

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРОВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ
УЗБЕКИСТАН**

ТАШКЕНТСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

Мархамат Миракрамовна Якубова

Шахзода Эргашевна Рахимова

**Хроническая ишемия мозга и ее связь с дисбалансом
кишечной микробиоты**

ТАШКЕНТ 2025

УДК: 616.34-008.87-092:616.858:616.8]-07

Авторы:

Д.м.н. профессор кафедры неврологии Ташкентской медицинской академии
М.М. Якубова

К.м.н. старший преподаватель кафедры гистологии и медицинской биологии
Ташкентского государственного стоматологического института
Ш.Э.Рахимова

Рецензенты:

Зав. кафедрой неврологии ТМА д.м.н. проф. Рахимбаева Г.С.,
Профессор каф. неврологии ЦРПКМР д.м.н. Аликулова Н. А.

М.М. Якубова, Ш.Э.Рахимова

Хроническая ишемия мозга и ее связь с дисбалансом кишечной микробиоты/
М.М. Якубова , Ш.Э. Рахимова – Ташкент: ТМА 2025. – 98 с.

В монографии рассмотрены влияние нарушенной микробиоты кишечника на этиопатогенез хронической ишемии мозга. Автором обобщены результаты собственных исследований, а также данные современных отечественных и зарубежных публикаций. Книга предназначена для неврологов и врачей других специальностей, интересующихся проблемой цереброваскулярных заболеваний.

УДК: 616.34-008.87-092:616.858:616.8]-07

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АГ – артериальная гипертензия

АД – артериальное давление

БА - болезнь Альцгеймера

БАС - Боковой амиотрофический склероз

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ГАМК – гамма-аминомасляная кислота

ГИ – геморрагический инсульт

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

ИБС – Ишемическая болезнь сердца

ИИ – ишемический инсульт

ИМ – инфаркт миокарда

КМБ – кишечная микробиота

КЦЖК – короткоцепочечные жирные кислоты

ЛПНП – липопротеиды низкой плотности

ЛПУ – лечебно-профилактические учреждения

МКБ-10 – Международная классификация болезней 10-го пересмотра

МРТ – Магнитно-резонансная томография

Мыши APP/PS1 – трансгенные мыши, имеющие расстройства, связанные с болезнью Альцгеймера

Мыши C57BL/6 – геном, полностью изученный вид мышей

ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения

ФНО – фактор некроза опухоли

ХИМ – хроническая ишемия мозга

ЦНС – центральная нервная система

ЧМН – черепно-мозговые нервы

ЭДТА – этилендиаминтетраацетат

BDNF – мозговой нейротрофический фактор

HDAC – Histone Deacetylases

Mini-Cog – Мини-Ког тест

MMSE – краткая шкала оценки психического статуса

MoCA – Монреальская шкала оценки когнитивных функций

GF мыши – стерильные мыши от микробов

IDO – индоламин

NMDA – N метил D аспартат

NMDAR – ионотропный рецептор глутамата

SCFA – коротко-цепочные жирные кислоты

SAGE тест – Self Administrated Gerocognitive Exam

TNF – tumor necrosis factor

Treg – T клетки

TLR4 – Toll подобные рецепторы 4

JNK – фермент апоптоза

NF-κB – контролирует экспрессию генов иммунного ответа

ПРЕДИСЛОВИЕ

По последним данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), «... в мире насчитывается более 55 млн больных с деменцией...»¹. С каждым годом данный показатель возрастает по мере увеличения населенности. Эпидемиология данного заболевания имеет глобальный масштаб, отражаясь на материальных ресурсах. В основном высокие показатели встречаются в странах с низким средним доходом, и это доказывает, что деменция является проблемой не только с медицинской точки зрения, но и социальной проблемой, затрагивающей экономические аспекты. Каждый пациент с деменцией нуждается в посторонней помощи. В 2019 году на устранение этой проблемы выделялось 1,3 трлн долларов США. В эту сумму входят затраты на медицинские услуги, лекарства для лечения при присмотре за больными со стороны родственников или близких больного в объеме 5 часов в день. Деменция отнимает у людей самое дорогое – память. В связи с этим она является психологически тяжелым заболеванием, которое вовлекает и родных больного в этот недуг.

В мире в настоящее время осуществляются глобальные проекты по изучению влияния микробиоты кишечника на организм. С 2007 года для подробного изучения микробиома человека проводятся такие масштабные проекты, как The Human Microbiome Project. Цель этого проекта заключается в изучении всех видов бактерий, обитающих в нашем организме, их влияния на состояние здоровья человека. Проект MetaHIT, спонсируемый Европейским Союзом, запущен как логическое продолжение проекта The Human Microbiome Project. Главная цель проекта - изучить геном 100 штаммов бактерий микробиома на основе способа секвенирования. Результаты проекта показывают, насколько важен гомеостаз микробиома.

¹ World Health Organization Dementia A public health priority – Geneva: World Health Organization 2017.

В нашей республике проводятся целенаправленные реформы по улучшению качества оказания медицинских услуг и профилактических мероприятий в первичном звене здравоохранения. В указе Президента Республики Узбекистан о стратегии развития Нового Узбекистана поставлена цель: «...повышение качества оказания населению квалифицированных услуг, увеличение средств, выделяемых на сферу первичной медико-санитарной службы...»². Согласно указу, исследовательские работы направлены на раннюю профилактику и коррекцию лечения заболеваний, в том числе ХИМ с когнитивными расстройствами при нарушениях кишечной микробиоты.

Исходя из этих задач, целесообразно провести исследования по ранней диагностике хронической ишемии головного мозга и разработке комплексных мероприятий, а также активно внедрить их в медицинскую систему. УП-60 Президента Республики Узбекистан от 28 января 2022 года «О стратегии развития нового Узбекистана на 2022-2026 годы», УП-6110 от 12 ноября 2020 года «Внедрение совершенно новых механизмов в деятельность первичной медицинской помощи». и санитарно-гигиенических учреждений и здравоохранения о мерах по дальнейшему повышению эффективности проводимых в системе реформ», Постановление №ПП-5590 от 7 декабря 2018 года «О комплексных мерах по коренному совершенствованию системы здравоохранения Республики Узбекистан», постановление № ПП-4891 от 12 ноября 2020 г. «О дополнительных мерах по обеспечению здоровья населения путем дальнейшего повышения эффективности медико-профилактической работы», № ПП-3925 от 30 августа 2018 г. «Меры по совершенствованию оказания неврологической помощи населению». Данное диссертационное исследование служит в определенной степени реализации задач, указанных в решениях «О мерах по совершенствованию оказания неврологической помощи населению » и других нормативных правовых документах, связанных с данной деятельностью.

² Указ Президента Республики Узбекистан №УП-60 от 28 января 2022 г. «повышение качества оказания населению квалифицированных услуг, увеличение средств, выделяемых на сферу первичной медико-санитарной службы»

ГЛАВА I. Обзор литературы

§1.1. Влияние дисбиоза кишечника на течение хронической недостаточности мозгового кровообращения

Хроническая ишемия мозга (дисциркуляторная энцефалопатия) – медленно прогрессирующее заболевание головного мозга, в основе которого лежит длительное снижение кровоснабжения, кислородного обогащения мозговой ткани с последующим развитием мозговой дисфункции. По статистическим данным, у лиц старше 50 лет риск развития заболевания составляет 60% [52; с. 4-7, 98].

На развитие ХИМ влияет множество факторов, таких как гипертоническая болезнь, атеросклероз сосудов головного мозга, болезни крови, сахарный диабет и другие.

Актуальность проблемы обусловлена высокими показателями заболеваемости среди населения, что ухудшает ситуацию, так как заболевание снижает качество жизни больных, часто осложняется дезадаптацией в социальной и бытовой сферах. На поздних стадиях заболевания снижается память, что наносит большой ущерб психологическому состоянию больного. В результате развития когнитивных расстройств больной становится нервным, теряет трудоспособность, что является немаловажным фактором снижения дохода как персонально, так и с точки зрения экономики государства. Ранняя инвалидизация наносит ущерб бюджету страны. Поэтому государства поддерживают научные исследования по изучению проблем, связанных с когнитивной дисфункцией.

Данная научная работа посвящена изучению одного из немало важных факторов развития когнитивной дисфункции – кишечной микробиоте. Благодаря результатам метагеномного исследования были открыты большие возможности изучения микробов, живущих в человеческом организме.

Продуценты кишечной микробиоты - короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК) влияют на организм человека глубже, чем ранее мы представляли. Как выявлено, КЦЖК влияют на нервную систему, на воспалительные процессы, выработку медиаторов с помощью экспрессии генов, способствующих производству медиаторов, таких как серотонин, ацетилхолин, гамма-аминомасляная кислота, норадреналин, мелатонин, глутамин [38; с.247 - 256]. Ниже подробно описаны пути и схемы влияния продуцентов кишечной микробиоты.

§1.2. Механизмы взаимодействия кишечной микрофлоры и макроорганизма

По результатам исследования в области изучения кишечной микробиоты, данная система стала считаться перспективным будущим для лечения многих заболеваний, в том числе и нейродегенеративных заболеваний. К такому выводу привели множество уникальных фактов, которые трудно опровергнуть и не заметить.

Методом изучения микроорганизмов являлось 16-РНК секвенирование каждого вида. По итогам исследования было обнаружено, что количество клеток бактерий превышает в 3 раза человеческие. То есть, когда человек со средним весом 70 кг имеет 37 триллионов клеток, бактерии, живущие в нём, в среднем составляют 100 триллионов клеток, что доказывает огромное влияние данной экосистемы [33, с. 116-125].

Феноменальным является тот факт, что человеческих генов в организме примерно 20000, бактериальные, с условием наличия 1000 видов микроорганизмов, оцениваются в 2 000 000 генов, то есть в 100 раз больше [87; Р 392-400].

В частности, кишечная микробиота имеет наибольшее количество бактерий по сравнению с другими частями тела и составляет от 300 до 2500 видов бактерий. Все эти микроорганизмы выделяют множество метаболитов, которые участвуют во многих процессах жизнедеятельности человека. Основными метаболитами кишечной микробиоты являются

короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК). К ним относятся уксусная, пропионовая, масляная, изомаляная, валериановая, изовалериановая кислоты [28; с. 42-55].

КЦЖК непосредственно активны в процессах иммуномодуляции, участвуют в стимуляции Т-супрессоров и Т-хелперов. Противовоспалительная функция основана на ингибции противовоспалительных цитокинов TNF- α (фактора некроза опухоли) [96; р. 974-977].

К примеру, метаболиты семейства *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* уменьшают воспаление путём стимуляции противовоспалительных цитокинов, таких как IL-10, TGF- β и триптофан-2,3-диоксигеназы (IDO), раздражая клетки Treg (Регулятор Т-клеток), впоследствии стимуляцией Th1 (Т-хелпер 1), Th2 (Т-хелпер 2) [138; р. 908-920]. Таким образом, при дисбактериозе за счёт потери иммунной толерантности нарушается барьерная функция эпителия кишечника [117; р. 556 – 604].

По составу бактерии кишечной микробиоты разнообразны. Имеются 2 группы микробов по местоположению: пристеночные бактерии и полостные. При этом пристеночных бактерий в 6 раз больше, чем полостных. По виду делятся на 2 группы: аэробные и анаэробные. Анаэробными являются *бактероиды*, *бифидобактерии*, *лактобактерии*, *энтерококки*, *кlostридии*, *эубактерии*. К аэробам относятся *энтерококки*, *стафилококки*, *стрептококки* [142; р. 1823-1836].

Пристеночные бактерии имеют сходство с тканью кишечника, это дает возможность выделения гелеобразной структуры, где бактерии располагаются в строгой последовательности [56; Р. 38-41]. В результате данная структура становится защитной оболочкой между кишечником и организмом. Соединяющей структурой в этой связи считается гликокаликс — надмембранный комплекс, принимающий участие в образовании контактов между клетками. В нем скапливаются бактерии и их метаболиты, которые

впоследствии создают микроколонии. Таким путем вышеописанная система помогает создать барьерную функцию кишечника, не пропуская токсины в организм [47; с. 98-111].

Разнообразие семейств бактерий в кишечной микрофлоре имеет положительный эффект для организма. При скудной микрофлоре кишечника развиваются заболевания различного генеза, включая нейродегенеративные заболевания.

Также на разнообразие микрофлоры имеют влияние такие факторы, как родоразрешение, вскармливание, заболеваемость, прием лекарств, рацион питания, условия жизни [67; Р. 398–408].

§ 1.3. Короткоцепочечные жирные кислоты и их влияние на нервную систему. Клинико-неврологические аспекты

Основной продукт микробиоты кишечника считается ценным ресурсом для организма. Продукт кишечной микрофлоры, метаболиты, являются очень важным компонентом в сохранении гомеостаза кишечника и организма. Благодаря этим соединениям в организме происходит масса процессов, которые влияют на наше настроение, мозг, противовоспалительные реакции, иммунитет.

Самые важные короткоцепочечные жирные кислоты: уксусная, пропионовая и масляная кислоты.

Уксусная кислота (CH_3COOH) вырабатывается всеми полезными бактериями. Влияет на pH и моторно-секреторную функцию кишечника. Так как ацетат участвует в контроле pH, имеет бактерицидное действие для патогенных микроорганизмов, а также считается энергетическим субстратом для мышечной ткани, головного мозга, почек [2; С.13-50].

Накопление уксусной кислоты в гипоталамусе вызывает чувство сытости. Этим объясняется наша потребность в хлебобулочных изделиях, которые увеличивают концентрацию уксусной кислоты в крови и накапливаются в гипоталамусе. Этот факт показывает, что уксусная кислота

может проникать в самые глубинные структуры головного мозга [147; V. 10.62].

Пропионовую кислоту (CH₃CH₂COOH) вырабатывают факультативные анаэробные бактерии рода *Propionobacter*. Данная кислота имеет антибактериальный эффект, энергетический субстрат эпителиальной ткани, участвует в гликонеогенезе, является регулятором в процессе пролиферации, поддержания ионного обмена. Одной из важных её функций является регулирование липидного обмена, ингибирование фермента ацетил-КоА-карбоксилазы, который снижает синтез жирных кислот [89; P. 817–829].

Также пропионовая кислота участвует в синтезе нейромедиаторов сератонина и эндорфинов [91; с. 142-150].

Благодаря противовоспалительной и липид-регуляторным функциям пропионовая кислота используется в производстве лекарств ибупрофен, феноболлин [97; P. 146-150].

Масляная кислота (C₃H₇COOH) - самая многофункциональная среди всех КЦЖК. Одной из важных её функций является обеспечение энергией энтероцитов до 70%. Она стимулирует рост и пролиферативные процессы кишечных клеток. Этот метаболит вырабатывает ряд таких бактерий, как *Acidaminococcus*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Eubacterium*, *Lachnospira*, *Butyrivibrio (polar flagella)*, *Gemmiger*, *Coprococcus*, *Fusobacterium* [71; P. 153-161]. Бутират в организме синтезируется в основном бактериями. Из-за неприятного запаха и горького специфического вкуса его почти не используют в пищевой промышленности. Он участвует в барьерной функции кишечника, предотвращает рак толстой кишки, повышает митохондриальную активность, повышает чувствительность к инсулину, оказывает противовоспалительный эффект, тормозящее действие на окислительный стресс [93; P. 2027-2034]. Одной из самых ценных функций бутирата считается его участие в продукции BDNF и нейрогенезе.

В клинике при нехватке этих метаболитов больных беспокоят снижение памяти, метаболические изменения, снижение настроения и др. [95; P. 30-35].

§ 1.4. Причины развития ХИМ при нарушении микробиоты кишечника

По статистике самыми распространенными причинами деменции являются болезнь Альцгеймера (БА) (в 60-70%) с гипотезой отложения бета-амилоидных белков в нейронах и сосудистая деменция (в 17-20%), вызванная атеросклерозом магистральных сосудов головного мозга. Часто оба заболевания встречаются вместе, провоцируя мощную агрессию процесса. При изучении микробиоты кишечника пациентов с БА был обнаружен рост патогенных видов бактерий по сравнению с контрольной группой больных [114; Р. 683-697].

По наблюдениям и клиническим исследованиям, дисбактериоз у стареющих лиц приводит к развитию нейродегенерации, повышению секреции амилоида и липополисахаридов. В результате нарушается проницаемость слизистой желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), начинается нейровоспаление, повреждение нейронов с последующей их гибелью. В научной работе Kaur G. *Dysregulation of the Gut-Brain Axis, Dysbiosis and Influence of Numerous Factors on Gut Microbiota Associated Parkinson's Disease* (2021) демонстрируется, как кишечная микробиота влияет на метаболизм головного мозга и может быть основой для развития БА. Приводятся примеры и другими авторами, насколько качество нашего здоровья зависит от пищи [120; Р. 187-197].

Группа польских учёных утверждает, что БА начинается именно с нарушения связи кишечник – мозг, передвигая теорию амилоидного каскада на последний план [127; а.п. 118627]. Вследствие дисбаланса микробов в кишечнике разрушается эпителиальный барьер. Из-за повышенной проницаемости отмечается инвазия различных бактерий, вирусов и их нейроактивных продуктов, поддерживающих нейровоспалительные реакции в

головном мозге. Длительность данного процесса может составить несколько лет до возникновения БА [128; P. 1252-1266].

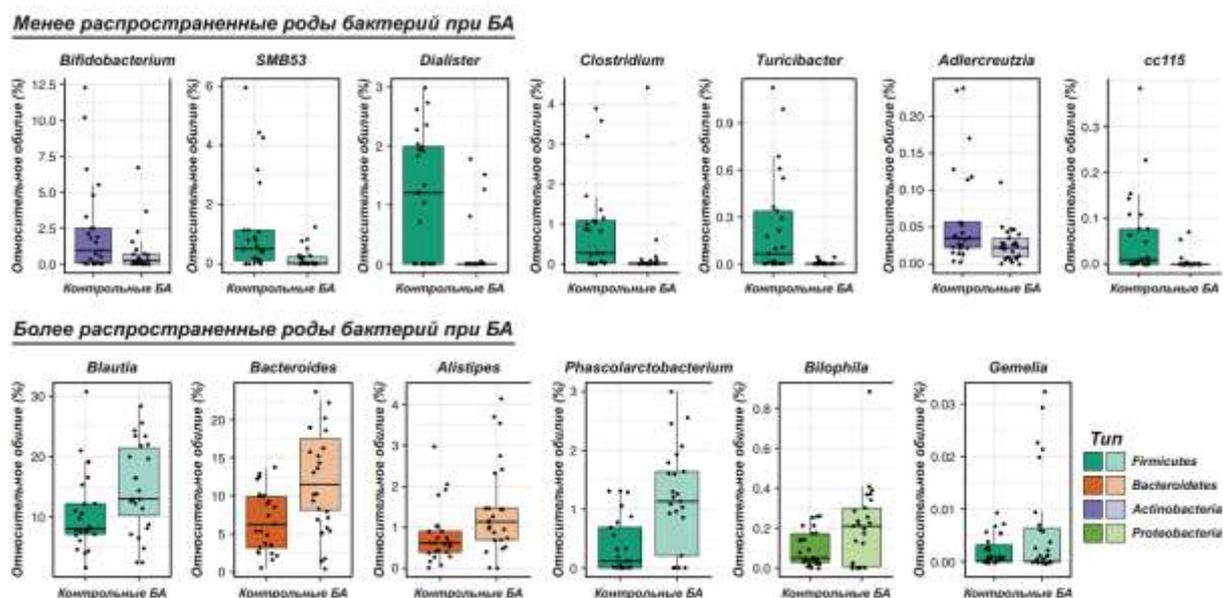


Рис. 1.1. Сравнительный график представителей кишечной микробиоты контрольной группы и кишечной микробиоты при БА [135; P.1841-1851,].

Повышенная проницаемость эпителиальных клеток связана с Toll-подобными рецепторами 4 (TLR4). Результатом дисбиоза является нарушение эпителиального барьера, запускается TNF- α сигнальный путь и активация TLR4. Далее активируется TNF- α (tumor necrosis factor) и противовоспалительные цитокины. Таким образом, происходит активация воспалительного процесса с вовлечением нервной системы, проникая в ЦНС через ГЭБ [119; a.n. 190].

Так, в продолжении данной работы был проведён эксперимент с мышами для доказательства гипотезы нейровоспаления через путь TLR4/TNF- α . Мышам C57BL/6 были введены фекалии мышей с болезнью Паркинсона, (БП) в результате чего у мышей C57BL/6 появились двигательные нарушения и снижение уровня дофамина со снижением нейротрансмиттеров в полосатом теле [94; a. n. 1245]. Отмечался дисбактериоз с преобладанием бактерий типа Proteobacteria, Turicibacterales и Enterobacteriales, со снижением типа Firmicutes и порядок Clostridiales. Далее этим же мышам была произведена

трансплантация фекальной микробиоты, что значительно улучшило состояние мышей. Дисбиоз уменьшился, показатели дофамина увеличились, снизилась активация микроглии и астроцитов в чёрной субстанции, снизились компоненты, экспрессирующие сигнальный путь TLR4/TNF- α в кишечнике и в головном мозге [150; 1123-34].

Еще один аргумент в пользу кишечной микробиоты, при нарушенной проницаемости из углеводов бактерии образуют нейротоксичный D-лактат. Так же из мочевины с помощью бактериальных уреаз вырабатывается аммиак. Аммиак опасен тем, что проникает через ГЭБ и тормозит синтез серотонина и дофамина [129; P. 891-910].

КЦЖК, вырабатываемые нормальной микробиотой, участвуют в созревании микроглии. Исследования, проведенные на мышах, имеющих дефект рецепторов к КЦЖК, обнаружилось нарушение созревания микроглии в ЦНС [140; P. 48-60].

Так же было выявлено, что некоторые бактерии микробиоты вырабатывают такие нейротрансмиттеры, как серотонин, ацетилхолин, гамма-аминомасляная кислота, норадреналин, мелатонин, глутамин [82; P. 965-977].

Так серотонин, продуцируемый микробиотой, регулирует перистальтику кишечника, участвует в восприятии боли посредством спинальных афферентных нейронов, влияет на настроение и аппетит человека. Тогда как ГАМК напротив является стрессовым медиатором. Снижение уровня ГАМК сопровождается тревожным синдромом и повышенной возбудимостью [38; С. 247-256].

