоль/л
0 мин: дать 5 г D-ксилозы в воде; собрать всю мочу вплоть до момента окончания теста; в течение следующих 2 ч пациент должен выпить по крайней мере 500 мл воды	Нормальный уровень экскреции ксилозы с мочой $> 7,0$ ммоль/5 ч
1 ч: взять кровь и определить концентрацию ксилозы	
5 ч: собрать последнюю порцию мочи; сделать анализ мочи на ксилозу	

¹ Экскрецию ксилозы с мочой можно измерять в течение 2 ч (нормальная экскреция > 4 ммоль), но это менее надежно.

Таблица. 6-7. Дыхательный тест с триолеином

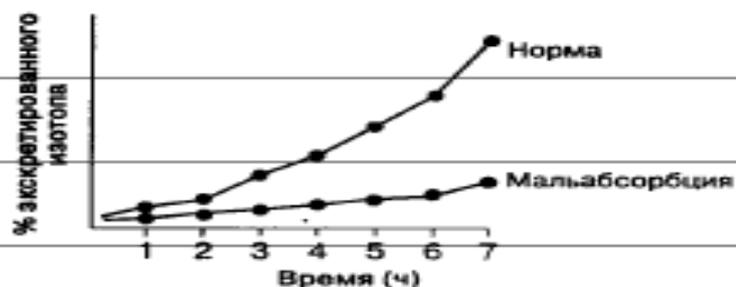
Процедура

Пациент не принимает пищу в течение ночи
Собрать исходную пробу выдыхаемого CO_2 (1 ммоль)
Дать пациенту меченый изотопом триолеина 60
пищевого жира
Собирать по 1 ммоль выдыхаемого CO_2 ежедневно
в течение 7 ч
Измерить радиоактивность в пробах CO_2

Результаты

Выразить в процентах количество экскретированного
изотопа от значения введенного количества

Типичные варианты экскреции CO_2



Примечание. Пробы CO_2 собирают методом пропускания
выдыхаемого воздуха через раствор, содержащий 1 ммоль
гиамина, который реагирует с CO_2 . Используемый индикатор
меняет цвет по завершении реакции. Каждая лаборатория
должна установить свой собственный нижний предел
нормы для экскреции CO_2 .