© Коллектив авторов, 2008

С.Е. Украинцев[1], А.В. Горелов[1], М.Д. Ардатская[2], Д.В. Усенко[1]

ДИНАМИКА СПЕКТРА КОРОТКОЦЕПОЧЕЧНЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В КАЛЕ У ДЕТЕЙ С ВИРУСНЫМИ ДИАРЕЯМИ НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ СМЕСИ С ПРОБИОТИКАМИ

[1]ФГУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора»,
[2]ФГУ «Учебно-научный центр Управления делами Президента РФ», Москва

Общеизвестно, что инфекционные диареи являются ведущей причиной детской смертности в развивающихся странах. Однако и в развитых странах острый гастроэнтерит (ОГЭ) является наиболее частой причиной заболеваемости и госпитализации детей [1]. Так, в США дети в возрасте до 5 лет переносят за год более 2 эпизодов ОГЭ, что означает в общей сложности около 25 млн эпизодов ОГЭ, 1,5 млн случаев обращения к педиатру и более 200 тыс госпитализаций в год [2]. Ежегодно в мире от острой диареи погибает около 3 млн детей [3].

Для улучшения ситуации с заболеваемостью и смертностью детей от ОГЭ важное значение имеет знание и применение современных подходов к терапии данного заболевания. Подавляющее большинство эпизодов ОГЭ у детей имеют вирусную природу, что согласуется с данными отечественных исследователей.

Отсутствие этиотропных препаратов для лечения вирусных диарей (ВД) у детей диктует необходимость выбора других методов терапии. Наиболее эффективным методом терапии вирусных ОГЭ (ВОГЭ) у детей является оральная регидратация (ОР), рекомендованная в качестве терапии первой линии как специалистами ВОЗ, так и экспертами ESPGHAN [4]. Вторым эффективным подходом в терапии ВД у детей является диетотерапия.

Вплоть до 30-х годов прошлого века назначение «голодных пауз» при острых кишечных инфекциях (ОКИ) у детей не практиковалось. В 1893 г. в Великобритании была опубликована работа, в которой говорилось, что «в качестве питания должны назначаться продукты, не оказывающие раздражающего действия – овес, рис... Лучшая диета – молоко с лимонной водой – охлажденное, если у ребенка имеется лихорадка» [5]. Ситуация изменилась в 20-х годах прошлого века, когда Powers опубликовал рекомендации по назначению детям с диареей «голодной паузы» в питании с целью «разгрузки» желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Дополнительно к перерыву в питании рекомендовались назначение питья и переливание крови [6]. Таким образом, голодание с лечебной целью в дополнение к регидратационной терапии стало общепринятым подходом в лечении детей с диарейными заболеваниями.

В настоящее время этот подход практически утратил свое значение, поскольку назначение подобных «голодных пауз» у детей с ОГЭ может приводить к существенному нарушению нутритивного статуса ребенка, утяжелению течения заболевания и ухудшению его исходов. Напротив, в целом ряде исследований показано, что раннее назначение питания детям с ОГЭ ассоциируется с улучшением показателей нутритивного статуса детей, значительному снижению риска формирования дефицита микро- и макронутриентов, уменьшению потерь жидкости, снижению вероятности угнетения функциональной активности слизистой оболочки кишечника [7–9].

В опубликованных результатах многоцентрового исследования группы экспертов ESPGHAN (2000) приводится 9 основных принципов лечения детей с ОГЭ [10]. Быстрое восстановление привычного режима питания находится в этих рекомендациях на ведущих позициях:

1) использование для ОР специального раствора;

2) использование гипотонического раствора для ОР (Na – 60 ммоль/л, глюкоза – 74–111 ммоль/л) ;

3) быстрое, в течение 3–4 ч, проведение ОР;

4) быстрое восстановление привычного питания, включая плотную пищу;

5) не доказана эффективность рутинного использования специальных смесей;

6) не доказана эффективность использования дополнительного разведения смесей (больше чем стандартное – прим. авт.);

7) продолжение грудного вскармливания на всех этапах заболевания;

8) восстановление продолжающихся потерь жидкости с помощью раствора для ОР;

9) не использовать без необходимости медикаментозные препараты.