Обследуя пациентов с ХИМ, мы мало обращаем внимание на жалобы больного, связанные с состоянием ЖКТ. У многих таких больных имеются проблемы с пищеварением. Бывают случаи, когда больной сам забывает указать такие жалобы, как частые запоры или частый стул. Нерегулярные опорожнения кишечника приводят к уменьшению видов полезных микробов в организме. Уменьшение популяции бактерий снижает выработку КЦЖК. На фоне дефицита концентрации КЦЖК меняется рН в кишечнике, что дает

возможность размножению патогенной микрофлоры. Следствием является размножение патогенной микрофлоры, которая продуцирует метаболиты, нарушающие эпителиальный барьер, запускающие выработку таких противовоспалительных компонентов, как TNF альфа, IL-1 и IL-6 иммунные реакции [89; P. 817–829]. Так как функции кишечника связаны непосредственно с ЦНС через иннервацию блуждающего нерва, неизбежен процесс нейровоспаления. Таким образом, можно представить только один путь, приводящий к нарушению когнитивных функций [49; С. 44-50].

§1.4.1. Окислительный стресс и теория начала воспаления

Окислительный стресс — это повреждение клетки вследствие окисления [70; NCT04513015]. Процесс окисления нарушается при дисбалансе активных форм кислорода, что подвергает клетку влиянию такими окислительными интермедиаторами, как супероксидный радикал кислорода O_2 , гидроксидный радикал (ОН), перекись водорода H_2O_2 . Подобные радикалы повреждают компоненты клетки и ДНК. Таким образом окислительный стресс выводит из строя передачи сигнала клеткой [129; P. 891-910].

Научные исследования показали, что у пациентов с метаболическим синдромом, имеющих дисбиоз кишечника, вследствие изменения состава пристеночных микробов, отмечался окислительный стресс, о чем свидетельствует повышенный уровень малонового диальдегида в плазме крови и 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина в моче, с уменьшением витамина Е и цинка в крови [55; с. 23-29].

Все заболевания кишечника, такие как болезнь Крона, язвенный колит, в основе имеют воспалительный генез и патогенез. Во всем мире растет число заболеваний кишечника. Есть предположение, что дисбаланс окислительного стресса участвует в возникновении воспалительных заболеваний кишечника.

Воспаление сопровождается тяжелыми симптомами, которые часто требуют госпитализации, хирургических вмешательств [67; P. 398-408].

Есть теория, что окислительный стресс составляет основу развития нейродегенеративных заболеваний. В их число входят БА, БАС, болезнь Паркинсона, хорей, Хантингтона. К такому выводу привели такие косвенные доказательства, как обнаружение биомаркеров активных форм кислорода и азота. Вследствие повышения этих биомаркеров наблюдается осаждение их в митохондрии [123; Р. 631-641]. Нарушается митохондриальное дыхание, что вызывает вышеупомянутые нейродегенеративные заболевания.

Окислительный стресс является одной из важных причин формирования атеросклеротической бляшки. Окисление липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) в эндотелии сосудов и является патогенетическим моментом в формировании бляшек. Выявлена корреляция между азотным оксидом ОН и окисленным аполипопротеидом в ЛПНП у лиц, страдающих ишемической болезнью сердца (ИБС) и инфарктом миокарда (ИМ) [124; Р. 660-672].

Имеется множество факторов при развитии ХИМ. К примеру, по наблюдениям учёных из США, COVID-19 тяжело протекал в основном у пожилых и у людей, независимо от возраста имевших такой метаболический синдром, как ожирение, диабет. В исследованиях обнаружили необычную микробиоту кишечника среди этих групп людей [27; с. 40-48].

§ 1.4.2. Кишечно-мозговая ось: роль дисбиоза кишечника в когнитивных нарушениях

При заболеваниях желудочно-кишечного тракта нарушается нормальная микробиота кишечника. Как ранее упоминалось, микробиота кишечника — это целая экосистема, непосредственно участвующая во многих физиологических и патофизиологических процессах. При нехватке в организме полезных микробов нарушается естественный гомеостаз кишечника. Кишечник имеет свою защитную систему благодаря продуктам жизнедеятельности микроорганизмов, составляющих нормальную микрофлору. Такие метаболиты, как масляная кислота, обеспечивают естественный гомеостаз микробиоты [116; Р. 9-27]. Бутират создает неблагоприятную среду для размножения токсических и вредных

микроорганизмов. Но по различным причинам нехватки семей бактерий, продуцирующих данную кислоту, нарушается барьерная функция энтероцита, что вызывает множество воспалительных процессов цепного характера. Одним из важнейших их них считается нейровоспаление [105; P. 7152-7161].

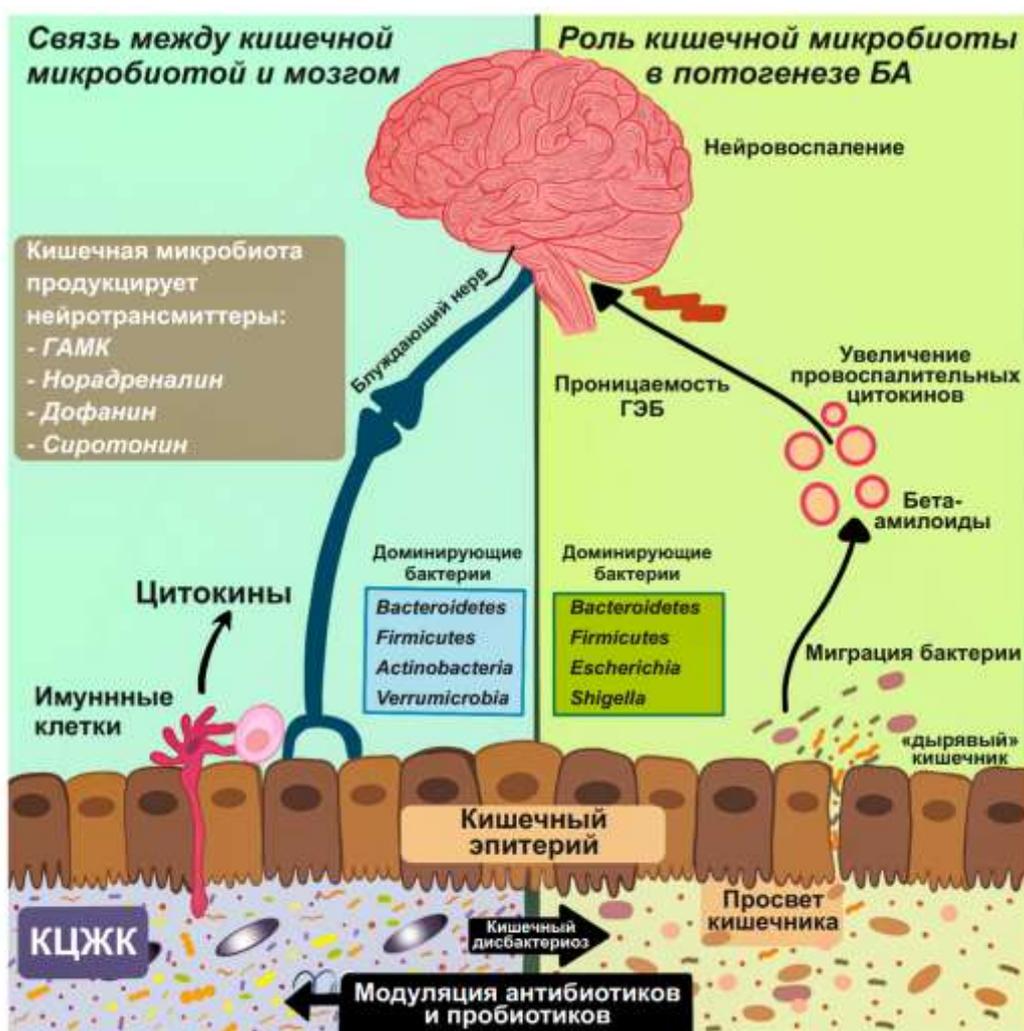


Рис. 1.2. Схема сравнительного действия кишечной микрофлоры на нервную систему при нормальной микробиоте и при дисбиозе [145; P. A.n. 13537].

При БА патологическим началом является накопление Аβ в микроглии. Накапливаются эти амилоиды за счет запуска противовоспалительного механизма. Микроглия активируется, происходит миграция и фагоцитоз Аβ, затем активируются противовоспалительные факторы, индуцированный

оксид азота (iNOS), фактор некроза опухоли – α (TNF- α), интерлейкин -1 и интерлейкин – 6 [38; с. 247-256].

В процесс вовлекаются астроциты. К сведению, астроциты имеют в 5 раз больше клеток, чем нейроны ЦНС. Их основная функция заключается в контроле перфузии крови в головном мозге, поддержание целостности ГЭБ, траффика нейронов. Морфологически при БА можно увидеть скопление астроцитарных клеток вокруг амилоидных бляшек. Сверхэкспрессия цитокинов, таких как IL-1 β и IL-6, вызывает окислительный стресс [150; A.n. 1123-34].

В научных работах, посвященных причинам возникновения БА, начали упоминать о возможном влиянии микробиоты кишечника. Вследствие дисбактериоза нарушается проницаемость кишечника, липополисахариды и бактериальные амилоиды, синтезируемые микроорганизмами, могут, задействовав иммунитет, спровоцировать нейровоспаление в головном мозге [107; A.n. 10169735].

Липополисахариды и бактериальные амилоиды, синтезируемые патогенной кишечной микробиотой, могут запускать иммунные клетки, находящиеся в головном мозге, и активировать иммунный ответ, приводящий к нейровоспалению. Растущее число экспериментальных и клинических данных указывают на заметную роль дисбактериоза кишечника и взаимодействия микробиоты с хозяином при БА [101; A. n. 469]. Это, в свою очередь, является осложнением воспалительного процесса на уровне кишечника. Последствие нарушенной проницаемости в кишечнике - повреждение естественного барьера, преграждающего поступление в организм токсических веществ [154; P. 23-35].

В научном исследовании было изучено влияние КЦЖК на БА. Мышам APP/PS1 вводили внутрь желудка уксусную кислоту в течении 4-х недель. Оценка эффекта производилась по параметрам когнитивной функции и активации микроглии. По результатам исследования, уксусная кислота снижала когнитивные дисфункции у мышей APP/PS1 путем снижения

нейровоспалительных цитокинов ЦОГ-2, интерлейкин – 1 β , JNK, NF- κ B. Использование уксусной кислоты рассматривается как альтернативная терапия, подавляющая нейровоспаление при болезни Альцгеймера [93; P. 2027-2034].

Сильная связь между риском развития болезни Альцгеймера и генами, участвующими в процессинге липидов, такими, как аполипопротеин E4 (APO ϵ 4) [114; P. 683-697] предполагает, что измененный метаболизм липидов может быть критическим фактором, ведущим к возникновению и прогрессированию заболевания. Анализы липидного состава мозга и крови выявили изменения определенных типов липидов при БА. Эти результаты в сочетании с нарушением поглощения и использования мозгом глюкозы, необходимого энергетического субстрата в мозге, послужили основанием для исследования терапевтического потенциала метаболических вмешательств на основе жирных кислот для восстановления функции мозга. Липидный профиль мозга может напрямую зависеть от приема жирных кислот с пищей, а микробиота кишечника служить источником полезных липидов, особенно короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК), которые могут играть роль в улучшении когнитивных функций [134; P. 299-314].

§ 1.4.3. Роль нарушенной микробиоты кишечника в развитии атеросклероза сосудов

В патогенезе сосудистой деменции главным считается атеросклероз сосудов, в основе развития которого лежит непрерывная воспалительная реакция. Эта цепочка событий, происходящих в организме ежедневно, мультифакториальна. Действия многих патогенных факторов объединяются, когда начинается процесс воспаления. Таким образом, на сегодняшний день атеросклероз считается воспалительным заболеванием.

Ингибция воспалительных цитокинов. На примере эту сложную систему можно представить так. Отложение липопротеида в интиме, окисление или неферментативное гликозирование липопротеида, появление липидного пятна за счет миграции лимфоцитов, адгезия лейкоцитов и местные

воспалительные процессы образуют бляшки [141; P. 528-535]. Таким образом, воспаление преобладает во всех звеньях патогенеза развития атеросклероза. Данная диссертационная работа акцентируется на воспалительном этапе.

Исследовательские данные показывают, что при адгезии ЛПНП в интима сосудов индуцируется иммунитет с миграцией макрофагов, хемокинов, клеток Т-хелперов в очаг. В итоге Т-хелперы, секретировав клетки Th1-типа, стимулируют противовоспалительные интерлейкины IL-12 и IL-18 на локальном уровне, тем самым дав начало образованию атеросклеротических бляшек. Интенсивная воспалительная реакция, имеющая продолжительный характер, может привести к локальному протеолизу, в итоге приводящему к разрыву атеросклеротической бляшки, далее происходит тромбирование сосуда с последующим инфарктом сердца и головного мозга [90; P. 1054-1062].

В исследовании на мышах при дефиците рецепторов ЛПНП (LDLr) животным вводили 5 раз вакцину IL-12 PADRE с интервалом в 2 недели. Через 2 недели осуществлялась блокада выработки IL-12. В результате по сравнению с контрольной группой мышей, которые имели холестерин в сыворотке, вакцинация привела к снижению атерогенеза на 68,5%; $P < 0,01$, а также к снижению соотношения интима/медиа (66,7%; $P < 0,01$) и степени стеноза (57,8%; $P < 0,01$) [133; P. 2370-2622].

Интерлейкин IL-12 - один из основных компонентов развития атеросклеротических бляшек и протеолиза. Антагонистом IL-12 является интерлейкин IL-10. Стимуляция IL-10 снижает продукцию IL-12.

В лабораторных условиях было выявлено, что интерлейкин IL-10 подавляет выработку IL-12. Интерлейкин IL-10 находится в моноцитах, при стимуляции воспалительными цитокинами высвобождаются противовоспалительные цитокины IL-10, IL-4 [102; A.n. 102611].

Установлено, что бутират ингибирует продукцию IL-12, препятствуя накоплению мРНК IL-12p35 и IL-12p40, которые стимулируют продукцию IL-12.

Бутират индуцирует В-клетки плазмы, которые в свою очередь увеличивают выработку IL -10. Таким образом, IL -10 снижает выработку IL -12, который стимулирует воспаление в сосудистой стенке.

§1.5. Мозговой нейротрофический фактор BDNF и ХИМ

Нейротрофический фактор BDNF считается важным белком, который стимулирует рост нейронов. Также при повреждении нервных клеток поддерживает регенерацию клеток и нейропластичность. Участвует в процессах обучения и запоминания. В основном вырабатывается в эндоплазмическом ретикулуме. Нехватка этого фактора сопровождается снижением долгосрочной памяти.

В основе патогенеза ишемии головного мозга лежит нарушение мозгового кровообращения. Снижение перфузии в нервных клетках сопровождается разрушением клетки, вследствие чего запускается каскадная система: сначала гипоксия клетки, снижение нейропластичности с последующим апоптозом. В клинике главным симптомом считаются когнитивные нарушения. Развитие когнитивных расстройств напрямую связано с такими нейротрофическими факторами, как BDNF-фактор [95; P. 30-35].

В патогенезе ХИМ также важную роль играют артериальная гипертензия, атеросклероз сосудов, которые вызывают нарушения кровотока в головном мозге. Артериальная гипертензия вызывает наиболее выраженное снижение выработки нейротрофических факторов, чем атеросклероз сосудов головного мозга [112; P. 1517-1527].

При ишемии головного мозга BDNF-фактор модулирует нейрозащиту, выступает против апоптоза нервных клеток, ускоряет регенерацию поврежденной клетки, участвует в ангиогенезе [139; а. п. 313].

§ 1.5.1. Мозговой нейротрофический фактор BDNF и кишечные метаболиты КЦЖК

BDNF - нейротрофический фактор, отвечающий за выживание новых нейронов, способствует нейропластичности и, как ранее упомянуто,

обеспечивает долгосрочную память. На это указывает наличие BDNF в высоких концентрациях в коре, гиппокампе, переднем мозге, в центрах, где расположена долговременная память.

Есть данные, показывающие связь КЦЖК и BDNF. В норме КЦЖК, а именно масляная кислота, усиливает выработку BDNF. В этом процессе важную роль играет экспрессия генов BDNF. Работа механизма заключается в экспрессии ДНК, которая зависит от ацетилирования или деацетилирования гистонов. Гистондеацетилаза (HDAC) - фермент, который удаляет ацетиловые группы, т.е. он становится ингибитором экспрессии ДНК [78; p. 2485-2493].

HDAC является главным противовоспалительным ферментом, удаляет ацетильные (O=C-CH) группы из аминокислот на гистоне. Тем самым гистоны оборачиваются вокруг ДНК, создавая более плотную связь, которая тормозит экспрессию гена и останавливает процесс выработки всех важных соединений [150; a.n. 1123-34].

Одним из важнейших процессов выработки таких соединений, который тормозит HDAC, является экспрессия гена BDNF. Это значит повышенная концентрация HDAC противоположно действует на концентрацию BDNF [78; P. 2485-2493].

Гистондеацетилаза (HDAC) в основном находится в ядре или в цитоплазме, имеет множество классов. Масляная кислота в нормальных концентрациях снижает выработку HDAC, в частности, HDAC1, HDAC2, HDAC3 и HDAC8 [78; P. 2485-2493, 136; p. 192-198].

HDAC2 ингибирует экспрессию ДНК гена BDNF. В результате снижается выработка BDNF.

При изучении отрицательно действующих факторов черепно-мозговой травмы была определена в спинномозговой жидкости повышенная концентрация HDAC2, тогда как через неделю уровень BDNF резко упал. Результаты привели к выводу, что ингибирование HDAC увеличивает экспрессию нейротрофических факторов и способствует восстановлению после ЧМТ [73; P. 167-176].

КЖЦК принадлежат к классу алифатических кислот, кроме масляной кислоты, пропионовая и валериановая кислота могут ингибировать выработку HDAC. Но масляная кислота имеет ингибирующий эффект до 80%, самый высокий показатель среди всех метаболитов микробиоты [136; P. 192-198].

Представители КЖЦК метилуксусная кислота, вальпроевая кислота улучшают транскрипцию ядерных рецепторов гормонов, таких как эстроген, прогестин. Пропионат и бутират способствуют апоптозу нейтрофилов, ингибируя HDAC и путем остановки передачи сигналов Toll подобным рецепторам [92; P. 203].

§ 1.6. Новые аспекты программы лечения ХИМ

Ученые пришли к выводу, что КЦЖК оказывает регулирующее действие на A β и белок тау. Ацетат и бутират оказывают положительное влияние на БА [128; P. 1252-1266].

Назначение пероральным путем бутирата натрия снижало уровень A β у мышей 5xFAD в ранней прогрессии заболевания [146; P. 1-10].

Но на поздних стадиях заболевания введение пропионовой кислоты и бутирата натрия в боковые желудочки мышей APP/PS1-21 не снижало A β и агрессию заболевания. На основе этих данных можно предположить, что они предотвращают агрегацию мономерного A β , который является более нейротоксичным олигомером A β . Так, пропионовая, масляная и валериановая кислоты ингибируют агрегацию как мономера A β ₁₋₄₀, так и A β ₁₋₄₂ в олигомеры A β и фибриллы A β [148; P. 91-99].

Также бутират натрия модулирует уровни активных форм кислорода, которые вызывают оксидативный стресс, в последующем накапливающий Аβ.

В последние годы на основе научных работ, посвященных нарушению кишечной микробиоты, разработаны диагностические алгоритмы, персонально изучающие состав микрофлоры кишечника. С помощью посева кала бактериологическими методами, ПЦР диагностики и др. изучают микрофлору для составления плана лечения основного заболевания пациентов, таких как БА, болезнь Паркинсона, нейродегенеративных заболеваний. Течение и тяжесть данных заболеваний зависит от состава кишечной микробиоты.

Таким образом, в практике лечения больных с неврологическими заболеваниями начали ставить цель - изучение состава микрофлоры кишечника и их метаболитов. Начали широко распространяться методы, направленные на улучшение микробиоты кишечника. Чаще назначают пробиотики, пребиотики и метаболиты кишечной микробиоты.

Резюмируя общую информацию, целью нашей научной работы явились изучение влияния кишечной микробиоты на когнитивную сферу, как и какими путями микробиота кишечника действует на память, оценка необходимости учитывать нормальную микробиоту при лечении ХИМ и когнитивных расстройств.

ГЛАВА II. Материалы и методы исследования

§ 2.1. Характеристика обследованных больных

В нашей исследовательской работе участвовали 123 больных с диагнозом ХИМ без нарушения микробиоты кишечника и с нарушениями микробиоты. Исследование проводилось в Многопрофильной клинике Центра развития профессиональной квалификации медицинских работников в отделениях неврологии, реабилитации неврологических заболеваний, проктологии в период с 2021 по 2022 год. У всех больных проводились неврологические обследования с использованием когнитивных шкал, а также изучение жалоб, указывающих на дисбактериоз кишечника. Больные были распределены в следующем порядке: сравнительная группа 35 пациентов (28,5%) и основная группа пациентов 88 больных. (71,5%). (см. табл. 2.1) Далее выделены группы пациентов с проктологическими заболеваниями (20 больных) и больные сахарным диабетом (19 пациентов) (рис. 2.1.). Средний возраст исследуемых в сравнительной группе $63,7 \pm 1,0$ лет (с 46 по 85 лет), из них женщины – 23 (65,7%) их средний возраст $64,6 \pm 1,5$ лет (с 51 по 85 лет), мужчины – 12 (34,3%) их средний возраст $62,0 \pm 2,2$ лет (с 46 по 72 лет) . Вторая группа является основной, показывающей результаты новизны нашей исследовательской работы, состоит из 88 больных, которые имеют ХИМ с нарушением микробиоты кишечника. Средний возраст обследуемых $64,9 \pm 1,1$ лет (с 45 по 84 года), из которых женщины – 41 (46,6%) и мужчины – 47 (53,4%), средний возраст женщин составляет $65,7 \pm 0,95$ лет (с 45 по 84 лет) и средний возраст мужчин $63,9 \pm 0,7$ лет (с 46 по 80 лет).

При отборе учитывались возраст, наличие жалоб на запоры или наоборот частый стул, сопутствующие заболевания (сахарный диабет, заболевания ЖКТ, заболевания щитовидной железы, проктологические заболевания).

