

Уровень цитокинов в сыворотке крови у детей с БА (m ± n)

Дети с различной тяжестью течения БА	IL-1β, пг/мл	TNFα, пг/мл	IL-4, пг/мл
Группа 1, n=19	219,3 ± 32,6**/**	89,3 ± 15,9**/**	6,9 ± 0,10*
Группа 2, n= 27	130,2 ± 18,2*	37,1 ± 2,3*	4,7 ± 0,03*
Группа 3, n= 14	101,7 ± 17,5*	42,5 ± 7,2*	4,9 ± 0,08*
Контрольная группа, n= 25	23,0 ± 0,6	30,1 ± 2,1	2,2 ± 0,03

Примечание. * - достоверность различий по сравнению с контрольной группой здоровых детей ($p < 0,05-0,01$), ** - достоверность различий между 1 группой и 2 и 3 группами ($p < 0,05$).

Определенной тенденции в динамике показателей на фоне ремиссии не наблюдалось: небольшое снижение при тяжелом течении сочеталось со столь же незначительным повышением в группах со средне-тяжелыми и легкими формами заболевания.

Выводы

При тяжелом течении БА (1 группа) выявлено более высокое содержание противовоспалительного цикла IL-4 – 6,9 ± 0,10 пг/мл ($V = 7,0 \pm 0,15$). Различия между группами 1 и 2–3 были достоверны ($p < 0,05$) (табл.).

В острой фазе БА содержание всех трех цитокинов было высоким. Среди больных с разным течением БА коэффициент вариации для всех цитокинов был значительно выше, чем в контроле. Вариабельность была максимально выражена для IL-1β ($> \text{TNF}\alpha > \text{IL-4}$) и ярче всего проявлялась при тяжелых формах заболевания. Это может быть следствием патогенетической неоднородности и/или фазности заболевания, которые сочетаются с неодинаковыми реакциями в системе (сети) цитокинов и по-разному зависят от них. Высокие значения провоспалительных IL-1β и TNFα свидетельствуют об относительности ремиссии, отражая патогенетическую незавершенность терапии. Это подчеркивает хронический характер патологии, при которой остаточное воспаление в бронхах поддерживает вероятность очередных обострений.

Таким образом, у детей, больных БА, выявлены высокие значения провоспалительных (особенно) и противовоспалительных цитокинов в острой фазе БА. Эти параметры находились в прямой зависимости от степени тяжести БА.

Список литературы

1. Балаболкин И.И. Бронхиальная астма. М.: Медицина, 1998. С. 188–213.
2. Гуцин И.С. Аллергическое воспаление и его фармакологический контроль. М.: Медицина, 1998. 126 с.
3. Зайцева О.В., Лаврентьев А.В., Самсыгина Г.А. Роль некоторых цитокинов при бронхиальной астме у детей // Педиатрия. 2001. № 1. С. 13–19.
4. Намазова Л.С., Ревякина В.А., Балаболкин И.И. Роль цитокинов в формировании аллергических реакций у детей // Педиатрия. 2001. № 1. С. 56–65.
5. Чучалин А.Г. Актуальные вопросы пульмонологии // РМЖ. 2000. Т. 8, № 17. С. 727–729.
6. Kalayci O., Saraclar Y., Kilinc K., Sekerel B.E. Serum levels of eosinophilic cationic protein, myeloperoxidase, lipid peroxidation products, interleukin-5 and Interferon-gamma in children with bronchial asthma attack and remission // Turc J. Pediatr. 2000. Vol. 42. № 1. P. 9–16.

Сведения об авторах

Наврзуова Шакар Истамовна – д.м.н., доцент, заведующая кафедрой педиатрии Бухарского ГМИ им. Абу Али ибн Сино. E-mail: shakar@mail.ru.

Рахмонова Шахноз Каххоровна – ассистент кафедры патологической анатомии и судебной медицины Бухарского филиала Ташкентского государственного стоматологического института. E-mail: Tib1@mail.ru.

Сулейманов Сулейман Файзуллаевич – к.м.н., старший научный сотрудник, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии и фтизиатрии Бухарского ГМИ им. Абу Али ибн Сино. E-mail: ss-1961@mail.ru.

Расулова Орзигул Турсуновна – ассистент кафедры патологической анатомии и судебной медицины Бухарского филиала Ташкентского государственного стоматологического института. E-mail: ss-1961@mail.ru.

