

© Коллектив авторов, 2016

Е.А. Корниенко<sup>1</sup>, Л.С. Козырева<sup>1</sup>, О.К. Нетребенко<sup>2</sup>

## МИКРОБНЫЙ МЕТАБОЛИЗМ И КИШЕЧНОЕ ВОСПАЛЕНИЕ У ДЕТЕЙ ПЕРВОГО ПОЛУГОДИЯ ЖИЗНИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВИДА ВСКАРМЛИВАНИЯ

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет МЗ РФ, Санкт-Петербург; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова МЗ РФ, Москва, РФ

Функциональные расстройства желудочно-кишечного тракта – частая проблема у детей первых месяцев жизни, механизм их окончательно неясен, обсуждается важная роль кишечной микрофлоры (КМБ) и воспаления. Целью данной работы была оценка состояния КМБ и кишечного воспаления у детей первого полугодия жизни в зависимости от вида вскармливания. 80 практически здоровых детей: 20 – на грудном вскармливании (контрольная группа – КГ), 60 – на искусственном (30 получали смесь «Нестожен с пробиотиками» – основная группа (ОГ), 30 – смесь без про- и пребиотиков – группа сравнения – ГС) включались в исследование в возрасте 2–3 мес и наблюдались в течение 3 мес. Исходно и через 3 мес исследованы уровни кальпротектина, короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК) в кале и проведен посев кала на дисбактериоз. Уровень КЦЖК не коррелировал с данными микробиологического исследования кала. Динамика КЦЖК в ОГ и КГ была сходной, но уровень всех КЦЖК был выше в ОГ, достоверно превышая ГС. Средний уровень кальпротектина снижался во всех группах, но обнаружена сильная связь между высоким уровнем кальпротектина и высоким (выше 9 мг/г) или слишком низким (ниже 2,9 мг/г) уровнем КЦЖК. Исследование подтвердило связь функционального состояния КМБ и развития кишечного воспаления. Смесь «Нестожен с пробиотиками» способствует формированию более зрелого микробиоценоза, на фоне чего снижается активность воспаления и уменьшаются диспепсические симптомы.

**Ключевые слова:** функциональные расстройства желудочно-кишечного тракта, короткоцепочечные жирные кислоты, кальпротектин, пробиотики, младенцы.

**Цит.:** Е.А. Корниенко, Л.С. Козырева, О.К. Нетребенко. Микробный метаболизм и кишечное воспаление у детей первого полугодия жизни в зависимости от вида вскармливания. Педиатрия. 2016; 95 (6): 19–26.

Е.А. Kornienko<sup>1</sup>, L.S. Kozyreva<sup>1</sup>, O.K. Ntrebenko<sup>2</sup>

## MICROBIAL METABOLISM AND INTESTINAL INFLAMMATION IN CHILDREN AGED UP TO 6 MONTHS DEPENDING ON FEEDING TYPE

<sup>1</sup>Saint-Petersburg State Pediatric Medical University, Saint-Petersburg;  
<sup>2</sup>Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

### Контактная информация:

**Корниенко Елена Александровна** – д.м.н., проф., зав. каф. гастроэнтерологии факультета послевузовского и дополнительного профессионального образования Санкт-Петербургского государственного педиатрического медицинского университета  
**Адрес:** Россия, 194100, г. Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2  
**Тел.:** (812) 778-06-61,  
**E-mail:** elenkornienk@yandex.ru  
Статья поступила 29.07.16,  
принята к печати 8.09.16.

### Contact Information:

**Kornienko Elena Alexandrovna** – MD., prof., Head of Gastroenterology Department, Postgraduate and Additional Professional Education Faculty, Saint-Petersburg State Pediatric Medical University  
**Address:** Russia, 194100, St. Petersburg, Litovskaya str., 2  
**Tel.:** (812) 778-06-61,  
**E-mail:** elenkornienk@yandex.ru  
Received on Jul. 29, 2016,  
submitted for publication on Sep. 8, 2016.

Functional disorders of the gastrointestinal tract is a common problem in children of the first months of life, which mechanism is not completely clear. The article discusses intestinal microbiota (IMB) importance and inflammation. The aim of this research is to evaluate IMB state and intestinal inflammation in infants aged up to 6 months depending on feeding type. 80 healthy children: 20 – breastfed (control group – CoG), 60 – on artificial feeding (30 got Nestogen with probiotics – main group (MG), 30 – mix without pro and prebiotics – the comparison group – CG) were included in the study at the age of 2–3 months and observed for 3 months. At baseline and at 3 months levels of calprotectin, short chain fatty acids (SCFA) in the stool were studied, also dysbacteriosis analysis was performed. Dynamics of SCFA in MG and CG was similar, but SCFA level was significantly higher in MG than in CG. The average level of calprotectin decreased in all groups, but there was a strong connection between calprotectin high levels and high (above 9 mg/g) or too low (below 2,9 mg/g) SCFA level. The study confirmed association between IMB functional state and intestinal inflammation development. Nestogen with probiotics helps the formation of microbiocenosis, decreases inflammation activity and diarrheal symptoms.