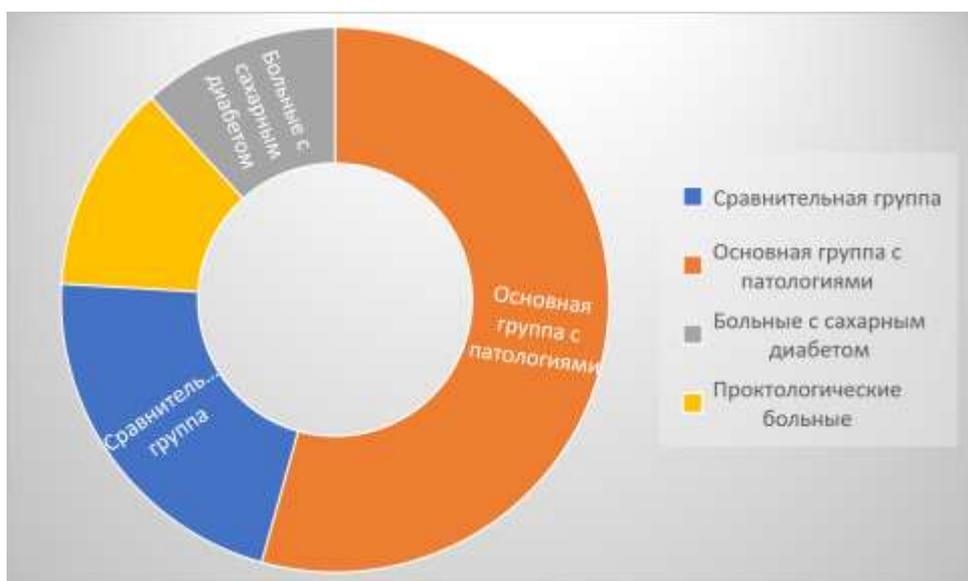


Рисунок 2.1. Распределение больных по группам

§ 2.2. Структура исследования

Исследование проводилось в несколько этапов. Первый этап - определение субъективных данных, тщательный сбор анамнеза, жалоб пациентов. Все больные находились в стационарном лечении в Многопрофильной клинике Центра развития профессиональной квалификации медицинских работников г. Ташкента в отделениях неврологии, проктологии.

Второй этап включал исследование объективных данных; клиничко-неврологическое исследование, оценка результатов когнитивных функций с помощью тестов SAGE, MoCA, MMSE, теста «рисования часов», лабораторные данные: определение уровня нейротрофического фактора BDNF в крови с помощью ИФА метода, определение уровня короткоцепочечных жирных кислот: уксусной кислоты и масляной кислоты в крови методом масс-спектропии. Для изучения микробиоты кишечника нами выбрано определение уровня выделяемых метаболитов при нормальной микробиоте кишечника. Так как связи с трудностями выбора метода определяя разновидность микробов в кишечнике. Мы решили определить уровень метаболитов которые выделяются разными видами бактерий и посредственно показывают наличие нормальной микрофлоры. Ради этой цели мы выбрали

метод масс спектроскопии который может показать точный уровень метаболитов кишечной микробиоты. Среди метаболитов кишечной микробиоты нами выбрано представители из короткоцепочечных жирных кислот уксусная кислота и масляная кислота. Потому что от количественного уровня этих кислот, зависят процессы нейровоспаление, выделение нейротрофического фактора BDNF. При низких уровнях уксусной и масляных кислот, у исследуемых считалось, что в микробиоте кишечника не имеются в нужном количестве полезные микробы, которые выделяют эти короткоцепочечные жирные кислоты.

Последний этап исследования состоял из статистической обработки результатов всех анализов и данных (см. рис 2.1.).

Диагноз ХИМ устанавливался по критериям, основывающимся на классификации Е.В. Шмидта, предложенной в 1985 году под названием «Дисциркуляторная энцефалопатия». Согласно по классификации МКБ-10 код I 67,8. Больные распределены по данной классификации на 2 группы. Для изучения начальных проявлений когнитивных нарушений в исследовании участвовали больные с ХИМ 1 стадии и ХИМ 2 стадии.

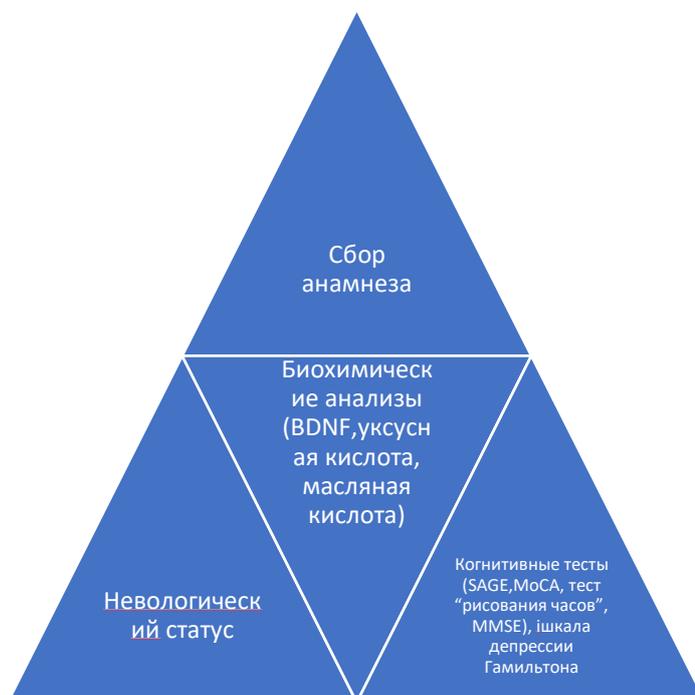


Рисунок 2.1 Структура исследования

§ 2.3. Распределение больных в зависимости от патологии

Исследуемые были разделены на две основные группы:

- I группа больные ХИМ без нарушения микробиоты кишечника;
- II группа ХИМ с нарушениями микробиоты кишечника. (см. табл. 2.1).

Таблица 2.1.

Распределение больных по группам в зависимости от состояния микробиоты кишечника

Микробиота кишечника	n	M (%)	m	P
Без нарушения микробиоты кишечника	35	28,46	4,07	Хи-квадрат = 22,837; p = 0,000
С нарушением микробиоты кишечника	88	71,54	4,07	
Всего	123	100,00	0,00	

Группа больных без нарушения микробиоты кишечника и с нарушением микробиоты кишечника делились на подгруппы по стадии ХИМ. В исследовании участвовали пациенты с хронической ишемией мозга 1 и 2 стадии. Каждая группа подразделена на две подгруппы в зависимости от стадии заболевания:

- ХИМ I стадия
- ХИМ II стадия. (см. табл. 2.2)

В группе больных без нарушения микробиоты кишечника 35 больных, которые делились в зависимости от стадии заболевания ХИМ I и ХИМ II. В первой подгруппе 12 больных во второй 23 больных (см. табл. 2.2). Так же группа больных с нарушением микробиоты кишечника делилась на две подгруппы первая ХИМ I 17 больных и вторая с ХИМ II 71 больных.

К I.1 подгруппе было отнесено 12 (9,75%) больных с ХИМ 1 стадии без нарушения микробиоты кишечника, к I.2 подгруппе - 23 (18,69%) больных с ХИМ II без нарушения микробиоты кишечника.

Во II.1 группу было включено 17 (13,82%) больных с ХИМ I с нарушением микробиоты кишечника, во II.2 - 71 (57,72%) больных с ХИМ II с нарушением микробиоты кишечника.(см. рис. 2.2).

Таблица 2.2.

Распределение больных по степени тяжести заболевания

Микробиота кишечника		n	M (%)	m	P
Без нарушения микробиоты кишечника	1 стадия	12	9,76	2,68	Хи-квадрат = 3,457; p = 0,063
	2 стадия	23	18,70	3,52	
С нарушением микробиоты кишечника	1 стадия	17	13,82	3,11	Хи-квадрат = 33,136; p = 0,000
	2 стадия	71	57,72	4,45	

Также отдельно были выделены больные с сахарным диабетом и проктологическими заболеваниями из основной группы для более объективной оценки влияния фактора кишечной микробиоты (см.табл.2.3). Больные с сахарным диабетом и проктологическими заболеваниями также делились на группы с нарушением микробиоты кишечника и без нарушения микробиоты кишечника.

Таблица 2.3

Распределение больных, имеющих СД и проктологические заболевания, выделенных из основного распределения

Группы	Без нарушения кишечной микробиоты	С нарушением кишечной микробиоты	M (%)	m
Больные с сахарным диабетом	4	15	48,71	2,06
Проктологические больные	3	17	51,28	2,23

Гендерное распределение больных отличалось лишь в сравнительной группе, в остальных группах было одинаковое соотношение мужчин и женщин (см. рис. 2.2.).

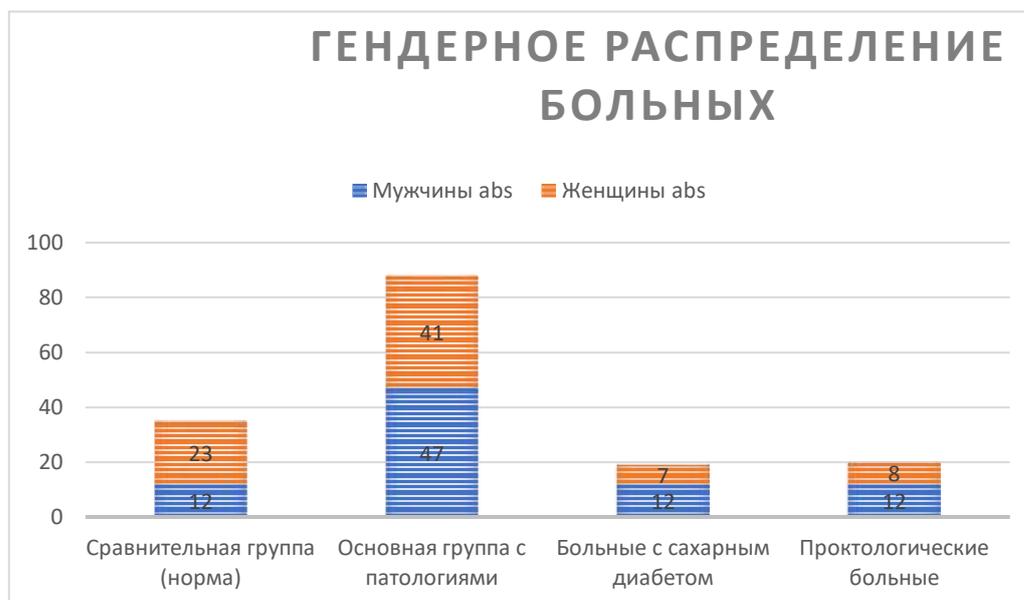


Рис. 2.2 Гендерное распределение больных

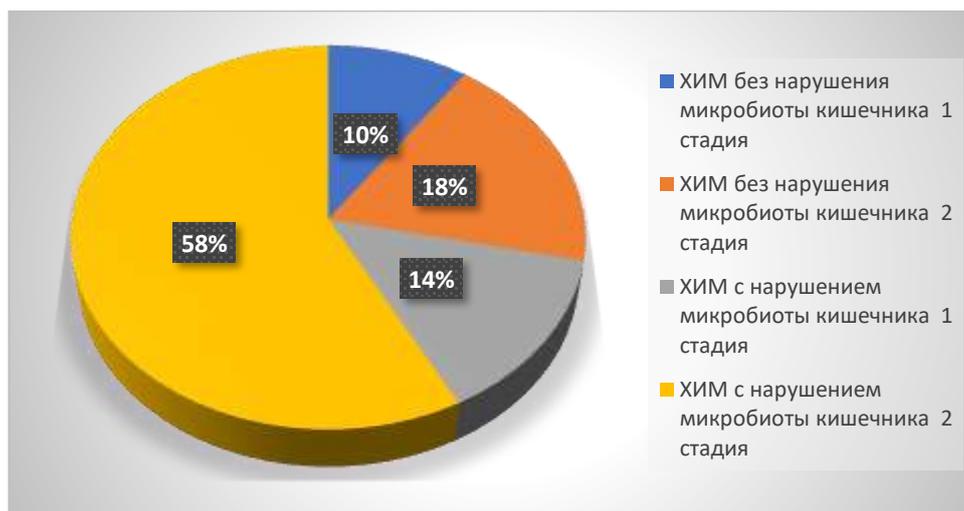


Рисунок 2.3. Процентное соотношение больных по группам.

По возрастным категориям больше всего возрастная градация среди больных ХИМ наблюдалась от 51 лет до 69 лет в обеих группах. Менее градирующий возраст начинался от 45 лет до 50 лет (см. табл. 2.2.).

Таблица 2.2.

Возрастная градация больных

Возрастная группа	Мужчины			Женщины		
	n	M(%)±m	P	n	M(%)±m	P
40-49 лет	6	10,17±3,93	Хи-квадрат = 36,847; p = 0,000	1	1,56±1,55	Хи-квадрат = 35,375; p = 0,003
50-59 лет	9	15,25±4,68		15	23,44 ±5,30	
60-69 лет	26	49,65±6,51		26	40,63±6,14	
70-79 лет	13	22,03±5,40		19	29,69 ±5,23	
80-89 лет	2	3,39±2,36		3	4,69 ±2,64	

Больные без нарушения микробиоты кишечника не имели возрастных различий по сравнению с больными основной группы.

Среди сравнительной и основной группы выделены больные с проктологическими заболеваниями и страдающие сахарным диабетом. Возрастные показатели этих групп так же не имели весомых различий (см. табл. 2.3).

Таблица 2.3

Возрастное распределение среди больных с проктологическими болезнями и сахарным диабетом

Возрастная группа	Проктологические больные			Больные с сахарным диабетом		
	n	M(%)	m	n	M(%)	m
40-49	5	25,00	9,68	1	5,26	5,12
50-59	7	35,00	10,67	2	10,53	7,04
60-69	4	20,00	8,94	9	47,37	11,45
70-79	4	20,00	8,94	7	36,84	11,07

Хи-квадрат Пирсона = 8,165; p = 0,043

§ 2.4. Методы исследования больных

Объективные данные пациентов изучены с помощью клиническо-неврологических исследований и шкал, оценивающих когнитивную деятельность. Для оценки когнитивной функции пациентов были проведены нейропсихологические исследования с использованием тестов и шкал: SAGE (Self Administrated Gerocognitive Exam), Монреальской шкалы оценки когнитивных функций (Montreal Cognitive Assessment - MoCA), Краткой шкалы оценки психического статуса (Mini-Mental State Examination, MMSE), теста «рисования часов» и шкалы определения депрессии Гамильтона.

§2.5. Лабораторные методы исследования

В лабораторные исследования включались общий анализ крови, общий анализ мочи, биохимическое исследование крови, коагулограмма для исключения иного рода патологий. Так же у исследуемых проверяли наличие дисбактериоза с помощью бактериологического исследования кала на дисбактериоз.

Специфическим лабораторным исследованием, на котором основывалась данная научная работа, являлось **определение количественного содержания нейротрофических факторов: мозгового (BDNF) и уровня уксусной и масляной кислоты** в крови у обследованных больных.

§ 2.5.1. Мозговой нейротрофический фактор (BDNF)

Для определения нейротрофического фактора использовался метод иммуноферментного анализа (ИФА) по рекомендациям самого производителя, указанного в методическом пособии, имеющемся в наборе.

Данный метод содержал следующие этапы выполнения: сбор венозной крови натощак из локтевой вены в количестве 5 мл. Полученные образцы помещали в центрифугу с частотой 3000 оборотов/сек на 15 минут. Полученную сыворотку с помощью пипетки отделяли от густой массы и разливали в пробирку эппендорф, замораживали при температуре -20°C.

Разморозка образцов осуществлялась при комнатной температуре 18-25°C перед проведением анализа.

Техника проведения анализа при лабораторных условиях:

Для определения нейротрофического фактора BDNF использовался набор «e-el-h0010» фирмы Elabscience (USA) ELISA Kit, China.

Принцип тестирования

Данный набор использует принцип сэндвич-Elisa. Микропланшет покрыт антителом, специфически чувствительным к BDNF человека. Стандарты и образцы добавляют в лунки микропланшета, объединяя с антителами, постепенно добавляют биотинилированные, определяющие антитела, чувствительные к BDNF человека, конъюгируют с Avidin-Horseradish пероксидазой. Свободные соединения вымываются. Только конъюгированные компоненты окрашиваются в голубой цвет (см. рис. 2.3.).

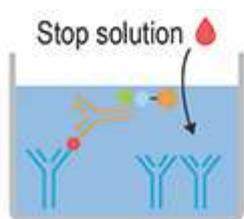


Рисунок 2.3. Конъюгированный компонент.

Добавляют стоп раствор, в результате которого цвет меняется на жёлтый (см. рис. 2.4.).

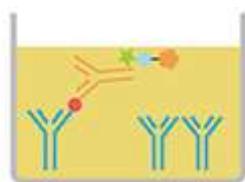


Рисунок 2.4. Результат после добавления стоп раствора.

Оптическая плотность измеряется при длине волны 450 ± 2 нм. Оптическая длина пропорциональна концентрации человеческого BDNF. Чтобы выявить результат, рассчитывают концентрацию человеческого BDNF, сравнив оптическую плотность образцов со стандартным (см. таб. 2.1.).

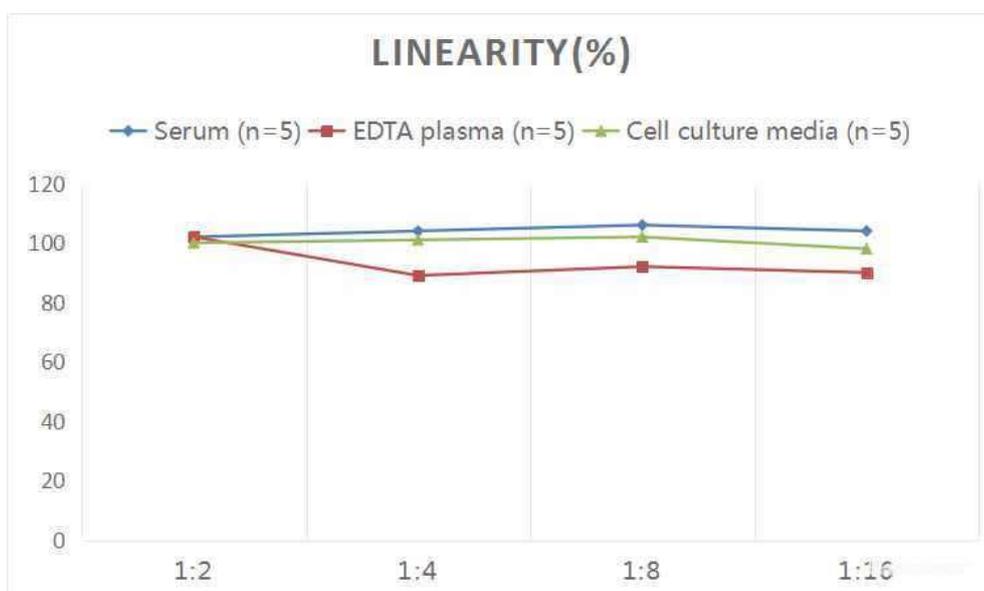
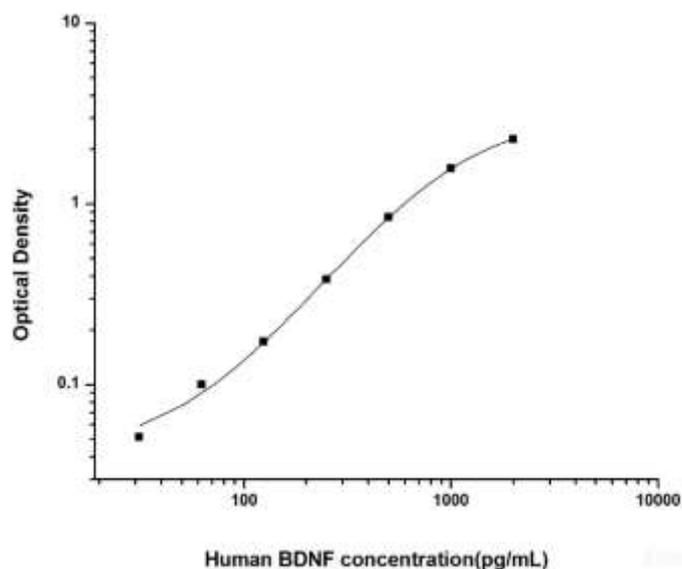


Таблица 2.1. Расчёт результатов

Технические этапы анализа:

I. Подготовительный этап реагентов

1. Подготовка стандартных проб: в течении 10 минут держали контрольный образец при комнатной температуре 0,5 мл растворителя Standard Diluent, добавленный в Standard. Концентрация стандарта составляет 2000 pg/ml. Использовали 7 пробирок для стандарта и разводили, добавляя по 500 мкг Standard Diluent в каждую пробирку. Далее разводили по принципу

постепенной добавки от предыдущей пробирки к последующей. Последнюю пробирку оставляли пустой.

2. Микропланшеты оснащены фильтрами, определяющими длину волны 450 ± 10 nm. В 30 мл промывочный буфер добавили 720 мл дистиллированной воды.

3. Готовили биотинилированный раствор, определяющий антитела. Центрифугировали концентрированный биотинилоравнный раствор, определяющий антитела, затем разбавляли растворителем в соотношении 1:99.

4. Приготовили промывочный буфер, разбавляя 720 мл дистиллированной водой 30 мл Wash Buffer.

5. Рабочий раствор распределяли по 100 мкл/лунку, центрифугируя концентрацию HRP Conjugate с HRP Conjugate Diluent в соотношении 1:99

Процесс анализа

6. Определили лунки для разведенного стандарта и одну оставляли пустой без образца. Добавили по 100 мкл стандарта в каждую лунку. Покрывали пластину герметиком, входящим в набор. Инкубировали 90 мин при температуре 37°C .

7. Сливали жидкость из лунок, не промывая. Добавляли 100 мкл биотинилированного антитела определяющего раствора в каждую лунку. Покрывали новым герметиком и инкубировали в течении 60 минут при температуре 37°C .

8. Сливали раствор из каждой лунки, добавляли по 350 мкл промывочного буфера Wash Buffer. Оставляли на 1 мин и сливали. Просушивали впитывающей бумагой, повторяли действие 3 раза.

9. На следующем этапе в каждую лунку добавляли 100 мкл раствора HRP Conjugate. Покрывали пластину новым герметиком. Оставляли на 30 мин при температуре 37°C .

10. Сливали раствор из каждой лунки, повторяли процесс 5 раз.

11. Добавляли в каждую лунку по 90 мкл реагента субстрата. Покрывали пластину новым герметиком. Оставляли на 15 минут при температуре 37°C. Жидкость в лунках становилась голубого цвета (см. рис. 2.5.).

12. Перед измерением оптической плотности разогревали микропланшет в течении 15 мин.

13. Добавляли в каждую лунку по 50 мкл стоп-раствора. Жидкость в лунках становилась жёлтого цвета (см. рис. 2.6.).

14. На последнем этапе удаляли жидкость из планшета и высушивали. Определяли оптическую плотность с помощью планшетного фотометра «Mindray MR-96A» (China), настроенного на 450 нм оптического пути.

15. Расчет фактической концентрации BDNF в сыворотке крови человека, согласно инструкции руководства набора ELISA Kit, осуществлялся умножением расчетной концентрации на коэффициент разбавления. Диапазон значений концентрации BDNF по рекомендационной инструкции от производителя составлял от 31,2 до 2000 pg/ml. [132; a.n. 655]

§ 2.5.2. Уксусная и масляная кислоты

Для проведения количественного анализа уксусной и масляной кислот в периферической крови использовался метод, имеющий наибольшую достоверность, - масс-спектрометрия. Данный метод является многоэтапным исследованием, направленным на расщепление определяемой субстанции до ионного уровня.

