

© Коллектив авторов, 2007

Е.М. Булатова¹, Т.В. Габруская¹, О.К. Нетребенко²

ПИТАНИЕ И ФОРМИРОВАНИЕ ЗДОРОВОЙ КИШЕЧНОЙ МИКРОФЛОРЫ У ДЕТЕЙ ПЕРВЫХ МЕСЯЦЕВ ЖИЗНИ

¹Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия;

²Российский государственный медицинский университет, Москва

Становление и развитие иммунитета младенца в первые месяцы жизни является ключевым фактором, влияющим на состояние его здоровья на долгие годы.

Гипотеза об основополагающей роли кишечной микрофлоры (КМ) в развитии и активации иммунной системы появилась еще в начале 60-х годов XX века в период проведения экспериментальных исследований с гнотобиологическими новорожденными животными (выращенными в стерильных условиях, исключающих возможность колонизации микрофлорой). Эти исследования впервые показали, что при отсутствии нормальной КМ у животных снижается число пейеровых бляшек в кишечнике, практически в 10 раз уменьшается число IgA-продуцирующих В-клеток, снижается уровень специфических антител и становится более сильным ответ на воспалительные процессы в организме [1–3]. Кроме того, у гнотобиологических мышей нарушаются процессы формирования пищевой толерантности и имеются отчетливые нарушения в структуре крипт, количестве внутриэпителиальных лимфоцитов [4, 5].

После возвращения к нормальным условиям жизни и поступления КМ в организм восстанавливалось состояние иммунной системы [6].

К настоящему времени стало очевидным, что именно КМ является первичным стимулом для активации врожденного и развития приобретенного иммунитета. Бактерии, находящиеся в кишечнике, участвуют в процессах ангиогенеза, ключевым клеточным компонентом которого являются клетки Панета, появляющиеся в кишечнике одновременно с его микробной колонизацией и координирующие развитие микробиоценоза и ангиогенеза [7]. Также КМ необходима для развития связанной с кишечником лимфоидной ткани (GALT), которая в свою очередь осуществляет разнообразные функции, в том числе поддержание иммунных реакций, развитие пищевой переносимости. Заселение кишечника новорожденного ребенка бактериями является первым стимулом активации специ-

фических и неспецифических защитных механизмов слизистой оболочки кишечника.

Колонизация кишечника младенца начинается сразу после рождения и зависит от ряда факторов – наличия и вида бактерий окружающей среды, микрофлоры матери, способа родоразрешения, использования отдельных препаратов, а также характера вскармливания ребенка после рождения и в первые месяцы жизни. Важным источником бактерий новорожденного ребенка является кишечная и вагинальная микрофлора матери [8]. Еще в начале 70-х годов XX века было продемонстрировано, что 70% новорожденных в роддоме имеют, по крайней мере, один материнский штамм кишечной палочки [9].

Условно все факторы, влияющие на формирование нормальной КМ, можно разделить на 3 группы: антенатальные, интранатальные и постнатальные.

К 1-й группе, прежде всего, относят осложнения во время течения беременности: гестозы, угроза прерывания беременности, а также заболевания матери (обострения хронических очагов инфекции, острые инфекционные процессы), то есть факторы, способствующие внутриутробному инфицированию плода.

2-я группа факторов включает состояние микробиоценоза родовых путей, плаценты к моменту родов, длительность безводного промежутка, вид родоразрешения, применение реанимационных мероприятий в родах.

К 3-й группе относятся факторы, непосредственно связанные с ребенком: степень зрелости новорожденного, состояние его здоровья, активность неспецифических факторов защиты, а также комплекс медико-организационных мероприятий – время прикладывания ребенка к груди, совместное или отдельное пребывание новорожденного с матерью, характер вскармливания, особенности микробного загрязнения окружающей среды (видовой микробный состав и степень обсемененности медицинского персонала и предметов ухода) [10].

Работы последних десятилетий показывают изменения характера первоначальной колонизации кишечника у новорожденных [11]. В наши дни имеет место снижение колонизации кишечника преобладавшими ранее видами бифидобактерий (БФ) и нарушение взаимообмена микробами между матерью и плодом, связанные с практикой родоразрешения в родильных домах, в результате которых новорожденный ребенок может получить большую часть микробов не от матери, а из окружающей среды. Так, у новорожденных, извлеченных путем операции кесарева сечения, часто отмечают стойкие изменения КМ, и у них выше частота развития аллергических заболеваний (рис. 1) [12]. Обычным явлением в наши дни стало частое использование у новорожденных антибиотиков, раздельное пребывание матери и ребенка, отсроченное прикладывание к груди, и отдаленные последствия этих действий пока не изучены.