Таким образом, на сегодняшний день адекватное питание является одним их важнейших компонентов лечебной тактики у детей с ОГЭ. Некоторые компоненты в составе продуктов детского питания способны оказывать дополнительное благоприятное влияние на течение острой диареи у детей. К этим компонентам относят пробиотики (ПБ) и некоторые микронутриенты (цинк, витамин А).

Использование смесей с ПБ для лечения ОГЭ у детей базируется на предположении, что ПБ способны оптимизировать состав кишечной микробиоты (КМБ) и оказывать антагонистическое действие в отношении патогенной кишечной флоры. К настоящему времени опубликовано несколько мета-анализов, в которых продемонстрирована эффективность некоторых штаммов ПБ (особенно *L. rhamnosus* GG) в снижении длительности эпизодов острой диареи у детей [11–13].

Существует несколько механизмов, которые объясняют положительное влияние ПБ на течение ОКИ у детей. Некоторые штаммы ПБ способны синтезировать антимикробные вещества, действующие в отношении отдельных грамположительных и грамотрицательных бактерий. ПБ составляют конкуренцию патогенным микроорганизмам как в отношении нутриентов, так и за места адгезии, ингибируя, таким образом, их рост и размножение. Во многих исследованиях показана способность некоторых штаммов ПБ улучшать показатели специфического и неспецифического иммунного ответа в отношении патогенов. Отдельные штаммы ПБ обладают доказанной способностью увеличивать число циркулирующих лимфоцитов, стимулировать фагоцитоз, усиливать синтез специфических антител по отношению к вакцинальному штамму ротавирусов, увеличивать продукцию интерферона γ. Для оценки эффективности использования ПБ в лечении острой диареи у детей, помимо оценки клинической картины, важное значение имеет контроль состава КМБ на фоне терапии, что является критерием адекватности и эффективности назначаемых пробиотических продуктов.

В настоящее время наиболее частым методом, применяемым для оценки состава КМБ у детей, является так называемый «анализ кала на дисбактериоз», основанный на посеве фекалий на питательные среды с дальнейшим микробиологическим и биохимическим анализом полученных колоний. Данный метод имеет большое число ограничений, что существенно снижает его информативность и клиническое значение. Исследуемая микрофлора кала может лишь очень приблизительно (если может вообще) отражать микробный состав проксимальных отделов толстой кишки. Так, по мнению А.Н. Маянского, «фекальную флору нельзя считать полноценным отражением микробного пейзажа слизистой оболочки толстой кишки – эта (фекальная) флора характеризует скорее полостную, чем пристеночную микрофлору; последняя является более стабильной и физиологичной» [14]. Хорошо известно, что культуральным методом можно идентифицировать только около 20% от всех микроорганизмов, составляющих КМБ у детей. Значительную часть КМБ у детей составляют различные анаэробные бактерии, которые невозможно культивировать на селективных или неселективных средах [15]. Существующие сложности в интерпретации анализа кала на дисбактериоз связаны со значительными вариациями в составе КМБ, особенно у детей первого года жизни. «Существует немало примеров, когда диагноз «дисбактериоза», установленный в одном учреждении, отвергается исследованиями в других лабораториях» [14]. Кроме того, необходимо учитывать и трудоемкость проведения микробиологического исследования фекалий.

В последние годы с целью оценки состава КМБ предлагается метод, основанный на изучении спектра короткоцепочечных жирных кислот (КЖК) в кале. Данная методика может применяться как в качестве самостоятельного метода исследования, так и в качестве дополнения к традиционному (культуральному) методу, значительным образом увеличивая его информативность. Хорошо известно, что КЖК являются основными продуктами жизнедеятельности бактерий, составляющих КМБ. При этом различные бактерии (роды бактерий) отличаются по спектру производимых КЖК, что и позволяет использовать метод оценки содержания и соотношения различных КЖК в кале для оценки динамики состава КМБ у детей, в том числе на фоне проводимой терапии ОКИ [16, 17].

Целью данной работы было изучение количественного и качественного содержания КЖК методом газожидкостного хроматографического анализа в кале у детей с ВД на фоне проводимой диетотерапии.