Техника приготовления материала к масс-спектрокопии.

Для проведения анализа необходимо выполнить следующие пункты. Провести сбор венозной крови натощак в количестве 3 мл в вакуумные пробирки с антикоагулянтом ЭДТА. Кровь собирали в пробирку согласно санитарным нормам ЛПУ. Образцы крови центрифугировали при скорости 8500 оборотов/мин в течение 10 мин при температуре 4°C. Плазму отделяли и переносили в микропробирки Eppendorf объёмом 2 мл и хранили при температуре -18°C до анализа.

1. Перед анализом 200 мкл аликвоты плазмы подкисляли 1%-ным раствором серной кислоты до pH 2-3, осуществляли экстракцию определяемых кислот изобутиловым спиртом, объем которого соотносился с объемом пробы крови как 1:1, энергично перемешивали вортексом и для отделения белков центрифугировали при скорости 5000 оборотов/мин в течение 10 мин при 4°C.

2. Затем добавляли 2-3 капли 0,4%-ного раствора щелочи и экстракт выпаривали досуха.

3. К сухому осадку последовательно добавляли 200 мкл 1%-ного раствора серной кислоты.

4. Аликвоту переносили в стеклянную виалку объемом 1,5 мл, герметизировали самоуплотняющимся уплотнителем и осуществляли хроматографическое разделение.

5. Для количественного определения уксусной и масляной кислот в крови использовали методы высокоэффективной жидкостной хроматографии ВЭЖХ-масс спектрометрии методом ESI-масс-спектрометрии (электроспрей), получали масс-спектры бутиратного (масляного) и ацетатного (уксусного) иона, используя масс-спектрометр 6420 Triple Quad LC/MS (Agilent Technologies, USA).

6. Регистрацию масс-спектров образцов проводили с негативной ионизацией. Параметры масс-спектрометра была выбраны SIM (Single ion monitoring) режимом: диапазон сканирования 87 m/z [M-H], [молекулярная масса масляной кислоты=88] и 59 m/z [M-H], [молекулярная масса уксусной кислоты]=60], напряженность фрагментора 35.0 V, расход газа осушителя 6 л/мин, температура газа 300°C, давление газа на игле распылителе 20 psi, температура испарителя 300°C, напряжение на капилляре 4000 В.

§2.6. Методы статистической обработки результатов исследования и анализа данных

Статистическую обработку полученных результатов исследования проводили с помощью стандартного пакета прикладных программ персонального компьютера Microsoft Office Excel-2007. Среднее значение (M) и ошибка среднего (m) использовались для оценки центральной тенденции и вариабельности полученных величин. Это базовые и наиболее информативные статпоказатели. Коэффициент корреляции Пирсона (r) позволил оценить силу и направление взаимосвязей между исследуемыми параметрами. Представление результатов в виде $M \pm m$ и соответствующих статистик является общепринятым в подобных исследованиях, что облегчает восприятие и сравнение полученных данных.

Критерий Манна-Уитни представляет собой непараметрический статистический метод, позволяющий оценить значимость различий между двумя несвязанными между собой выборочными совокупностями по уровням какого-либо количественного показателя, измеренного в данных совокупностях.

Для анализа взаимосвязей между показателями в различных группах использовался метод ранговой корреляции Спирмена, позволяющий оценить силу и направление монотонных зависимостей между переменными, основываясь на соответствии рангов этих переменных в выборках.

Метод основан на расчёте коэффициента корреляции между рангами (порядковыми номерами) значений двух числовых переменных, поэтому является непараметрическим. Применяется в случае нарушения нормальности распределения данных, а также для малых выборок при отсутствии явных линейных зависимостей. Позволяет выявлять любые монотонные связи - как прямые, так и обратные (а не только линейные зависимости). Величина коэффициента корреляции Спирмена интерпретируется аналогично линейному коэффициенту, указывая на направление и тесноту связи. Широко используется в медико-биологических исследованиях для установления

различных корреляций, в том числе с факторами риска и маркерами заболеваний.

ROC-кривая (Receive Operating Characteristic) - это графический метод оценки дискриминирующей способности диагностического теста путём анализа соотношений чувствительности и специфичности при различных точках отсечения. По площади под ROC-кривой судят об общей точности теста. Чем ближе площадь к 1, тем выше разделяющая сила теста между двумя состояниями, например здоровьем и болезнью. ROC-анализ часто используется для оценки качества бинарных классификаторов, например при моделировании риска заболеваний. Позволяет выбрать оптимальный классификационный порог. По горизонтальной оси ROC-кривой откладывается уровень ложноположительных результатов (1 - специфичность), а по вертикальной - уровень истинноположительных (чувствительность). Чем выше поднимается ROC-кривая к левому верхнему углу диаграммы, тем лучше отделяющая способность теста. Пороговое значение, соответствующее максимальной сумме чувствительности и специфичности, считается оптимальной рабочей точкой теста. Сравнение ROC-кривых для разных тестов allows выбрать наиболее точный из них.

ГЛАВА III. Результаты собственных клинико-неврологических, нейропсихологических и лабораторных методов исследования

§ 3.1. Клинико-неврологический анализ обследуемых пациентов

В исследовании участвовали 123 больных, среди которых 47,9% составили мужчины и 52,1% женщины. По возрастным категориям I группа: самому молодому из исследованных 46 лет, старшему - 85 лет, средний возраст исследуемых составил $63,7 \pm 1,0$ года, II группа: самому молодому 45 лет и старшему 84 года, средний возраст $64,9 \pm 1,1$ года. Так же в группе больных с проктологическими заболеваниями самый юный возраст 45 лет и старший 76 лет, в группе больных с сахарным диабетом - самому молодому 46 лет и старшему 76 лет.

По возрастным категориям: пациенты с 60 до 69 лет встречались чаще 44,58 % в сравнительной группе и 39,24% в основной группе, чем другие категории возрастов (см. табл. 3.1). В этом возрасте чаще всего заметно проявлялись неврологические дисфункции и нарушение когнитивной сферы.

§3.1.1. Субъективные данные исследуемых

Субъективные данные больных имели связь между когнитивными расстройствами и запорами частого характера. Корреляционная связь между ними составляла $r=0,9$. У пациентов, имевших длительные запоры (73,98%), отмечались и жалобы на снижение памяти (75,61%). В основной группе больных данная связь более выражена. (см. табл. 3.2)

На рисунке 3.1 изображено процентное соотношение жалоб среди сравнительной и основной группы. Можно заметить, что проценты жалоб на снижение памяти и запоры или частый стул почти на одинаковом уровне.



Рисунок 3.1 Процентное соотношение субъективных данных больных

Более развернутый вариант субъективных данных отображен на таблице 3.1. В таблице показатель субъективных данных между сравнительной группой и основной группой отличаются. Жалобы основной группы более выражены, чем в сравнительной группе. У всех пациентов в основной группе выявлены жалобы на снижение памяти, тогда как на длительные запоры жаловались 96,59%. Далее жалобы основной группы на шум в ушах у 93,18 %, повышение АД у 90,9%, нарушения сна - 76,13%, снижение настроения у 81,81% больных.

В сравнительной группе на снижение памяти жаловались 6 (17,14%) больных, на запоры и частый стул жаловались так же 6 (17,14%) больных. В сравнительной группе жалобы на головные боли 27 (77,14%), на головокружение 24 (68,57%), на шум в ушах 29 (82,85%), на повышение АД 25 (71,42%), нарушение сна 9 (25,71%), снижение настроения 6 (17,14%) больных.

Основная группа: общий процент жалоб на снижение памяти 87 (98,86%), головные боли 84 (95,45%), головокружение 72 (81,81%), запоры или частый стул 85 (96,59%), шум в ушах 82 (93,18%), повышение АД 80 (90,90%), нарушение сна 77 (76,13%), снижение настроения 72 (81,81%).

В I группе на второй стадии ХИМ процент жалоб на головные боли, головокружение, снижение памяти, повышение АД были выше, чем на первой стадии заболевания. Следовательно, во II группе также на второй стадии ХИМ проценты жалоб выше, чем в первой подгруппе. В I группе субъективные показатели меньше, чем во II группе.

Таблица 3.1.

Частота встречаемости жалоб у пациентов различных групп наблюдения

Жалобы	Без нарушения микробиоты кишечника				С нарушением микробиоты кишечника			
	ХИМ I стадия		ХИМ II стадия		ХИМ I стадия		ХИМ II стадия	
	n	M(%)±m	n	M(%)±m	n	M(%)±m	n	M(%)±m
Снижение памяти	1	8,33±7,98	5	21,74±8,60	17	100,00±0,00	70	98,59±1,40
Головные боли	10	83,33±10,76	17	73,91±9,16	16	94,12±5,71	68	95,77±1,40
Головокружение	5	41,67±14,23	19	82,61±7,90	14	82,35±9,25	58	81,69±4,59
Запоры или частый стул	2	16,67±10,76	4	17,39±7,90	16	94,12±5,71	69	97,18±1,96
Шум в ушах	9	75,00±12,50	20	86,96±7,02	14	82,35±9,25	68	95,77±2,39
Повышение АД	9	75,00±12,50	16	69,57±9,59	12	70,59±11,05	68	95,77±2,39
Нарушение сна	3	25,00±12,50	6	26,09±9,16	13	76,47±10,29	54	76,06±5,06
Снижение настроения	3	25,00±12,50	3	13,04±7,02	17	100,00±0,00	55	77,46±4,96
Всего	12	14,46±3,86	23	29,11±5,11	17	13,82±3,11	71	57,72±4,45

Примечание: Достоверность средних показателей по группам *(P<0,05)

Субъективные данные у больных с проктологическими заболеваниями и у больных с сахарным диабетом тоже показывали связь кишечной микробиоты с когнитивными функциями (см. табл. 3.2). В данном случае следует отметить,

что всем больным с проктологическими проблемами на долгое время или пожизненно назначают пробиотики и препараты, нормализующие микрофлору кишечника. В нашей научной работе участвовали больные, которые строго следовали данным рекомендациям. Возможно, за счет приема данных препаратов у этих пациентов когнитивная функция сохранилась лучше, чем у других пациентов, регулярно не принимающих пребиотики.

Таблица 3.2.

Распределение больных по субъективным данным

Жалобы	Проктологические больные			Больные с сахарным диабетом		
	n	M(%)	m	n	M(%)	m
Снижение памяти	17	85,00	7,98	16	84,21	8,37
Головные боли	18	90,00	6,71	17	89,47	7,04
Головокружение	13	65,00	10,67	15	78,95	9,35
Запоры или частый стул	20	100,00	0,00	15	78,95	9,35
Шум в ушах	16	80,00	8,94	17	89,47	7,04
Повышение АД	15	75,00	9,68	16	84,21	8,37
Нарушение сна	16	80,00	8,94	11	57,89	11,33
Снижение настроения	15	75,00	9,68	14	73,68	10,10
Всего	20			19		

Примечание: Достоверность средних показателей по группам *($P < 0,05$)

§3.1.2. Объективные данные исследуемых

Неврологический статус исследуемых по группам имел результат в следующем порядке.

При объективном исследовании пациентов в каждой группе отмечались симптомы хронической ишемии мозга: в первой группе центральный парез VII пары черепно-мозговых нервов (ЧМН) у 9 (25,71%), центральный парез XII пары ЧМН - 6 (17,14%), пирамидные нарушения у 1 (2,85%), координационные нарушения у 16 (45,71%), тазовые нарушения (0%),

симптомы оральной автоматике у 22 (62,85%), патологические симптомы (сгибательные, разгибательные) у 4 (11,42%) больных.

Во второй группе вышеуказанные проявления были зарегистрированы у 41 пациента (46,59 %) - центральный парез VII пары, у 22 (25%) центральный парез XII пары ЧМН, пирамидные нарушения у 18 (20,45%), координационные нарушения у 73 (82,95%), тазовые нарушения у 1 (1,13%), симптомы оральной автоматике у 77 (87,5%), патологические симптомы (сгибательные, разгибательные) у 33 (37,5%).

Результаты объективных данных по подгруппам показали, что наибольший процент клинических проявлений наблюдался у больных со второй стадией ХИМ (см. табл. 3.3.).

Таблица 3.3.

Объективные данные сравнительной и основной группы больных

Объективные данные	Без нарушения кишечной микробиоты				С нарушением кишечной микробиоты				Итого	
	ХИМ I		ХИМ II		ХИМ I		ХИМ II		M(%)	m
	M(%)	m	M(%)	m	M(%)	m	M(%)	m		
ЧМН	41,67	14,23	43,48	10,34	52,94	12,11	76,06	5,06	63,41	4,34
Пирамидные нарушения	00,0	0,00	4,35	4,25	5,88	5,71	23,94	5,06	15,45	3,26
Координационные нарушения	58,33	14,23	39,13	10,18	76,47	10,29	70,42	5,42	64,23	4,32
Тазовые нарушения	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,41	1,40	0,81	0,81
Симптомы оральной автоматике	41,67	14,23	73,91	9,16	82,35	9,59	88,73	3,75	80,49	3,57
Патологические симптомы	16,67	10,76	8,70	5,88	35,29	11,59	38,03	5,75	30,08	4,14

Примечание: Достоверность средних показателей по группам *(P<0,05)

В группе больных с проктологическими заболеваниями средний возраст составил $58,05 \pm 1,0$ лет, т.е. исследуемые были моложе, чем больные неврологического профиля с диагнозом ХИМ. Средний возраст больных ХИМ без нарушений микробиоты кишечника $63,71 \pm 1,2$ года. Несмотря на более молодой возраст, объективные данные в процентах показывают близкие результаты с больными ХИМ с нарушением микробиоты кишечника. По результатам объективных данных, у больных, страдающих длительное время проктологическими заболеваниями, клиничко-неврологические симптомы проявляются раньше, чем у больных с ХИМ без нарушения микробиоты кишечника (см. табл. 3.4.).

Таблица 3. 4.

Объективные данные больных с проктологическими заболеваниями и с сахарным диабетом

Объективные данные	Больные проктологии			Больные с сахарным диабетом			Итого		
	n	M (%)	m	n	M (%)	m	n	M (%)	m
ЧМН	13	65,00	10,67	15	78,95	9,35	28	71,79	7,21
Пирамидные нарушения	1	5,00	4,87	4	21,05	9,35	5	12,82	5,35
Координационные нарушения	16	80,00	8,94	13	68,42	10,66	29	74,36	6,99
Газовые нарушения	0	0,00	0,00	1	5,26	5,12	1	2,56	2,53
Симптомы оральной автоматки	17	85,00	7,98	17	89,47	7,04	34	87,18	5,35
Патологические симптомы	3	15,00	7,98	5	26,32	10,10	8	20,51	6,47
Всего	20			19			39		

Примечание: Достоверность средних показателей по группам *($P < 0,05$)

По сравнению с больными с проктологическими заболеваниями у больных с сахарным диабетом объективные данные показывают более высокую частоту поражения ЦНС. Следует отметить, что средний возраст больных с сахарным диабетом составил $65,89 \pm 2,6$ лет. Поражение ЧМН центральный парез VII и XII пары превышал на 6,79%, пирамидные нарушения на 7,82%, тазовые нарушения на 2,56%, симптомы оральной автоматике на 2,18%, патологические симптомы на 5,51%, чем у больных с проктологическими заболеваниями. У больных с сахарным диабетом усугубляет проблему состояния микробиоты наличие нейропатии кишечника.

§ 3.2. Скрининг обследования когнитивной функции

У всех исследуемых были проведены тесты оценки когнитивной сферы. Для этой цели были использованы тесты, направленные на выявление умеренных нарушений памяти и мышления SAGE, MoCA, MMSE, тест рисования часов. Результаты тестов в каждой группе различались. I группа исследуемых показала наилучший результат по каждой шкале. Среднее



Рисунок 3.2. Среднее значение результатов когнитивных шкал

значение шкалы SAGE в первой подгруппе $19,92 \pm 0,31$, MoCA $27,92 \pm 0,23$, MMSE $28,92 \pm 0,19$, тест рисования часов $9,42 \pm 0,15$. (см. рис. 3.2.)

Во второй подгруппе I группы результаты SAGE $19,43 \pm 0,31$, MoCA $27,52 \pm 0,22$, MMSE $28,48 \pm 0,14$, тест рисования часов $9,39 \pm 0,10$.

Результаты II группы сравнительно ниже, чем у пациентов I группы. В первой подгруппе ХИМ с нарушением микробиоты кишечника были зарегистрированы показатели SAGE $16,65 \pm 0,16$, MoCA $19,47 \pm 0,65$, MMSE $25,80 \pm 0,20$, тест «рисования часов» $6,76 \pm 0,16$ баллов.

Во второй подгруппе II группы результаты были следующие: SAGE $16,19 \pm 0,10$, MoCA $18,90 \pm 0,36$, MMSE $26,12 \pm 0,11$, тест «рисования часов» - $6,72 \pm 0,09$ баллов.

Согласно данным тестов оценки когнитивной сферы, больные I группы (I подгруппа, II подгруппа) не имели когнитивных дисфункций, пациенты набрали баллы, соответствующие показателям нормы. У исследуемых II группы (I подгруппа, II подгруппа) данные показатели соответствовали умеренному нарушению памяти и мышления.

Достоверность результатов скрининга когнитивной функции статистически обрабатывалась, отражена в таблице 3.5.

Таблица 3.5.

Статистический вывод результатов когнитивных тестов

Сравнительная группа 1-я подгруппа ХИМ 1 степени	Основная группа 1-я подгруппа ХИМ 1 степени	Сравнительная группа 2-я подгруппа ХИМ 2 степени	Основная группа 2-я подгруппа ХИМ 2 степени	Сравнительная группа 1-я подгруппа ХИМ 1 степени	Основная группа 2-я подгруппа ХИМ 2 степени	Сравнительная группа 2-я подгруппа ХИМ 2 степени	Основная группа 1-я подгруппа ХИМ 1 степени
Z	P	Z	P	Z	P	Z	P
-4,647	0,000	-7,287	0,000	-5,906	0,000	-5,173	0,000
-4,584	0,000	-7,220	0,000	-5,558	0,000	-5,395	0,000
-4,618	0,000	-7,398	0,000	-5,748	0,000	-5,514	0,000
-4,444	0,000	-6,669	0,000	-5,251	0,000	-5,322	0,000

У больных с проктологическими заболеваниями и сахарным диабетом результаты когнитивных тестов близки, но ниже, чем у больных I и II групп больных. Больные с проктологическими заболеваниями были относительно моложе, чем больные с сахарным диабетом. Несмотря на возрастную разницу, у больных этих групп результаты исследования когнитивной сферы не различались (см. табл. 3.6). Пациенты каждой группы показали результаты умеренной когнитивной дисфункции.

Таблица 3.6.

Результаты когнитивных шкал больных с проктологическими заболеваниями и с сахарным диабетом

Когнитивные тесты	Проктологические больные	Больные с сахарным диабетом	Критерий Манна - Уитни	
	M(%)±m	M(%)±m	Z	P
SAGE	17,20±0,39	17,42±0,45	-0,135	0,892
MoCA, средний балл	20,90±0,96	21,58±1,38	-0,142	0,887
MMSE, средний балл	26,30±0,31	26,67±0,33	-0,912	0,362
Тест «рисования часов», средний балл	7,05±0,29	7,21±0,28	-0,538	0,591

Каждый когнитивный тест показывал соответствующий результат, сходный с другими когнитивными шкалами.

§ 3.3. Расстройства настроения при нарушенной микробиоте кишечника

Для выявления снижения настроения использована шкала Гамильтона. Шкала Гамильтона для оценки депрессии предложена в 1960 году Максом Гамильтоном.

Все больные проходили тест на наличие депрессии. У всех пациентов результаты показывали норму или лёгкое депрессивное расстройство. Пациенты первой группы в среднем показывали 4,88±0,11 балла, который

соответствует норме. Пациенты второй группы в среднем набрали $5,68 \pm 0,07$ баллов, что также соответствует норме (см. табл. 3.7.). У больных с проктологическими заболеваниями и сахарным диабетом результаты шкалы депрессии Гамильтона показывали отсутствие депрессии или легкое депрессивное расстройство (см. табл. 3.8.).

Таблица 3.7.

Оценка наличия депрессии у больных по шкале Гамильтона

Возраст	I группа			II группа		
	n	M	m	n	M	m
40-49	1	6,0		3	5,60	0,33
50-59	8	5,25	0,37	15	5,46	0,20
60-69	18	4,61	0,22	37	5,97	0,13
70-79	7	4,85	0,28	24	5,46	0,21
80-89	1	6		3	5,33	0,50
всего	35	4,88	0,11	88	5,68	0,07

Примечание: Достоверность средних показателей по группам $*(P < 0,05)$

Таким образом выяснилось, что снижение памяти в первой и во второй стадии ХИМ существенно не влияет на снижение настроения у пациентов. Больные с нарушенной микробиотой кишечника показали такой же результат, как и больные без нарушения микробиоты кишечника.

Таблица 3.8.

Оценка наличия депрессии по шкале Гамильтона у больных с проктологическими заболеваниями и сахарным диабетом

Группы	n	M	m
Больные проктологическими заболеваниями	20	5,45	0,26
Больные с сахарным диабетом	19	6,10	0,25

Примечание: Достоверность средних показателей по группам $*(P < 0,05)$

У больных с проктологическими заболеваниями средний показатель по шкале Гамильтона оказался $5,45 \pm 0,26$ баллов. Результат соответствует норме. У больных с сахарным диабетом средний результат составил $6,10 \pm 0,25$ баллов, выше, чем у больных с проктологическими заболеваниями (см. табл. 3.8.). Данный результат демонстрирует склонность к легкому депрессивному состоянию у больных сахарным диабетом выше, чем у пациентов с проктологическими заболеваниями.

§ 3.4. Выводы III главы

Все исследуемые больные прошли через ряд обследований, оценивающих неврологическое состояние, определяющих степень нарушения когнитивной деятельности, сдали анализы для подтверждения патологии. Каждая группа делилась по результатам вышеперечисленных параметров на подгруппы.