Грудное вскармливание (ГВ) новорожденного ребенка во многом является определяющим фактором характера микробной колонизации кишечника. У здоровых детей, получающих ГВ, доминирующей КМ являются БФ, и создается впечатление, что рост других бактерий подавляется [13, 14]. У детей, получающих детские молочные смеси (ДМС), КМ отличается большим разнообразием, во многих случаях также преобладают БФ, однако их количество у детей на ГВ практически в 10 раз выше по сравнению с детьми, получающими ДМС [15]. БФ составляют 80–95% КМ ребенка, получающего материнское молоко до введения прикорма, и 20–25% КМ взрослого человека.

Первый глубокий сравнительный анализ влияния грудного молока (ГМ) и ДМС на рост БФ провели Bullen и Willis [16]. По данным этих исследований, ГМ, обладающее низкой буферной емкостью, благодаря низкому уровню фосфора и белка, позволяет быстро снизить рН кишечного содержимого и, тем самым, способствует росту БФ, подавляя рост микрофлоры, не способной размно-

жаться в кислой среде. ДМС обычно содержит более высокий, по сравнению с ГМ, уровень белка и фосфора и обладает высокой буферной емкостью, что снижает продукцию кислоты и оставляет стабильным рН кишечного содержимого. Кроме того, повышенный уровень белка благоприятен для роста бактерий-протеолитиков.

На протяжении последних 10 лет проведено несколько работ, изучающих влияние различных фракций белка на рост БФ. Особое внимание исследователей привлекает α -лактальбумин (ЛА), который составляет 25–35% общего белка ГМ [17]. В коровьем молоке, на основе которого изготавливаются ДМС, уровень ЛА составляет только 2–5% общего содержания белка. ЛА обладает рядом физиологических свойств, очень важных в раннем грудном возрасте. Прежде всего, в ЛА содержится высокий уровень особенно важных для грудного ребенка аминокислот (триптофан – 4–5%, лизин – 11%, цистеин – 6%), причем гомологическое совпадение аминокислотного состава грудного и коровьего ЛА составляет 74%. ЛА обладает способностью связывать кальций и цинк и ускоряет их всасывание. При переваривании ЛА образуются пептиды, обладающие антибактериальными и иммуностимулирующими свойствами, которые влияют на процессы апоптоза и ускоряют пролиферацию клеток слизистой оболочки кишечника [18].

В ряде современных исследований было показано, что ЛА способствует росту БФ в кишечнике у детей.

Одно из первых экспериментальных исследований влияния ЛА на уровень БФ было проведено в 2003 г. W. Bruck et al. [19]. В этой работе на модели младенцев обезьян проверялась гипотеза о том, что обогащение смеси ЛА улучшает состав КМ и может предотвратить развитие инфекции, вызываемой энтеропатогенной кишечной палочкой (*E. coli* 027). В данной работе использовался метод FISH со специфической γ -РНК. 4 группы новорожденных обезьян с рождения до 5 месяцев жизни получали стандартную молочную смесь или смеси, обогащенные казеингликомакропептидом или ЛА. Контрольная группа получала материнское молоко. Далее всем обезьянам вводилась патогенная кишечная палочка, и проводился анализ КМ и клиническое наблюдение. У животных, получавших ГМ или смесь, обогащенную ЛА, не было признаков диареи, и в КМ доминировали БФ. В группах животных, получавших стандартную смесь или обогащенную казеингликомакропептидом, развилась острая диарея. По мнению авторов, обогащение современных смесей ЛА может улучшить защитные свойства КМ и предотвратить развитие острых инфекций, вызванных кишечной палочкой [19]. Экспериментальные исследования были подтверждены клиническими данными, которые показали близкое к ГВ доминирование БФ в КМ младенцев, получавших обогащенные ЛА смеси.