УДК 616.34-053.3:579(470.342)

О.Ю. Носкова, М.С. Григорович, М.Д. Ардатская

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ И МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СОСТОЯНИЯ КИШЕЧНОГО БИОЦЕНОЗА У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА, ПРОЖИВАЮЩИХ В Г. КИРОВЕ

Кировская государственная медицинская академия

O.Y. Noskova, M.S. Grigorovich, M.D. Ardatskaya

MICROBIOLOGICAL AND METABOLIC ASPECTS OF INTESTINE BIOCENOSIS WITH KIROV CITY INFANTS

Kirov State Medical Academy

Целью работы явилась оценка особенностей становления микробиоценоза кишечника у детей раннего возраста ($n=103$), проживающих на территории г. Кирова, на основании анализа результатов микробиологического исследования кала и показателей функциональной активности кишечной микробиоты (уровень и спектр короткоцепочечных жирных кислот в кале). При обследовании условно здоровых детей в возрасте 8–12 мес. в 99% случаев выявлено наличие дефицита облигатных представи-

телей микробиоценоза (бифидо- и лактобактерий, типичной кишечной палочки) и избыточный рост условных патогенов (золотистый стафилококк гемолизирующая кишечная палочка, лактозонегативные энтеробактерии и др.). Количественные отклонения в составе микробиоты сопровождаются изменениями метаболической активности симбионтов. Последнее проявляется двумя типами нарушений: чаще «анаэробный» (у 70% детей имеет место повышение пропионовой и масляной кислот и снижение уксусной кислоты, отклонение анаэробного индекса в область отрицательных значений), реже – «аэробный» тип (у 30% детей в виде повышения относительного количества уксусной кислоты, смещения анаэробного индекса в область слабо отрицательных значений).

Ключевые слова: микробиоценоз кишечника, короткоцепочечные жирные кислоты в кале, дети грудного возраста.

The purpose of the research was evaluating peculiarities of microbiocenosis development with infants (n=103), living in Kirov City, on the basis of analyzing the results of feces microbiological examination and of indices of functional activity of intestine microbiota (level and spectrum of short-chained fatty acids in feces). While examining practically healthy children aged 8 – 12 months 99% of cases showed deficit of obligate specimen of microbiocenosis (bifidobacteria, lactobacilli, typical *E. coli*) and excessive growth of opportunistic flora (*Staphylococcus Aureus*, hemolytic *E. coli*, lactosonegative enterobacter). Evaluation of level and spectrum of short-chained fatty acids in feces showed that quantity deviations in microbiota composition are accompanied with changes in metabolic activity of symbionts. The latter shows as two types of deviation: “anaerobic” as more frequent (70 % of children have a certain rise of propionic and butyric acids and a fall of acetic acid, deviation of anaerobic index tends to be vastly negative), “aerobic” as less frequent (30% of children have a certain rise of relative quantity of acetic acid, deviation of anaerobic index tends to be slightly negative).

Key words: intestine microbiocenosis, short-chained fatty acids in feces, infants.

Введение

Учитывая огромную значимость микробиоценоза кишечника как обязательного компонента нормальной жизнедеятельности макроорганизма, при возрастании негативного воздействия окружающей среды, нередко оперативного родоразрешения, распространенности искусственного вскармливания, в современных условиях жизни сохраняет актуальность вопрос об особенностях становления микробиоценоза у детей первых лет жизни [1–4]. По данным ряда исследований, формирование микробиома у детей раннего возраста все чаще характеризуется замедлением процессов становления, нестабильностью популяционной численности и активности нормальных симбионтов, наиболее выраженных во втором полугодии жизни [4–6]. Вышеуказанные негативные тенденции нередко пролонгируются до второго-третьего года жизни, что может быть обусловлено особенностями введения прикормов, снижением доли грудного

молока в рационе и др. [6–7]. В свою очередь по последним данным возникновение стойких некомпенсированных нарушений микробиома в первые два года жизни ребенка сопряжено с нарушением мукозального иммунитета, снижением адаптационных возможностей организма и формированием нежелательных эпигенетических последствий, что является отправной точкой для развития метаболических и функциональных расстройств, выступающих ключевым звеном сложной цепи хронизации заболеваний [8–9].

Цель исследования: оценка особенностей становления микробиоценоза кишечника у детей раннего возраста, проживающих на территории г. Кирова, на основании анализа результатов микробиологического исследования кала и показателей функциональной активности кишечной микробиоты (уровень и спектр короткоцепочечных жирных кислот в кале).