Главным критерием при распределении больных на группы послужили результаты нейропсихологических тестов. I группа состояла из больных без нарушений микробиоты кишечника. В зависимости от стадии заболевания I и II группа делились на 2 подгруппы: первая подгруппа ХИМ I и вторая подгруппа ХИМ II. Больные I группы не жаловались на снижение памяти. При неврологическом осмотре отмечались симптомы хронической ишемии мозга. Результаты нейропсихологических тестов были в пределах нормы. SAGE тест в среднем в первой подгруппе $19,92 \pm 0,31$ баллов, во второй подгруппе $19,43 \pm 0,31$ баллов. Тест MoCA в первой подгруппе $27,92 \pm 0,23$ баллов, во второй - $27,52 \pm 0,22$ баллов. По тесту MMSE в среднем первая подгруппа набрала $28,92 \pm 0,19$ баллов, вторая подгруппа $28,48 \pm 0,14$. Тест «рисования часов» первая подгруппа прошла на $9,42 \pm 0,15$ баллов, вторая подгруппа - $9,39 \pm 0,10$ баллов. Эмоциональная сфера пациентов была в норме, согласно шкале депрессии Гамильтона, состояние больных в среднем оценивалось в первой подгруппе на $5,0 \pm 0,33$ баллов, во второй подгруппе - $4,83 \pm 0,17$ баллов.

По итогам у больных без нарушения микробиоты кишечника все исследуемые параметры соответствовали норме.

II группа состояла из больных с нарушением микробиоты кишечника.

Основные жалобы больных относились к нарушению когнитивной сферы и кишечным проблемам. Больные имели неврологические нарушения, соответствующие патологии ХИМ. Средний результат нейропсихических тестов показал: SAGE тест в первой подгруппе $16,60 \pm 0,16$ баллов, во второй подгруппе - $16,19 \pm 0,10$ баллов, что соответствовало умеренным когнитивным расстройствам. Тест МоСА больные первой подгруппы решили на $19,47 \pm 0,65$ баллов, во второй - $18,90 \pm 0,36$ баллов, что так же соответствовало умеренным когнитивным расстройствам. При прохождении теста MMSE первая подгруппа набрала $25,80 \pm 0,20$ баллов, вторая - $26,12 \pm 0,12$ баллов, результат интерпретировался как преддементные когнитивные расстройства. Тест «рисования часов» первая подгруппа прошла, набрав $6,76 \pm 0,16$ баллов, вторая подгруппа - $6,72 \pm 0,09$ баллов, что так же оценивалось как преддементные когнитивные расстройства. Результаты шкалы депрессии Гамильтона показали склонность к легкой депрессии в первой и во второй подгруппах ($5,88 \pm 0,12$ баллов и $5,63 \pm 0,70$ баллов соответственно).

Так как средний возраст больных в данной группе был самым низким, результаты не сильно отличались от второй группы. У больных с проктологическими заболеваниями результаты следующие. Средние показатели нейропсихических шкал: Тест SAGE $17,20 \pm 0,39$ баллов, тест МоСА $20,90 \pm 0,96$ баллов, MMSE $26,30 \pm 0,31$ баллов, что соответствовало умеренным когнитивным расстройствам. При прохождении теста «рисования часов» больные набрали $7,05 \pm 0,29$ баллов, что свидетельствовало о преддементных расстройствах. Снижение настроения у больных с проктологическими заболеваниями по шкале Гамильтона оценивалось на $5,45 \pm 0,26$ баллов как склонность к легкой депрессии.

У больных с сахарным диабетом также результаты отличались от нормы. Результаты когнитивных шкал были следующие: Тест SAGE $17,42 \pm 0,45$

баллов и Тест MMSE $26,67 \pm 0,33$ баллов интерпретировались как умеренные когнитивные расстройства, Тест MoCA в среднем $21,58 \pm 1,38$ баллов – предметные когнитивные расстройства. Тест «рисования часов» (средний показатель $7,21 \pm 0,21$ баллов) показал умеренное снижение когнитивной функции. Следует отметить у больных с сахарным диабетом развивается кишечная нейропатия, которая сопровождается с нарушением баланса полезных микробов с патогенными и условно патогенными микробами. Диабетическая нейропатия - распространённое осложнение сахарного диабета. Она возникает из-за повреждения нервных волокон высоким уровнем глюкозы в крови. Поражаются как периферические, так и автономные нервы различных органов.

Кишечная нейропатия при диабете характеризуется нарушением иннервации тонкой и толстой кишки. Это приводит к расстройствам моторики кишечника - запорам, поносам, непроходимости кишечника. Также страдает всасывательная и секреторная функция кишечника. По этой причине у больных сахарным диабетом когнитивная деятельность снижается не только в результате повышения глюкозы в крови и расстройства стенки сосудов но и в результате нарушения микробиома кишечника.

Снижение настроения у больных с сахарным диабетом по шкале Гамильтона оценивалось как склонность к легкой депрессии ($6,10 \pm 0,25$ баллов).

Таким образом, было выявлено, что больные I группы по результатам нейропсихических тестов не имели когнитивных расстройств и в первой, и во второй подгруппе. Также отмечено, что исследованные пациенты по данным шкалы депрессии Гамильтона не страдали снижением настроения.

У больных II группы с нарушением микробиоты кишечника по результатам всех когнитивных шкал определялись умеренное снижение памяти и склонность к легкой депрессии в психоэмоциональном статусе.

У пациентов с проктологическими заболеваниями в анамнезе отмечается умеренное снижение когнитивных функций и тенденция к развитию легких депрессивных состояний.

У больных, имевших проктологические заболевания, зарегистрировано умеренное снижение когнитивной функции со склонностью к легкой депрессии.

У пациентов с сахарным диабетом также были зафиксированы признаки умеренного когнитивного дефицита на фоне риска развития субклинической депрессивной симптоматики. Результаты обследования больных сахарным диабетом демонстрируют тенденцию к небольшому снижению когнитивных функций и предрасположенность к возникновению легких депрессивных проявлений

ГЛАВА IV. Результаты клинико-неврологических данных и связь BDNF фактора с кишечными метаболитами; уксусная кислота и масляная кислота при ХИМ с додементными когнитивными расстройствами

Согласно структуре исследования, больные разделены на 2 группы.

I группа – 35 (28,45%) больные с диагнозом хроническая ишемия мозга без нарушений микробиоты кишечника.

II группа – 88 (71,54%) больных с диагнозом хроническая ишемия мозга с нарушениями микробиоты кишечника

Среди этих больных биохимические исследования проведены у 80 больных, из которых 23 (28,75%) больных были без нарушений микробиоты кишечника и 57 (71,25%) - с нарушением микробиоты кишечника.



Рисунок 4.1. Распределение больных, сдавших лабораторные анализы

В зависимости от стадии ХИМ каждая группа была разделена на подгруппы. Первая группа без нарушения кишечной микробиоты состояла из двух подгрупп: первая ХИМ I стадии включала 9 (11,25%), вторая подгруппа ХИМ II стадии - 14 (17,50%) пациентов.

Во вторую группу были отнесены больные с нарушением кишечной микробиоты, которые так же подразделялись на две подгруппы: первая ХИМ I стадии 15 (18,75%) пациентов, вторая подгруппа ХИМ II стадии - 42 (52,50%).

§4.1. Результаты клинико-лабораторных исследований мозгового нейротрофического фактора BDNF

BDNF фактор является одним из важных нейротрофинов, который обеспечивает нейропластичность и образование новых нейронов. Играет ведущую роль в формировании долгосрочной памяти. На выработку BDNF фактора влияет такой метаболит, как масляная кислота, поэтому уровень BDNF фактора в крови указывает, насколько эффективно вырабатывается масляная кислота.

У обследованных пациентов уровень BDNF различался в зависимости от патологии (см. табл.4.1.). У пациентов I группы с нормальной микробиотой кишечника определялся более высокий показатель BDNF, чем у пациентов II группы с нарушенной микрофлорой кишечника.

Таблица 4.1.

Уровень нейротрофического фактора BDNF по группам

Группы	I группа	I группа	II группа	II группа
Уровень BDNF фактора в крови	I подгруппа (pg/ml)	II подгруппа (pg/ml)	I подгруппа (pg/ml)	II подгруппа (pg/ml)
Самый низкий показатель	280,01	116,89	96,31	0,09
Самый высокий показатель	496,60	500,11	751,37	381,78
Средний показатель	368,22±23,64	307,17±27,36	248,76±47,85	187,91±16,62

Примечание: Достоверность средних показателей по группам *(P<0,05)

В таблице указан уровень нейротрофического фактора BDNF по группам. По данным лабораторных анализов, самый низкий уровень нейротрофического фактора BDNF отмечался в основной группе больных с нарушенной микробиотой кишечника во второй стадии ХИМ - 0,09 pg/ml. На втором месте по низким показателям уровня BDNF оказалась первая подгруппа основной группы II с нарушением микробиоты кишечника в первой стадии ХИМ - 96,31 pg/ml. Сравнительная группа так же имела разницы между подгруппами в зависимости от стадии ХИМ без нарушения микробиоты кишечника. Во второй стадии заболевания уровень нейротрофического фактора оказался ниже, чем на первой стадии ХИМ.



Рисунок 4.2. Уровень нейротрофического фактора BDNF по группам

Средний уровень нейротрофического фактора так же повторял результаты низкого показателя. Средний показатель в первой подгруппе сравнительной группы составил $368,22 \pm 23,64$ pg/ml, во второй подгруппе -

307,17±27,36 pg/ml. Результаты второй подгруппы сравнительной первой подгруппы оказались ниже.

Основная группа тоже имела различия между подгруппами. В первой подгруппе основной группы был зарегистрирован средний результат 248,76±47,85 pg/ml, во второй подгруппе - 187,91±16,62 pg/ml (см. рис. 4.2.).

Таким образом, в результате сравнения уровня нейротрофического фактора BDNF у больных различных групп было выявлено, что данный показатель оказался сниженным у больных с нарушением микробиоты кишечника, чем у больных без нарушения микробиоты кишечника.

Уровень нейротрофического фактора BDNF у больных с проктологическими заболеваниями в среднем составлял 216,88±39,68 pg/ml, что оказалось ниже, чем у больных сравнительной и первой подгруппы основной группы (см. табл. 4.3.). Средний уровень нейротрофического фактора BDNF у больных с проктологическими заболеваниями выше, чем у больных с нарушенной микробиотой кишечника на второй стадии ХИМ.

У больных с сахарным диабетом данный показатель был равен 256,79±27,87 pg/ml. Средний уровень нейротрофического фактора BDNF в этой группе был выше, чем у больных основной группы и группы больных с проктологическими заболеваниями.

§4.2. Результаты кишечных метаболитов: уксусная кислота и масляная кислота

Уровень уксусной кислоты в крови выявлялся с помощью метода масс-спектрометрии, который высокочувствителен и к малым количествам определяемого вещества в крови. Уксусная кислота – метаболит вышеупомянутых *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus* кишечных обитателей. Играет важную роль в разворачивании противовоспалительных, антибактериальных процессов и участвует в образовании серотонина.

Выработка масляной кислоты происходит в кишечной микрофлоре. Масляная кислота в пище не содержится, поэтому нехватка данного вещества

восполняется только путем сохранения нормальной микрофлоры и бактерий, вырабатывающих масляную кислоту. В основном продуцируют масляную кислоту кишечные бактерии *Acidaminococcus*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Eubacterium*, *Lachnospira*, *Butyrivibrio (polar flagella)*, *Gemmiger*, *Coprococcus*, *Fusobacterium*. В этом процессе главным материалом для активирования микробиоты считается клетчатка. Организм только благодаря функционированию нормальной микрофлоры может получить масляную кислоту. При нехватке данного метаболита целесообразно создавать благоприятную среду для бактерий, вырабатывающих масляную кислоту или принимать препараты, содержащие бутират.

В ходе исследования было выявлено, что у обследованных больных уровень кишечных метаболитов зависел от тяжести заболевания и наличия запоров. У больных во второй стадии ХИМ уровень уксусной кислоты оказался ниже, чем у больных с нарушенной микробиотой кишечника. Уровень масляной кислоты так же оказался относительно ниже, чем у больных на первой стадии заболевания в обеих группах (см. табл. 4.3.).

Таблица 4.3.

Средние показатели уксусной и масляной кислоты по подгруппам

Метаболиты кишечной микробиоты	Без нарушения кишечной микробиоты		С нарушением кишечной микробиоты	
	ХИМ I стадия (мкМ/л)	ХИМ II стадия (мкМ/л)	ХИМ I стадия (мкМ/л)	ХИМ II стадия (мкМ/л)
Уксусная кислота	22,80±1,91	22,83±0,71	15,85±1,18	14,75±0,49
Масляная кислота	2,72±0,21	2,69±0,06	2,15±0,097	1,84±0,069

Примечание: Достоверность средних показателей по группам *(P<0,05)

По расчетам, средний уровень уксусной кислоты оказался выше у больных без нарушения микробиоты кишечника в обеих стадиях ХИМ, тогда как у больных с нарушением микробиоты кишечника данный показатель был ниже на 7,86 мкМ/л.

Больные с проктологическими заболеваниями показали результат в среднем $15,59 \pm 1,33$ мкМ/л, что было ниже, чем у больных без нарушения микробиоты кишечника ($22,83 \pm 0,82$ мкМ/л), и выше, чем у больных с нарушением микробиоты кишечника ($14,97 \pm 0,69$ мкМ/л) (см. табл. 4.4.). Средний уровень масляной кислоты у больных с проктологическими заболеваниями был ниже ($2,17 \pm 0,10$ мкМ/л), чем у больных без нарушения микробиоты кишечника ($2,71 \pm 0,06$ мкМ/л), и выше, чем у больных с нарушением микробиоты кишечника ($1,93 \pm 0,09$ мкМ/л).

Таблица 4.4.

Средний уровень уксусной и масляной кислоты у больных с проктологическими заболеваниями и сахарным диабетом.

Группа	Уксусная кислота	Масляная кислота
Больные с проктологическими заболеваниями	$15,59 \pm 1,33$	$2,17 \pm 0,10$
Больные с сахарным диабетом	$17,92 \pm 1,44$	$2,14 \pm 0,23$

Примечание: Достоверность средних показателей по группам $*(P < 0,05)$

По результатам анализов, средние показатели метаболитов оказались выше у больных ХИМ без нарушения микробиоты кишечника. У больных ХИМ с нарушением микробиоты кишечника результаты оказались ниже.

§4.3. Корреляционные анализы результатов лабораторных обследований

В ходе исследования каждый обследованный больной сдавал анализ крови на определение уровня мозгового нейротрофического фактора BDNF, метаболитов кишечного микробиома КЦЖК - уксусной и масляной кислоты. Полученные результаты подвергались статистической обработке с целью выявления корреляционной связи между нейротрофическим фактором BDNF и уксусной кислотой, между нейротрофическим фактором BDNF и масляной кислотой.

В таблице 4.5. показана корреляция между мозговым нейротрофическим фактором BDNF и метаболитами микрофлоры кишечника по средним значениям в каждой группе обследованных.

Таблица 4.5.

Корреляционные связи между мозговым нейротрофическим фактором BDNF и метаболитами микрофлоры кишечника у больных различных групп

Тесты	ХИМ без нарушения микробиоты кишечника	ХИМ с нарушением микробиоты кишечника	Критерий Манна-Уитни	
	M±m	M±m	Z	P
Уксусная кислота	22,83±0,82	14,97±0,69	-5,214	0,000
Масляная кислота	2,71±0,06	1,93±0,09	-5,470	0,000
BDNF	316,98±26,89	203,92±17,68	-3,918	0,000

Примечание: Достоверность средних показателей по группам *(P<0,05)

Согласно результатам проведенных анализов, определилась взаимосвязь между нейротрофическим фактором BDNF и кишечными метаболитами: уксусной и масляной кислотами. Уровень нейротрофического фактора BDNF имел прямую пропорциональную связи по соотношению КЦЖК уксусной и масляной кислоты. У больных без нарушения микробиоты кишечника уровень нейротрофического фактора BDNF, уксусной кислоты и масляной кислоты был выше, чем у больных с ХИМ с нарушением микробиоты кишечника.

По каждой подгруппе результаты показывали следующее:

I группа ХИМ I стадии: средние результаты уксусной кислоты 22,80±1,91 мкМ/л, масляной кислоты 2,72±0,21 мкМ/л, BDNF фактора 368,22±23,64 pg/ml;

I группа ХИМ II стадии: средние результаты уксусной кислоты 22,83±0,71 мкМ/л, масляной кислоты 2,69±0,06 мкМ/л, BDNF фактора 307,17±27,36 pg/ml. Первая группа в обеих стадиях заболевания продемонстрировала близкие результаты (см. табл. 4.6.).

II группа ХИМ I стадии: средний результат уксусной кислоты $15,85 \pm 1,18$ мкМ/л, масляной кислоты $2,15 \pm 0,097$ мкМ/л, BDNF фактора $248,76 \pm 47,85$ pg/ml;

II группа ХИМ II стадии: средний результат уксусной кислоты $14,75 \pm 0,49$ мкМ/л, масляной кислоты $1,84 \pm 0,069$ мкМ/л, BDNF фактора $187,91 \pm 16,62$ pg/ml. Между подгруппами второй группы больных отмечалась большая разница, при которой вторая подгруппа показывала сниженный результат по сравнению с первой подгруппой.

При сопоставлении с результатами когнитивных тестов во второй подгруппе с нарушением микробиоты кишечника оказались ниже, чем в первой подгруппе. В данном случае ХИМ II стадии при нарушенной микробиоте кишечника показывал сниженные результаты по сравнению ХИМ I стадии с нарушенной микробиотой кишечника.

Первая группа - больные ХИМ без нарушения микробиоты кишечника показала положительный результат по сравнению со второй группой - больных ХИМ с нарушением микробиоты кишечника (см. рис. 4.3.).

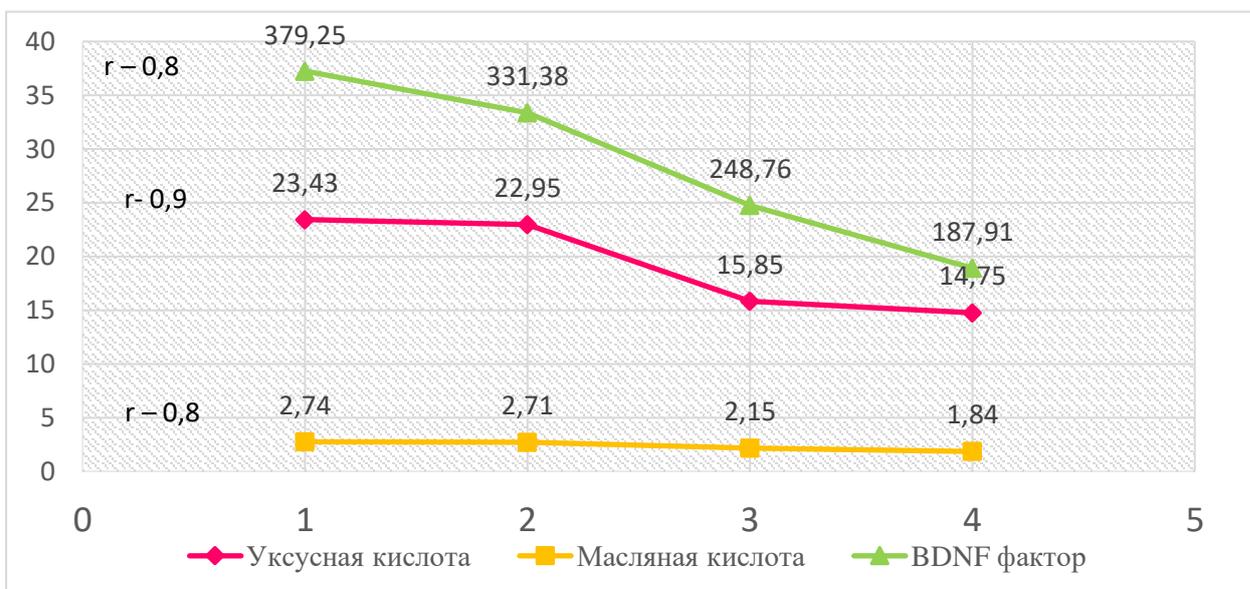


Рисунок 4.3. Корреляционный анализ между уксусной, масляных кислот и нейротрофическим фактором BDNF

У больных с проктологическими заболеваниями и у больных с сахарным диабетом результаты биохимических анализов имели схожую тенденцию. Уровень уксусной и масляной кислот, BDNF фактора пропорционально снижены по сравнению с больными первой группы. Тем не менее, результаты этих групп были выше, чем у больных второй группы (см. табл. 4.7).

Средний уровень уксусной кислоты у больных с проктологическими заболеваниями составил $15,59 \pm 1,33$ мкМ/л, масляной кислоты $2,17 \pm 0,10$ мкМ/л, нейротрофического фактора BDNF $216,88 \pm 39,78$ pg/ml. Средние показатели оказались ниже, чем у больных первой группы ХИМ без нарушения микробиоты кишечника.

У больных с сахарным диабетом средний уровень уксусной кислоты был $17,98 \pm 1,44$ мкМ/л, масляной кислоты $2,14 \pm 0,23$ мкМ/л, нейротрофического фактора BDNF $256,79 \pm 27,87$ pg/ml. Эти показатели у больных с сахарным диабетом оказались ниже, чем больных ХИМ без нарушения микробиоты кишечника.

Таблица 4.7.

Корреляционные связи между мозговым нейротрофическим фактором BDNF и метаболитами микрофлоры кишечника у больных с проктологическими заболеваниями и сахарным диабетом.

Анализ	Больные проктологическими заболеваниями	Больные с сахарным диабетом	Критерий Манна - Уитни	
	M±m	M±m	Z	P
Уксусная кислота	$15,59 \pm 1,33$	$17,98 \pm 1,44$	-2,239	0,215
Масляная кислота	$2,17 \pm 0,10$	$2,14 \pm 0,23$	-0,661	0,509
BDNF фактор	$216,88 \pm 39,78$	$256,79 \pm 27,87$	-1,321	-0,186

Было проведено изучение показателей мозгового нейротрофического фактора BDNF и метаболитов микрофлоры кишечника у пациентов различных возрастных категорий во всех обследованных группах.

Среди больных первой группы по возрастным градациям результаты всех биохимических анализов существенных различий не продемонстрировали (см. табл. 4.8.).

Таблица 4.8.

Средние показатели мозгового нейротрофического фактора BDNF и метаболитов микрофлоры кишечника у больных I группы различных возрастных категорий

Возрастная группа	ХИМ без нарушения микробиоты кишечника		
	Уксусная кислота	Масляная кислота	BDNF фактор
	M±m	M±m	M±m
40-49 лет			
50-59 лет	21,03±3,08	2,57±0,24	353,80±27,86
60-69 лет	23,94±0,94	3,86±2,62	311,24±35,77
70-79 лет	22,55±1,63	2,75±0,14	288,17±91,08

Примечание: Достоверность средних показателей по группам *(P<0,05)

Во всех возрастных категориях разницы между средними арифметическими значениями показали, чем моложе пациент тем показатели BDNF фактора были выше.

Среди пациентов второй группы ХИМ с нарушением микробиоты кишечника так же у молодых пациентов показатели BDNF фактора были выше чем у больных старшего возраста. (см. табл. 4.9.).

