



¹ ГОУ ДПО «РМАПО»
Росздрава, Москва;

² ФГУ
«Учебно-научный
медицинский центр»
Управления делами
Президента РФ

Метаболическая активность кишечной микрофлоры у детей раннего возраста с нарушениями пищеварения

Д.м.н., проф. И.Н. ЗАХАРОВА¹, к.м.н. Н.Г. СУГЯН¹,
д.м.н., проф. М.Д. АРДАТСКАЯ²

В последние годы возрос интерес исследователей и практикующих врачей к лечебным средствам, используемым в коррекции различных патофизиологических состояний желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) у детей раннего возраста, у которых в силу незрелости функциональных и барьерных систем состав, свойства и метаболическая активность микрофлоры несовершенны и во многом зависят от характера питания.

Функциональные нарушения органов пищеварения широко распространены в детском возрасте. По данным Ю.В. Черненко (2007), у 38% детей, рожденных с помощью кесарева сечения, наблюдаются метеоризм, кишечные колики, расстройства стула и срыгивания [1]. У младенцев вначале доминируют нарушения моторики и чувствительности при отсутствии структурных изменений ЖКТ. Однако со временем наблюдаются изменения секреторной, всасывающей функций кишечника, а также нарушения состава кишечной микрофлоры и иммунного ответа [2]. В период новорожденности осуществляется переход младенца на энтеральное питание, происходит становление микробиоценоза кишечника. В исследованиях О.В. Лебедева (2007) показано, что к концу неонатального периода у 87% новорожденных не сформирован микробиоценоз кишечника [3]. Нарушения станов-

ления микробиоценоза кишечника у младенцев часто не зависят от характера вскармливания, а связаны с наличием патологии у матери, особенностями течения беременности и родов [4]. Новорожденных рассматривают как группу повышенного риска по развитию функциональных нарушений ЖКТ при наличии таких факторов, как недоношенность, морфофункциональная незрелость, перенесенная гипоксия во время беременности и родов, длительный период полного парентерального питания, раннее искусственное вскармливание [5]. Нормальная микрофлора кишечника принимает активное участие в синтезе биологически активных веществ, подавляющих рост и размножение патогенных микроорганизмов [6, 7]. Представители нормальной микрофлоры кишечника обладают адгезивными свойствами, фиксируясь на эпителии слизистой оболочки кишечника, они образуют пристеночный слой, что

обеспечивает колонизационную резистентность организма. Они устойчивы к неблагоприятным внешним воздействиям за счет образования клеточного муцина и бактериального полисахарида, синтезируют антибиотикоподобные вещества (бактериоцины). Продукты жизнедеятельности нормальной микрофлоры кишечника, закисляя его содержимое, стимулируют его моторную функцию. Кроме того, метаболиты микрофлоры задействованы в энергообеспечении эпителиоцитов, регуляции нормальной пролиферации и дифференцировки клеток кишечника и др. [8–14]. Любые патологические изменения в организме отражаются на составе, свойствах и метаболической активности кишечной микрофлоры, которая, в свою очередь, участвует в регуляции функционального состояния макроорганизма, в основном через дистанционные взаимодействия, где в роли «сигнальных молекул» выступают ее метаболиты. К продуктам метаболизма кишечной микрофлоры относятся: газы (H_2 , CO_2 , CH_4 , NH_3 , NO), аминокислоты (β -аланин, γ -аминомасляная, глутаминовая, ϵ -аминокапроновая), циклические нуклеотиды (цАМФ, цГМФ), короткоцепочечные жирные (монокарбоновые) кислоты, дикарбоновые кислоты (янтарная), оксикислоты (молочная) [15–18].



Из них в количественном отношении лидируют короткоцепочечные жирные кислоты (КЖК) с длиной цепи C_2-C_6 , что можно объяснить низким содержанием кислорода в толстой кишке и небольшой глубиной окисления моносахаридов и других субстратов. К КЖК (включая изомеры) относят уксусную (C_2), пропионовую (C_3), изомасляную (изо C_4), масляную (C_4), изовалериановую (изо C_5), валериановую (C_5), изокапроновую (изо C_6) и капроновую (C_6) кислоты.