**Keywords:** *gastrointestinal tract functional disorders, short chain fatty acids, calprotectin, probiotics, infants.*

**Quote:** *E.A. Kornienko, L.S. Kozyreva, O.K. Ntrebenko. Microbial metabolism and intestinal inflammation in children aged up to 6 months depending on feeding type. Pediatrics. 2016; 95 (6): 19–26.*

Функциональные расстройства (ФР) желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) – одна из наиболее частых проблем у детей раннего возраста. По данным мета-анализа, проведенного Y. Vandenplas и соавт. в 2015 г. [1], средняя распространенность младенческих срыгиваний у детей первых месяцев жизни составляет 26%, младенческих кишечных коликов – 21%, у 15% детей наблюдаются функциональные запоры. В структуре ФР ЖКТ, согласно полученным нами данным, доминируют младенческие срыгивания и младенческие кишечные колики, причем более чем у 70% детей они сочетаются друг с другом [2].

Патофизиологические механизмы развития ФР ЖКТ в настоящее время остаются предметом дискуссии. Основными причинами возникновения их в раннем возрасте считаются морфологическая и функциональная незрелость органов пищеварения, несовершенство центральной и вегетативной регуляции, а также особенности становления кишечной микробиоты (КМБ) [3].

Процесс естественной микробной колонизации кишечника новорожденного оказывает стимулирующее воздействие как на морфологическое созревание кишечного эпителия, так и на регуляцию иммунной системы. Под влиянием микробов и продуктов их метаболизма происходят активация мембранных Toll-like и клеточных Nod-like рецепторов, дендритных клеток, образование цитокинов и sIgA. На этом фоне снижается проницаемость эпителия, укрепляется защитный барьер кишечника, что уменьшает проникновение чужеродных белков и риск сенсибилизации к ним [4]. КМБ принадлежит ведущая роль в формировании иммунологической толерантности, обусловленной переключением адаптивного иммунного ответа и направленной дифференцировкой Т-лимфоцитов с преимущественным образованием Т-регуляторных клеток и выработкой IL10. Этот механизм обеспечивает

устойчивость ребенка к аллергии и избыточной воспалительной реакции в дальнейшем.

Первоначально микробное заселение кишечника и иммунная активация сопровождаются некоторыми признаками воспаления в слизистой оболочке кишечника (СОК). Это слабое воспаление отражает процесс естественной адаптации и может быть признано «физиологическим». Одним из возможных маркеров воспаления в кишечнике может служить уровень кальпротектина в кале. Кальпротектин – воспалительный белок, который отражает степень гранулоцитарной инфильтрации слизистой оболочки, свойственной воспалению. Исследование кальпротектина в кале детей первых месяцев жизни с младенческими кишечными коликами и без них, проведенное J.H. Roads и соавт. [5], показало, что он повышен у всех детей (у здоровых новорожденных  $197 \pm 46$  мг/г при норме у взрослых – до 50 мг/г), что косвенно подтверждает наличие слабой степени воспаления СОК в этом возрасте. Однако у детей с коликами уровень кальпротектина оказался выше, чем в контрольной группе, более чем в 2 раза ( $413 \pm 71$  мкг/г,  $p=0,042$ ). Нами были получены аналогичные данные у детей с ФР ЖКТ в сравнении со здоровыми [2]. С помощью ПЦР в реальном времени нами было показано более частое присутствие условно-патогенных микробов с высоким воспалительным потенциалом: *Cl. difficile*, *Klebsiella spp.* у детей с ФР ЖКТ. На основании полученных данных был сделан вывод о важном значении альтерации КМБ и связанным с ней воспалением в генезе ФР ЖКТ. То есть, в сложном процессе становления индивидуальной КМБ возможны отклонения, сопровождающиеся развитием более выраженного воспаления, которое может оказывать влияние в т.ч. и на моторную функцию кишечника, объясняя появление запоров, срыгиваний или коликов.

Важнейшая функция КМБ – метаболиче-

ская. Кишечные бактерии активно участвуют практически во всех видах обмена веществ, переваривая различные пищевые ингредиенты – белки, жиры и углеводы, и синтезируя витамины. Исследования метагенома КМБ показали значительные его индивидуальные отличия, но при всем разнообразии КМБ ее метаболитом (совокупность продуктов микробного метаболизма) не столь многообразен. Изучение спектра кишечных метаболитов взрослых и детей показало, что у детей доминируют продукты метаболизма углеводов и витамины, а у взрослых относительно выше доля продуктов гидролиза белка [6]. Это можно объяснить как особенностями питания, так и характером КМБ (доминированием бифидобактерий – ББ у детей и строгих анаэробов у взрослых).

Важнейшими продуктами бактериального расщепления являются короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК), прежде всего уксусная (С2), пропионовая (С3) и масляная (С4). Безмикробные животные даже на диете, обогащенной пищевыми волокнами (ПВ), не дают прирост КЦЖК, что подтверждает микробное происхождение этих метаболитов. Их концентрация в толстой кишке взрослого человека составляет 70–140 ммоль/л в проксимальных отделах толстой кишки и 20–70 ммоль/л – в дистальных. Среднее содержание КЦЖК в кале у здоровых взрослых равно С2:С3:С4=5,88:1,8:1,75 мг/г [7].