Таблица 4.9.

Средние показатели мозгового нейротрофического фактора BDNF и метаболитов микрофлоры кишечника у больных II группы различных возрастных категорий

Возрастная группа	ХИМ с нарушением микробиоты кишечника		
	Уксусная кислота	Масляная кислота	БДНФ
	M±m	M±m	M±m
40-49 лет	14,57±1,56	2,07±0,15	184,33±37,55
50-59 лет	17,77±2,06	2,06±0,21	257,11±54,37
60-69 лет	13,56±0,80	1,88±0,14	194,08±25,28
70-79 лет	15,11±1,16	1,86±0,20	185,63±24,25

Примечание: Достоверность средних показателей по группам *(P<0,05)

Результаты биохимических исследований указывали на возрастные особенности и значительность градаций. У молодых пациентов показатели BDNF фактора были выше, чем у больных старшего возраста. Согласно результатам статистики, развитие заболевания связано с возрастом пациента. По статистическим данным, наличие патогенной микрофлоры в кишечнике больше влияло на развитие заболевания и ухудшение состояния.

§4.4. Выводы статистических данных

При обработке всех данных была разработана модель классификации, показывающая эффективность статистических параметров - кривая ROC

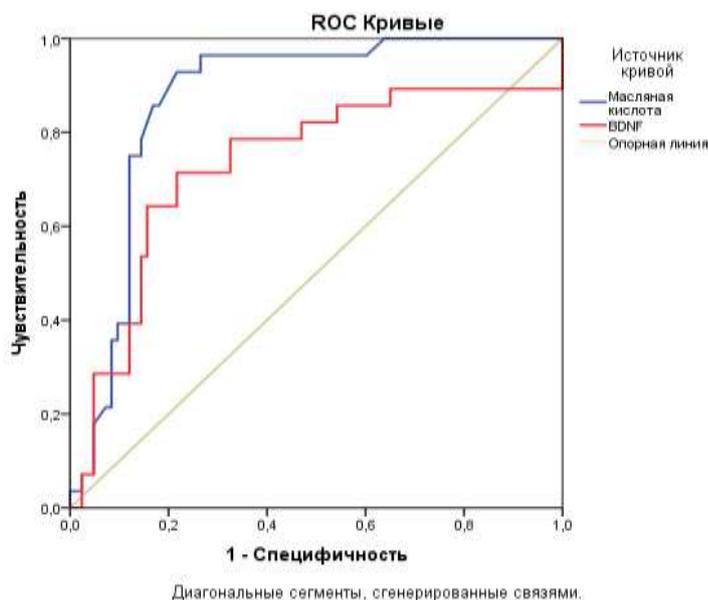


Рисунок 4.4. Эффективность метода диагностики по классификации ROC (Receiver Operating Characteristic - кривая рабочих характеристик).

Данным графиком, показывающим все пороговые значения для точной демонстрации, доказывається эффективность классификации. Чем ближе отметка к 1,0 (на графике левый верхний угол), тем лучше данный показатель по указанию точности. В нашем исследовании оценены результаты биохимических анализов. Наиболее высокая точность при диагностике ХИМ с нарушенной микробиотой кишечника показывает уровень масляной кислоты в крови, чем уровень нейротрофического фактора BDNF (см. рис. 4.4.).

Таблица 4.10.

Оценка качества модели в зависимости от величины параметра

Интервал AUC	Качество модели
0,9-1	Отличное
0,8-0,9	<u>Очень хорошее</u>
0,7-0,8	Хорошее
0,6-0,7	Среднее

В

таблице 4.10. результат оценивается как очень хороший, находясь между отметками чувствительности 0,8-0,9.

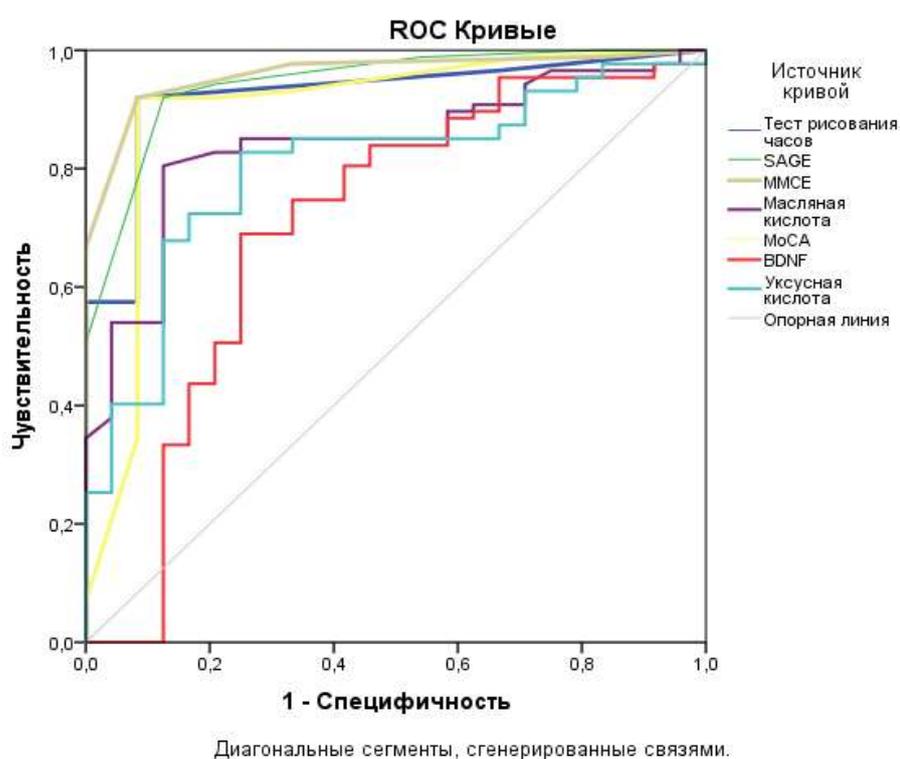


Рисунок 4.5. Оценка чувствительности всех параметров

Согласно результатам классификации ROC, среди нейропсихологических тестов для оценки когнитивной деятельности более чувствительным оказался тест «рисование часов» (см. рис. 4.5.).

Таким образом, все выбранные параметры при исследовании оказались статистически значимыми и имели высокую чувствительность при разработке модели классификации и оценке эффективности.

§4.5. Выводы IV главы

По данным проведённых анализов выявлена ассоциативная зависимость между такими метаболитами нормальной кишечной микробиоты, как уксусная и масляная кислоты, и когнитивной деятельностью головного мозга. При этом ключевую роль в реализации данной связи играет нейротрофический фактор BDNF, активность которого опосредована уровнями указанных органических кислот.

Согласно результатам проведенного исследования установлена обратная корреляционная зависимость между показателями уксусной кислоты в системном кровотоке и концентрацией масляной кислоты в венозной крови. Полученные данные свидетельствуют о том, что формирование пула короткоцепочечных жирных кислот кишечной микробиотой в значительной степени отличается сопряженной сопродукцией различных КЦЖК. Соответственно, по уровню одной из этих кислот можно предположить величину концентрации других короткоцепочечных жирных кислот в организме человека.

Таким образом, в I группе уровень уксусной кислоты превышает результаты II группы. Среднее значение уксусной кислоты при наличии у пациентов жалоб на запоры или частый стул было ниже, чем у пациентов, не имевших вышеперечисленные жалобы. По возрастным категориям средний уровень уксусной кислоты показывал результаты соответственно патологиям и давности заболевания, возраст пациента не оказывал значительного влияния на результат.

Согласно полученным результатам, наличие хронически протекающей патологии кишечника или длительно существующих запоров ассоциируется со снижением концентрации уксусной кислоты в системном кровотоке. Эта закономерность подтверждается достоверно более низкими средними показателями данной короткоцепочечной жирной кислоты у пациентов с подобными расстройствами пищеварительного тракта в сравнении с референсными значениями здоровой популяции. Следовательно, развитие

патологических состояний толстой кишки нарушает нормальное функционирование кишечной микрофлоры и процессы продукции ею органических кислот, включая уксусную, что отражается на её системных уровнях.

Полученные данные свидетельствуют о том, что уровень уксусной кислоты в крови коррелирует с наличием патологии кишечника и сопутствующих нарушений его микробиоты. Пациенты с диагностированным дисбалансом кишечной флоры или сниженными показателями уксусной и масляной кислот продемонстрировали худшие результаты при выполнении нейропсихологических тестов по сравнению с пациентами с высоким уровнем уксусной кислоты.

Результаты исследования демонстрируют наличие прямой корреляционной взаимосвязи между уровнями уксусной и масляной кислот в сыворотке крови, концентрацией нейротрофического фактора BDNF и показателями когнитивных тестов. В частности, у пациентов без когнитивного дефицита отмечены более высокие значения уксусной кислоты и BDNF. Анализ средних величин по группам продемонстрировал, что уровень масляной кислоты оказывает положительное влияние на синтез BDNF. Таким образом, подтверждена регулирующая роль этой кислоты в отношении выработки данного нейротрофического фактора.

По результатам анализа обнаружена прямая корреляционная зависимость между показателями уровня нейротрофического фактора мозга (BDNF) и концентрацией масляной кислоты во всех обследованных группах. Выявлено, что снижение значений короткоцепочечных жирных кислот является маркером нарушений состава кишечной микрофлоры.

Снижение уровня КЦЖК отмечалось только у пациентов с когнитивными расстройствами при ХИМ с запорами и у пациентов с проктологическими заболеваниями.

У пациентов, имеющих когнитивные расстройства додементного характера, уровень нейротрофического фактора BDNF был снижен.

Также установлена связь между метаболитами кишечной микробиоты (уксусной и масляной кислотами) и количеством нейротрофического фактора мозга BDNF. То есть, при сниженном уровне уксусной кислоты и масляной кислоты, отмечалось снижение уровня нейротрофического фактора мозга BDNF в венозной крови.

Заключение

Хроническая ишемия мозга с додементными когнитивными расстройствами патогенетически связана с нарушением кишечной микробиоты. Все обследованные больные с наличием когнитивных расстройств легкой и умеренной степени имели жалобы на запоры или частый стул. Этот недуг беспокоил их на протяжении долгих лет, недостаточно оценивалось влияние на когнитивную функцию со стороны и пациента и лечащего врача.

Целью нашего научного исследования заключается в изучении патогенетической роли дисбаланса кишечной микробиоты в развитии хронической церебральной ишемии с сопутствующими когнитивными нарушениями до дементных состояний, а также в прослеживании патогенетической связи между кишечником и головным мозгом.

Пациенты были разделены на 2 группы: I группа с диагнозом ХИМ без нарушения микробиоты кишечника расстройств (35 больных); II группа с диагнозом ХИМ с нарушением микробиоты кишечника (88 больных). Каждая группа больных разделена на две подгруппы от зависимости стадии ХИМ; I группа I подгруппа ХИМ I стадии без нарушения микробиоты кишечника (12 больных), I группа II подгруппа ХИМ II стадии (23 больных). Вторая группа I подгруппа ХИМ I стадии с нарушением микробиоты кишечника (17 больных), II группа II подгруппа (71 больных). Из этих групп выделены отдельные группы: больные с проктологическими заболеваниями (20 больных), больные с сахарным диабетом (19 больных). Исследования проводились в Многопрофильной клинике центра развития профессиональной квалификации медицинских работников города Ташкента.

Средний возраст пациентов I группы составил $63,7 \pm 1,0$ года, II группы - $64,9 \pm 1,1$ лет. Группа больных с проктологическими заболеваниями имела средний возраст $58,05 \pm 1,5$ лет, группа больных сахарным диабетом — $65,9 \pm 1,6$ лет. Гендерное распределение больных во всех группа было сопоставимо.

Диагноз ХИМ был установлен согласно классификации Е. В. Шмидта, предложенной в 1985 году под названием «Дисциркуляторная энцефалопатия» МКБ – I 67.8

Для определения степени нарушения когнитивной функции использовались шкалы: SAGE, MoCA, MMSE, тест «рисование часов». Средний результат нейропсихологических тестов по группам:

I группа – I подгруппа SAGE - $19,92 \pm 0,31$ баллов, MoCA - $27,92 \pm 0,23$ баллов, MMSE $28,92 \pm 0,19$ баллов, тест «рисование часов» - $9,42 \pm 0,15$ баллов;

I группа – II подгруппа SAGE - $19,43 \pm 0,31$ баллов, MoCA - $27,52 \pm 0,22$ баллов, MMSE $28,48 \pm 0,14$ баллов, тест «рисование часов» - $9,39 \pm 0,10$ баллов;

II группа – I подгруппа SAGE – $16,60 \pm 0,16$ баллов, MoCA - $19,47 \pm 0,65$ баллов, MMSE - $25,80 \pm 0,20$ баллов, тест «рисование часов» – $6,76 \pm 0,16$ баллов;

II группа – II подгруппа SAGE – $16,19$ подгруппа SAGE – $0,10$ баллов, MoCA - $18,90 \pm 0,36$ баллов, MMSE $26,12 \pm 0,12$ баллов, тест «рисование часов» – $6,72 \pm 0,09$ баллов.

Результаты нейропсихологических тестов соответствовали имевшимся у пациентов патологиям.

Многие зарубежные работы посвященные нарушенной кишечной микробиоте показывают связь с когнитивными расстройствами с помощью нейропсихологических тестов. В работе Ying Pei «Микробиота кишечника и барьерная функция кишечника у лиц с когнитивными нарушениями» исследовано 118 человек которые разделены на 3 группы зависимо от тяжести нарушения кишечной микробиоты и имевшихся заболеваний. Где больные прошли оценку когнитивной деятельности с помощью нейропсихологических тестов MoCA, MMSE. Кишечная деятельность проводилось по косвенным способом, ферментным анализом для оценки барьерной функции кишечника. В результате у больных завышенным показателем эндотоксина, что говорит о нарушенной барьерной функции кишечника, средние баллы тестов MoCA и MMSE были меньше чем у исследуемых контрольной группы.

В нашей диссертационной работе у больных второй группы имевшие нарушение кишечной микробиоты показывали схожий результат с работой Ying Pei. У пациентов второй группы баллы нейропсихологических тестов указывали на умеренные когнитивные расстройства.

Для выявления патогенетической связи состояния кишечника и когнитивной функции головного мозга у всех обследуемых утром натощак проводился забор образца периферической крови. В соответствии с задачами научной работы результаты нейропсихологических тестов сравнивались с лабораторными данными нейротрофического фактора BDNF и кишечными метаболитами (уксусной и масляной кислотами).

Исследование показало, что BDNF фактор у больных с ХИМ и когнитивными расстройствами определялся в количестве ниже, чем у пациентов с ХИМ без когнитивных нарушений. К аналогичным выводам пришла Белоусова Н.П. в работе «Взаимосвязь когнитивных нарушений и уровня BDNF у лиц молодого возраста». У молодых со снижением когнитивной функции отмечается повышение уровня нейротрофического фактора BDNF, тогда как у лиц старшего возраста со снижением когнитивных функций нейротрофический фактор был снижен [3].

В нашем исследовании так же у больных I группы в возрастных категориях отмечалась тенденция: чем старше возраст больного, тем ниже уровень нейротрофического фактора BDNF и во II группе с ХИМ с нарушением микробиоты кишечника уровень нейротрофического фактора BDNF у молодых лиц, несмотря на наличие когнитивных расстройств, средний показатель нейротрофического фактора BDNF выше, чем у больных ХИМ с нарушением микробиоты кишечника в старшем возрасте.

I группа – средний уровень BDNF фактора в возрастной категории у больных 50-59 лет средний результат $353,80 \pm 27,86$ pg /ml, 60-69 лет - $311,34 \pm 35,77$ pg /ml, 70-79 лет $288,17 \pm 91,08$ pg /ml.

II группа – средний уровень BDNF фактора 50-59 лет $257,11 \pm 54,37$ pg /ml, 60-69 лет $194,08 \pm 25,28$ pg /ml, 70-79 лет $185,33 \pm 24,25$ pg /ml.

Согласно результатам нашего исследования, результаты научной работы Белоусовой Н.П. оказались схожими.

Во многих исследованиях у больных с нарушенной микробиотой кишечника отмечалось снижение настроения, депрессия. В нашей работе для оценки депрессивного состояния мы использовали шкалу М. Гамильтона, предложенную в 1960 году для распознавания депрессивных расстройств. В ряде научных работ лечение депрессии с помощью пребиотиков и пробиотиков рассматривается в качестве потенциального метода (Shuhan Liu et al. Gut microbiota regulates depression – like behavior in rats through the neuroendocrine-immune-mitochondrial pathway, John R Kelly et al. Transferring the blues: Depression-associated gut microbiota induces neurobehavioral changes in the rat.).

В нашей работе у исследованных больных связь нарушенной микробиоты кишечника с депрессией не выявлена. Среднее значение баллов когнитивных тестов по группам было следующее:

Больные I группы набрали в среднем $4,88 \pm 0,11$ балла по шкале депрессии Гамильтона, во II группе – $5,68 \pm 0,07$ баллов, т.е. выше I группы, но результат соответствует норме по шкале депрессии Гамильтона.

Расхождение результатов, полученных в настоящем исследовании, с данными, приводимыми в работах других авторов, по-видимому, обусловлено тем обстоятельством, что обследованные нами пациенты находились на стационарном лечении в неврологическом и колопроктологическом отделениях. Кроме того, для пациентов, включенных в наше исследование, была характерна выраженная коммуникабельность и активное вовлечение в повседневную социальную жизнь, что могло оказывать позитивное влияние на их психоэмоциональный статус и самочувствие. Эти особенности обследованного нами контингента также могут объяснять расхождение полученных нами результатов с данными других исследований.

Уксусная кислота участвует в поддержании гомеостаза кишечной микробиоты путем контроля pH среды и помогает выработке других важных для организма и обмена веществ кишечных метаболитов, в том числе

масляной кислоты. Нехватка уксусной кислоты вызывает дисбаланс в кишечнике и приводит к развитию патогенной микрофлоры. По уровню уксусной кислоты и масляной кислоты в крови можно предположить нормальная ли микрофлора в кишечнике. Снижение уксусной кислоты или ее отсутствие говорит о наличии патогенной микрофлоры.

В нашем исследовании у пациентов с жалобами на запоры или частый стул уровень уксусной кислоты был ниже, чем у пациентов, не имеющих данные жалобы.

I группа – I подгруппа средний уровень уксусной кислоты $22,80 \pm 1,91$ мкМ/л;

I группа – II подгруппа средний уровень уксусной кислоты $22,83 \pm 0,71$ мкМ/л;

II группа – I подгруппа средний уровень уксусной кислоты $15,85 \pm 1,18$ мкМ/л;

II группа – II подгруппа средний уровень уксусной кислоты $14,75 \pm 0,49$ мкМ/л.

Данные показывают соответствующий результат других авторов, которые утверждали, что КЦЖК влияют на деятельность головного мозга, в частности, на память.

По данным научных работ, уксусная кислота при когнитивных расстройствах у пациентов с ХИМ была снижена. Хун Чжен утверждает, что истощение бактерий, продуцирующих ацетат из микробиоты кишечника, способствует когнитивным нарушениям через нервный механизм кишечника и головного мозга у мышей с диабетом, что длительная нехватка уксусной кислоты у мышей вызвала когнитивные дисфункции. В нашем исследовании пациенты страдали кишечными заболеваниями и запорами длительный период, что важно подчеркнуть. Снижение уксусной кислоты возможно связано именно с этим фактором.

Полученные в ходе настоящего исследования данные позволяют рассматривать масляную кислоту в качестве одного из ключевых метаболитов

микробиоты кишечника, играющих важнейшую роль в реализации оси "кишечник-мозг". Как показали наши исследования, дефицит масляной кислоты, образующейся исключительно микроорганизмами при нормальном составе микробиоты, ассоциирован с разнообразными нарушениями в организме человека. Это связано с тем, что масляная кислота обладает выраженным противовоспалительным и антиканцерогенным действием, а также является важнейшим энергетическим субстратом для клеток кишечника. Кроме того, данная кислота ингибирует активность фермента гистондеацетилазы, которая, как известно, подавляет экспрессию гена нейротрофического фактора BDNF, играющего ключевую роль в регуляции когнитивных функций. Таким образом, масляная кислота способна устранять негативное влияние гистондеацетилазы на синтез BDNF, что имеет принципиальное значение для поддержания когнитивного здоровья.

Согласно выводу Джеймса Р. Дэви, *Inhibition of histone deacetylase activity by butyrate*, масляная кислота ингибирует фермент гистон деацетилазы. Этим путем масляная кислота способствует увеличению выработки BDNF фактора.

Научная работа Karlie A Intlekofer (*Exercise and sodium butyrate transform a subthreshold learning event into long-term memory via a brain-derived neurotrophic factor-dependent mechanism*) так же подтверждает, что введенный в мышей бутират натрия показал активирующий эффект нейротрофического фактора BDNF в области гиппокампа, отвечающий за долгосрочную память.

В нашей работе так же подтверждается влияние бутирата на концентрацию нейротрофического фактора BDNF в крови.

I группа – I подгруппа средний уровень масляной кислоты $2,72 \pm 0,21$ мкМ/л;

I группа – II подгруппа средний уровень масляной кислоты $2,69 \pm 0,06$ мкМ/л;

II группа – I подгруппа средний уровень масляной кислоты $2,15 \pm 0,09$ мкМ/л;

II группа – II подгруппа средний уровень масляной кислоты $1,84 \pm 0,069$ мкМ/л.

Уровень уксусной и масляной кислоты в крови зависел от наличия патологий головного мозга и проблем, связанных с ЖКТ.

В результате проведенного корреляционного анализа подтверждена взаимосвязь между параметрами, отражающими состояние когнитивных функций (по данным нейропсихологического тестирования), и уровнем мозгового нейротрофического фактора BDNF. В частности, в группе пациентов с диагностированными когнитивными расстройствами выявлено достоверное снижение концентрации BDNF по сравнению с контрольной группой. Данный факт свидетельствует о наличии ассоциативных взаимосвязей между состоянием когнитивной деятельности мозга и уровнем данного биологически активного пептида, играющего ключевую роль в процессах нейропластичности, обучения и памяти.

Данные, полученные в ходе проведенного нами исследования, показали, что у пациентов моложе 50 лет отмечались более высокие показатели уровня нейротрофического фактора мозга BDNF по сравнению с пациентами старшей возрастной группы, причем эта закономерность сохранялась независимо от наличия у обследованных лиц тех или иных патологических изменений головного мозга сосудистого или дегенеративного генеза, равно как и в случаях регистрации у пациентов той или иной степени когнитивных расстройств, в частности, снижения памяти и других когнитивных функций. Таким образом, повышенный по сравнению с возрастной нормой уровень BDNF отмечался у молодых пациентов независимо от имеющейся у них церебральной патологии и выраженности когнитивных нарушений.