Установлено, что КЖК образуются при ферментации углеводов (невсасывающийся крахмал, олигосахариды, пищевые волокна) анаэробными бактериями и представителями условно-патогенной флоры [19]. При расщеплении углеводов образуются уксусная (ацетат), пропионовая (пропионат) и масляная (бутират) кислоты [18, 20, 21]. Изобутират, изовалериат и 2-метилбутират образуются из аминокислот (валина, лейцина и изолейцина соответственно), которые также являются значимым источником КЖК для человека. Около 30% белков в кишечнике преобразуются в изомеры КЖК [22]. Существенным источником исходных субстратов сахаролитического брожения и протеолиза являются гликопротеиды слизи, специфическая оболочка эпителия – гликокаликс, отмершие и отделившиеся от основного пласта клетки эпителия и «остаточные» белки [23].

Важно отметить, что каждая КЖК образуется при ферментации субстрата бактериями определенного вида, поэтому по составу КЖК можно судить о функциональной активности конкретных представителей кишечной микрофлоры [15, 24, 25]. Участие данных метаболитов в локальных и системных функциях макроорганизма позволяет их использовать в качестве биохимических маркеров происходящих в нем процессов, в частности в кишечнике.

Целью нашего исследования явилось изучение метаболической активности кишечной микрофлоры при функциональных нарушениях ЖКТ у детей раннего возраста с по-

следующей коррекцией жидкими синбиотиками, содержащими КЖК.

Материалы и методы

В исследование включены 69 детей раннего возраста с минимальными пищеварительными дисфункциями, которые были разделены на две группы в зависимости от характера вскармливания.

I группу (ГВ) составили 40 детей (средний возраст $9,15 \pm 0,90$ недель), находившихся на грудном вскармливании.

II группу (ИВ) составили 29 детей (средний возраст $8,13 \pm 0,98$ недель), вскармливаемых искусственно смесями, содержащими в качестве углеводного компонента только лактозу.

Мы проанализировали выраженность минимальных пищевых дисфункций в зависимости от характера вскармливания. Интенсивность синдрома кишечных колик была оценена по 3-балльной системе, где 1 балл – кишечные колики только в вечернее время, 2 балла – кишечные колики возникают после каждого кормления и в ночное время, 3 балла – кишечные колики беспокоят в течение всего дня. Нами установлено, что средняя интенсивность (в баллах) кишечных колик у детей, находящихся на грудном и искусственном вскармливании, достоверно не отличалась друг от друга: ГВ – $1,72 \pm 0,12$ балла, ИВ – $1,72 \pm 0,13$ балла.

Выраженность синдрома срыгивания оценена по 5-балльной системе, предложенной Y. Vandenplas (1993) [26]. Частота возникновения и выраженность синдрома срыгивания у детей не отличалась в зависимости от характера вскармливания (ГВ – $1,87 \pm 0,15$ балла, ИВ – $1,95 \pm 0,19$ балла).

Консистенцию кала мы оценивали по Бристольской шкале форм кала [27]. В группе младенцев, находившихся на грудном вскармливании, средняя консистенция кала составила $6,75 \pm 0,09$ балла, во второй группе (ИВ) – $6,81 \pm 0,07$ балла ($p > 0,05$).

Всем детям первых месяцев жизни с функциональными нарушениями ЖКТ проводилось копрологическое исследование. В зависимости от типа нарушения пищеварения

(стеаторея 1 и 2 типа) и наличия слизи в кале мы проанализировали содержание и спектр КЖК методом ГЖХ-анализа (патент на изобретение РФ № 2145511 «Способ разделения смеси жирных кислот фракции C_2-C_7 методом газожидкостной хроматографии» от 09.04.1999. Авт. Н.С. Иконников, М.Д. Ардатская, В.Н. Бабин, О.Н. Минушкин и др.). Изучались следующие параметры: абсолютное содержание кислот, профили C_2-C_4 кислот (т.е. удельное содержание отдельной кислоты в общем пуле C_2-C_4 кислот $r_{Cn} = Cn / (C_2 + C_3 + C_4)$, значения анаэробного индекса ($AI = C_3 + C_4 / C_2$), отражающего окислительно-восстановительный потенциал внутрипросветной среды, уровень изокилот и отношение содержания изокилот к кислотам с неразветвленной цепью (изо Cn/Cn).