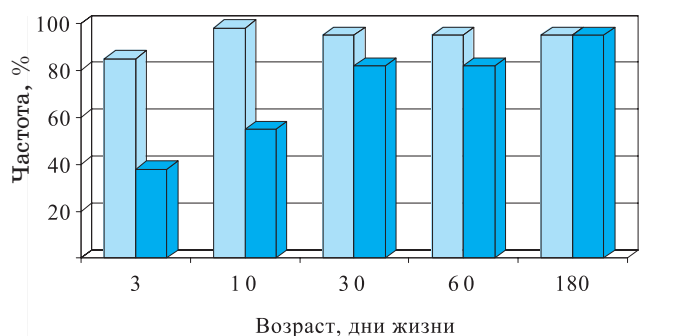


Рис. 1. Влияние способа родоразрешения на состав КМ детей в первые 6 месяцев жизни*.

1-й столбик – вагинальные роды, 2-й столбик – операция кесарева сечения; по оси ординат – % детей, колонизированных БФ; * по данным [12].

Новая смесь «НАН Premium 1» отличается сниженным уровнем фосфора и белка, включением в состав продукта ЛА, что должно стимулировать рост БФ в кишечнике грудного ребенка.

Изучение бифидогенных возможностей новой смеси было проведено в Городском консультативно-методическом Центре питания здорового и больного ребенка Санкт-Петербурга в 2005–2006 гг. Под наблюдением находились 22 здоровых доношенных ребенка, получавших смесь «НАН Premium 1». Причиной перевода детей на ИВ в большинстве случаев была гипогалактия у матерей. Группу сравнения составили 10 детей, получавших исключительно ГВ.

Наблюдение показало хорошую переносимость продукта, положительную динамику в отношении случаев функциональных нарушений пищеварения.

Несмотря на то, что в исследование вошли практически здоровые дети, у 11 (55%) из них, как и у многих детей, находящихся на ИВ, отмечались функциональные нарушения со стороны желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) в виде необильных срыгиваний, метеоризма, кишечных колик, запоров и склонности к запору.

Срыгивания в начале апробации имели место у 8 обследуемых детей: у 6 – на 1 балл и у 2 – на 2 балла. В 43% случаев наблюдался метеоризм, который в 5 случаях из 6 сочетался с другими функциональными нарушениями со стороны ЖКТ: метеоризм + колики, метеоризм + запоры, метеоризм + колики + срыгивания.

Положительная динамика срыгиваний на фоне использования смеси «НАН Premium 1», вплоть до полного их исчезновения, зафиксирована у 4 детей; тенденция к снижению частоты срыгиваний – у 2 детей ($p=0,06$). Метеоризм, отмечался в начале исследования у 6 детей (см. таблицу). За обследуемый период у всех детей отмечена положительная динамика ($p=0,02$).

Таблица

Частота встречаемости и динамика симптомов нарушения пищеварения у детей группы наблюдения

Симптомы	До апробации	Динамика за период наблюдения		
		положительная	отрицательная	без динамики
Срыгивания	8	8	0	0
Метеоризм	6	6	0	0
Кишечные колики	6	6	0	0
Запор и склонность к запору	4	4	0	0

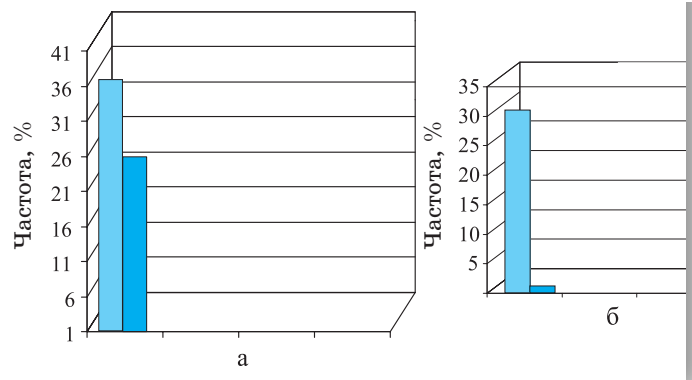


Рис. 2. Частота выявления анемии I степени (а) и эозинофилии периферической крови (б) у детей, получавших смесь «НАН Premium 1».

Здесь и на рис. 4 и 5: 1-й столбик – до приема смеси, 2-й столбик – после приема смеси.

Строгие критерии отбора детей в группу исследования, минимальность выраженности функциональных нарушений со стороны ЖКТ, хорошие качества апробируемого продукта содействовали купированию вышеперечисленных симптомов в течение 1-й недели приема смеси.

