

© Коллектив авторов, 2010

В.Р. Амирова¹, О.К. Нетребенко², Л.Ф. Азнабаева¹, Р.Р. Хабирова¹

СОСТОЯНИЕ МЕСТНОГО ИММУНИТЕТА У НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ, ПОЛУЧАЮЩИХ РАЗЛИЧНЫЕ ВИДЫ ВСКАРМЛИВАНИЯ

¹ГОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет Росздрава, г. Уфа;

²ГОУ ВПО Российский государственный медицинский университет, Москва

Проведено сравнительное изучение состояния здоровья и местного иммунитета слизистых оболочек (СО) верхних дыхательных путей у 80 новорожденных детей, из которых 40 детей вскарммливались грудным молоком (ГМ) и 40 – искусственными смесями: стандартной молочной смесью (СМС) (20 детей) и смесью NAN 1 с *B. lactis* (20 детей). В группе детей, получавших смесь с пробиотиками, в сравнении с детьми, получавшими СМС, отмечено достоверное снижение частоты желудочно-кишечных дисфункций (64,7% против 94,4%), гнойно-воспалительных заболеваний (29,4% против 77,8%) и симптомов атопии (11,8% против 44,4%). У новорожденных, получавших смесь с пробиотиками, выявлено адекватное иммунное реагирование на инфекционный процесс, сопоставимое с таковым при грудном вскармливании, в виде повышения содержания sIgA и IgE, ИФН γ , ИЛ1Ra на СО носа. Положительные клинико-иммунологические эффекты смеси NAN 1, содержащей *B. lactis*, позволяют рекомендовать ее для организации искусственного вскарммливания при отсутствии ГМ.

Ключевые слова: новорожденные дети, вскарммливание, смесь с пробиотиками, местный иммунитет слизистых оболочек верхних дыхательных путей.

Authors performed comparative study of health state and local immunity of upper respiratory tract mucosa in 80 neonates. 40 neonates received breast feeding and 40 bottle feeding. Including 20 fed by ordinary milk formula (OMF) and 20 fed by formula NAN with *B. lactis*. Neonates fed by milk formula with probiotics in comparison with children fed by OMF had significantly less frequency of gastrointestinal dysfunctions (64,7% vs 94,4%), purulent inflammatory diseases (29,4% vs 77,8%) and signs of atopy (11,8% vs 44,4%). Neonates fed by milk formula with probiotics had adequate immune response on infectious process comparable with response of breast-fed children and presented as increased sIgA and IgE, IFN γ , IL1Ra on nasal mucosa. Positive clinical and immunological effects of milk formula NAN 1 with *B. lactis* permit to recommend it for feeding of neonate in absence of breast milk.

Key words: neonates, feeding, milk formula with probiotics, local immunity of upper respiratory tract mucosa.

Эволюция иммунной системы человека происходила на протяжении сотен тысяч лет и во многом определялась факторами окружающей среды. Крупным шагом развития иммунной системы млекопитающих явилось приобретение симбионтной микрофлоры с развитием постоянного взаимодействия организма хозяина и микрофлоры. Сохранение здорового иммунитета и здоровья человека зависит от баланса микробиоты, населя-

ющей слизистые оболочки (СО), от количества и качества микробов.

В последнее столетие вследствие гигантских социальных изменений жизни человека, развития цивилизации, новых возможностей медицины, новых открытий в биологии и изменения характера жизни произошли качественные и количественные изменения микробиоты, которые, по-видимому, могут влиять на состояние иммунитета

Контактная информация:

Амирова Виктория Радековна – д.м.н., проф. каф. госпитальной педиатрии с курсом поликлинической педиатрии ГОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет Федерального Агентства по здравоохранению и социальному развитию

Адрес: 450000 г. Уфа, ул. Ленина, 3

Тел.: (347) 273-57-21, E-mail: victoria_amirova@mail.ru

Статья поступила 15.12.09, принята к печати 22.12.10.

человека. Внедрение и широкое использование антибиотиков, изменение характера вскармливания и другие факторы повлияли на состав кишечной микробиоты и матери, и младенца. К настоящему времени доказано, что чем выше уровень развития цивилизации, тем больше изменений в составе микрофлоры СО ребенка [1].

Одновременно с этими процессами изменился характер заболеваемости, характеризующийся снижением числа инфекционных патологических состояний и увеличением числа аутоиммунных, аллергических заболеваний и других иммунозависимых состояний [2].