Результаты исследования и их обсуждение

При стеаторее 1 типа (рис. 1) наблюдалось повышение содержания в основном масляной кислоты – в группе ГВ до $0,091 \pm 0,008$ ед, в группе ИВ – до $0,132 \pm 0,008$ ед. Данные изменения, возможно, были связаны с недостаточностью липазы у детей с функциональными нарушениями пищеварения за счет относительной экзокринной недостаточности поджелудочной железы, так как масляная кислота является одним из конечных продуктов деградации длинноцепочеч-

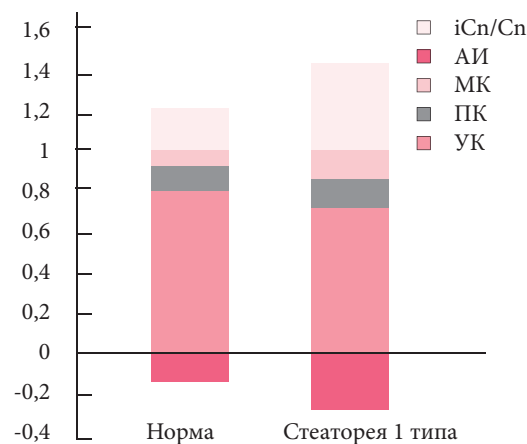


Рис. 1. Спектр КЖК у детей раннего возраста со стеатореей 1 типа (средние данные при грудном и искусственном вскармливании)

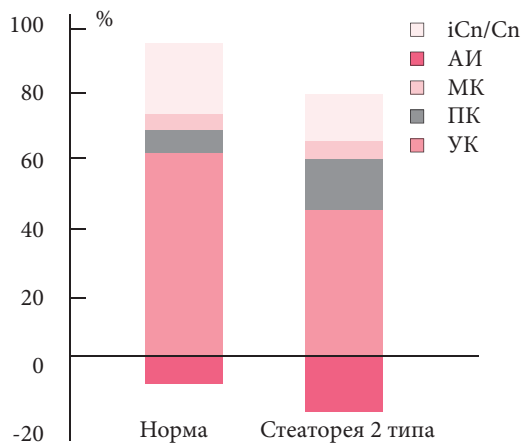


Рис. 2. Спектр КЖК у детей раннего возраста со стеатореями 2 типа (средние данные при грудном и искусственном вскармливании)

ных жирных кислот, поступающих в толстую кишку.

При стеаторее 2 типа (рис. 2) значительно повышена доля пропионовой кислоты по сравнению с нормой и со значениями при стеаторее 1 типа: при ГВ – $0,170 \pm 0,010$ ед; при ИВ – $0,216 \pm 0,010$ ед. Известно, что пропионовая кислота является продуцентом строгих анаэробов, которые принимают участие в энтерогепатической циркуляции жирных кислот (7 α -дигидроксилирование жирных кислот), увеличение уровня пропионовой кислоты, возможно, связано с нарушением желчеобразования и желчевыделения у детей с функциональными нарушениями ЖКТ.

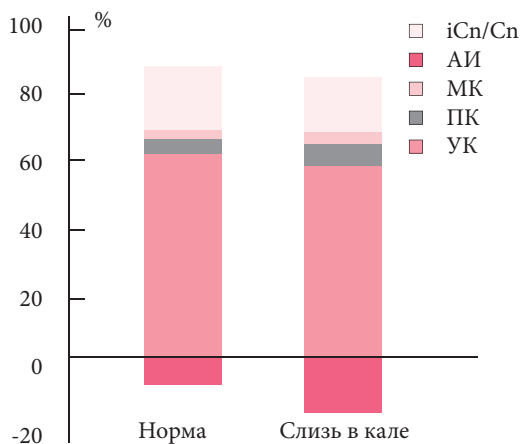


Рис. 3. Спектр КЖК у детей раннего возраста со слизью в кале (средние данные при грудном и искусственном вскармливании)

Достоверность полученных данных подтверждается результатами линейного регрессионного анализа. Мы обнаружили высокую степень корреляции между стеатореей 1 типа и уровнем масляной кислоты (при ГВ $r = 0,877$, при ИВ $r = 0,83$), между уровнем пропионовой кислоты и стеатореей 2 типа (при ГВ $r = 0,82$, при ИВ $r = 0,68$).

