

Е.М. Булатова, А.М. Шабалов, Н.М. Богданова, А.И. Шилов, Н.С. Курицина

ПРОФИЛЬ МИКРОБНОГО МЕТАБОЛИЗМА КИШЕЧНИКА У ДЕТЕЙ ПЕРВОГО ПОЛУГОДИЯ ЖИЗНИ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБАХ РОДОРАЗРЕШЕНИЯ

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» МЗ РФ,
Санкт-Петербург, РФ

Нарушения качественного и количественного состава кишечной микробиоты (КМБ), а также спектра короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК) на первом году жизни, связанные со способом родоразрешения (кесарево сечение – КС), нерациональным применением антибактериальной терапии, имеют долговременные негативные иммунные и метаболические последствия, повышая риск развития в дальнейшем аллергических заболеваний, ожирения и сахарного диабета 1-го типа. Цель исследования: сопоставить параметры микробного метаболизма и видового состава бифидобактерий (ББ) с дисбиотическими нарушениями КМБ для уточнения их диагностической и прогностической значимости в процессе становления микробиоценоза у детей первого полугодия жизни. Материалы и методы исследования: у практически здоровых доношенных детей первого года жизни исследованы параметры микробного метаболизма и видовой состав ББ КМБ. Обследован 91 ребенок. Результаты: установлено, что у детей, рожденных при естественных родах, в отличие от детей, рожденных с помощью операции КС, среднее содержание уксусной кислоты в кале было достоверно более высоким ($p < 0,05$). Анаэробный индекс у детей, рожденных с помощью операции КС, был в большей мере отклонен в отрицательную сторону, чем у детей, рожденных естественным путем. Наиболее выраженные изменения спектра КЦЖК в кале, характеризующиеся повышением содержания уксусной, снижением пропионовой и масляной кислот, значительным повышением уровня изокилот, были характерны только для детей с дисбиозом кишечника III степени и не встречались ни у одного ребенка с дисбиозом кишечника I и II степени (0, 0 и 13,9%, $p < 0,05$). Младенческие штаммы ББ в кале были типированы лишь у 40% детей с наиболее выраженными изменениями спектра КЦЖК в отличие от детей с менее выраженными изменениями спектра КЦЖК в кале, при которых младенческие штаммы определялись у всех детей ($p < 0,05$). Заключение: выявлены особенности спектра КЦЖК в кале и более выраженные дисбиотические изменения в кишечнике у детей первого полугодия жизни, рожденных с помощью операции КС. Показатели спектра КЦЖК, а также типирование или отсутствие младенческих штаммов ББ могут быть использованы с диагностической целью в практической педиатрии для оценки глубины дисбиотических изменений.

Ключевые слова: дети, кесарево сечение, кишечная микробиота, короткоцепочечные жирные кислоты, бифидобактерии.

Цит.: Е.М. Булатова, А.М. Шабалов, Н.М. Богданова, А.И. Шилов, Н.С. Курицина. Профиль микробного метаболизма кишечника у детей первого полугодия жизни при различных способах родоразрешения. Педиатрия. 2018; 97 (1): 38–45.

Контактная информация:

Булатова Елена Марковна – д.м.н., проф., зав. каф. пропедевтики детских болезней с курсом общего ухода за детьми ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» МЗ РФ, главный внештатный педиатр МЗ РФ в Северо-Западном федеральном округе, главный специалист по питанию детей Комитета по здравоохранению Правительства Санкт-Петербурга и СЗФО
Адрес: Россия, 194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2
Тел.: (812) 295-06-46,
E-mail: bulatova2008@gmail.com
Статья поступила 20.11.17,
принята к печати 10.01.18.

Contact Information:

Bulatova Elena Markovna – MD., prof., head of Propaedeutics of Pediatric Diseases Department with the course of general care for children, St. Petersburg State Pediatric Medical University; chief freelance pediatrician of the Ministry of Health of the Russian Federation in the Northwestern Federal District, chief pediatric nutritionist of the Health Committee of the St. Petersburg and the North-West Federal District Government
Address: Russia, 194100, St. Petersburg, Litovskaya str., 2
Tel.: (812) 295-06-46,
E-mail: bulatova2008@gmail.com
Received on Nov. 20, 2017,
submitted for publication on Jan. 10, 2018.

THE INTESTINE MICROBIAL METABOLISM PROFILE IN CHILDREN OF THE FIRST SIX MONTHS OF LIFE DELIVERED BY DIFFERENT METHODS

St. Petersburg State Pediatric Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation

Disorders of qualitative and quantitative composition of intestinal microbiota (IMB), as well as short-chain fatty acid (SCFA) spectrum in the first year of life, associated with delivery method (caesarean section – CS), irrational use of antibacterial therapy, have long-term negative immune and metabolic consequences, increasing the risk of allergic diseases, obesity and type 1 diabetes mellitus development in future. Objective of the research – to compare parameters of microbial metabolism and bifidobacteria (BB) species composition with dysbiotic IMB disorders to clarify their diagnostic and prognostic value in the process microbiocenosis formation process in children of the first six months of life. Study materials and methods: parameters of microbial metabolism and species composition of IMB BB were studied in practically healthy term infants of the first six months of life. 91 children were examined. Results: it was found that in children born naturally, unlike children born with CS, the average content of acetic acid in stool was significantly higher ($p < 0,05$). The anaerobic index in children born by CS was more negative than in children born naturally. The most pronounced changes in SCFA spectrum in feces, characterized by an increase in acetic acid content a decrease in propionic and butyric acids, a significant increase in isoacids level, were typical only for children with III degree intestinal dysbiosis, and did not occur in any child with I and II degrees intestinal dysbiosis (0 and 13,9%, $p < 0,05$). Infant BB strains in feces were typed in only 40% of children with the most pronounced SCFA spectrum changes, in contrast to children with less pronounced SCFA spectrum changes in feces, in which infant strains were determined in all children ($p < 0,05$). Conclusion: the study revealed specific features of SCFA spectrum in feces and more pronounced dysbiotic changes in the intestine in children of the first six months of life born by CS. SCFA spectrum indicators and typing or absence of infant BB strains, can be used for diagnostic purposes in practical pediatrics to assess the dysbiotic changes scale.

Keywords: children, cesarean section, intestinal microbiota, short-chain fatty acids, bifidobacteria.

Quote: E.M. Bulatova, A.M. Shabalov, N.M. Bogdanova, A.I. Shilov, N.S. Kuritsyna. The intestine microbial metabolism profile in children of the first six months of life delivered by different methods. *Pediatrics*. 2018; 97 (1): 38–45.

В настоящее время доказано, что здоровая кишечная микробиота (КМБ) способствует поддержанию целостности кишечного барьера, увеличению пролиферации клеток кишечного эпителия, развитию лимфоидной ткани кишечника, а также снижению продукции провоспалительных цитокинов [1, 2].

Изменения КМБ на первом году жизни, связанные со способом родоразрешения (кесарево сечение – КС), применением антибактериальной терапии имеют долговременные негативные иммунные и метаболические последствия, повышая риск развития в дальнейшем аллергических заболеваний, ожирения и сахарного диабета 1-го типа [3, 4].

Здоровая КМБ детей первого полугодия жизни, находящихся на грудном вскармливании (ГВ), характеризуется преобладанием грамположительной популяции бактерий и значительным количеством детских штаммов бифидобактерий (ББ) (*B. bifidum*, *B. infantis*, *B. breve*), составляющих от 60 до 90% всей микробиоты в данном биотопе. Лактобактерии (ЛБ) могут играть важную роль в обеспечении среды,

подходящей для доминирования ББ. В детстве среда желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), для которой характерно доминирование ББ, может инициировать более сильные противовоспалительные стимулы, чем бактерии, обитающие в кишечнике взрослых [5, 6].

Один из возможных механизмов противовоспалительного действия КМБ связан с образованием в результате ферментации олигосахаридов анаэробными бактериями, в т.ч. ББ и ЛБ, короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК). Наибольшее значение из них имеют: уксусная (С2), пропионовая (С3), масляная (С4), валериановая (С5), капроновая (С6).

Соотношение концентраций основных КЦЖК фракции С2:С3:С4 в просвете толстой кишки взрослого человека составляет примерно 57:21:22 (%). Остальные КЦЖК присутствуют в незначительных количествах. Ацетат является преобладающим во всех возрастных группах. Даже у младенцев первых месяцев жизни, находящихся на ГВ, основную часть микробных метаболитов наряду с лактатом составляет ацетат. Концентрация бутирата и пропионата

незначительны. При искусственном вскармливании (ИВ) доля лактата и ацетата уменьшается, а бутирата и пропионата увеличивается, что объясняется изменением состава КМБ [7].

Показано, что бутират, необходимый колоницитам для энергетического метаболизма, также может участвовать в реактивации эпигенетически «молчащих генов» за счет ацетилирования гистона, экспрессии ряда белков, влияющих на липидный обмен, содействуя развитию ожирения и воспалительного процесса. Обсуждается противоопухолевое действие бутирата [8–10].

На данный момент продолжается изучение основных функций КЦЖК, таких как:

- регуляция моторной и секреторной функций кишечника;
- обеспечение колоноцитов энергией;
- антимикробный эффект за счет блокировки адгезии патогенов к эпителию;
- изменение соотношения между патогенными и непатогенными бактериями;
- противовоспалительный эффект (профилактика развития воспалительных заболеваний кишечника);
- улучшение микроциркуляции слизистой оболочки кишечника;
- влияние на дифференцировку и пролиферацию эпителия кишечника;
- стимуляция образования слизи в кишечнике;
- влияние на pH и ионный обмен в кишечнике (всасывание натрия, калия, кальция и магния);
- влияние на глюконеогенез в печени, уменьшение образования кетонов;
- влияние на противоопухолевый иммунитет, в частности, профилактика развития колоректального рака;
- профилактика развития сахарного диабета и метаболического синдрома [11, 12].

Изменение параметров КЦЖК отражает характер и выраженность изменения качественного состава микробиоты у детей и может быть использовано для скрининговой оценки ее состояния [13, 14].

Несмотря на то, что каловая микрофлора лишь частично представляет КМБ, каловый материал может быть использован для оценки ее функциональных особенностей. Изучение метаболомики в образцах фекалий может являться удобным, неинвазивным и перспективным методом [15].