Нарушение колонизации микрофлорой начинается с первого дня жизни ребенка. Этому способствуют почти стерильная обстановка родильного дома, оперативное родоразрешение, использование антибиотиков, отсрочка или отсутствие грудного вскармливания (ГВ) [3, 4]. Снижение колонизации кишечника и СО дыхательных путей изменяет иммунный ответ младенца и способствует развитию иммуноопосредованных заболеваний.

Оптимальным питанием новорожденного ребенка является материнское молоко, которое содержит факторы, способствующие росту бифидобактерий и лактобацилл, а также живые бифидобактерии и молочнокислые палочки, которые способствуют оптимальной колонизации СО организма. В отсутствие материнского молока необходимо выбрать продукт, который может служить также фактором защиты и развития иммунитета, благодаря росту здоровой микрофлоры. Поэтому нами было проведено изучение влияния смеси с пробиотиками (*B. lactis*) на развитие иммунных функций у детей в неонатальном периоде.

Цель исследования: оценить влияние вида вскармливания на состояние здоровья и местный иммунитет верхних дыхательных путей (ВДП) у новорожденных детей.

В исследование были включены 80 доношенных новорожденных детей, родившихся в условиях городского перинатального центра в сроки 38–41 нед гестации. Оценка детей по шкале Апгар при рождении составила на 1-й минуте $7,8 \pm 0,2$ балла, на 5-й минуте – $8,4 \pm 0,4$ балла. В процессе исследования новорожденные были разделены на 3 группы. В 1-ю группу вошли 40 детей, находившихся с момента рождения на ГВ. Во 2-ю группу вошли 20 новорожденных, получавших с рождения стандартную молочную смесь (СМС) для искусственного вскармливания (ИВ). В 3-ю группу были включены 20 детей, получавших молочную смесь с пробиотиками (NAN1 с *B. lactis*). 40 новорожденных, составивших 2-ю и 3-ю группы наблюдения, находились с рождения на ИВ вследствие тяжелого состояния матерей ($n=19$), отказа матерей от кормления грудью ($n=10$), гипоплазии (n=11).

Исследуемые группы новорожденных были сопоставимы по способу рождения, половой принадлежности, оценке по шкале Апгар. Антропометрические показатели детей при рождении во всех исследуемых группах находились в пределах возрастной нормы.

Наблюдение за детьми в динамике проводили на протяжении 4 недель жизни, при этом оценивали динамику антропометрических показателей, клинических проявлений желудочно-кишечных дисфункций, частоты развития гнойно-воспалительных заболеваний (ГВЗ) и аллергических реакций.

Комплекс исследования местного иммунитета ВДП включал следующие параметры: 1) оценка гуморального звена – количественное определение в смывах со СО носа sIgA (мг/л), IgE (нг/мл) с помощью иммуноферментного анализа (ИФА); определение внеклеточной пероксидазной активности (ВПА, у. е.); 2) определение содержания цитокинов – интерферон γ (ИФН γ , пг/мл), интерлейкин 8 (ИЛ8, пг/мл), ИЛ1 β (пг/мл), ИЛ1Ra (пг/мл), трофобластический фактор роста (ТФР1 β , пг/мл) с помощью ИФА; 3) иммуноцитологические исследования – определение в мазках со СО носа лейкоцитов, эпителиоцитов (цилиндрический, плоский эпителий, безъядерная цитоплазма плоского эпителия – чешуйки), цитоза, деструктивных процессов в клетках, фагоцитарной активности нейтрофилов (процент фагоцитирующих аутофлору нейтрофилов).

Для оценки значимости различий полученных показателей использовали методы непараметрической статистики: критерий Манна–Уитни для независимых выборок и парный критерий Т-Вилкоксона для зависимых выборок. При сравнении качественных признаков достоверность различий между процентными долями выборок использовали критерий Фишера. Для изучения взаимосвязи признаков использовали корреляционный анализ с определением коэффициента ранговой корреляции Спирмена.

У детей, получавших смесь с пробиотиками, ежедневная прибавка массы тела была сопоставима с таковой у детей на ГВ и была достоверно более низкой, чем у детей, получавших СМС, благодаря снижению уровня белка в продукте для приближения к уровню белка в грудном молоке (ГМ).