В исследование было включено 19 детей в возрасте от 6 до 12 месяцев с установленной ротавирусной этиологией диареи, находившихся на стационарном лечении в ДИКБ №5 г. Москвы. Все дети получали стандартную схему терапии, включавшую в себя проведение ОР и применение энтеросорбентов. Исследование КЖК проводили дважды: при поступлении ребенка в стационар (на 1–3-й день болезни) и на фоне проводимой терапии (амбулаторно в среднем на 21-й день от момента госпитализации). До поступления в стационар все дети находились на искусственном вскармливании различными смесями, в ходе проведения исследования в качестве питания использовалась детская молочная смесь НАН2 (Нестле, Швейцария), содержащая смесь пробиотических культур: *Bifidobacterium longum* и *Lactobacillus rhamnosus* GG. У части детей при наличии симптомов гиполактазии в остром периоде использовалась смесь НАН безлактозный, в дальнейшем эти дети переводились на вскармливание смесью НАН2.

Результаты изучения абсолютного содержания КЖК в кале у больных демонстрируют исходное снижение (в 1,7 раза) абсолютной концентрации КЖК по сравнению с нормой (6,07±1,26 и 10,51±2,51 мг/г соответственно). Это свидетельствует как о нарушении утилизации данных кислот колоноцитами вследствие измененной моторно-эвакуаторной функции кишечника, так и может являться следствием измененной активности и численности различных популяций микроорганизмов индигенной толстокишечной микрофлоры.

У пациентов, получавших смесь НАН2, после проведенного курса лечения отмечается нормализация абсолютного содержания КЖК (Σ (C_2–C_6) после лечения составила 10,54±2,12 мг/г). Повышение абсолютной концентрации КЖК свидетельствует о восстановлении функциональной активности и численности толстокишечной микрофлоры, нормализации моторно-эвакуаторной функции кишечника.

Детальный анализ профиля C_2–C_4-кислот, вносящих основной вклад в общий пул КЖК, и значения анаэробных индексов (АИ), характеризующих окислительно-восстановительный потенциал внутриполостной среды, в остром периоде ротавирусного гастроэнтерита позволил распределить пациентов на 2 подгруппы (см. таблицу).

Из представленных в таблице данных видно, что у больных 1-й подгруппы исходно отмечается достоверное повышение относительного содержания уксусной кислоты при снижении долей пропионовой и масляной кислот по сравнению с группой здоровых детей. Возрастание уровня уксусной кислоты связано с резкой активизаций аэробных микроорганизмов, представителей факультативной и остаточной (условно-патогенной) микрофлоры. Снижение уровня пропионовой и масляной кислот свидетельствует об уменьшении численности и угнетении активности анаэробного звена микрофлоры.

У пациентов 2-й подгруппы исходно было выявлено повышение пропионовой и масляной кислот, что указывает на увеличение численности и активизации анаэробного звена микрофлоры, представленного в основном популяциями микроорганизмов родов *Bacteroides*, *Clostridium*, эубактерий, фузобактерий, копрококков и др., причем их факультативных и остаточных штаммов.

После курса лечения в 1-й и 2-й подгруппах отмечается формирование нормального профиля содержания КЖК, что демонстрирует восстановление активности и численности представителей молочнокислой флоры (бифидо- и лактобактерий) и баланса аэробных/анаэробных популяций микроорганизмов.

Результаты изучения значений АИ также представлены в таблице, из которой видно, что исходно у пациентов 1-й подгруппы наблюдается смещение значений АИ в область слабо отрицательных значений по сравнению с нормой (–0,338±0,012 ед. при норме –0,600±0,012 ед.), что способствует активизации аэробных популяций микроорганизмов и приводит к увеличению продукции токсичных форм кислорода и «аэробизации» среды. На этом фоне начинают активно пролиферировать условно-патогенные штаммы аэробных микроорганизмов, что отображается на изменении профиля C_2–C_4-кислот. Кроме того, при данных значениях окислительно-восстановительного потенциала происходит угнетение жизнедеятельности облигатных анаэробов.