На современном этапе продолжается поиск новых высокочувствительных и специфичных неинвазивных инструментальных, лабораторных и биохимических методов изучения КМБ у детей и взрослых. К числу таких методов могут быть отнесены газожидкостная, ионная хроматография, газо-хромато-масспектрометрия, основанные на изучении низкомолекулярных метаболитов, в т.ч. и КЦЖК фракции С2–С6 [16].

Цель настоящего исследования: сопоставить параметры микробного метаболизма и видового

состава ББ с дисбиотическими нарушениями КМБ для уточнения их диагностической и прогностической значимости в процессе становления микробиоценоза у детей первого полугодия жизни.

Материалы и методы исследования

Обследован 91 ребенок в возрасте 4–6 месяцев до введения прикорма, из них 57 детей на ГВ и 34 ребенка на ИВ на базе СПб ГУЗ «Городская поликлиника № 35» Московского района Санкт-Петербурга. Все дети родились доношенными и на момент включения в исследование не имели тяжелой соматической и неврологической патологии. Клинические проявления функциональных нарушений пищеварения умеренной степени выраженности (срыгивания, колики, запоры, младенческая дисхезия) отмечены у 75 (82,4%) детей. Аллергодерматит был диагностирован у 16 (17,6%) детей. В соответствии со степенью выраженности дисбиотических изменений в кишечнике все дети были разделены на 3 группы: I степень – 24, II степень – 31, III степень – 36 детей соответственно (Н.И. Урсова и соавт., 2000; Т.Э. Боровик, С.Г. Макарова, 2003).

Дети были включены в исследование после подписания родителями информированного согласия на участие в исследовании, одобренном решением этического совета при СПб ГУЗ «Городская поликлиника № 35» Московского района Санкт-Петербурга от 10 января 2014 г. № 4.

Всем детям проведено общеклиническое обследование, бактериологическое исследование кала, типирование ББ методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с определением младенческих (*B. bifidum*, *B. infantis*, *B. breve*) и взрослых (*B. adolescentis*, *B. longum*) штаммов.

Всем детям также выполнено исследование содержания КЦЖК фракции С2–С6 методом газожидкостного хроматографического анализа (ГЖХ-анализ) в кале с определением абсолютного и относительного содержания уксусной (С2), пропионовой (С3), масляной (С4), валериановой (С5), капроновой (С6) кислот, а также суммы изоокислот (EiCn) и анаэробного индекса (АИ), отражающего окислительно-восстановительный потенциал внутрипросветной среды кишечника (Патент на изобретение РФ № 2145511 «Способ разделения смеси жирных кислот фракции С2–С6 методом газожидкостной хроматографии» от 9.04.1999/АВТ. Н.С. Иконников, М.Д. Ардатская, О.Н. Минушкин и др.). Чувствительность – 85,1%, специфичность – 84% [16].

Относительное содержание КЦЖК рассчитывали как доля (в %) уксусной (С2), пропионовой (С3), масляной (С4) кислот по формуле: $pCn = Cn / C2 + C3 + C4$.

Анаэробный индекс (АИ) рассчитывали по формуле: $AI = C3 + C4 / C2$, с использованием в формуле относительных показателей содержания отдельных КЦЖК фракции С2–С4.

Для сравнения полученных нами данных с нормативами были использованы показатели микробного метаболизма, представленные рядом авторов у детей аналогичного возраста [14].

Нормативные показатели абсолютного и относительного содержания КЦЖК фракции С2–С4, суммарного содержания отдельных изокилот и АИ в кале у детей первого полугодия жизни на ГВ и ИВ [14]

Характер вскармливания	Уксусная кислота	Пропионовая кислота	Масляная кислота	АИ (отриц.)	EiCn
Абсолютные показатели, мг/г					
ГВ (норма)	3,233±0,89	0,264±0,05	0,121±0,035	–	0,013
ИВ (норма)	3,02±0,086	0,564±0,060	0,228±0,039	–	0,018
Относительные показатели					
ГВ (норма)	0,894±0,005	0,073±0,004	0,033±0,003	0,119±0,011	0,013±0,003
ИВ (норма)	0,792±0,05	0,148±0,007	0,060±0,006	0,262±0,014	0,019±0,004

Таблица 2

Биохимическая и микробиологическая характеристика различных типов изменения качественного и количественного состава КЦЖК в кале [11]