Ацетат является основным метаболитом гетероферментативного брожения, свойственного ББ, и обнаруживается в кале здоровых детей с первых дней жизни, в возрасте 1 мес его уровень составляет примерно 70–80 ммоль/л [8]. Он выполняет важные энергетические задачи, всасываясь в кровь и попадая в клетки различных органов и тканей, обеспечивая от 5 до 15% общего калоража. Бутират и пропионат продуцируются строгими анаэробами, которые появляются в кишечнике ребенка позднее, поэтому в первые месяцы жизни их концентрация в кале незначительна. Однако в дальнейшем этот уровень нарастает, составляя у взрослых до  $\frac{1}{3}$  всех КЦЖК кала [9]. Пропионат усиливает гликогеногенез в печени. Бутират оказывает прямое воздействие на процессы регенерации кишечного эпителия, укрепляя его барьерные функции. Бутират быстро метаболизируется колоноцитами и является главным источником энергии для них, окисление КЦЖК покрывает 60–70% энергопотребности колоноцитов. Бутират обладает противовоспалительным действием, ингибируя нуклеарный фактор воспаления NF $\kappa$ B [9]. Он оказывает и эпигенетическое действие, препятствуя деацетилированию гистонов ДНК хозяина и закрепляя свой противовоспалительный эффект на уровне генома.

Снижение pH, обусловленное КЦЖК, препятствует росту патогенных бактерий. Например, пропионат убивает *E. coli* и *Salmonella* при pH=5. Чем выше продукция КЦЖК, тем меньше число

патогенов. КЦЖК стимулируют кишечное всасывание электролитов (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>) и воды [10], а также всасывание Ca<sup>++</sup> и Mg<sup>++</sup>, препятствуя тем самым остеопении.

КЦЖК улучшают кровоснабжение кишки: ацетат и пропионат в виде ректальных инфузий в 1,5–5 раз усиливают кровоток в органах брюшной полости [10]. Предполагается, что это воздействие реализуется через энтеральную нервную систему и хеморецепторы, а также прямо через гладкую мускулатуру кишки.

КЦЖК обладают трофическим эффектом на СОК, при полном парентеральном питании введение КЦЖК препятствует развитию атрофии. Диета, богатая ферментируемыми ПВ, усиливает восстановление поврежденных клеток и илеальный рост за счет увеличения глюкагон-подобного пептида-1 [10].

Таким образом, КМБ оказывает воздействие на организм хозяина прежде всего благодаря своим метаболитам, преимущественно – КЦЖК. Положительные эффекты КЦЖК состоят в следующем:

- стимуляция роста ББ;
- подавление патогенов;
- снижение pH и усиление всасывания Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>++</sup> и Mg<sup>++</sup>;
- нормализация моторики ЖКТ;
- энергообеспечение (до 20% энергообмена);
- усиление гликогеноза в печени, уменьшение образования кетонов;
- противовоспалительное действие.

Каковы способы повышения уровня КЦЖК? Применительно к детям грудного возраста – это грудное молоко, которое содержит галактоолигосахариды, обладающие пребиотическим действием и селективно стимулирующие рост ББ. В результате переваривания этих олигосахаридов образуются КЦЖК, преимущественно ацетат. Появление в последние годы новых смесей, содержащих про- и пребиотики, открывает новые горизонты, поскольку они могут оказывать влияние на процесс становления КМБ ребенка и ее функциональную активность. При патологии ЖКТ и состав, и метаболическая активность кишечных бактерий меняются. При альтерации КМБ, как правило, преобладают протеолитические микробы и количество жирных кислот с большим молекулярным весом и их изоформ возрастает, это может быть диагностическим маркером дисбиоза кишечника [2]. Исследование спектра КЦЖК в кале детей, страдающих коликами, обнаружило достоверные различия по сравнению с контрольной группой [8]. Различия касались кислот с более длинными цепями, преобладали их изоформы (С15, i17,  $\alpha$ 17). По данным ряда авторов, *L. reuteri* в составе детской молочной смеси эффективны в профилактике ФР ЖКТ [11]. Наше собственное исследование подтвердило эффективность *L. reuteri* как в каплях, так и в составе смеси, у детей с уже имеющимися ФР ЖКТ, что прояв-

лялось достоверным улучшением клинической симптоматики, снижением уровня фекального кальпротектина и улучшением микробиологических показателей, по данным ПЦР в реальном времени [2]. Возможно, применение стратегии превентивного раннего назначения про- и пребиотиков может влиять на функциональную активность КМБ и кишечное воспаление и быть эффективной мерой профилактики ФР ЖКТ у детей, находящихся на искусственном вскармливании.

Целью данной работы была оценка функционального состояния КМБ и кишечного воспаления у клинически здоровых детей первого полугодия жизни в зависимости от вида вскармливания.

### Материалы и методы исследования

Под нашим наблюдением находились 80 практически здоровых детей в возрасте от 1 до 6 мес. Дети включались в исследование в возрасте 2–3 мес и наблюдались в течение 3 мес. Критериями включения в исследование было отсутствие острых и хронических заболеваний. Критериями исключения были недоношенность и наличие признаков какой-либо острой или хронической патологии, в т.ч. аллергической.

Все пациенты были разделены на 3 группы в зависимости от вида вскармливания: в контрольную группу (КГ) вошли 20 практически здоровых детей на грудном вскармливании. Остальные 60 детей, находящихся на искусственном вскармливании в связи с отсутствием грудного молока у матери, были рандомизированы методом случайной выборки в 2 равные группы по 30 человек. Дети 1-й, основной, группы (ОГ) получали адаптированную смесь на основе цельного белка коровьего молока, в состав которой входят пребиотики, галактоолигосахариды и фруктоолигосахариды (ГОС/ФОС) в соотношении 10:1 в количестве 0,4 г/100 мл и пробиотик *L. reuteri* 10<sup>6</sup> КОЕ/100 мл («Нестожен 1 с пробиотиками»); дети 2-й группы, группы сравнения (ГС) вскармливались адаптированной молочной смесью на основе цельного белка коровьего молока, которая не содержит про- и пребиотиков. Средний возраст на момент включения в исследование составил 2,9±0,5 мес в ОГ; 2,3±0,41 мес в ГС; 2,5±0,51 мес в КГ (p>0,05), т.е. не имел значимых отличий. Дети 1-й и 2-й групп получали смеси в полном суточном объеме в течение 3 мес, после чего было проведено контрольное обследование. Дети КГ находились на исключительно грудном вскармливании, исследование повторили через 3 мес. Прикормы в ходе исследования дети не получали.