После курса лечения у пациентов 1-й подгруппы отмечается смещение АИ в область нормальных значений (из слабо отрицательной области в более отрицательную с –0,338 ед. до –0,553 ед. соответственно, Δ (дельта) АИ (лечение) составляет –0,215 ед.), что обеспечивает условия для нормальной и эффективной жизнедеятельности облигатной микрофлоры и приводит к восстановлению микробиоценоза.

У пациентов 2-й подгруппы исходно наблюдалось смещение значений АИ в область резко отрицательных значений по сравнению с нормой (–0,830±0,012 ед. при норме –0,600±0,012 ед.). При данных значениях окислительно-восстановительного потенциала происходит угнетение жизнедеятельности облигатных анаэробов (за счет блокирования терминальных ферредоксинсодержащих дыхательных ферментов).

После курса лечения у пациентов 2-й подгруппы отмечается смещение АИ в область нормальных значений (из слабо отрицательной области в более отрицательную с –0,830 ед. до –0,534 ед. соответственно, Δ (дельта) АИ (лечение) составляет 0,296 ед., что также обеспечивает условия для нормальной и эффективной жизнедеятельности облигатной микрофлоры и восстановления толстокишечного микробиоценоза. Результаты изучения суммарного относительного содержания изокислот (р (изоСn)) и отдельно отношения изовалериановой кислоты к валериановой кислоте (iC_5/C_5) у детей до и после приема смеси НАН2 также представлены в таблице.

Как видно из таблицы, у пациентов 1-й подгруппы в целом исходно отмечается недостоверное повышение суммарного относительного содержания изомеров КЖК, а у пациентов 2-й подгруппы – его снижение.

Как известно, изомеры КЖК образуются в результате жизнедеятельности микроорганизмов, утилизирующих пептиды. Кишечные палочки, фекальные стрептококки и стафилококки, некоторые бациллы рассматриваются как сильнейшие протеолитики. Анаэробные микроорганизмы также обладают способностью к протеолизу, однако их активность значительно менее выражена.

Таким образом, в первом случае увеличение данного показателя свидетельствует о повышении активности аэробных микроорганизмов, а во втором случае – об угнетении активности аэробов, активизации анаэробов, обладаюших незначительной протеолитической активностью, а также за счет лишения микроорганизмов источника пептидов – слизи, в результате повышенной экскреции ее с каловыми массами.

Увеличение продукции отдельно изовалериановой кислоты у больных 2-й подгруппы возможно связано с активизацией «микроорганизмов-гемолитиков», в частности гемолитических штаммов аэробов – *E. coli*, стрептококков (которые могут существовать при резко отрицательных значениях окислительно-восстановительного потенциала внутрипросветной среды) и анаэробных микроорганизмов, в частности гемолитических штаммов клостридий.

Таблица

Абсолютная концентрация КЖК (C_2–C_6), профили C_2–C_4, значения АИ, суммарное относительное содержание изокислот р (изоСn), отношение содержания изовалериановой кислоты к валериановой кислоте (iC_5/C_5) у детей в кале до и после приема смеси НАН

Группы пациентов	Σ (C_2–C_6), мг/г	Уксусная кислота, мг/г	Пропионовая к-та, мг/г	Масляная кислота, мг/г	АИ, ед.	iC_5/C_5	р (изоСn), ед.
Норма (30 практически здоровых детей)	10,51± 2,51	0,624± 0,009	0,189± 0,008	0,186± 0,004	−0,6± 0,012	до 2,1	0,059± 0,002
1-я подгруппа до лечения	3,52± 1,10	0,761± 0,01*	0,135± 0,008*	0,104± 0,007*	−0,338± 0,012*	1,49± 0,6	0,064± 0,003
1-я подгруппа после диетотерапии	9,93± 2,04	0,655± 0,01*	0,2± 0,01**	0,144± 0,008**	−0,553± 0,012*	1,76± 0,2	0,054± 0,01
2-я подгруппа до лечения	8,63± 1,84	0,568± 0,011*	0,205± 0,009*	0,227± 0,009*	−0,83± 0,011*	3,79± 0,3*	0,052± 0,004
2-я подгруппа после диетотерапии	11,15± 2,23	0,668± 0,01*	0,197± 0,01**	0,134± 0,008**	−0,534± 0,012**	2,12± 0,2	0,057± 0,009

$p<0,05$: * по сравнению с нормой, **по сравнению с показателями до лечения.