Тип	Биохимические изменения спектра КЦЖК	Микробиологические сдвиги
I тип	Снижение содержания уксусной и повышение пропионовой кислоты при нормальном уровне масляной кислоты, отклонение АИ менее –0,6	Повышение активности анаэробных бактерий рода <i>Bacteroides</i> , <i>Propionibacterium</i>
II тип	Снижение содержания уксусной и повышение масляной кислоты, при нормальном содержании пропионовой, отклонение АИ менее –0,6	Повышение активности бактерий рода <i>Clostridium</i> , <i>Fusobacterium</i> , <i>Eubacterium</i> , <i>Coprococcus</i>
III тип	Снижение содержания уксусной и повышение пропионовой и масляной кислоты, отклонение АИ менее –0,6	Повышение активности смешанной анаэробной флоры
IV тип	Снижение содержания уксусной и повышение содержания пропионовой и масляной кислоты, незначительное повышение уровня изокилот, отражающее наличие протеолитической и гемолитической активности микробиоты, отклонение АИ менее –0,6	Повышение активности анаэробной флоры, обладающей протеолитической и гемолитической активностью
V тип	Повышение содержания уксусной, пропионовой и масляной кислот, незначительное повышение уровня изокилот, отклонение АИ более –0,552	Повышение активности смешанной аэробной флоры с появлением условно-патогенной (<i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> , энтеро-, стрепто- и стафилококки, <i>E. coli</i> , <i>Proteus</i>)
VI тип	Повышение содержания уксусной, снижение пропионовой и масляной кислот, значительное повышение уровня изокилот, отражающие наличие протеолитической и гемолитической активности микробиоты, отклонение АИ более –0,552	Аэробные популяции, обладающие протеолитической и гемолитической активностью (<i>E. coli</i> , стрепто- и стафилококки)

В табл. 1 представлены нормативы абсолютного и относительного содержания КЦЖК, АИ, суммы изокилот в кале у детей первого полугодия жизни.

Рядом авторов в терапевтической практике предложено выделение 6 типов изменения качественного и количественного состава КЦЖК в кале [11]. В табл. 2 представлена биохимическая и микробиологическая характеристика различных типов изменения качественного и количественного состава КЦЖК в кале.

Представленные в таблице критерии изменения спектра КЦЖК должны использоваться в совокупности.

В нашем исследовании дети были распределены по группам с учетом указанных выше типов изменения состава КЦЖК в кале. Тип изменения состава КЦЖК у детей был также определен с учетом нормативов содержания отдельных КЦЖК в кале при различном характере вскармливания.

Анализ собственных данных позволил определить соотношение типов изменений качественного и количественного состава КЦЖК в кале у обследованных детей (рис. 1).

В целом, в структуре качественного и количественного состава КЦЖК в кале у 53 (58,3%) обследованных детей обнаружен I вариант изменения внутрипросветной среды в кишечнике, объединяющий I–IV типы изменения состава КЦЖК («анаэробная среда») и характеризующийся повышением активности анаэробных бактерий с протеолитическими и гемолитическими свойствами, а у 38 (41,7%) обследованных детей II вариант изменения внутрипросветной среды в кишечнике, объединяющий V–VI типы изменения состава КЦЖК («аэробная среда») и характеризующийся более выраженными отклонениями, связанными с повышением активности смешанной аэробной

Клинико-anamnestическая характеристика обследованных детей с разной степенью нарушения микробиоценоза кишечника (n=91)

Особенности соматического статуса (%)	Степень нарушения микробиоценоза		
	I степень (n=24)	II степень (n=31)	III степень (n=36)
Грудное вскармливание	24 (100%)	16 (51,6%)	18 (50%)
Искусственное вскармливание	0 (0%)	15 (48,4%)	18 (50%)
Оценка по шкале APGAR на 1 мин ≤7 баллов	0 (0%)	1 (3,2%)	6 (16,7%)*
Оценка по шкале APGAR на 5 мин ≤7 баллов	0 (0%)	1 (3,2%)	3 (8,3%)
Кесарево сечение	2 (8,3%)	7 (22,6%)	13 (36,1%)*
Срыгивания в анамнезе	17 (70,8%)	23 (74,2%)	24 (66,7%)
Упорные срыгивания	0 (0%)	1 (3,2%)	4 (11,1%)
Колики в анамнезе	9 (37,5%)	12 (38,7%)	15 (41,7%)
Колики более 3 ч в день	2 (8,3%)	0 (0%)	0 (0%)
Колики ≥3 мес	2 (8,3%)	6 (19,4%)	10 (27,8%)
Запоры в анамнезе	2 (8,3%)	7 (22,6%)	8 (22,2%)
Запоры ≥2 мес	1 (4,2%)	2 (6,5%)	4 (11,1%)
Аллергодерматит в анамнезе	3 (12,5%)	6 (19,4%)	7 (19,4%)
ОРВИ в анамнезе	4 (16,7%)	11 (35,5%)	15 (41,7%)*

* $p_{1,3} < 0,05$.

Таблица 4

Содержание КЦЖК фракции С2–С6 в кале у детей первого полугодия жизни на ГВ с различным способом родоразрешения (n=57)

КЦЖК	Роды естественным путем (n=45)	Кесарево сечение (n=12)
Уксусная кислота (С2)	1,59±0,75	1,04±0,56*
Пропионовая кислота (С3)	0,16±0,14	0,08±0,08
Масляная кислота (С4)	0,06±0,07	0,11±0,16
Валериановая кислота (С5)	0,01±0,02	0,01±0,01
Капроновая кислота (С6)	0,01±0,01	0,01±0,01
Анаэробный индекс (АИ)	-0,16±0,13	-0,23±0,14

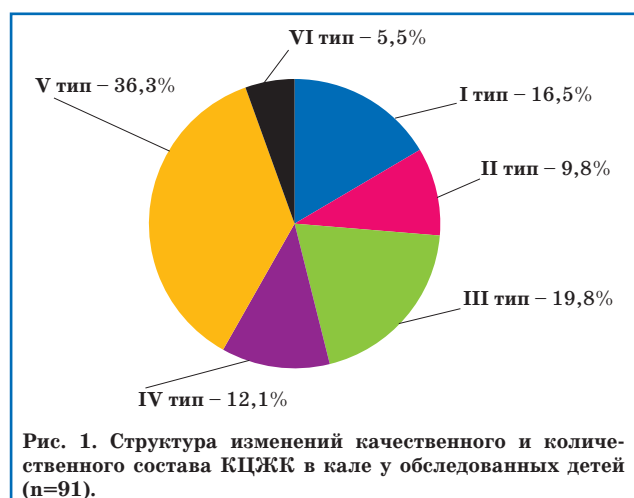
* $p_{1,2} < 0,05$.