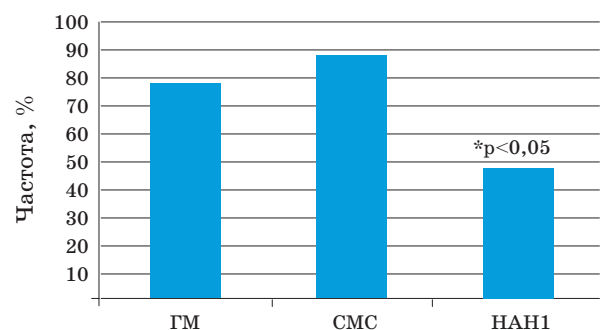


Рис. 1. Частота функциональных нарушений пищеварения у новорожденных детей на разном вскармливании.

Таблица 1

Частота и характер функциональных нарушений пищеварения у новорожденных, получающих различные виды вскармливания

Вид вскармливания	Срыгивания	Метеоризм	Нарушения стула
ГВ (1-я группа)	50%	37,5%	55%
СМС (2-я группа)	72,2%	61,1%	61,1%
Смесь с пробиотиками (3-я группа)	35,3% **	41,2%	29,4% *,**

Здесь и в табл. 2 и 3: *достоверность различия между показателями детей 1-й группы в сравнении с детьми 2-й и 3-й групп, **достоверность различия между показателями детей 2-й и 3-й групп.

Таблица 2

Частота и характер нарушений стула у новорожденных, получающих различные виды вскармливания

Вид вскармливания	Учащенный стул	Запор	Изменение цвета, патологические примеси
ГВ (1-я группа)	25%	30%	27,5%
СМС (2-я группа)	27,8%	38,9%	52,9%
Смесь с пробиотиками (3-я группа)	29,4%	0	23,5% **

Частота проявлений функциональных нарушений пищеварения в первые 4 недели жизни была наименьшей у детей 3-й группы, получающих смесь с пробиотиками (рис. 1). Данный показатель у новорожденных 3-й группы был достоверно ниже, чем у новорожденных 2-й группы. При проведении индивидуального анализа было установлено, что достаточно высокая частота функциональных нарушений пищеварения у детей на ГВ была обусловлена нарушениями диеты со стороны матери и в ряде случаев – попыткой докорма другой смесью.

Срыгивания у новорожденных 3-й группы отмечались достоверно реже, чем у детей 2-й группы. Нарушения стула отмечались у них достоверно реже, чем у детей двух остальных групп (табл. 1).

У новорожденных 3-й группы не было отмечено ни одного случая развития запора, а изменения характера стула в виде изменения цвета, появления патологических примесей регистрировались достоверно реже, чем у детей 2-й группы (табл. 2).

Наиболее часто «малые» формы ГВЗ отмечались во 2-й группе новорожденных, получавших СМС: эта

Таблица 3

Частота развития ГВЗ у новорожденных, получающих различные виды вскармливания

Вид вскармливания	Частота, %
ГВ (1-я группа)	52,5
СМС (2-я группа)	77,8*
Смесь с пробиотиками (3-я группа)	29,4**

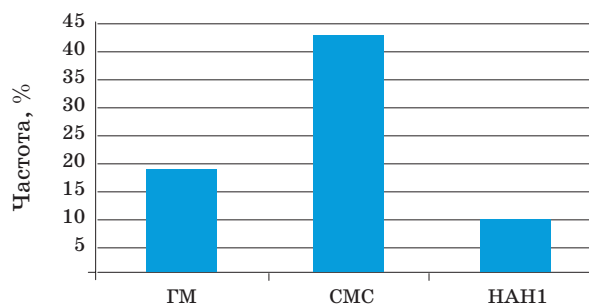


Рис. 2. Частота аллергических проявлений (сыпь, опрелости) у новорожденных.

частота достоверно превышала таковую как у детей 1-й группы, так и у детей 3-й группы (табл. 3).

У новорожденных 3-й группы конъюнктивит развивался в 2 раза реже, чем у новорожденных 2-й группы, а ринит у них наблюдался в 2 раза реже, чем у детей двух остальных групп. При этом ни у одного из новорожденных 3-й группы не регистрировались случаи развития омфалита или везикулопустулеза (табл. 4).

Аллергические реакции (в виде сыпи, опрелостей) на фоне применения смеси с пробиотиками отмечались у новорожденных достоверно реже, чем при применении СМС (рис. 2).

В табл. 5 представлена динамика и направленность показателей местного иммунитета СО ВДП в периоде новорожденности в зависимости от вида вскармливания и наличия ГВЗ. При этом обращает на себя внимание увеличение содержания sIgA в 100% случаев при наличии ГВЗ у детей, получающих смесь с пробиотиками.