В течение 3 мес ежедневно матери детей вели дневник с отметкой любых патологических симптомов (срыгиваний, беспокойства, плача, кожных реакций и др.), частоты и характера стула. Ежемесячно проводили врачебный осмотр ребенка и оценку физического развития.

Лабораторное исследование проводили дважды – в начале и через 3 мес, оно включало:

1) бактериологическое исследование фекальной микробиоты (посев кала на дисбактериоз) в соответствии с требованиями Приказа МЗ РФ от 9.06.2003 № 231 (отраслевой стандарт);

2) исследование уровня КЦЖК в кале с помощью газо-жидкостной хроматографии проводили на кафедре гастроэнтерологии ФГУ «УФМЦ Управления делами Президента РФ» совместно с д.м.н., проф. М.Д. Ардатской;

3) исследование кальпротектина в кале методом ИФА с использованием экспресс-анализатора Quantum Blue (Швейцария).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием компьютерных программ «Statistica 7 for Windows». Производили расчет средних значений признака (M), стандартных ошибок среднего признака (m). Для качественной оценки частоты и вероятности признака в группах рассчитывали Хи-квадрат, отношение шансов (ОШ), для оценки достоверности отличий использовали критерий Фишера. Различия считали достоверными при p<0,05. Для оценки корреляции использовали коэффициент Пирсона.

### Результаты

**Клинические симптомы.** На момент включения в исследование все дети ОГ были здоровы, тем не менее, у 11 из них отмечались редкие срыгивания (36,7%), а у 10 (33,3%) срыгивания бывали до 3–4 раз в день, т.е. были пограничными по частоте для соответствия критериям ФР ЖКТ. Колики отсутствовали у большинства детей (11 чел., 36,7%), у 10 (33,3%) были редкими и у 9 (30%) – 3 раза в неделю, но реже 3 раз в день. На фоне приема смеси «Нестожен с пробиотиками» в целом наблюдалось уменьшение диспепсических симптомов. Через 3 мес лишь у 6 детей (20%) наблюдались редкие срыгивания, у 7 (23,3%) – редкие кишечные колики, но никто из детей не развил симптоматику, соответствующую критериям ФР ЖКТ (табл. 1). Переносимость смеси в целом была хорошая, весовые прибавки в течение 3 мес соответствовали норме. Ни у кого из детей не наблюдалось кожных симптомов аллергии. Средняя частота стула до начала приема смеси «Нестожен с пробиотиками» составила 2,8±0,6 раз в день, через 3 мес – 3,2±0,4 раз в день, стул имел мягкую пастообразную консистенцию, что соответствовало характеру и частоте стула у детей КГ (рис. 1).

В ГС на момент включения в исследование редкие срыгивания наблюдались у 16 (53,3%), 3–4 раза в день – у 8 (26,7%); колики до 3 раз в неделю – у 10 (33,3%), редкие – у 12 (40%). Через 3 мес редкие срыгивания сохранялись у 14 детей (46,7%), редкие колики – у 11 (36,7%). Кожных проявлений аллергии не отмечено ни у одного из детей, весовые прибавки соответствовали возрасту. Средняя частота стула у детей ГС на момент включения в исследование соста-

Динамика частоты диспепсических расстройств в сравниваемых группах

| Признаки   |                 | ОГ (n=30) |             | ГС (n=30) |             | КГ (n=20) |             |
|------------|-----------------|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|-------------|
|            |                 | исходно   | через 3 мес | исходно   | через 3 мес | исходно   | через 3 мес |
| Срыгивания | Редкие          | 36,7%     | 20%         | 53,3%     | 46,7%       | 75%       | 50%         |
|            | 3–4 раза в день | 33,3%     | 0           | 26,7%     | 0           | 25%       | 0           |
| Колики     | Редкие          | 33,3%     | 23,3%       | 40%       | 36,7%       | 70%       | 20%         |
|            | 3 раза в нед    | 30%       | 0           | 33,3%     | 0           | 0         | 0           |
| Запоры     |                 | 0         | 0           | 0         | 13,3%       | 0         | 0           |

вила  $2,8 \pm 0,5$  раз в день, т.е. соответствовала таковой в ОГ, но через 3 мес у половины детей (15 человек) стул стал плотным, у 26 (86,7%) – 1 раз в сутки, у 4 (13,3%) – 1 раз в 2 дня, т.е. появилась склонность к запорам. Средняя частота стула составила  $0,9 \pm 0,3$  раз в сутки, что было достоверно ниже, чем в ОГ и КГ (рис. 1).

У детей КГ на грудном вскармливании на момент включения в исследование также отмечались редкие срыгивания в 75% (15 детей), 3–4 раза в день – у 5 (25%) детей. Колики частотой менее 3 раз в неделю наблюдались у 14 (70%) детей. Через 3 мес срыгивания полностью отсутствовали у половины (50%), но изредка отмечались у 10 детей (50%). Колики сохранились у 4 детей (20%) через 3 мес. Кожных проявлений аллергии не наблюдалось. Средняя частота стула до начала исследования составила  $4,5 \pm 0,6$  раз в сутки, через 3 мес –  $3,1 \pm 0,5$  раз в сутки (рис. 1). Стул у большинства имел кашицеобразную консистенцию.