Рис. 1. Структура изменений качественного и количественного состава КЦЖК в кале у обследованных детей (n=91).

флоры с протеолитическими и гемолитическими свойствами.

Статистическая обработка полученных результатов проведена с использованием ПО «Statistica 7 for Windows». Производили расчет средних значений признака (M), стандартных ошибок среднего значения признака ($\pm m$). Для качественной оценки частоты признака в исследуемых группах рассчитывали Хи-квадрат. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты

Характеристика включенных в исследование детей первого полугодия жизни с разной степенью нарушения КМБ представлена в табл. 3.

Как видно из табл. 3, дети с более выраженными дисбиотическими изменениями в кишечнике реже находились на ГВ и были достоверно чаще рождены с помощью операции КС ($p < 0,05$) и более низкой оценкой по шкале APGAR на 1 мин ($p < 0,05$), а также имели более высокую частоту респираторных вирусных инфекций в анамнезе ($p < 0,05$).

Содержание КЦЖК фракции С2–С6 в кале у детей первого полугодия жизни на ГВ с различным способом родоразрешения представлены в табл. 4.

Установлено, что у детей, рожденных естественным путем, в отличие от детей, извлеченных с помощью операции КС, относительное среднее содержание уксусной кислоты в кале было достоверно выше ($p < 0,05$). Достоверных различий по особенностям содержания КЦЖК фракции С3–С6 у детей в зависимости от способа родоразрешения получено не было. АИ у детей, рожденных с помощью операции КС, был в большей мере отклонен в отрицательную сто-

рону, чем у детей, рожденных естественным путем. Данные изменения могут свидетельствовать о снижении активности и численности облигатных анаэробных бактерий кишечника (ББ и ЛБ), а также о повышении активности условно-патогенной флоры с протеолитическими и гемолитическими свойствами.

Оценка многообразия детских штаммов ББ в кале методом ПЦР у детей на ГВ в возрасте 4–6 месяцев показала, что лишь у 12,5% детей, рожденных при естественных родах, младенческие штаммы *B. bifidum*, *B. infantis*, *B. breve* отсутствовали, в то время как у детей, рожденных с помощью операции КС, они отсутствовали в 25% случаев ($p < 0,05$). Это свидетельствует о большем многообразии младенческих штаммов ББ у детей, рожденных естественным путем.

Типы изменения качественного и количественного состава КЦЖК в кале у детей первого полугодия жизни с различной степенью тяжести нарушения микробиоценоза кишечника представлены на рис. 2.

Как видно из рис. 2, для детей с дисбиозом кишечника I степени более характерны III (25%), IV (12,5%) и V (41,7%) типы изменения состава КЦЖК; для детей с дисбиозом II степени – I (25,8%) и V (41,9%) типы изменения, в то время как для детей с дисбиозом III степени более характерны III (25%), V (27,8%) и VI (13,9%) типы изменения состава КЦЖК в кале.

Причем VI тип изменения состава КЦЖК в кале, характеризующийся наиболее выраженными и серьезными сдвигами в составе КМБ, был характерен только для детей с дисбиозом кишечника III степени и не встречался ни у одного ребенка с дисбиозом кишечника I и II степени (0, 0 и 13,9%, $p < 0,05$).

Анализ изучения содержания ББ в кале бактериологическим методом показал, что их

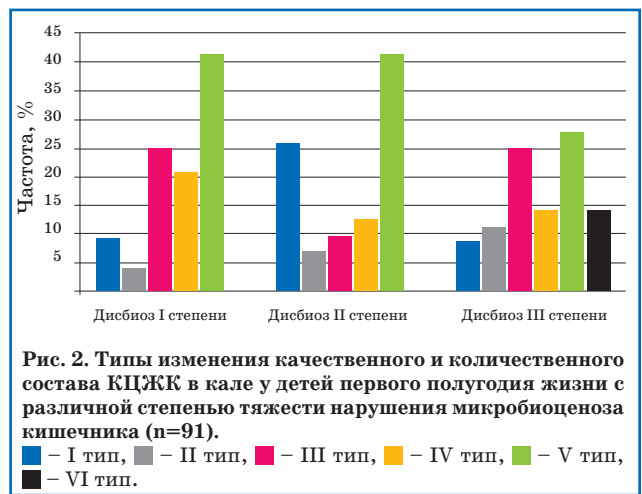


Рис. 2. Типы изменения качественного и количественного состава КЦЖК в кале у детей первого полугодия жизни с различной степенью тяжести нарушения микробиоценоза кишечника (n=91).
■ – I тип, ■ – II тип, ■ – III тип, ■ – IV тип, ■ – V тип, ■ – VI тип.