Таблица 4

Частота и характер ГВЗ у новорожденных, получающих различные виды вскармливания

Вид вскармливания	Конъюнктивит	Ринит	Омфалит	Везикулопустулез
ГВ (1-я группа)	12,5%	35%	2,5%	2,5%
СМС (2-я группа)	22,2%	38,9%	16,7%	0
Смесь с пробиотиками (3-я группа)	11,8%	17,6%	0	0

Таблица 5

Динамика и направленность показателей местного иммунитета СО ВДП у новорожденных в зависимости от вида вскармливания и наличия ГВЗ

Показатели	ГВ				СМС				Смесь с пробиотиками			
	здоровые		с ГВЗ		здоровые		с ГВЗ		здоровые		с ГВЗ	
	↑	↓	↑	↓	↑	↓	↑	↓	↑	↓	↑	↓
sIgA	71,4	28,6	70,6	29,4	83,3	16,7	91,7	8,3	83,3	16,7	100	–
IgE	71,4	28,6	70,6	29,4	50	50	33,3	66,7	66,7	33,3	80	20
ИФН γ	71,4	28,6	70,6	29,4	50	50	33,3	66,7	50	50	80	20
ИЛ8	64,3	35,7	47,1	52,9	83,3	16,7	66,7	33,3	58,3	41,7	60	40
ИЛ1 β	85,7	14,3	76,5	23,5	83,3	16,7	50	50	50	50	80	20
ИЛ1Ra	71,4	28,6	76,5	23,5	16,7	83,3	41,7	58,3	41,7	58,3	60	40
ТФР1 β	7,1	92,9	29,4	70,6	50	50	41,7	58,3	33,3	66,7	40	60
ВПА	64,3	35,7	70,6	29,4	50	50	66,7	33,3	41,7	58,3	80	20

*достоверность различия показателей между новорожденными с ГВЗ на ГВ и новорожденными с ГВЗ на СМС,
 **достоверность различия показателей между новорожденными с ГВЗ на СМС и новорожденными с ГВЗ на смеси с пробиотиками; данные представлены в %.

Повышение содержания ИФН γ является признаком активации Th1-ответа, что характерно для воспалительных реакций и служит сигналом адекватного переключения Th2-ответа на Th1. Концентрация ИФН γ повышалась у 76% детей 1-й группы и у 80% детей 3-й группы (получающих смесь с пробиотиками), в то время как у 66,7% детей 2-й группы этот показатель снижался. Т.е., при вскармливании новорожденных СМС наблюдается «неблагоприятная» динамика ИФН γ .

ИЛ1 β отражает активность воспалительной реакции организма, и повышение его содержания было характерно для детей с ГВЗ во всех трех группах.

Для нас представляло большой практический интерес определение цитокина ИЛ1Ra – антагониста ИЛ1 β . Известно, что ИЛ1Ra конкурирует с ИЛ1 β , блокируя его провоспалительное действие в течение иммунного ответа. У детей 3-й группы, получающих смесь с пробиотиками, в 60% случаев значения ИЛ1Ra повышались, что предотвращает избыточность воспалительного ответа при ГВЗ, чем, вероятно, можно объяснить отсутствие развития у них омфалита и везикулопустулеза, а также редкие случаи возникновения конъюнктивита и ринита.

Развитие ГВЗ стимулировало повышение содержания хемокина ИЛ8 (ответственного за

миграцию нейтрофилов) у всех детей вне зависимости от вида вскармливания.

Интересными, на наш взгляд, являются данные клеточного анализа фагоцитарной активности нейтрофилов. Завершенный фагоцитоз, как наиболее полная защитная клеточная реакция от патогенов, преимущественно выявлялся в группе детей, получающих смесь с пробиотиками.

Многочисленные исследования, проведенные в последнее десятилетие, позволяют говорить о важной роли пробиотиков в развитии иммунной функции и обеспечении адекватной защиты от факторов окружающей среды. В нашем исследовании обращает на себя внимание снижение частоты заболеваемости ГВЗ у детей, получающих продукт с пробиотиками, что согласуется с данными [6, 7], которые отмечали снижение числа случаев ротавирусной инфекции в группе детей, получавших продукт с *B. lactis*, и числа случаев острых кишечных инфекций у детей ясельной группы.

Функциональные нарушения пищеварения достаточно часто встречаются у детей в первые недели и месяцы жизни. Известно, что пробиотики улучшают моторику желудочно-кишечного тракта, ускоряют созревание кишечных функций и способствуют процессам пищеварения. По нашим данным, использование продукта с пробиотиком позволило снизить частоту срыгиваний,

колик, метеоризма у детей. На фоне использования смеси с пробиотиком удалось купировать запоры. Использование смеси NAN 1 с пробиотиками снижало частоту симптомов атопии в первые недели жизни.