По результатам копрологического исследования у 37,7% детей с минимальными пищеварительными дисфункциями выявлено значительное количество светлой, прозрачной слизи. Отношение изомеров кислот к кислотам с неразветвленной цепью (рис. 3) у детей со слизью в кале оказалось значительно сниженным ($p < 0,05$) по сравнению с нормой (при ГВ – $0,257 \pm 0,033$ ед при норме $0,331 \pm 0,064$ ед, при ИВ – $0,189 \pm 0,003$ ед при норме $0,285 \pm 0,005$ ед). Данные изменения тесно связаны с нарушениями синтеза и секреции гликопротеидов и муцинообразования – снижением вязкости и увеличением количества слизи, повышением ее экскреции с калом, а также с активизацией некоторых видов анаэробов, обладающих крайне низкой способностью к протеолизу [28, 29].

Таким образом, можно констатировать, что при наличии минимальной пищеварительной дисфункции у детей развивается нарушение микробиоценоза кишечника, фиксируемое по изменению уровня и состава метаболитов микрофлоры, в частности КЖК. Изменение состава и активности кишечной флоры приводит, в свою очередь, к усугублению и поддержанию функциональной диспепсии.

Для коррекции функциональных нарушений ЖКТ у детей раннего возраста мы применяли жидкие синбиотические биокомплексы Нормофлорин Л (в состав входят *L. acidophilus* не менее 10^{10} КОЕ/мл) и Нормофлорин Б (в состав входят *V. bifidum*, *V. longum* не менее 10^{10} КОЕ/мл) производства ООО «Биофилькс» (Россия), которые приготовлены на основе гидролизата белка и не содержат лактозу. Высокая эффективность данных биокомплексов обусловлена не только высоким содержанием физиологи-

чески активных клеток бифидо- и лактобацилл, но и составом органических кислот: КЖК (уксусная, масляная, пропионовая), а также янтарная и молочная кислоты. Препарат применяли по схеме: Нормофлорин Л по 2,5–5,0 мл утром и Нормофлорин Б по 2,5–5,0 мл вечером перед едой в течение 1 месяца.

Биокомплексы Нормофлорин обладают антимикробной активностью за счет содержания бактерицинов, ингибирующих рост гнилостных, газообразующих и болезнетворных бактерий. Они участвуют в формировании биопленки, предотвращающей адгезию чужеродных микробов. За счет содержащихся в биокомплексах Нормофлорин органических кислот рН кишки снижается до слабокислой реакции, что создает губительную среду для жизнедеятельности условно-патогенной микрофлоры. Эффективность проводимой коррекции мы оценивали на основании данных клинической симптоматики и изучения метаболической активности кишечной микрофлоры через 2 недели от начала приема биокомплексов Нормофлорин и после окончания курса коррекции. Нами отмечена положительная динамика со стороны клинических проявлений функциональных нарушений ЖКТ (рис. 4).

До начала лечения кишечные колики беспокоили 42 (60,7%) новорожденных, через месяц колики наблюдались только у 5 (7,1%) детей. Метеоризм, вздутие живота до лечения наблюдались у 40 (57,1%) детей, а после окончания курса терапии отмечались только у одного ребенка. На фоне терапии отмечено значительное сокращение частоты жидкого стула в течение месяца (с 67,8 до 14,2%).

Мы проанализировали изменения спектра КЖК и значения анаэробного индекса на фоне лечения Нормофлорином Л и Б (рис. 5). Исходно анализ профилей КЖК выявил резкое снижение доли уксусной кислоты, повышение долей пропионовой и масляной кислот, отклонение значений анаэробных индексов, отражающих окислительно-восстановительный потенциал внутрипросветной среды,

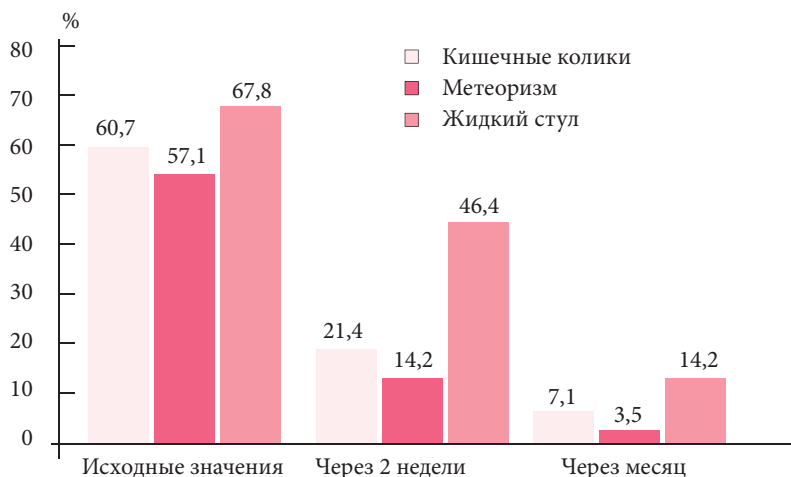


Рис. 4. Динамика клинических симптомов со стороны ЖКТ у обследованных детей на фоне терапии биокомплексами Нормофлорин Л и Б