низкие титры ($< 10^8$ КОЕ/г) одинаково часто наблюдались у детей, как в анаэробной среде (I вариант), так и в аэробной среде (II вариант) кишечника (26,4 и 26,4% соответственно). Анализ содержания ЛБ в кале также показал, что их низкие титры ($< 10^7$ КОЕ/г) наблюдались у 30,1% детей с I вариантом и у 26,4% детей со II вариантом изменения внутрипросветной среды в кишечнике без достоверных различий ($p > 0,05$).

Особенности видового состава ББ у детей первого полугодия жизни с различным составом КЦЖК в кале представлены в табл. 5.

Как видно из табл. 5, младенческий штамм *B. bifidum* типировался при V типе и отсутствовал при VI типе изменения состава КЦЖК в кале (84,8 и 0%, $p < 0,001$). Частота типирования штамма *B. bifidum* была также достоверно выше при IV типе, чем при VI типе изменения состава КЦЖК в кале (72,7 и 0%, $p < 0,05$).

Анализ частоты типирования младенческого штамма *B. bifidum* при различных вариантах внутри просветной среды в кишечнике показал достоверно более высокое его определение

Таблица 5

Особенности видового состава ББ у детей первого полугодия жизни (n=91) с различными типами изменения качественного и количественного состава КЦЖК в кале

Видовой состав микрофлоры	Тип изменения состава КЦЖК					
	I тип (n=15)	II тип (n=9)	III тип (n=18)	IV тип (n=11)	V тип (n=33)	VI тип (n=5)
<i>B. bifidum</i>	5 (33,3%)	3 (33,3%)	6 (33,3%)	8 (72,7%)	28 (84,8%)**	0 (0%)*
<i>B. breve</i>	10 (66,7%)	5 (55,6%)	15 (83,3%)	6 (54,5%)	23 (69,7%)	2 (40%)
<i>B. infantis</i>	0 (0%)	1 (11,1%)	2 (11,1%)	1 (9,1%)	7 (21,2%)*	0 (0%)
<i>B. longum</i>	1 (6,7%)	0 (0%)	1 (5,5%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
<i>B. adolescentis</i>	2 (13,3%)	0 (0%)	2 (11,1%)	3 (27,3%)	4 (12,1%)	0 (0%)
	I вариант изменения состава КЦЖК в кишечнике («анаэробная среда»)			II вариант изменения состава КЦЖК в кишечнике («аэробная среда»)		
<i>B. bifidum</i>	22/53 (41,5%)			28/38 (73,7%)▲		
<i>B. breve</i>	36 (67,9%)			24 (63,2%)		
<i>B. infantis</i>	4 (7,5%)			7 (18,4%)		
<i>B. longum</i>	2 (3,7%)			0 (0%)		
<i>B. adolescentis</i>	7 (13,2%)			4 (10,5%)		

*p V и VI тип $< 0,001$; **p IV и VI тип $< 0,05$; ***p I и V тип $< 0,05$; ▲p I и II вариант $< 0,05$.

у детей при II варианте («аэробная среда»), чем при I варианте («анаэробная среда») соответственно 73,7 и 41,5% ($p < 0,05$), т.е. при более глубоких дисбиотических изменениях.

Младенческий штамм *B. breve* типировался у 67,9 и 63,2% ($p > 0,05$) детей в анаэробной и аэробной среде в кишечнике соответственно, при этом данный штамм определялся как при V типе, так и при VI типе изменения состава КЦЖК в кале (69,7 и 40%, $p > 0,05$).

Младенческий штамм *B. infantis* типировался у 7,5 и 18,4% ($p > 0,05$) детей в анаэробной и аэробной среде в кишечнике соответственно, при этом данный штамм определялся достоверно чаще при V типе, чем при I типе изменения состава КЦЖК в кале (21,2 и 0%, $p < 0,05$), т.е. при более глубоких дисбиотических изменениях. Однако при VI типе изменения состава КЦЖК в кале данный штамм отсутствовал.

Младенческие штаммы ББ в кале были типированы лишь у 40% детей с VI типом в отличие от детей с I, II, III, IV и V типами изменения состава КЦЖК в кале, при которых младенческие штаммы определялись у всех детей ($p < 0,05$).

При типировании взрослых штаммов ББ (*B. adolescentis* и *B. longum*) в анаэробной и аэробной средах в кишечнике не обнаружено достоверных различий в зависимости от типа изменения состава КЦЖК в кале. *B. adolescentis* типировался примерно с одинаковой частотой в анаэробной и аэробной среде в кишечнике (у 13,2 и 10,5% детей соответственно, $p > 0,05$), а *B. longum* типировался значительно реже – лишь у 3,7 и 0% ($p > 0,05$) детей в анаэробной и аэробной среде в кишечнике соответственно.

Один из двух взрослых штаммов ББ определялся у 16,9 и 10,5% детей при I и II типе изменения внутрипросветной среды в кишечнике соответственно.