Из числа обследованных детей в начале апробации склонность к запорам и запор отмечались у 4 детей. На фоне приема смеси моторика кишечника улучшилась у всех детей. У 3 детей стул стал самостоятельным, с частотой 1–2 раза в сутки. У одного ребенка стул стал самостоятельным, уменьшились интервалы между дефекацией, но сохранялся нерегулярный характер частоты стула, статистически достоверных значений по данному признаку не получено.

В контрольной группе у 4 из 10 детей при первичном осмотре ребенка и беседе с родителями были выявлены легкие функциональные нарушения со стороны ЖКТ: периодические срыгивания на 1 балл отмечались у 2 детей, периодическое вздутие живота (метеоризм) – у 2 детей; родители 2 де-

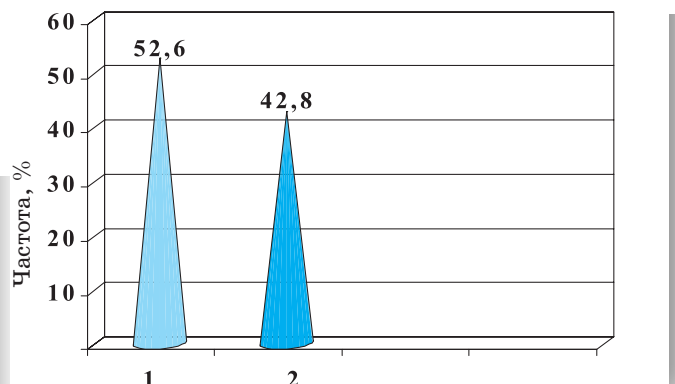


Рис. 3. Частота выявления признаков атопии у детей к возрасту 18 месяцев, получавших на первом году жизни рыбий жир (ДНА)*.

* по данным [20]; 1 – контрольная группа (n=275); 2 – включение в рацион питания рыбьего жира (n=279).

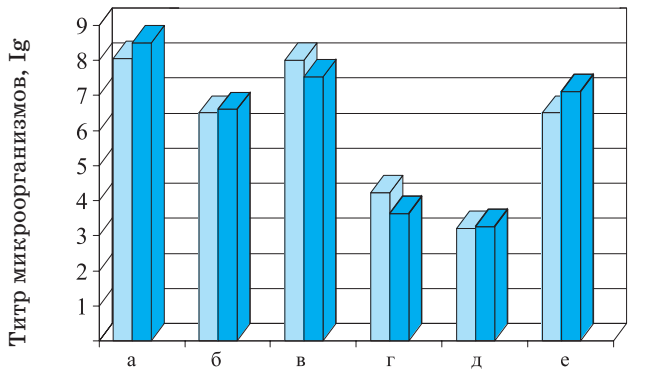


Рис. 4. Динамика содержания различных представителей КМ у детей на фоне вскармливания смесью «НАН Premium 1».

а – БФ, б – лактобациллы, в – *E. coli*; г – *St. aureus*, д – *Candida*, е – условно-патогенная флора; здесь и на рис. 5: * $p < 0,05$.

тей жаловались на редкие эпизоды кишечных колик (1–2 раза в неделю) умеренной интенсивности. Сочетание вышеперечисленных симптомов (срыгивание и метеоризм, метеоризм и колики) было выявлено у 2 детей. На момент включения в исследование у одного ребенка присутствовали признаки пищевой непереносимости легкой степени на фоне погрешности в диете матери, отмечалась положительная динамика кожных проявлений после коррекции питания матери.

В ходе исследования проводился контроль динамики массо-ростовых показателей и психомоторного развития. В начале исследования все дети имели удовлетворительный статус питания: у 15 из 20 детей показатель отношения массы тела к длине находился в 4-м центильном коридоре, у 5 детей из 20 – в 5-м центильном коридоре. Удовлетворительный (достаточный) статус питания сохранился у всех детей к концу апробации: у 5 из 20 детей отношение массы тела к росту определялось в 5-м коридоре, у большинства детей (15 из 20) – в 4-м центильном коридоре. Средняя прибавка массы тела составила $918,0 \pm 164,6$ г (540–1140 г), длины тела – $2,8 \pm 0,7$ см (1,5–5,0 см). Средняя прибавка массы тела у детей контрольной группы составила $918,0 \pm 153,0$ г/мес (660–1100), роста – $3,0 \pm 0,9$ см/мес (1,5–5,0 см).