**Микробиологические особенности фекальной микрофлоры.** Изучение динамики КМБ, по данным посева кала (табл. 2), показало, что уровень ББ не имел достоверных отличий у детей всех трех групп ни в начале, ни в конце исследования, хотя отмечена некоторая тенденция к увеличению ББ во всех группах в динамике в среднем на  $0,3 \log_{10}$  КОЕ/г. Количество лактобацилл (ЛБ) имело тенденцию к снижению в ГС и практически не изменилось в ОГ и КГ. У детей на грудном вскармливании изначально был достоверно более низкий уровень условно-патогенных (УП) энтеробактерий ( $p < 0,05$ ),

при этом наблюдалось его дальнейшее снижение в течение 3 мес, достоверно ниже был также уровень клостридий и энтерококков ( $p < 0,05$ ), который продолжал снижаться через 3 мес, несколько более высоким был исходный уровень *St. aureus*. У детей ОГ отмечено более высокое содержание типичных *E. coli*, в ГС – более высокое содержание УП энтеробактерий, нарастание лактозонегативных *E. coli* и грибов рода *Candida*, но эти различия были недостоверны ( $p > 0,05$ ). Уровень УП энтеробактерий превышал  $4 \log_{10}$  КОЕ/г у 73,3% детей ОГ и у 46,7% младенцев ГС, при этом лишь у 25% детей КГ.

**Уровень короткоцепочечных жирных кислот в кале.** Исследование уровня КЦЖК в кале детей (табл. 3) показало, что у детей на грудном вскармливании (КГ) исходный уровень ацетата (С2) был достоверно выше, чем у детей на искусственном вскармливании ( $p < 0,05$ ), при этом уровень пропионата (С3) и бутирата (С4) был достаточно низок. Через 3 мес во всех группах наблюдалось повышение уровня КЦЖК в целом (ΣС2–С6), в первую очередь ацетата (С2), но степень прироста была разной. Самый высокий прирост отмечен в ОГ, где уровень С2 через 3 мес составил  $7,06 \pm 1,25$  мг/г, что высоко достоверно отличалось от исходного значения ( $p < 0,01$ ). Уровень ацетата в ОГ был достоверно выше ( $p < 0,05$ ) показателя КГ и особенно – ГС. Если принять во внимание, что нормальные значения С2 у взрослых, по данным М.Д. Ардатской [7], составляют  $5,88 \pm 1,22$  мг/г, а у детей первого полугодия жизни –  $3,23$  мг/г на грудном и  $3,023$  мг/г на искусственном вскармливании, то полученные нами данные свидетельствуют о более высоких значениях, в т.ч. у здоровых детей на грудном вскармливании, которые приближаются к показателям взрослых.

Уровень пропионата (С3), как исходно, так и через 3 мес, также был выше рекомендуемых нормативов для раннего возраста ( $0,264$  мг/г на грудном и  $0,564$  мг/г на искусственном вскармливании). У детей КГ он исходно составил  $0,32 \pm 0,12$  мг/г, через 3 мес –  $0,585 \pm 0,087$  мг/г, а в ОГ – исходно  $0,7 \pm 0,05$  мг/г, а через 3 мес –  $1,47 \pm 0,325$  мг/г, что было достоверно выше показателей других групп ( $p < 0,05$ ), приближаясь к нормативам взрослых ( $1,79 \pm 0,015$  мг/г). Почти не отмечено прироста пропионата в ГС, что объясняется, вероятно, отсутствием в смеси, которую

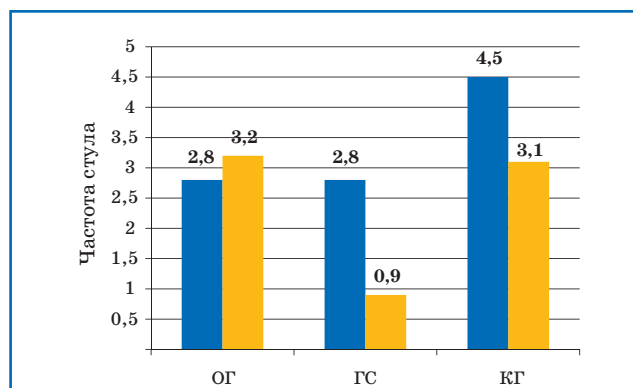


Рис. 1. Динамика частоты стула в сравниваемых группах. Здесь и на рис. 2: 1-й столбик – исходно, 2-й столбик – через 3 мес.

Динамика состава фекальной микробиоты, по данным посева, у детей сравниваемых групп ( $\log_{10}$  КОЕ/г)

| Микроорганизмы                   | ОГ (n=30) |             | ГС (n=30) |             | КГ (n=20) |             |
|----------------------------------|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|-------------|
|                                  | исходно   | через 3 мес | исходно   | через 3 мес | исходно   | через 3 мес |
| Бифидобактерии                   | 10,2      | 10,5        | 10,5      | 10,7        | 10,2      | 10,5        |
| Лактобациллы                     | 6,4       | 6,2         | 6,1       | 5,7         | 6,1       | 6,2         |
| Клостридии                       | 2,1       | 2,3         | 2,6       | 2,6         | 3,7       | 2,7         |
| Энтерококки                      | 6,8       | 6,8         | 6,8       | 7           | 5,7       | 5,3         |
| <i>E. coli</i> типичные          | 8,1       | 8,2         | 5,9       | 6,9         | 5,8       | 6,2         |
| <i>E. coli</i> лактозонегативные | 1,8       | 2,9         | 3,1       | 3,8         | 3,3       | 2,3         |
| УП энтеробактерии                | 4,2       | 4,2         | 6,1       | 4,3         | 2,6*      | 2*          |
| <i>Staph. aureus</i>             | 0,7       | 1,5         | 1,6       | 1,9         | 2*        | 1,8         |
| Грибы рода <i>Candida</i>        | 3         | 2,3         | 2,2       | 3,1         | 1,9       | 1,6         |

Здесь и в табл. 3: \*отмечены достоверные изменения ( $p < 0,05$ ).