По результатам проведенного нами исследования было установлено, что в группе пациентов с диагностированными теми или иными формами когнитивных расстройств имело место достоверно значимое снижение сывороточных уровней как уксусной, так и масляной жирных кислот по сравнению с референтными показателями этих метаболитов,

зарегистрированными в контрольной группе практически здоровых добровольцев, не предъявлявших жалоб на ухудшение памяти, внимания и других когнитивных функций. Полученные данные позволяют предположить возможное патогенетическое значение дефицита уксусной и масляной кислот, являющихся важнейшими метаболическими продуктами микрофлоры кишечника, в генезе и прогрессировании когнитивной дисфункции у обследованных пациентов с выявленным снижением когнитивных способностей.

Принимая во внимание способность данных органических соединений оказывать регулирующее действие на экспрессию ключевых генов нейропластичности и на синтез факторов роста нервной ткани, в частности BDNF, можно предположить их опосредующую роль в формировании ассоциативных взаимосвязей между составом кишечной микробиоты и функциональным состоянием центральной нервной системы.

По результатам проведённого исследования подтверждено наличие ассоциативной взаимосвязи между составом и функциональным состоянием кишечной микробиоты и когнитивной деятельностью головного мозга. Так, выявлены достоверные корреляционные зависимости между уровнями короткоцепочечных жирных кислот – основных метаболитов кишечных микроорганизмов – и показателями когнитивных тестов, а также концентрацией нейротрофического фактора BDNF в сыворотке крови.

Полученные в настоящем исследовании результаты позволяют констатировать наличие патогенетически значимой взаимосвязи между состоянием кишечной микробиоты и функциональным статусом головного мозга. Эта связь реализуется посредством регуляторного действия метаболитов микрофлоры кишечника, прежде всего короткоцепочечных жирных кислот, на экспрессию генов, контролирующих пластические процессы в нервных клетках, а также на синтез основных нейротрофических факторов, обеспечивающих рост и регенерацию нервной ткани. Выявленные молекулярно-генетические и биохимические механизмы лежат в основе

недавно описанной оси "кишечник-мозг", имеющей, согласно полученным данным, важнейшее значение для поддержания когнитивного здоровья на протяжении всей жизни.

Результаты проведенного исследования позволяют рассматривать в качестве одного из важнейших маркеров и предикторов успешного и активного долголетия способность кишечной микрофлоры человека поддерживать или усиливать общеорганизменный противовоспалительный ответ по мере старения. Это достигается за счет сохранения микробиотой оптимального баланса между провоспалительными и противовоспалительными процессами в различных тканях и органах, не допуская чрезмерной активации первых. Как показало наше исследование, именно способность микробиома обеспечивать преобладание противовоспалительных регуляторных механизмов даже в преклонном возрасте является одной из характерных особенностей долгожителей с высоким качеством жизни.

Выводы

1. Наличие патогенной микрофлоры приводит к развитию когнитивных дисфункций. У больных I группы – ХИМ без нарушения микробиоты кишечника отмечались запоры в пределах 17,14 %, во II группе больных – ХИМ с нарушением микробиоты кишечника - 96,58%. У больных с проктологическими заболеваниями жалобы на нарушение стула 100%. По шкале SAGE средние показатели были следующими: I группа – $19,67 \pm 0,31$ баллов (нет когнитивных нарушений), II группа – $16,35 \pm 0,02$ баллов (умеренные когнитивные расстройства), у больных с проктологическими заболеваниями средний показатель – $17,20 \pm 0,39$ баллов – (умеренные когнитивные расстройства) $r = (0,8) p \leq 0,05$.

2. В нашем исследовании у пациентов I группы с интактной микробиотой кишечника средний уровень уксусной кислоты составлял $22,83 \pm 0,80$ мкМ/л, бутановой кислоты - $2,71 \pm 0,06$ мкМ/л, а нейротрофического фактора BDNF в крови был выше. У больных II группы с нарушенной микробиотой кишечника этот показатель равен $14,97 \pm 0,69$ мкМ/л уксусной кислоты и $1,93 \pm 0,09$ мкМ/л масляной кислоты. У пациентов с проктологическими заболеваниями также наблюдались более низкие результаты, чем у пациентов I группы: уксусная кислота $15,6 \pm 1,33$ мкМ/л и масляная кислота $2,17 \pm 0,10$ мкМ/л. В I группе - ХИМ с интактной микробиотой кишечника средний уровень нейротрофического фактора BDNF в крови выше, чем у больных II группы - $316,98 \pm 26,89$ пг/мл, II группе - СМКМ с нарушениями микробиоты кишечника $203,92 \pm 8$ пг/мл с проктологическими заболеваниями у больных - равен $216,88 \pm 39,78$ пг/мл ($r=0,8) p < 0,05$.

3. Уксусная кислота и масляная кислота разными путями повышают уровень BDNF фактора. В I группе средний уровень нейротрофического фактора BDNF - $316,98 \pm 26,89$ пг /ml, уксусная кислота - $22,83 \pm 0,80$ мкМ/л и масляная кислота- $2,72$ мкМ/л, II группа – нейротрофический фактор BDNF - $203,92 \pm 13,17$ пг /ml, уксусная кислота - $14,97 \pm 0,69$ мкМ/л , масляная кислота $1,93 \pm 0,09$ мкМ/л, больные с проктологическими заболеваниями: средний

уровень BDNF фактора - $216,88 \pm 39,78$ pg /ml, уксусная кислота - $15,59 \pm 1,33$ мкМ/л, масляная кислота $2,17 \pm 0,10$ мкМ/л ($r=0,9$) $p \leq 0,01$.

4. По итогам научной работы было выявлено, что связь кишечник – мозг является очень важным звеном в организме. Разработанная диагностическая модель на основе статистических расчётов receiver operating characteristic (ROC - кривой) определила высокую чувствительность теста масляной кислоты для определения когнитивных расстройств, рисунок 5.

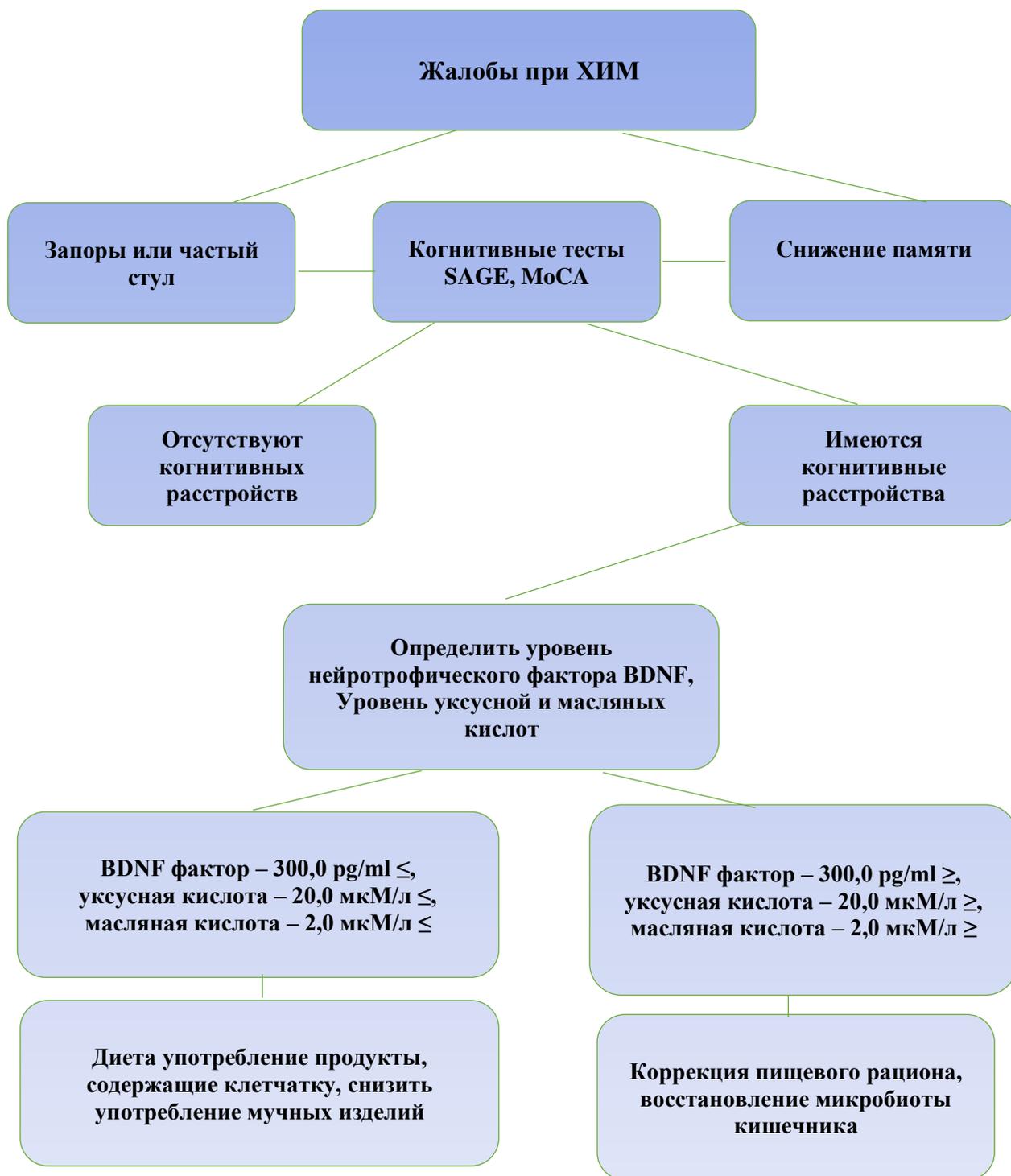


Рисунок 5. Критерии ведения больных ХИМ

Практические рекомендации

1. На первичном звене здравоохранения у всех больных ХИМ нужно обратить внимание на наличие кишечных заболеваний и дисбактериоза. В план обследования пациентов следует включать анализ кала на наличие дисбактериоза. Для более точного диагностирования дисбактериоза, надо определять уровень уксусной и масляной кислот в крови или в кале. Решение проблем с дисбактериозом на данном этапе позволяет уменьшить риск развития дисфункции когнитивной сферы.

2. Для ранней диагностики когнитивных дисфункций необходимо проводить такие нейропсихологические тесты, как SAGE, MoCA, MMSE, тест «рисование часов», определять уровень нейротрофического фактора BDNF. Эти мероприятия позволяют предположить дальнейшее развитие заболевания и предупредить тяжелые осложнения.

3. Патогенетическая терапия больных с ХИМ должна включать меры по нормализации кишечной микрофлоры. С этой целью рекомендуется обратить внимание на рацион питания больного. В рационе должны содержаться продукты, помогающие обогащению микробиоты. Например, продукты, содержащие в себе в достаточном количестве клетчатку и молочнокислые продукты. Необходимо ограничить употребление продуктов, содержащих глюкозу в большом количестве, так как патогенные бактерии чаще питаются этими продуктами. Следует рекомендовать пребиотики и пробиотики на длительное время для получения положительного результата.

Список литературы

1. Антипенко Е.А. Хроническая ишемия головного мозга. Современное представление проблемы / Е.А. Антипенко, А.В. Густов // Медицинский совет – 2016 №19. – С.38-43.
2. Ардатская М.Д. Дисбиоз (дисбактериоз) кишечника: современное состояние проблемы, комплексная диагностика лечебная коррекция/ С.В. Бельмер, В.П. Добрица, О.Н. Минушкин и др.// Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология - 2015 №117 – С. 13-50
3. Белоусова Н.П. Взаимосвязь когнитивных нарушений и уровня BDNF у лиц молодого возраста/ Н.П. Белоусова, О.А. Громова, Е.Г. Пепеляев и соавт.,/ Медицина в Кузбассе Т.16 №4 – 2017. - С. 39-43.
4. Бикбавова Г.Р. Потенциальная роль кишечной микробиоты в формировании болезни Альцгеймера / С. Лопата, М. Киндалов и др. // Русский медицинский журнал – 2021 - № 6. С. 93-95
5. Боголепова А.Н. Когнитивные нарушения у больных с цереброваскулярной патологией // Лечение нервных болезней. – 2011 – № 3(8). – С. 16-21.
6. Бойко А. Новые подходы к ведению пациентов с умеренными когнитивными расстройствами при хронической ишемии головного мозга / Лебедева А., Щукин И. и др. // Врач. – 2014. – № 12. – С. 54-59.
7. Бойко А.Н. Хроническая ишемия мозга (дисциркуляторная энцефалопатия) / Сидоренко Т.В., Кабанов А.А. // Consilium medicum. – 2004. – Т. 6, № 8. – С. 598-601.
8. Бондаренко В.М. Кишечно-мозговая ось. Иммунные и нейровоспалительные механизмы и патологии мозга и кишечника / Е. В. Рябиченко // Журнал микробиологии – 2013, № 2, с. 112 - 120
9. Бородинова А.А., Саложин С.В. Различия биологических функций BDNF и proBDNF в центральной нервной системе, Журнал высшие нервные деятели - 2016. Том 66, С.3–23.

10. Ведунова М.В. Антигипоксические свойства нейротрофического фактора головного мозга при моделировании гипоксии в диссоциированных культурах гиппокампа / Т.А. Сахарнова, Е.В. Митрошина и др. // Современные технологии в медицине. 2012; Выпуск 4: 17–23 сс.
11. Воскресенская О.Н. Механизмы формирования хронической ишемии головного мозга при артериальной гипертензии / Н.Б. Захарова, М.В. Иванов // Журнал неврологии и психиатрии 2017 №2. – С. 68-71.
12. Гафуров Б.Г. Дисциркуляторная венозная энцефалопатия. – Ташкент: ТашиУВ, 2013. – 27с.
13. Гафуров Б.Г. Изменения функционального состояния головного мозга на ранних стадиях хронической ишемии головного мозга / Хайриева М.Ф. // Journal of Neurology and Neurosurgery research 2020 Vol. 1(2) P. 68-70.
14. Гафуров Б.Г. Состояние неспецифических систем мозга при начальных проявлениях недостаточности кровоснабжения мозга и дисциркуляторной энцефалопатии / Бусаков Б.С. // Журнал Неврологии и Психиатрии - 1992. - Т.92. - N1. - С.38-40
15. Герасимова М.М. Хроническая ишемия головного мозга пособие для врачей // - Тверь, 2014 – С.7
16. Головенко О.К. Лечение заболеваний кишечника масляной кислотой/ И.Л. Халиф, А.О. Головенко // Гастроэнтерология – 2012 С. 84-87
17. Гомазков О.А. Старение мозга и нейротрофическая терапия // М.: Икар, 2011. – 92 с. 33.
18. Гунченко А.С. Факторы риска острой и хронической ишемии головного мозга (клинико-генетический анализ): Автореферат диссертация мед. наук. - Москва 2018. - 25 с.
19. Гусев Е.И. Когнитивные нарушения при цереброваскулярных заболеваниях / А.Н. Боглепов // 2012. - 160 с.
20. Гусев Е.И. Современные патогенетические аспекты формирования хронической ишемии мозга / А.С. Чуканова // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2015; 115(3): - С. 4-8.

21. Дедов И.И. Сахарный диабет и артериальная гипертензия / М.В. Шестакова // Медицинское информационное агентство, 2006. – С. 74-75.
22. Живолупов С.А. Прогностическое значение содержания в крови нейротрофического фактора мозга (BDNF) при терапии некоторых функциональных и органических заболеваний нервной системы с применением адаптола / И.Н. Самарцев, А.А. Марченко // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. – 2012. - №4. – С. 37-41
23. Ибодуллаев З.Р. Неврология. Умумий амалиёт врачлари учун. – Т., 2013, 368 б.
24. Ибодуллаев З.Р. Тиббиёт психологияси. Дарслик. Т., 2009, 389 б.
25. Захаров В.В. Когнитивные нарушения в неврологической практике // Фарматека. – 2006. – № 7. – С.37-43.
26. Захаров В.В. Когнитивные нарушения при дисциркуляторной энцефалопатии / Локшина А.Б. // РМЖ. – 2009. – Т.17, 20. – С.1325-1329.
27. Кабыш С.С. Когнитивные нарушения и COVID – 19 / А.Д. Карпенкова, С.В. Прокопенко // Клиническая медицина -2022 № 2 с. 40-48
28. Кайбышева В.О. Микробиом человека: возрастные изменения и функции / М.Е. Жарова, Е.Л. Никонов и др. // Russian Journal of Evidence-based Gastroenterology 2020, Vol. 9, No. 2, P. 42-55
29. Левин О.С. Диагностика и лечение дисциркуляторной энцефалопатии. // Методическое пособие - 2010. –8 с 63.
30. Локшина А.Б. Легкие и умеренные когнитивные расстройства у пациентов с дисциркуляторной энцефалопатией // IX Всероссийский съезд неврологов – 2006, С. 69
31. Маджидова Ё.Н. Реабилитация больных с хронической ишемией мозга в зависимости от этиологического фактора / Д.Д. Усманова // Проблемы биологии и медицины: актуальные проблемы медицинской реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины: материалы научно-практической конференции с международным участием. Самарканд, 2014. – №4(80), – С. 137-138

32. Максюткина Л.Н. Метаболический синдром и состояние стенки внутренней сонной артерии / С.Ю. Петрухина, О.В. Лагода и др. // В Мультидисциплинарный взгляд на метаболический синдром: Тез. науч.-практич. конф. СПб., 2012. – С. 57-58.
33. Марданов А.В. Метагеномный анализ динамических изменений микробиома кишечника участников эксперимента МАРС-500, моделирующего длительный космический полет / М. М. Бабыкин, А. В. Белецкий // Acta naturae 2013 № 5(3) с. 116-125
34. Маркин С.П. Нарушение когнитивных функций во врачебной практике: Методическое пособие – Воронеж: ГМА им. Н.Н. Бурденко. – 2008. – 43 с.
35. Мартынов М.Ю. Комбинированная нейропротективная терапия у коморбидных пациентов с хронической ишемией головного мозга / А.Н. Ясаманова, Т.И. Колесникова // Медицинский совет. Москва 2017г. - №17. – С. 146-150
36. Нетребенко О.К. Кишечная микробиота и мозг: обоюдное влияние и взаимодействие. 2015, С. 134-139
37. Никифоров А.С., Гусев Е.И. Частная неврология. – М.: ГЕОТАР-Медиа; 2013. – 768 с.
38. Усманова Д.Д. Роль нейротрофических факторов в патогенезе хронической ишемии мозга / Медицинские новости – 2015 № 9 с. 66-67
39. Парфенов В.А. Дисциркуляторная энцефалопатия и сосудистые когнитивные расстройства. – М.: ИМА-ПРЕСС, 2017. – 126 с.
40. Парфенов В.А. Ведение пациентов с дисциркуляторной энцефалопатией в амбулаторной практике / Неверовский Д.В. // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. – 2015. – №7(1). – С.37-42.
41. Попова Н.К. Нейротрофический фактор мозга: влияние на генетически и эпигенетически детерминированные нарушения поведения / М. Морозова // Росс.физиол. журн. им. Сеченова, 99, (2013), с. 1125–1137
42. Пугулина М.В. Возможности ранней коррекции легких и умеренных когнитивных расстройств у пациентов с дисциркуляторной

- энцефалопатией / Шабалина Н.И. // Лечащий врач. – 2010. – №9. – С.100-103.
- 43.Рахимбаева Г.С. Особенности течения лейкоэнцефалопатии и пути коррекции когнитивных расстройств / Г.К. Рахматуллаева, С.А. Касимова и др. // Журнал для врачей лаборатории. Материалы XXI Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Москва, 2017. №3. – С. 48.
- 44.Сагатов Д.Р. Особенности факторов риска инсульта в молодом возрасте / Маджидова Ё.Н. // Практическая неврология и нейрореабилитация. – 2010. – №1. – С. 4-6.
- 45.Скворцова В.И. Хроническая ишемия мозга / // Болезни сердца и сосудов. – 2006. – Т. 1, № 3. – С. 43.
46. Сиденкова А. Механизмы влияния кишечной микробиоты на процесс старения ЦНС и формирование когнитивных расстройств при болезни Альцгеймера / В. Макотных, Е. Врошилина и др.// Научный обзор – 2022 № 2 с. 98-111
- 47.Скоромец А.А. Когнитивные функции и лечение их нарушений при хронической недостаточности кровообращения в вертебро-базиллярной системе у пожилых / К.Т. Алиев, Т.В. Лалаян // Журнал неврологии и психиатрии имени Корсакова С. С. – 2013 - №113(4). – С. 18–25
- 48.Скоромец А.А. Многоцентровая программа по оценке эффективности и безопасности новой схемы терапии больных с хронической цереброваскулярной недостаточностью / Танащян М.М., Чуканова Е.И. и др. // Журн. неврол. и психиатр. (приложение «Инсульт»). – 2009. – Т.5, №2. – С. 44-50.
- 49.Скоромец А.А. Скоромец А.П., Скоромец Т.А. Нервные болезни. – СПб.: МЕДпресс-информ, 2010. – 552 с.
- 50.Суслина З.А., Варакин Ю.Я. Клиническое руководство по ранней диагностике, лечению и профилактике сосудистых заболеваний головного мозга. – М.: МЕДпресс-информ, 2015. – 440 с.