Показатели физического развития детей, получавших апробируемую смесь, были максимально приближены к аналогичным показателям детей на ГВ, что свидетельствует о высокой биологической ценности белкового и других компонентов смеси. Психомоторное развитие всех детей, получавших смесь «НАН Premium 1», соответствовало возрасту, отставания или задержки психомоторного развития выявлено не было.

При оценке показателей белой крови обратила на себя внимание эозинофилия (5% и более), которая была зафиксирована в начале исследования у 26,3% детей основной и 25% детей контрольной

группы. У 4 из 5 детей основной группы эозинофилия сопровождалась минимальными проявлениями пищевой аллергии (гнейс, сухость и легкая гиперемия кожи, запоры, кишечные колики, метеоризм). При исследовании крови в конце апробации эозинофилия не определялась ни у одного из пациентов основной группы ($p = 0,05$) (рис. 2). Данный факт свидетельствует о легком гипоаллергеном эффекте смеси, что, возможно, связано с наличием в смеси докозагексаеновой кислоты, обладающей противовоспалительным действием. В настоящее время есть клинические работы (рис. 3), подтверждающие снижение риска развития атопии у детей, получающих докозагексаеновую кислоту [20].

При бактериологическом исследовании фекалий применялся специальный метод, при котором пересев материала проводился многократно, а не как обычно принято в практике – до получения результатов возрастной нормы. Эта методика дала возможность более точно определить количество микроорганизмов, входящих в состав кишечной микрофлоры. Уже до начала апробации у 3 детей титр БФ составил 10^{10} . К концу исследования такие высокие показатели титра БФ наблюдались в 3 раза чаще у половины (9) обследованных детей.

Из 22 детей, получавших апробируемую смесь, у 19 детей бактериологическое исследование кала было проведено в динамике. В связи с остро возникшим заболеванием, в разработку включены данные динамического обследования 18 детей. До начала апробации признаки дисбактериоза различной степени тяжести (по результатам посева кала) были выявлены у всех детей основной группы.

При анализе показателей бактериологического исследования кала детей, получавших смесь «НАН Premium 1», нарастание титра БФ было выявлено у 11 из 18 детей (61%), отсутствие динамики наблюдалось у 6 детей (33%). При этом важно отметить, что у всех детей, у которых отсутствова-

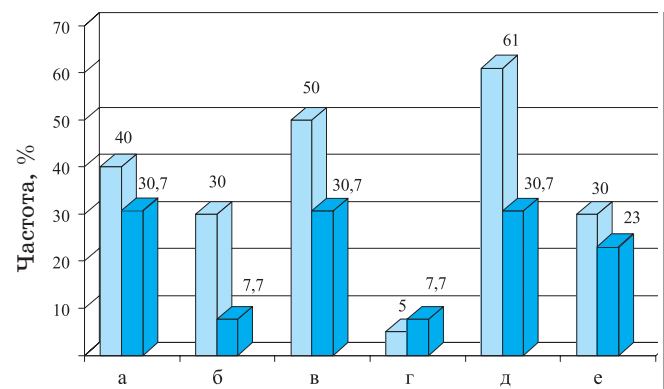


Рис. 5. Динамика содержания различных представителей условно-патогенной флоры у детей на фоне вскармливания смесью «НАН Premium 1».

а – гемолизирующая *E. coli*; б – лактозонегативная *E. coli*; в – *St. aureus*, г – *Candida*, д – *Klebsiella*, е – ассоциации микроорганизмов.

ла положительная динамика со стороны БФ, изначально их титр был высоким и составлял 10^9 и более. У одного ребенка отмечалась отрицательная динамика титра БФ. Средние показатели содержания БФ в 1 г фекалий до начала исследования составили 8,35, после окончания апробации – 9,35 ($p = 0,01$) (рис. 4). Кроме того, отмечалась тенденция к нарастанию титров лактобактерий (прирост титров с 6,76 до 6,94; $p > 0,05$).

На фоне вскармливания детей смесью «НАН Premium 1» достоверно снижалась частота встречаемости высевов патологически высоких титров золотистого стафилококка по результатам бактериологического исследования кала (70,5% до начала исследования и 23,5% к концу апробации) ($p < 0,05$). Статистически достоверного подавления роста других условно-патогенных организмов у обследованных детей зарегистрировано не было. Однако следует отметить тенденцию к снижению распространенности высева лактозонегативной кишечной палочки (у 35,3% детей в начале апробации, у 17,6% – в конце), клебсиеллы (58,8% и 41,2% соответственно) (рис. 5). В конце исследования высева условно-патогенных микроорганизмов в ассоциациях встречались реже, чем при первичном обследовании (17,64% и 5,9% соответственно).