Таблица 3

Динамика уровня КЦЖК в кале детей сравниваемых групп

| Показатели        | ОГ (n=30)      |                 | ГС (n=30)       |                | КГ (n=20)       |                  |
|-------------------|----------------|-----------------|-----------------|----------------|-----------------|------------------|
|                   | исходно        | через 3 мес     | исходно         | через 3 мес    | исходно         | через 3 мес      |
| С2, мг/г          | 2,5±<br>0,75   | 7,06±<br>1,25*  | 1,6±<br>0,29    | 3,37±<br>0,56* | 4,5±<br>1,35    | 5,35±<br>1,34    |
| С3, мг/г          | 0,7±<br>0,05   | 1,47±<br>0,325* | 0,4±<br>0,097   | 0,45±<br>0,082 | 0,32±<br>0,12   | 0,585±<br>0,087* |
| С4, мг/г          | 0,38±<br>0,095 | 0,458±<br>0,107 | 0,304±<br>0,179 | 0,22±<br>0,053 | 0,126±<br>0,035 | 0,214±<br>0,065  |
| ИзоСпΣ, мг/г      | 0,4±<br>0,125  | 0,1±<br>0,037   | 0,09±<br>0,023  | 0,18±<br>0,084 | 0,09±<br>0,039  | 0,143±<br>0,034  |
| ΣС2–С6, мг/г      | 4,27±<br>0,96  | 9,12±<br>1,56*  | 2,37±<br>0,5    | 4,2±<br>0,575* | 6,04±<br>0,94   | 6,9±<br>0,67     |
| Анаэробный индекс | -0,17±<br>0,04 | -0,29±<br>0,024 | -0,42±<br>0,07  | -0,26±<br>0,06 | -0,2±<br>0,046  | -0,29±<br>0,067  |

получали дети этой группы, про- и пребиотиков.

Уровень бутирата (С4) у детей КГ исходно соответствовал рекомендуемому нормативам (0,126±0,035 мг/г при норме 0,121 мг/г), но через 3 мес он возрос, хотя и недостоверно ( $p > 0,05$ ). У детей ОГ исходный уровень С4 был достоверно выше – 0,38±0,095 мг/г ( $p < 0,05$ ), продолжая незначительно повышаться (0,458±0,107 мг/г). Исходный уровень С4 в ГС не имел достоверных отличий от ОГ ( $p > 0,05$ ), но в дальнейшем не увеличился, а даже несколько снизился.

Абсолютное суммарное количество изокислот (изоСпΣ) у детей на грудном вскармливании (0,09±0,039 мг/г) было выше нормативных показателей (0,048 мг/г) и увеличилось за 3 мес, такая же тенденция отмечена в ГС, но у детей ОГ уровень изокислот снизился в 3 раза.

Анаэробный индекс увеличился у детей КГ и ОГ, в то же время в ГС он снизился, однако все различия не были достоверными ( $p > 0,05$ ).

Таким образом, динамика КЦЖК у детей ОГ имела направленность, сходную с КГ и отличающуюся в некоторых аспектах от ГС, но уровень всех КЦЖК был выше в ОГ, превышая нормативы детей первых месяцев жизни и приближаясь

к показателям детей более старшего возраста и взрослых.

Сопоставление уровня КЦЖК и микробиологических особенностей кишечного биоценоза, по данным посева кала, не выявили никакой корреляции ни в одной из групп.

**Уровень кальпротектина в кале.** Уровень кальпротектина в кале детей всех трех групп исходно почти не отличался: в ОГ он составил 197±32,8 мг/г, в ГС – 212,2±30,8 мг/г, в КГ – 191,4±46,2 мг/г ( $p > 0,05$ ). Через 3 мес кальпротектин снизился во всех группах, но в КГ он был самым низким – 124±62,3 мг/г, хотя у 4 детей КГ наблюдалось его повышение. Это были дети, у которых сохранялись редкие кишечные колики. В ОГ через 3 мес средний уровень кальпротектина составил 155,9±35,9 мг/г, в ГС – 183,6±41,2 мг/г (рис. 2), однако различия были недостоверны ( $p > 0,05$ ).

Обнаружена корреляция между высоким уровнем кальпротектина и повышением уровня КЦЖК и соотношения изоСп/Сп. Риск повышения кальпротектина при значительном повышении КЦЖК, особенно С2 (выше 9 мг/г), был достоверно повышен, Хи-квадрат=8,824

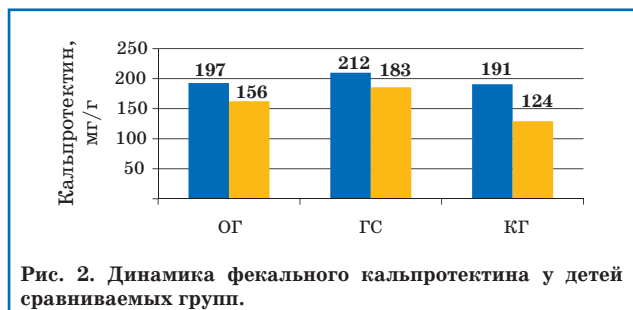


Рис. 2. Динамика фекального кальпротектина у детей сравниваемых групп.