На фоне лечения значения данных параметров достоверно изменяются в сторону нормальных показателей, что свидетельствует о восстановлении нормальной активности микроорганизмов – протеолитиков и снижении активности (или полной элиминации) условно-патогенной гемолитической флоры.

Необходимо отметить, что нормализация состава и содержания КЖК в кале у исследуемых детей четко коррелировала с положительной динамикой основных клинических синдромов.

Таким образом, использование смеси НАН2 у детей приводит к восстановлению окислительно-восстановительного потенциала внутриполостной среды кишечника и положительным изменениям толстокишечного микробиоценоза, выражающихся в повышении численности и активности облигатной микрофлоры, снижении активности условно-патогенных штаммов микрофлоры, нормализации баланса аэробно/анаэробных популяций микроорганизмов. Анализ содержания и соотношения КЖК в кале у детей является информативным объективным методом, позволяющим оценивать динамику состава кишечной микрофлоры у детей.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Zimmermann CM, Bresee JS, Pashar UD et al.* Costs of diarrhea-associated hospitalizations and outpatients visits in an insured population of young children in the United States. Pediatr. Infect. Dis. J. 2001; 20:14–19.

2. *Santosham M, Keenan EM, Tulloch J et al.* Oral rehydration therapy for diarrhea: an example of reverse transfer of technology. Pediatrics, 1997; 100: 10.

3. World Health Organization. The state of the world's children. Geneva: WHO, 1995.

4. *Walker-Smith JA, Sandhu BK Isolauri E, et al.* Recommendations for feeding in childhood gastroenteritis. Guidelines prepared by the ESPGHAN working group of acute diarrhea. J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 1997; 24: 619–620.

5. *Ruddock EH.* The homeopathic Vade Mecum of Modern Medicine and Surgery. London: The Homeopathic Publishing Company, 1893.

6. *Powers GF.* A comprehensive plan of treatment for the so-called intoxication of infants. Am. J. Dis. Child. 1926; 32: 232–257.

7. *Knudson KB, Bradley EM, Lecocq FR et al.* Effect of fasting and refeeding on the histology and disaccharidase activity of the human intestine. Gastroenterology, 1968; 55: 46–51.

8. *Nanulesku M, Condor M, Popa M et al.* Early re-feeding in the management of acute diarrhea in infants of 0–1year of age. Acta Paediatr. 1995; 84: 1002–1006.

9. *Sandhu BK.* Rationale for Early Feeding in Childhood Gastroenteritis. J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2001; 33: 13–16.

10. *Szajewska H, Hoekestra JH, Sandhu BK et al.* Management of acute gastroenteritis in Europe and the impact of the new recommendations: a multicenter study. J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2000; 30: 522–527.

11. *Van Niel C, Feudtner C, Garrison MM et al.* Lactobacillus therapy for acute infectious diarrhea in children: a meta-analysis. Pediatrics. 2002; 109: 678–684.

12. *Huang JS, Bousvaros A, Lee JW et al.* Efficacy of probiotic use in acute diarrhea in children: a meta-analysis. Dig. Dis. Sci. 2002; 11 (47): 2625–2634.

13. *Len SJ, Okoko B, Martinez E et al.* Probiotics for treating infectious diarrhoea. The Cochrane Database of Systematic Reviews, 2003.

14. *Маянский А.Н.* Патогенетическая микробиология. Н. Новгород: НГМА, 2006: 302–317.

15. *Favier CF, Vaughan EE et al.* Molecular monitoring of succession of bacterial communities in human neonates. Applied and Environmental microbiology. 2002; 68 (1): 219–226.

16. *Минушкин О.Н., Ардатская М.Д. и др.* Дисбактериоз (дисбиоз) кишечника: современное состояние проблемы. Комплексная диагностика и лечебная коррекция. Методическое пособие для врачей. М.: Издательство «Дрофа», 2008: 59–60.