В контрольной группе при гематологическом исследовании анемия не была выявлена ни у одного ребенка, эозинофилия была зарегистрирована

у 2 детей. Показатели общего анализа мочи у всех детей контрольной группы были в пределах нормы. Исследование копрограммы клинически значимой патологии не выявило.

Бактериологическое исследование кала у детей контрольной группы однократно (в начале исследования) было выполнено у 7 детей, в динамике – у 3 детей. У 8 из 10 детей по результатам данного исследования был выявлен дисбактериоз кишечника различной степени выраженности. У 2 детей признаков нарушения микробиоценоза выявлено не было.

Таким образом, на основании анализа результатов бактериологического исследования кала детей, участвовавших в апробации смеси «НАН Premium 1», можно сделать вывод о способности смеси оптимизировать КМ за счет подавления роста некоторых условно-патогенных микроорганизмов и наличия отчетливого бифидогенного эффекта. Уменьшение к концу апробации числа детей, имеющих повышенное количество эозинофильных лейкоцитов в гемограмме, свидетельствует о низких сенсibiliзирующих свойствах продукта.

Разработка новых смесей, обладающих защитными свойствами, является важным этапом современной детской нутрициологии и индустрии детского питания. Работа в этом направлении может ускорить решение проблемы снижения детской заболеваемости и улучшение состояния здоровья детей грудного и раннего возраста.

ЛИТЕРАТУРА

1. Carter P.B., Pollard M. // J. Reticuloendothel. Soc. – 1971. – Vol. 9. – P. 580–587.
2. Berg R.D., Savage D.C. // Infect. Immun. – 1975. – Vol. 11. – P. 320–329.
3. Cebra J. // A.J.C.N. – 1999. – Vol. 69. – P. 1046–1051.
4. Hooper L.V., Gordon J.L. // Science. – 2001. – Vol. 292. – P. 1115–1118.
5. Murch S.H. // Allergic disease and environment. / Eds. E. Isolauri, W. Alan Walker. NNW Series. – 2003. – Vol. 53. – P. 133–152.
6. Ouwehand A., Isolauri E., Salminen S. // Eur. J. Nutr. – 2002. – Suppl. – P. 32–37.
7. Stappenbeck T.S., Hooper L.V., Gordon J.L. // Proc. of the National Acad. of Sci. of the USA. – 2002. – Vol. 99. – P. 15451–15455.
8. Adlerberth I. / Eds. L. Hanson, R. Yolken. – NNW series 1999. – Vol. 42. – P. 69–78.
9. Bettelheim K.A., Lenox-King S.M. // Infection. – 1976. – Vol. 4. – P. 174–179.
10. Булатова Е.М. Вскармливание детей в современных условиях: Автореф. дисс.... докт. мед. наук. – С-Петербург, 2005.
11. Murch S.H. // Lancet. – 2001. – Vol. 357. – P. 1057–1059.
12. Gruland M.M., Lehtonen P.P., Eerola E. et al. // J.P.G.N. – 1999. – Vol. 28. – P. 19–25.
13. Yoshioka H., Iseki K., Fujita K. // Pediatrics. – 1983. – Vol. 72. – P. 317–321.
14. Klessen B., Bunke H., Tovar K. et al. // Acta Ped. – 1995. – Vol. 84. – P. 1346–1356.
15. Heine W., Mohr C., Wutzke K. // Progress in Food and Nutrition Science. – 1992. – Vol. 16. – P. 181–197.
16. Bullen C.L., Willis A.T. // Br. Med. J. – 1971. – Vol. 111. – P. 338–343.
17. Lien E.L. // Am. J. Clin. Nutr. – 2003. – Vol. 77. – Suppl. – P. 1555S–1558.
18. Lonnerdal B., Lien L.L. // ILSI. – 2003. – Vol. 9. – P. 295–305.
19. Bruck W.M., Kelleher S.L., Gibson G.R. et al. // J. Ped. Gastroent. Nutr. – 2003. – Vol. 37. – P. 273–280.
20. Nafstad P., Nystad W., Magnus P. et al. // J. Asthma. – 2003. – Vol. 40, №4. – P. 343–348.