( $p < 0,01$ ), с поправкой Йейтса – 6,455 ( $p < 0,05$ ). Точный критерий Фишера при этом составил 0,00828 ( $p < 0,05$ ). Установлена сильная связь между этими показателями – коэффициент Пирсона (С) составил 0,757.

Риск повышения кальпротектина обнаружен также при слишком низком уровне КЦЖК (менее 2,9 мг/г): Хи-квадрат=6,343 ( $p < 0,05$ ), с поправкой Йейтса – 4,237 ( $p < 0,05$ ). Точный критерий Фишера при этом составил 0,02301 ( $p < 0,05$ ). Установлена средняя связь между этими показателями – коэффициент Пирсона (С) составил 0,543.

Корреляции между уровнем кальпротектина и микробиологическими особенностями фекальной микробиоты, по данным посева кала, не выявлено.

### Обсуждение

Проведенное нами исследование, целью которого было изучение динамики функционального состояния КМБ и кишечного воспаления, обнаружило повышение уровня фекального кальпротектина, являющегося показателем воспаления в кишечнике, у всех детей первых месяцев жизни с последующим его снижением. Нами не установлено корреляции уровня кальпротектина с присутствием какого-либо вида бактерий в микробиологическом спектре, доступном при проведении стандартного бактериологического исследования кала. Это объясняется, вероятно, ограниченными возможностями культурального метода. Гораздо большее значение имеет функциональное состояние КМБ, о котором можно судить по уровню активных микробных метаболитов. Наше исследование продемонстрировало изменение спектра КЦЖК, которое происходит в первые месяцы жизни и существенно зависит от вида вскармливания и выбора смеси. Мы обнаружили одинаковые тенденции у детей на грудном вскармливании и в группе детей, получавших смесь с пре- и пробиотиками («Нестожен с пробиотиками»): увеличение нормальных КЦЖК с доминированием С2, но при этом значимое увеличение С3 и С4. На этом фоне наблюдались снижение изокилот и нарастание анаэробного индекса. То есть, благодаря присутствию в составе смеси комплекса олигосахаридов и пробиотика *L. reuteri*, наблюдалось быстрое формирование функционально активного микробиома, который по своему метаболическому спек-

тру приближается к нормальным показателям взрослого, что свидетельствует о более зрелой КМБ, увеличении строгих анаэробов и уменьшении протеолитической КМБ, свойственной детям первых месяцев жизни. Формирование зрелого биоценоза сопровождалось снижением уровня кальпротектина, что подтверждало противовоспалительный эффект складывающихся микробно-тканевых взаимодействий. При этом наблюдались уменьшение диспепсических симптомов и улучшение консистенции и частоты стула, который соответствовал показателю детей на грудном вскармливании. Включение в смесь пробиотика *L. reuteri* оказывает дополнительное воздействие в профилактике ФР ЖКТ, поскольку исследования этого штамма продемонстрировали его антимикробное антагонистическое, противовоспалительное действие и способность нормализовать моторную функцию ЖКТ [11, 12].

При низком уровне КЦЖК уровень кальпротектина оставался более высоким, этим объясняется более медленная динамика его снижения у детей ГС, получавших смесь без про- и пребиотиков. Но и слишком высокий уровень КЦЖК (в среднем 11 мг/г) сопровождался высоким уровнем кальпротектина. Это можно объяснить повреждающим воздействием высоких концентраций КЦЖК на СОК, что было показано ранее в экспериментах на животных [13]. Слишком высокий уровень пропионата может оказывать негативное воздействие и на ЦНС, функции митохондрий, антиоксидантную защиту [14]. Согласно нашим данным, повышение кальпротектина коррелировало и с относительно более высоким уровнем изокилот, что свидетельствует об активности протеолитической КМБ, обладающей мощным провоспалительным потенциалом. По нашему мнению, норматив содержания КЦЖК должен быть расширен, при этом отклонением от нормы можно считать как снижение ниже 2,9 мг/г, так и повышение выше 9 мг/г.

### Заключение

Таким образом, наше исследование подтвердило связь функционального состояния КМБ и развития кишечного воспаления как вероятной причины диспепсических симптомов. Нормальное формирование КМБ и ее функциональной активности в течение первого полугодия жизни сопровождается угасанием воспаления, что подтверждается снижением уровня фекального кальпротектина. В случаях нарушения этих процессов уровень кальпротектина сохраняется или даже нарастает, и это коррелирует не столько с микробиологическими изменениями, сколько с нарушением функционального состояния КМБ. Об этом можно судить по уровню активных микробных метаболитов: мы установили корреляцию воспаления с очень высоким или очень низким уровнем КЦЖК.

Вскармливание смесью с пробиотком *L. reuteri*, содержащей также пребиотический ком-

плекс олигосахаридов, способствует формированию более зрелого микробиоценоза, что сопровождается снижением воспаления и уменьшением диспепсических симптомов.