Обсуждение

В современной литературе показана важная опосредованная роль продуктов микробного метаболизма кишечника, в т.ч. КЦЖК фракции С2–С6, в регуляции различных функций организма. Прежде всего это относится к стимуляции работы энтеральной нервной системы ЖКТ и влиянию нутриентов на эпигеном человека, осуществляемых через ряд выделенных в последнее время рецепторов, к числу которых относятся: GPR41 – участвует в регуляции липидного профиля, синтезе лептина, оказывает влияние на пищевое поведение, активацию симпатической нервной системы; GPR43 – оказывает противовоспалительный эффект, участвует в регуляции секреции глюкагон-подобного пептида (GLP-1) и регуляторного пептида (PYY) [17–19].

В ряде педиатрических исследований была показана возможность скринингового определения КЦЖК в кале для определения глубины структурных и функциональных нарушений кишечного микробиоценоза, оценки состояния

моторной функции кишечника при функциональных нарушениях пищеварения в раннем возрасте [20–22].

В представленной нами работе проведено сопоставление параметров микробного метаболизма и видового состава ББ с дисбиотическими нарушениями КМБ (диагностированными традиционным бактериологическим методом) для уточнения их диагностической и прогностической значимости в процессе становления микробиоценоза у детей первого полугодия жизни.

Отмечено, что для детей с дисбиозом кишечника различной степени тяжести был более характерен V тип изменения состава КЦЖК (повышение активности смешанной аэробной флоры с появлением условно-патогенной микрофлоры). Только у детей с дисбиозом кишечника III степени выявлены наиболее выраженные изменения спектра КЦЖК в кале (VI тип – преобладание аэробных популяций с протеолитическими и гемолитическими свойствами).

В литературе описана прямая связь уровня ББ в кишечнике с продукцией секреторного IgA, лизоцима в фекалиях и снижением уровня провоспалительного цитокина IL6 [23, 24]. Выявленные нами особенности видового состава ББ, характеризующиеся увеличением частоты определения младенческих видов (*B. bifidum*, *B. infantis*) при V типе изменения спектра КЦЖК в кале могут быть связаны с их защитными свойствами для кишечника и своеобразной компенсаторной реакцией, в то время как уменьшение частоты их определения при VI типе, возможно, связано с более глубокими дисбиотическими изменениями и процессами декомпенсации. Полученные данные могут помочь в оценке динамики становления кишечного микробиоценоза у детей первых месяцев жизни. Изучение параметров становления КМБ на разных видах вскармливания открывает новые практические перспективы. Данные перспективы заключаются в возможности внесения определенных младенческих штаммов ББ и их метаболитов в состав новых продуктов для детского питания, фармакологических препаратов с целью коррекции спектра КЦЖК, которые могут оказать положительное влияние на состав КМБ у грудных детей, особенно рожденных путем операции КС и находящихся на ИВ, что важно для практической педиатрии.

Заключение

1. У детей первого полугодия жизни выявлена связь спектра КЦЖК в кале с выраженностью дисбиотических изменений в кишечнике и способом родоразрешения. Дети, рожденные с помощью операции КС, имели более выраженные дисбиотические изменения в кишечнике, более низкое содержание уксусной кислоты в кале, а также более значимое отклонение АИ в отрицательную сторону. Данные параметры свидетельствуют о снижении активности и численности

облигатных анаэробных бактерий кишечника (ББ и ЛБ), повышении активности условно-патогенной флоры, что может быть использовано с диагностической целью в практическом здравоохранении.

2. Оценка видового состава ББ методом ПЦР в кале, наличие или отсутствие младенческих штаммов при различных типах качественного и количественного изменения состава КЦЖК в кале и дисбиотических нарушениях могут быть использованы для оценки степени выраженности функциональных и структурных изменений в кишечнике.

3. Снижение многообразия младенческих видов ББ у детей в кале, рожденных с помощью

операции КС, свидетельствует о неблагоприятном варианте становления микробиоценоза кишечника.

Динамическое исследование многообразия младенческих штаммов ББ, спектра и типов изменения состава КЦЖК в кале у детей может стать диагностическим и прогностическим критерием эффективности диетической и медикаментозной терапии при различных заболеваниях органов пищеварения у детей, однако это требует дальнейших углубленных исследований.

Конфликт интересов: авторы статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки исследования, о которой необходимо сообщить.