Ранее в исследованиях E. Ziegler [8], Л.А. Щеплягиной и соавт. [9] был продемонстрирован оптимизированный иммунный ответ и более высокий уровень бифидобактерий в кишечнике детей, получающих смесь с пробиотиками, по сравнению с детьми, получающими СМС.

В медицинских публикациях приводятся многочисленные данные о роли пробиотиков и высказываются неоднозначные мнения по поводу их использования у детей с рождения. В некоторых исследованиях не удается получить положительные результаты при использовании пробиотиков. Во многом это связано с объединением в группу пробиотиков разнообразных потенциально благоприятных микроорганизмов, имеющих ряд доказательств положительного воздействия на организм человека. В случае использования пробиотиков в детском питании речь должна идти, прежде всего, о полной безопасности пробиотика. *B. lactis*, которая используется в детских продуктах компании Нестле, получила статус «абсолютно безопасной», что отражено в документах FDA (GRAS Notice No GRN000049) [10].

Кроме того, в последние годы появляется информация о том, что воздействие пробиотика во многом определяется технологическим процессом его производства. Так, в работе L. Crzeskowiak [11] было показано, что один и тот же пробиотический микроорганизм может обладать разной адгезивной способностью и различными защитными свойствами в зависимости от использования тех или иных технологических процессов производства. В связи с чем для каждого продукта, в состав которого входит пробиотический компонент, необходимы собственные доказательства свойств и функций, влияния на состав кишечной микробиоты и состояние местного иммунитета.

Исследованиями, проведенными в разных странах по включению в детские смеси штамма *B. lactis* (коллекция Нестле), показано повышение количества бифидобактерий в кишечнике младенцев, увеличение содержания sIgA, положительное иммуномодулирующее влияние [8, 9], что убедительно продемонстрировано и в наших исследованиях.

Таким образом, детская молочная смесь NAN 1, содержащая *B. lactis*, обладает защитными свойствами и иммуномодулирующим действием и безопасна для использования в питании детей, лишенных материнского молока с рождения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Romagnani S. The increased prevalence of allergy and the hygiene hypothesis: missing immune deviation, reduced immune suppression or both? *Immunology*. 2004; 112: 352–363.
2. Forno E, Onderdonk A, VcCracken J et al. Diversity of the gut microbiota and eczema in early life. *Clinical and Molecular Allergy*. 2008; 6: 11–20.
3. Laubereau B, Filipiak-Pittroff B, von Berg A et al. Caesarean section and gastrointestinal symptoms, atopic dermatitis and sensitization during the first year of life. *Arch. of Diseases in Childhood*. 2004; 89: 993–997.
4. Renz-Polster H, David MR, Buist AS et al. Caesarean section delivery and the risk of allergic disorders in childhood. *Clin. Exp. Allergy*. 2005; 35: 1466–1472.
5. Nutten S, Schumann A, Donnicola D et al. Antibiotic administration early in life impairs specific humoral responses to an oral antigen and increases intestinal mast cell numbers and mediators concentrations. *Clinical and Vaccine Immunology*. 2007; 2: 190–197.
6. Saavedra JM, Abi-Hanna A, Moore N, Yolken RH. Long-term consumption of infant formulas containing live probiotic bacteria: tolerance and safety. *Am. J. Clin. Nutr.* 2004; 79: 261–267.
7. Chouraqui JP, Van Egroo LD, Fichot MC. Acidified milk formula supplemented with bifidobacterium lactis: impact on infant diarrhea in residential care settings. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2004; 38: 288–292.
8. Ziegler EE, Jeter JM, Drulis JM et al. Formula with Reduced Content of Improved, Partially Hydrolyzed Protein and Probiotics: Infant Growth and Health. *Monatsschr. Kinderheilkd.* 2003; 1: 565–571.
9. Щеплягина Л.А., Матвиенко Н.С., Казначеева Л.Ф. и др. Опыт применения детской молочной смеси с пробиотиками у детей групп риска нарушения состава микрофлоры кишечника. *Педиатрия*, 2010; 4: 70–76.
10. FDA, 2003. <http://www.cfsan.fda.org/~rdbopaq049.html>
11. Crzeskowiak L, Isolauri E, Salminen S et al. Manufacturing process influences properties of probiotic bacteria. *Br. J. Nutr.* 2010; doi:10.1017/S0071145100004496