**Конфликт интересов:** исследование проведено при поддержке компании «Нестле».

## Литература

1. Vandenplas Y, Abkari A, Bellaiche M, Benninga M, Chouraqui JP, Cokura F, Harb T, Hegar B, Lifchitz C, Ludwig T, Migdady M, de Moraes MBO, Satakul S, Salvatore S, Shamir R, Staiano A, Szajewska H, Thapar N. Prevalence and health outcomes of functional gastrointestinal symptoms in infants from birth to 12 months of age. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2015; 61 (5): 531–537.
2. Корниенко Е.А., Кубалова С.С. Роль лактазной недостаточности и кишечной микрофлоры в развитии функциональных расстройств желудочно-кишечного тракта у детей первого полугодия жизни. *Вопросы современной педиатрии.* 2013; 12 (4): 159–165.
3. Hyman PE, Milla PJ, Benninga MA, Davidson GP, Feisher DF, Tamini A J. Childhood functional gastrointestinal disorders: neonate/toddler. *Am. J. Gastroenterol.* 2006; 130 (5): 1519–1526.
4. Adlerberth I. Establishment of the gut microbiota in Western infants. *Acta Paediatr.* 2009; 5: 220–230.
5. Roads JM, Fatheree NJ, Norori J, Liu Y, Lucke JF, Tyson JE, Ferris MJ. Altered fecal microflora and increased fecal calprotectin in infant colic. *J. Pediatr.* 2009; 155 (6): 823–828.
6. Yatsunen T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominques-Bello MG, Contreras M, Magris M, Hidalgo G, Baldassano RN, Anokhin AP, Heath AC, Warner B, Reeder J, Kuclynski J, Caporaso JG, Lozupone CA, Lauber C, Clemente JC, Knights D, Knight R, Gordon JI. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature.* 2012; 486 (7402): 222–227.
7. Ардатская М.Д. Синдром избыточного бактериального роста: Учебное пособие. М.: Фортепринт, 2011: 56.
8. Малкоц А.В., Бельмер С.В. Кишечная микрофлора и значение пробиотиков для ее функционирования. *Лечащий врач.* 2006; 4: 60–65.
9. Hamer HM, Jonkers D, Venema K, Vanhoutvin S, Troost FJ, Drummer KJ. Review article: the role of butyrate on colonic function. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2008; 27: 104–110.
10. Topping DL, Clifton PM. Short-chain fatty acids and human colonic function. Roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. *Physiol. Rev.* 2001; 81: 1051–1064.
11. Indrio F, Di Mauro A, Riezzo G, Civaridi E, Intini C, Corvaglia L, Biscaglia M, Cinquetti M, Brazzoduro E, Del Vecchio A, Tafuri S, Francavilla R. Prophylactic use of probiotics in the prevention of colic, regurgitation and functional constipation: a randomized clinical trial. *JAMA Pediatr.* 2014; 168: 228–233.
12. Ma D, Forsythe P, Bienenstock J. Live *Lactobacillus reuteri* is essential for the inhibitory effect on tumor necrosis factor alpha-induced interleukin-8 expression. *Inf. Immun.* 2004; 72 (9): 5308–5314.
13. Lin J, Peng L, Itzkowitz S, Holzman IR, Babyatsky MW. Short-chain fatty acid induces intestinal mucosal injury in newborn rats and downregulates intestinal trefoil factor gene expression in vivo and in vitro. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2005; 41 (5): 607–611.

© Юдина Т.М., Харитонова Л.А., 2016

Т.М. Юдина, Л.А. Харитонова

## ОСОБЕННОСТИ КЛИНИЧЕСКОГО ТЕЧЕНИЯ И МОРФОГЕНЕЗ ХОЛЕСТЕРОЗА ЖЕЛЧНОГО ПУЗЫРЯ У ДЕТЕЙ

ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова»  
МЗ РФ, Москва, РФ

Несмотря на полуторавековую историю изучения холестерина желчного пузыря (ХЖП), до сих пор имеется недостаточно сведений о его распространенности, клинических и лабораторных проявлениях, морфогенезе, а также частоте выявления в детском возрасте. Цель исследования – изучить особенности клинической картины и их взаимосвязь с морфологическими изменениями у детей с ХЖП. По согласованию с родителями в исследование были включены 54 ребенка с ХЖП в возрасте от 1 года до 18 лет. Помимо общеклинических методов исследования, определяли концентрацию липидов сыворотки крови, белковых фракций крови. Проведено 41 патоморфологическое исследование. ХЖП чаще встречается у мальчиков (63%, 1,7:1) и протекает с минимальной клинической симптоматикой. Выявлено увеличение концентрации общего холестерина у 43 (79,6%) детей за счет липопротеидов низкой плотности (55,6%), очень

### Контактная информация:

Юдина Татьяна Михайловна – к.м.н., асс. каф. педиатрии с инфекционными болезнями у детей ФДПО ФГБОУ ВО РНИМУ им.Н.И. Пирогова МЗ РФ

Адрес: Россия, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, 1

Тел.: (926) 429-16-61,

E-mail: tanya\_kosareva@mail.ru

Статья поступила 29.08.16,

принята к печати 1.11.16.

### Contact Information:

Yudina Tatyana Mikhailovna – Ph.D., assistant prof. of Pediatric and Infectious Diseases in Children Department, Pirogov Russian National Research Medical University

Address: Russia, 117997, Moscow, Ostrovityanova str., 1

Tel.: (926) 429-16-61,

E-mail: tanya\_kosareva@mail.ru

Received on Aug. 29, 2016,

submitted for publication on Nov. 1, 2016.