Литература

1. Беляева И.А., Намазова-Баранова Л.С., Потехина Т.В. Младенческие колики – новый взгляд на старую проблему. Педиатрия. 2015; 94 (1): 137–144.
2. Нетребенко О.К. Кишечная микробиота и мозг: обоюдное влияние и взаимодействие. Педиатрия. 2015; 94 (6): 134–140.
3. Kau AL, Ahem PP, Griffin NW, Goodman AL, Gordon JL. Humannutrition, the gut microbiome and the immune system. Nature. 2011; 474: 327–336.
4. Рыбина Е.В., Кенбаева К.Г., Савичева А.М. Особенности микрофлоры желудочно-кишечного тракта доношенных новорожденных при разных способах родоразрешения. Научно-практический журнал «Педиатр». 2014; 5 (3): 30–33.
5. Булатова Е.М., Нетребенко О.К., Богданова Н.М., Волкова И.С., Нечеса М.В., Шабалов А.М., Шилов А.И., Дубровская М.И. Влияние применения пробиотических продуктов в период беременности и кормления грудью на становление кишечной микробиоты. Педиатрия. 2015; 94 (3): 121–128.
6. Богданова Н.М., Булатова Е.М., Васиа М.Н. Современный взгляд на микробиоценоз, иммунный ответ и факторы, влияющие на их формирование. Фундаментальные и прикладные аспекты. Вопросы современной педиатрии. 2013; 12 (4): 18–25
7. Ардатская М.Д. Клиническое значение короткоцепочечных жирных кислот при патологии желудочно-кишечного тракта: Автореф. дисс. ...докт. мед. наук. М., 2003: 45.
8. Boets E, Gomand S, Deroover L, Preston T, Vermeulen K, De Preter V, Hamer H, Van den Mooter G, De Vuyst L, Courtin C, Annaert P, Delcour J, Verbeke K. Systemic availability and metabolism of colonic-derived short-chain fatty acids in healthy subjects - a stable isotope study. J. Physiol. 2017; 595 (2): 541–555.
9. Giromini C, Baldi A, Fusi E, Rebutti R, Purup S. Effect of growth factors, estradiol 17- β , and short chain fatty acids on the intestinal HT29-MTX cells: Growth factors and SCFAs effects on intestinal E12 cells. Cell Biol. Toxicol. 2015; 31 (4–5): 199–209.
10. Stilling R, van de Wouw M, Clarke G, Stanton C, Dinan T, Cryan J. The neuropharmacology of butyrate: The bread and butter of the microbiota-gut-brain axis? Neurochem. Int. 2016; 99: 110–132.
11. Минушкин О.Н., Ардатская М.Д. Диагностика состояния микрофлоры кишечника и дифференцированная коррекция ее нарушений: Методическое пособие для врачей, руководителей органов управления здравоохранением и лечебно-профилактических учреждений. М.: Управление делами Президента РФ, Учебно-научный центр медицинского центра, кафедра гастроэнтерологии, 2005: 22.
12. Yamaguchi YI, Adachi K, Sugiyama T, Shimozato A, Ebi M, Ogasawara N, Funaki Y, Goto C, Sasaki M, Kasugai K. Association of Intestinal Microbiota with Metabolic Markers and Dietary Habits in Patients with Type 2 Diabetes. Digestion. 2016; 94 (2): 66–72.
13. Захарова И.Н., Яцык Г.В., Боровик Т.Э., Скворцова В.А., Сугян Н.Г., Касаткина Е.Н., Дмитриева Ю.А. Младенческие кишечные колики: лечить или не лечить? Учебное пособие для врачей. М.: РМАПО, 2013: 62.
14. Захарова И.Н., Ардатская М.Д., Сугян Н.Г. Влияние мультиштаммового пробиотика на метаболическую активность кишечной микрофлоры у детей грудного возраста с функциональными нарушениями желудочно-кишечного тракта: результаты плацебоконтролируемого исследования. Вопросы современной педиатрии. 2016; 15 (1): 68–73.
15. Marchesi JR, Holmes E, Khan F, Kochhar S, Scanlan P, Shanahan F, Wilson ID, Wang Y. Rapid and Noninvasive Metabolomic Characterization of Inflammatory Bowel Disease. J. Proteome Res. 2007; 6: 546–551.
16. Ардатская М.Д., Иконников Н.С., Минушкин О.Н. Способ разделения смеси жирных кислот фракции С2–С6 методом газожидкостной хроматографии. Патент РФ № 2220755 от 10.01.2004.
17. Hijova E, Chmelarova A. Short chain fatty acids and colonic health. Bratisl. Lek. Listy. 2007; 108: 354–358.
18. MacFabe DF. Enteric short-chain fatty acids: microbial messengers of metabolism, mitochondria, and mind: implications in autism spectrum disorders. Microb. Ecol. Health Dis. 2015; 26: 28177.
19. Richards J, Yap Y, McLeod K, Mackay C, Mariño E. Dietary metabolites and the gut microbiota: an alternative approach to control inflammatory and autoimmune diseases. Clin. Transl. Immunology. 2016; 5 (5): e82.
20. Сугян Н.Г. Клиническое значение короткоцепочечных жирных кислот при функциональных нарушениях желудочно-кишечного тракта у детей раннего возраста: Автореф. дисс. ...канд. мед. наук. М., 2010: 27.
21. Денисова С.Н., Тарасова О.В., Ильенко Л.И., Сенцова Т.Б., Богданова С.В., Ревякина В.А., Белицкая М.Ю. Биохимические маркеры в оценке функционального состояния кишечной микрофлоры у детей на искусственном вскармливании. Педиатрия. 2016; 95 (3): 109–118.
22. Федотова Г.В., Вахлова И.В., Боронина Л.Г., Саматова Е.В. Метаболические аспекты состояния микробиоты кишечника у недоношенных детей. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2016; 26 (5): 44. Приложение № 48. Материалы 22-й объединенной российской гастроэнтерологической недели (3–5 октября 2016 г., Москва).
23. Koletzko B. Pediatric Nutrition in Practice. Basel: Karger, 2008: 80–84.
24. Weng M, Walker W. The role of gut microbiota in programming the immune phenotype. J. of Develop. Origine of Health and Dis. 2013; 4 (3): 203–214. doi: 10/1017/20401174412000712