- 51.Тренева Е.В. Мозг и микробиота: Нейроэндокринные и гериатрические аспекты / С.Булгакова, П.Романчук и др. // Обзорная статья - 2019 -с. 26- 52
- 52.Фонякин А.В. Артериальная гипертензия, цереброваскулярная патология и сосудистые когнитивные расстройства / Л.А. Гераскина, З.А. Суслина // Актуальные вопросы. Краткое руководство для врачей. - М., 2006. С.32
53. Цепилов С.В. Нейротрофины крови при хронической ишемии мозга / Ю.В. Каракулова // Пермский медицинский журнал – 2016. № 6 с. 60-65
- 54.Шантырь И.И. Состояние микробиоты кишечника и параметры оксидативного стресса у пациентов с метаболическим синдромом / Г.Г. Радионов, Ю.А. Фоминых и др. // Экология человека 2019 № 10 С. 23-29
- 55.Юдина Ю.В. Микробиота кишечника как отдельная система организма/ А.А. Корсунский, А.И. Аминова, Г.Д. Абдуллаева // Доказательная гастроэнтерология – 2019 № 4-5. – С. 36-43
- 56.Яхно Н.Н., Штульман Д.Р. Болезни нервной системы. Руководство для врачей. - М.: Медицина, 2001. – №1. – С. 231-302
57. Яхно Н.Н. Когнитивные расстройства / Неврологический вестник 2007 – Т XXXIX, вып. 1. – С.134-138
- 58.Яхно Н.Н. Синдром умеренных когнитивных расстройств при дисциркуляторной энцефалопатии / Захаров В.В., Локшина А.Б. // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2005; 105 (2): 13
- 59.Akbari E. Effect of Probiotic Supplementation on Cognitive Function and Metabolic Status in Alzheimer's Disease: A Randomized, Double-Blind and Controlled Trial / Zatollah Asemi, Reza Daneshvar Kakhaki [et al.] // Frontiers in Aging Neuroscience - 2016 - Vol. 8 Article number 256
60. American Academy of Microbiology FAQ: Human Microbiome Archived 2016 P. 38-41
- 61.Aoyama Michiko Butyrate and propionate induced activated or non-activated neutrophil apoptosis via HDAC inhibitor activity but without activating GPR-41/GPR-43 pathways / Joji Kotani, Makoto Usami [et al.] // Nutrition 2010 Vol. 26 P. 653-661

62. Ang Z GPR41 and GPR43 in Obesity and Inflammation – Protective or Causative? / J. L. Ding // *Frontiers in Immunology* – 2016 - Vol. 7 Article 28
63. Bagheri Amir HDAC Inhibitors Induce *BDNF* Expression and Promote Neurite Outgrowth in Human Neural Progenitor Cells-Derived Neurons / P. Habibzadeh, S. Fateh [et al.] // *International journal of molecular science*-2019-Vol. 20 Article 1109
64. Barandouzi Z. A. Altered Composition of Gut Microbiota in Depression: A Systematic Review [et al.] / *Frontiers Psychiatry* – 2020 – Vol. 11 Article 541
65. Bennett M. Identification of urinary metabolites of (+/-)-2-(p-isobutylphenyl)propionic acid (Ibuprofen) by routine organic acid screening / W G Sherwood, A Bhala, D E Hale // *Clinica Chimica Acta* 1992 – Vol. 210 P 55-62
66. Besten D. Short-chain fatty acids protect against high-fat diet-induced obesity via a ppar γ -dependent switch from lipogenesis to fat oxidation / A. Bleeker, A. Gerding [et al.] // *Diabetes* – 2015 P. 398–408
67. Bourassa Megan W Can a high fiber diet improve brain health? / Ishraq Alim, Scott J. Bultman [et al.] // *Neuroscience Letters* – 2016 - Vol. 625 P. 56-63
68. Buford T. Trust your gut: the gut microbiome in age-related inflammation, health and disease / *Microbiome* – 2017 Vol. 5 (1) article number 80
69. Catassi Carlo Markers of Oxidative Stress in Inflammatory Bowel Diseases: Risk Factors and Implications for a Dietetic Approach (OxIBDiet) // US Clinical Trials Registry 2022 NCT04513015
70. C Bachmann Short chain fatty acids in plasma and brain: quantitative determination by gas chromatography / J. P. Colombo, J. Beruter // *Clinica chimica acta* - 1979 Vol. 92(2) P. 153-161
71. Chaudhari D. Unique trans-kingdom microbiome structural and functional signatures predict cognitive decline in older adults / S. Jain, V. Yata [et al.] // *Geroscience* 2023 – 10.1007 P.1-16

72. Chen A. The neuroprotective roles of BDNF in hypoxic ischemic brain injury / Jing Xiong, Y. Tong [et al.] // Biomedical reports -2013 Vol. 1(2) P. 167-176
73. Chen T Butyrate suppresses demyelination and enhances remyelination / D Noto, Y Hoshino [et al.] // Neuroinflammation 2019 Vol 15:165
74. Cheung S. Systematic Review of Gut Microbiota and Major Depression / A. Gordenthal, A. Uhlemann [et al.] // Frontiers in psychiatry – 2019 – Vol. 10 Article 34
75. Chidambaram SB. The Influence of Gut Dysbiosis in the Pathogenesis and Management of Ischemic Stroke / AG Rathipriya, AM Mahalakshmi [et al.] // Cells. 2022 – Vol.11(7):1239.
76. Churchward M.A. Short-chain fatty and carboxylic acid changes associated with fecal microbiota transplant communally influence microglial inflammation / E. Michaud, Mullish B. [et al.] // Heliyon – 2023 Vol. 9(6) e16908
77. Davie James R. Inhibition of Histone Deacetylase Activity by Butyrate / The Journal of Nutrition - 2003 Vol. 133 (7) P. 2485-2493
78. Drago L. Cultivable and pyrosequenced fecal microflora in centenarians and young subjects/ Marco Toscano, Valentina Rodighiero [et al.] // Journal Clinic Gastroenterol – 2012 – Vol. 46 P. 81-4
79. Eamonn M M Quigley Gut bacteria in health and disease//Gastroenterol Hepatol (N Y)- 2013 –Vol.-9 P 560-569
80. Eamonn M M QuigleyThe future of probiotics for disorders of the brain-gut axis / Shanahan F. // Advances Experimental medicine and biology 2019 Vol 115 P. 122 - 131
81. Erny Daniel Host microbiota constantly control maturation and function of microglia in the CNS/ A. Hrab de Angelis, D. Jaitin [et al.] // Nature Neuroscience 2017 Vol. 18 P. 965-977.
82. Evrensel A. The Gut-Brain Axis: The Missing Link in Depression / Mehmet Emin Ceylan // Clinic Psychopharmacology Neuroscience – 2015 Vol. 13 P. 239-244.

83. Gao Sh. Histone deacetylases inhibitor sodium butyrate inhibits JAK2/STAT signaling through upregulation of SOCS1 and SOCS3 mediated by HDAC8 inhibition in myeloproliferative neoplasms / Ch. Chen, Lu-yao Wang [et al.] // *Experimental hematology* – 2013 Vol. 41 (3) P. 261-270
84. Fang Z. The Bridge Between Ischemic Stroke and Gut Microbes: Short-Chain Fatty Acids / M. Chen, J. Qian [et al.] // *Cell molecular neurobiology* – 2023 - Vol. 43(2) P. 543-559
85. Gareau G. M. Microbiota-gut-brain axis and cognitive function / *Microbial Endocrinology* – 2014 Vol. 817 P. 357-371
86. Gilbert J.A. Current understanding of the human microbiome / Blaser J. Martin, Caporaso G. J. [et al.] // *Natural Medicine* – 2018 Vol. 4 (24) P 392-400
87. Gwen Falony et al. Population-level analysis of gut microbiome variation / S. Vieira-Silva, J. Wang, K. Faust [et al.] // *Science* – 2016 – Vol. 352 P. 560-564
88. Haghikia A. Dietary fatty acids directly impact central nervous system autoimmunity via the small intestine / S. Jorg, A Duscha [et al.] // *Immunity* 2015 P. 817–829
89. Hauer A.D. Blockade of Interleukin-12 Function by Protein Vaccination Attenuates Atherosclerosis / C. Uyttenhove, P. de Vos, [et al.] // *Circulation* 2005 Vol. 112 (7) P. 1054-1062
90. Huang Yunfei Altered Histone Acetylation at *Glutamate Receptor 2* and *Brain-Derived Neurotrophic Factor* Genes Is an Early Event Triggered by Status Epilepticus / James J. Doherty, Ray Dingledine // *The Journal of Neuroscience* 2002 Vol. 22 P. 8422-8428
91. Hug H. Toll-like receptors: Regulator of the Immune Response in the Human Gut / H. Mohajeri, G. La Fata // *Nutrients* 2018 Vol. 10 (2) P. 203
92. Intlekofer Karlie A Exercise and sodium butyrate transform a subthreshold learning event into long-term memory via a brain-derived neurotrophic factor-dependent mechanism / Nicole C Berchtold, Melissa Malvaez [et al.] // *Neuropsychopharmacology* – 2013 – Vol. 38 P. 2027-2034

93. Jackson A. Diet in Parkinson's Disease: Critical Role for the Microbiome / Christopher B. Forsyth, Maliha Shaikh [et al.] // *Frontiers Neurology*-2019-Vol. 10 Article 1245
94. Jing Sun Clostridium bothrium pretreatment attenuates cerebral ischemia/reperfusion injury in mice via anti-oxidation and anti-apoptosis / Z. Ling, F. Wang, W. Chen, H. Li [et al.] // *Neuroscience Letters* - 2016 Vol. 613 P. 30-35
95. June L Round The Toll-like receptor 2 pathway establishes colonization by a commensal of the human microbiota / S. Melanie Lee, G. Tran, B. Jabri [et al.] // *Science* – 2011. – Vol. 322 P. 974-977.
96. Katz R. Brain uptake and utilization of fatty acids, lipids & lipoproteins: recommendations for future research / J. Hamilton. H. Pownall [et al.] // *Journal of molecular neuroscience* – 2007 Vol. 33 P. 146-150
97. Kaur G. Dysregulation of the Gut-Brain Axis, Dysbiosis and Influence of Numerous Factors on Gut Microbiota Associated Parkinson's Disease / Tapan Behl, Simona Bungau [et al.] // *Current Neuropharmacology* – 2021 Vol. 19 (2) P. 233-247
98. Kien C. L. Quantitation of colonic luminal synthesis of butyric acid in piglets / J C Chang, James R Cooper [et al.] // *Journal Pediatr Gastroenterol Nutrition* – 2002 Vol. 53 (3) 324-8
99. Kim HJ The HDAC inhibitor, sodium butyrate, stimulates neurogenesis in the ischemic brain / Leeds P, Chuang DM // *Journal Neurochemistry* – 2009 Vol. 110 P. 1226–1240
100. Kim Seo Sodium butyrate inhibits high cholesterol-induced neuronal amyloidogenesis by modulating NRF2 stabilization-mediated ROS levels: involvement of NOX2 and SOD1 / Chang Woo Chae, Hyun Jik Lee [et al.] // *Cell Death and Disease* 2020 Vol. 11 P. Article number 469
101. Kim Som Short-chain fatty acid butyrate induces IL-10-producing B cells by regulating circadian-clock-related genes to ameliorate Sjögren's syndrome / Jin Seok Woo, Hong-Ki Min [et al.] // *Journal of Autoimmunity* 2021 Vol.119 P. 102611

102. Lee J. Gut Microbiota-Derived Short-Chain Fatty Acids Promote Poststroke Recovery in Aged Mice / J. d'Agil, L. Atadja [et al.] // *Circulation research* – 2020 Vol. 127(4) P. 453-465
103. Lee J Young versus aged microbiota transplants to germ-free mice: increased short-chain fatty acids and improved cognitive performance / V. Venna, D. Durgan [et al.] // *Gut microbes* -2020- Vol 12(1) P. 1-14
104. Liu Jiaming Anti-neuroinflammatory Effect of Short-Chain Fatty Acid Acetate against Alzheimer's Disease via Upregulating GPR41 and Inhibiting ERK/JNK/NF- κ B / Haijun Li,Tianyu Gong,Wenyang Chen [et al.] // *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 2020 Vol. 68 P.7152-7161
105. Lia M. Pro- and anti-inflammatory effects of short chain fatty acids on immune and endothelial cells / Betty C.A.M. van Escha, Gerry T.M. Wagenaar [et al.] // *European Journal of Pharmacology* – 2018 – Vol. 831 P. 52-59
106. Li X. Lactobacillus rhamnosus GG ameliorates noise-induced cognitive deficits and systemic inflammation in rats by modulating the gut-brain axis / P. Zheng, B, Cao // *Frontiers in cellular and infection microbiology* – 2023. Vol. 13 10169735
107. Liu Hu Butyrate: A Double-Edged Sword for Health? / Ji Wang, Ting He [et al.] // *Advances in Nutritio* – 2018 - Vol. 9 (1) P. 21-29
108. Li M. Pro- and anti-inflammatory effects of short chain fatty acids on immune and endothelial cells / B. van Esch, J. Garssen // *European Journal of Pharmacology* – 2018 – Vol. 831 P. 52-59
109. Macfabe Derrick F. Short-chain fatty acid fermentation products of the gut microbiome: implications in autism spectrum disorders / *Microbial ecology in health and disease* -2012 - Vol. 23 P.19-26

110. Macfabe Derrick F. Enteric short-chain fatty acids: microbial messengers of metabolism, mitochondria, and mind: implications in autism spectrum disorders / *Microbial ecology in health and disease* – 2015 – Vol. 26 P. 44-51
111. Mashaqi S. Obstructive Sleep Apnea and Systemic Hypertension: Gut Dysbiosis as the Mediator? / David Gozal // *Journal Clinic Sleep Medicine* – 2019 – Vol. 15 (10) P. 1517-1527
112. Maqsood R. The Gut-Brain Axis, BDNF, NMDA and CNS Disorders / Trevor W Stone // *Neurochemical research* 2014 Vol. 41(11) P. 2819 - 2839
113. Marizzoni Moira Short-Chain Fatty Acids and Lipopolysaccharide as Mediators Between Gut Dysbiosis and Amyloid Pathology in Alzheimer's Disease/Annamaria Cattaneo, Peppino Mirabelli // *Journal of Alzheimer Disease* 2020 Vol. 78 P.683-697
114. McBurney Establishing what constitutes a healthy human gut microbiome: state of the science, regulatory considerations, and future directions / C. Davis, S. Fraser [et al.] // *Journal nutrients* – 2019 Vol. 149 (11) P. 1882 - 1895
115. Megur Ashwinipriyadarshini The Microbiota–Gut–Brain Axis and Alzheimer’s Disease: Neuroinflammation Is to Blame? / Daiva Baltriukienė, Virginija Bukelskienė [et al.] // *Nutrients* 2021, Vol.13(1) P. 9-27
116. Milazzo Giorgio Histone Deacetylases (HDACs): Evolution, Specificity, Role in Transcriptional Complexes, and Pharmacological Actionability / D. Mercatelli, G. Di Muzio [et al.] // *Genes* 2021 Vol. 11 (5) P. 556 – 604
117. Modi S. Antibiotics and the gut microbiota / J. Collins, D. Relman // *Clinical investigation* – 2014 – Vol. 124 P. 4212-4218
118. Moreno-Indias Isabel Impact of the gut microbiota on the development of obesity and type 2 diabetes mellitus/ F. Cardona, F. J. Tinahones [et al.] // *Front Microbiology* 2014 Vol. 5 Article 190
119. Nambirajan Sodium butyrate improves memory function in an Alzheimer's disease mouse model when administered at an advanced stage of disease progression / Roberto Carlos Agis-Balboa, Jonas Walter [et al.] // *Journal Altheimers disease* 2011 Vol. 26 P. 187-197

120. Nathaniel W Snyder et al. Metabolism of propionic acid to a novel acyl-coenzyme A thioester by mammalian cell lines and platelets/S. Basu, A. J Worth, C. Mesaros [et al.] // Journal of lipid research – 2015 Vol. – 6 P. 142-150
121. Nogal A. The role of short-chain fatty acids in the interplay between gut microbiota and diet in cardio-metabolic health / A. Valdes, C. Menni // Gut microbiome – 2021 – Vol. 13 P. 12-24
122. Nunomura Akihiko Involvement of oxidative stress in Alzheimer disease / R. J Castellani, Xiongwei Zhu, P. I Moreira, G. Perry // Journal of Neuropathology Experimental Neurology 2006 Vol. 65 P. 631-641.
123. Ohira H. Are Short Chain Fatty Acids in Gut Microbiota Defensive Players for Inflammation and Atherosclerosis? / W. Tsutsui, Y Fujioka // Journal atherosclerosis thrombosis 2017 Vol. 1;24(7):660-672
124. O White André Does stress remove the HDAC brakes for the formation and persistence of long-term memory? / Marcelo A Wood // Neuropharmacology – 2013 Vol. 75 P. 106-115
125. Paul V Licciardi Histone deacetylase inhibition and dietary short-chain Fatty acids / Katherine Ververis, Tom C Karagiannis [et al.] // ISRN Alergy 2011 Vol. 2011 Article ID 869647
126. Periyanaiana Kesika Role of gut-brain axis, gut microbial composition, and probiotic intervention in Alzheimer's disease/ N. Suganthi, B. S. Sivamaruthi, Ch Chaiyasut//Life Science – 2021 Vol. 264 P.
127. Qian Xiao-hang Mechanisms of Short-Chain Fatty Acids Derived from Gut Microbiota in Alzheimer's Disease / Ru-yan Xie, Xiao-li Liu // Aging and Disease 2022 Vol. 13 P. 1252-1266
128. Ramalingam Mahesh Reactive oxygen/nitrogen species and their functional correlations in neurodegenerative diseases / Sung-Jin Kim // Basic Neurosciences, Genetics and Immunology - Review article 2012 Vol. 119 P. 891-910

129. Ristori V. Autism, Gastrointestinal Symptoms and Modulation of Gut Microbiota by Nutritional Interventions / A. Quagliariello, S. Reddel [et al.] // *Nutrients* – 2019 Vol. 11 P.101-121
130. Rutsch A. The Gut-Brain Axis: How Microbiota and Host Inflammation Influence Brain Physiology and Pathology / Johan B. Kantsjo, F. Ronchi // *Frontiers Immunology* – 2020 – Vol. 11 Article 604179
131. Sada Naoki, Inhibition of HDAC increases BDNF expression and promotes neuronal rewiring and functional recovery after brain injury / N. Mizuta, M. Ueno [et al.] // *Nature* 2020 Vol. 11 Article number 655
132. Säemann M D. Anti-inflammatory effects of sodium butyrate on human monocytes: potent inhibition of IL-12 and up-regulation of IL-10 production / G A Böhmig, C H Osterreicher, H Burtscher [et al.] // *The FASEB Journal* 2000 Vol. 14 (15) P. 2370-2622
133. Sivaprakasam S. Short-Chain Fatty Acid Transporters: Role in Colonic Homeostasis / Yangzom D Bhutia, Shengping Yang [et al.] // *Comprehensive Physiology* – 2018 – Vol. 8 P. 299-314
134. Stelou K. Butyrate histone deacetylase inhibitors / M. S. Boosalis, S. P. Perrine // *Bioresearch Open Access* - 2012 – Vol. 1(4) P. 192-198
135. Stilling R. M. The neuropharmacology of butyrate: The bread and butter of the microbiota-gut-brain axis? / Marcel van de Wouw, Gerard Clarke [et al.] // *Neurochemistry International* - 2016 – Vol. 99. P. 110-132
136. Strzępa Anna Influence of natural gut flora on immune response/ Marian Szczepanik // *Advances in Hygiene and Experimental Medicine* – 2013. – Vol. 67 P. 908-920.
137. Su Sh Fecal microbiota transplantation and replenishment of short-chain fatty acids protect against chronic cerebral hypoperfusion-induced colonic dysfunction by regulating gut microbiota, differentiation of Th17 cells, and mitochondrial energy metabolism / Y. Wu, Q. Lin [et al.] // *Journal neuroinflammation* -2020 Vol. 19(1):313

138. Sun M. Neuroprotective effects of fecal microbiota transplantation on MPTP-induced Parkinson's disease mice: Gut microbiota, glial reaction and TLR4/TNF- α signaling pathway/Y. Zhu, Z. Zhou, X. Jia [et al.] // Brain, Behavior and Immunity – 2018 Vol. 70 P. 48-60
139. Sochocka Marta The Gut Microbiome Alterations and Inflammation-Driven Pathogenesis of Alzheimer's Disease—a Critical Review/ K.Donskow-Lysoniewska, B. Satler Diniz [et al.] // Molecular Neurobiology 2019 Vol. 56 P.1841-1851
140. Taqueti V. R. Interaction of impaired coronary flow reserve and cardiomyocyte injury on adverse cardiovascular outcomes in patients without overt coronary artery disease/ B. M. Brendan. V. L. Murthy [et al.] // Circulation - 2015 - Vol. 131(6) P. 528-535
141. Thursby Elizabeth Introduction to the human gut microbiota / N. Juge // Biochemical Journal – 2017. – Vol. 474 P. 1823-1836
142. Turnbaugh PJ A core gut microbiome in obese and lean twins / M. Hamady, T. Yatsunenko [et al.] // Nature – 2009 – Vol. 457 P. 480–4
143. Vinolo Marco A R Regulation of inflammation by short chain fatty acids / H. G. Rodrigues, R. T Nachbar [et al.] // Nutrients – 2011 – Vol. 10 P. 858-876
144. Vogt Nicholas M Gut microbiome alterations in Alzheimer's disease / R. Kerby, K. Dill-McFarland [et al.] // Nature - 2017 -Vol. 7 Article number 13537
145. Wei Y Bin Antidepressant-like effect of sodium butyrate is associated with an increase in tet1 and in 5-hydroxymethylation levels in the BDNF gene / G. Wegener, A. Mathe // International journal neuropsychopharmacology – 2015 – Vol. 18 P. 1-10
146. Weiping X. The microbiota-gut-brain axis participates in chronic cerebral hypoperfusion by disrupting the metabolism of short-chain fatty acids / J. Su, X. Gao [et al.] // Microbiome – 2022 Vol. 10.62
147. W M A D Binosha Fernando Sodium Butyrate Reduces Brain Amyloid- β Levels and Improves Cognitive Memory Performance in an Alzheimer's Disease

- Transgenic Mouse Model at an Early Disease Stage / Ian J Martins, Michael Morici [et al.] // Journal Alheimers disease 2020 Vol. 74 P. 91-99
148. Wu Gary D Diet, the human gut microbiota, and IBD / Frederic D Bushman, James D Lewis // Anaerobe 2013 Vol. 24 P. 117-120
149. Wu X Histone deacetylase inhibitors up-regulate astrocyte GDNF and BDNF gene transcription and protect dopaminergic neurons / Sh. Dallas, B. Wilson [et al.] // International Journal Neuropsychopharmacology – 2008 – Vol. 11 (8) 1123-34
150. Ying Wey H. Insights into neuroepigenetics through human histone deacetylase PET imaging / T. Gilbert, N. R. Zurcher [et al.] // Science Translational Medicine – 2016 - Vol. 8 P. 348 – 351
151. Yukihiro Furusawa Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells / Yuuki Obata, Shinji Fukuda [et al.] // Nature 2013 Vol. 504 P. 446-450
152. Zapata H. The microbiota and microbiome in aging: potential implications in health and age-related diseases / V. Quagliarello // Journal of the American geriatrics' society – 2015 Vol. 63 (4) P. 776-781
153. Zeng M. The Role of Gut Microbiota in Blood-Brain Barrier Disruption after Stroke / M. Peng, J. Liang [et al.] // Molecular Neurobiology – 2023 Vol. 12 P. 23- 35
154. Zhang X. Imbalance of Microbacterial Diversity Is Associated with Functional Prognosis of Stroke / X. Wang, H. Zhao // Neural plasticity – 2023 Vol 6
155. Zimmerman Mary A. Butyrate suppresses colonic inflammation through HDAC1-dependent Fas upregulation and Fas-mediated apoptosis of T cells / Nagendra Singh Pamela M. Martin // American Journal of physiology gastro intestinal and liver physiology - 2012 – Vol. 312 P. 1405-1415