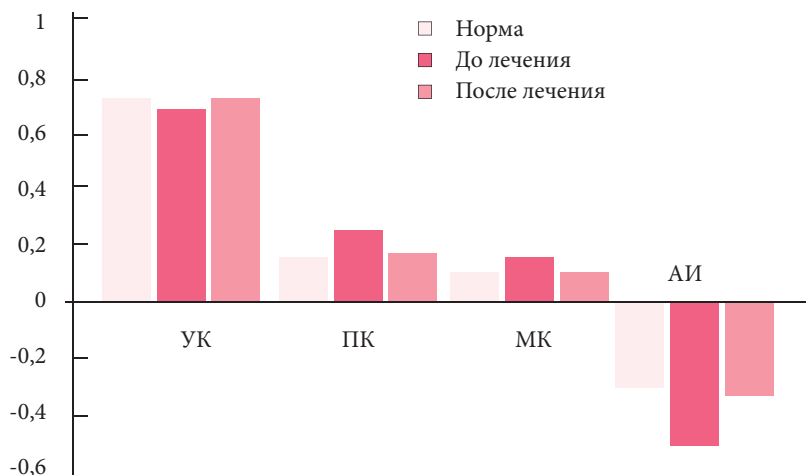


Рис. 5. Профили КЖК и значения анаэробного индекса до и после приема Нормофлорина Л и Б

Литература
→ С. 58–59

NB

Синбиотики Нормофлорин Л и Б разрешены к применению с первых дней жизни, а Нормофлорин Д – с 3-месячного возраста. В состав входят живые, физиологически активные пробиотические штаммы, действие которых начинается с первых минут контакта со слизистой.

Нормофлорины подавляют активность патогенной, условно-патогенной микрофлоры, способствуют восстановлению нарушенной нормальной микрофлоры, процессов пищеварения и всасывания, что в свою очередь приводит к инактивации токсичных продуктов обмена веществ, а также повышению местного иммунитета saniрованных ими слизистых оболочек. Оказывают протективное действие на поврежденные клетки и улучшают метаболические процессы в организме.

Нормофлорины не содержат молочного белка и лактозы.

в область резко отрицательных значений по сравнению с нормой.

Известно, что уксусная кислота является метаболитом облигатной микрофлоры и уменьшение ее доли свидетельствует о снижении активности и численности молочнокислых микроорганизмов (бифидо- и лактобактерий). Увеличение доли пропионовой и масляной кислот указывает на активацию условно-патогенной флоры и строгих анаэробов (бактероидов, эубактерий, фузобактерий, копрококков и др.). Результаты изучения значений АИ указывают на «анаэробизацию» среды, при которой происходит угнетение жизнедеятельности облигатных анаэробов за счет блокирования терминальных ферредоксинсодержащих ферментов и активации вследствие этого факультативных и остаточных штаммов. При повторном исследовании после курса лечения Нормофлорином Л и Б отмечалось формирование «нормопрофиля» C_2-C_4 кислот с тенденцией к нормализации значений анаэробного индекса, что соотносится с клинической симптоматикой.

Заключение

Таким образом, исследование метаболической активности микрофлоры позволяет оценить характер нарушений не только состава микрофлоры, но и пищеварения и может служить тонким биохимическим маркером наблюдаемых изменений. Результаты проведенного исследования показали, что применение Нормофлорина Л и Б у детей грудного возраста с функциональными нарушениями ЖКТ способствует быстрому купированию кишечных колик, прекращению срыгивания, нормализации стула и коррекции микрофлоры. На фоне лечения Нормофлорином отмечены положительные сдвиги в экосистеме толстой кишки, заключающиеся в восстановлении метаболической активности толстокишечной микрофлоры, тенденции к восстановлению показателей, характеризующих качественный (родовой) состав микроорганизмов и соотношение аэробных/анаэробных популяций микрофлоры. 🌸