Материалы и методы исследования

Исследование проводилось на клинической базе ГБОУ ВПО Кировская ГМА (детское поликлиническое отделение № 2 КОГБУЗ «Кировский детский городской клинический лечебно-диагностический центр», г. Киров) в виде открытого проспективного клинического наблюдения за 103 условно здоровыми детьми в возрасте 8–12 мес. Работа одобрена локальным этическим комитетом Кировской ГМА (выписка из протокола № 12–11 от 06.06.2012). Отбор контингента осуществлялся с учетом критериев включения: наличие письменного согласия родителей на участие в исследовании, отсутствие острых инфекционных заболеваний в течение 30 дней до начала исследования. Критериями исключения являлись наличие анемии; наличие симптомов нарушений пищеварения к моменту исследования (боли, метеоризм, вздутие, воспалительные изменения при копроскопии); развитие острых инфекционных заболеваний в период наблюдения за детьми.

Исследовали количественные и качественные параметры становления микробиоценоза кишечника. Для оценки количественных показателей проводилось микробиологическое исследование кала на дисбактериоз [5]. Качественную составляющую оценивали по профилю короткоцепочечных жирных кислот (КЖК) в кале, отражающих степень функциональной активности микробиоты. Спектр КЖК исследовали методом ГЖХ-газо-жидкостного хроматографического анализа (лаборатория ООО «Уни-мед» г. Москва, руководитель д.м.н. М.Д. Ардатская). В последующем анализировали динамику абсолютного суммарного содержания КЖК, содержания уксусной кислоты, пропионовой, масляной, значения анаэробных индексов и уровня изокилот (суммарное относительное содержание изокилот) и отношение абсолютного содержания изовалериановой кислоты к валериановой кислоте [10–12]. Известно, что ГЖХ-анализ обладает более высоким уровнем чувствительности (81%) и специфичности (87%) в сравнении с таковыми при бактериологическом посеве (66% и 41% соответственно) [12] и представляет собой экспресс-метод оценки микробиоты, занимая по продолжительности 30–40 мин. против 2–3 суток при микробиологическом исследовании [8]. Статистическая обработка полученных

данных осуществлялась с использованием лицензионных программных средств Microsoft Excel XP, Statistica 10. Рассчитывались показатели: среднее арифметическое значение, доверительный интервал и среднеквадратичное стандартное отклонение для вероятной ошибки 95% ($p < 0,05$), стандартная ошибка среднего арифметического, критерий Стьюдента. Различия считались достоверными при $p < 0,05$, высоко достоверными – при $p < 0,01$ и $p < 0,001$, недостоверными при $p > 0,05$.

Результаты и их обсуждение

По данным бактериологического исследования кала, микробный пейзаж большинства обследованных в 99% случаев характеризовался угнетением облигатных представителей микробиоты и избыточным ростом условно-патогенных представителей (таблица 1).

Дефицит бифидобактерий (у 54,4% детей) и лактобацилл (58,3% детей) проявлялся их снижением на 4–5 порядков от значений нижних границ возрастной нормы (НГВН), реже – отклонением на 1–2 порядка (20 и 30% соответственно). Угнетение роста типичной кишечной палочки встречалось нечасто (12,6% детей) и в основном было представлено снижением на 1 порядок (77% случаев), максимальное снижение на 4 порядка наблюдалось у 8% детей.

При анализе первичных данных количественного и качественного содержания короткоцепочечных жирных кислот в кале у детей ($n=103$) зарегистрированы 2 типа метаболического профиля: анаэробный – у 70% детей и аэробный тип – у 30% детей. Оба типа изменений функциональной активности микробиоты характеризовались наличием тенденции к снижению абсолютного суммарного содержания короткоцепочечных жирных кислот в кале относительно референсных показателей при наиболее значимом снижении у детей с аэробным типом. Выявленные особенности, по-видимому, связаны со снижением численности и активности облигатных представителей микробиома, что согласуется с данными других авторов [8, 13]. При оценке уровней уксусной, пропионовой и масляных кислот, составляющих основу всего пула короткоцепочечных жирных кислот, были получены следующие результаты:

при анаэробном профиле – достоверное снижение уровней уксусной и повышение пропионовой и масляной кислот; при аэробном типе – достоверное повышение уксусной и снижение пропионовой и масляной кислот ($p < 0,05$ при сравнении с референсными значениями). Указанные особенности спектра кислот могут быть обусловлены гиперколонизацией и повышением активности анаэробной флоры с преобладанием маслянокислого и пропионовокислого брожения, характерного для бактерий родов бактероидов, пропионибактерий, фузобактерий, эубактерий и усилением роста клостридий, продуцентов пропионовой и масляных кислот. И соответственно, при аэробном типе – активизацией аэробных микроорганизмов, представителей факультативной и остаточной микрофлоры, продуцирующих в основном уксусную кислоту [8, 14] и являющихся источником эндотоксемии. Анаэробный индекс, рассчитываемый как отношение суммы концентраций всех кислот к концентрации уксусной кислоты, является важнейшим индикатором состояния внутрисрединной среды кишечника и отражает соотношение анаэробных и аэробных, в т.ч. факультативно-анаэробных популяций микробиоты [8]. При его оценке зарегистрировано резкое смещение индекса в сторону отрицательных значений при анаэробном типе и в зону противоположных значений – при аэробном типе ($p < 0,05$ при сравнении с референсными значениями при обоих профилях кислот), что может свидетельствовать о росте соответственно анаэробных или аэробных популяций на фоне снижения активности облигатных симбионтов в связи с угнетением ферредоксинсодержащих дыхательных ферментов, обеспечивающих их нормальную жизнедеятельность [14]. При первичной оценке показателя суммарного относительного содержания изокилот у детей при анаэробном типе отмечена тенденция к его снижению ($p > 0,05$ при сравнении с референсным значением), при аэробном типе – существенное повышение данного параметра относительно референсного значения ($p < 0,05$). При обоих типах метаболического профиля отмечалось резкое увеличение показателя соотношения абсолютного содержания изовалериановой кислоты к валериановой кислоте. Колебания уровня изокилот могут сви-

Таблица 1

Средние значения микробиологических показателей биоценоза кишечника у детей в группе наблюдения $n=103$, ($M \pm m$)

Виды микроорганизмов	НГВН ¹	Группа наблюдения
Бифидобактерии, lg КОЕ/г	10	8,18 ± 0,2
Лактобактерии, lg КОЕ/г	6	5,46 ± 0,21
Типичная кишечная палочка, lg КОЕ/г	7	6,86 ± 0,06
Стафилококк золотистый, lg КОЕ/г	0	2,04 ± 0,18
Дрожжеподобные грибы рода Candida, lg КОЕ/г	3	0,75 ± 0,18
Клебсиеллы, lg КОЕ/г	3	1,71 ± 0,28
Лактозонегативные энтеробактерии, % ²	5	25,87 ± 3,38
Гемолизирующая кишечная палочка, % ²	0	12,13 ± 2,05

Примечание: ¹ НГВН – нижняя граница возрастной нормы; ² – оценка проводилась в соответствии с нормами по Р.В. Эпштейн-Литвак и Ф.П. Вильшианской, 1977 г.

Результаты исследования показателей метаболической активности микробиоты у детей при анаэробном и аэробном типах метаболического профиля в группе наблюдения (n = 103), (M ± m)

Группы	Суммарное содержание КЖК, мг/г	C2, мг/г	C3, мг/г	C4, мг/г	АИ	изоC5/C5, ед.	изоCн, ед.
Референсные значения возрастных границ нормы (6–12 мес.) по данным лаборатории М.Д. Ардатской	4,81 ± 1,51	0,768 ± 0,009	0,141 ± 0,008	0,091 ± 0,005	-0,302 (±0,012)	до 2,1 ед	0,059 ± 0,004
Анаэробный тип до приема продуктов	4,15 ± 1,32	0,665 ± 0,012*	0,186 ± 0,010*	0,149 ± 0,009*	-0,504 (±0,031)*	7,51 ± 4,46*	0,056 ± 0,006
Аэробный тип до приема продуктов	3,11 ± 1,16	0,859 ± 0,019*	0,095 ± 0,008*	0,046 ± 0,007*	-0,164 (±0,011)*	10,08 ± 4,51*	0,072 ± 0,011*

Примечания: * $p < 0,05$ при сравнении показателей с нормой. C2 – уксусная кислота, C3 – пропионовая кислота, C4 – масляная кислота, АИ – анаэробный индекс, изоC5/C5 – отношение абсолютного содержания изовалериановой кислоты к валериановой кислоте, изоCн – суммарное относительное содержание изоксилот.

детельствовать о снижении (при анаэробном типе) или преобладании (при аэробном) микроорганизмов с протеолитической активностью, не относящихся к облигатной части микробиоты [14] (таблица 2).

Выводы

1. Процесс становления микробиоценоза кишечника у детей в возрасте 8–12 мес., проживающих на территории г. Кирова, характеризуется формированием неоптимального по численности состава, проявляющегося дефицитом облигатных симбионтов и наличием избыточного роста условно-патогенных представителей. Последнее обуславливает особенности функционального состояния микробиоты, что проявляется отклонением метаболического профиля КЖК в зону преобладания анаэробного профиля (70%), реже – аэробного типа активности (30%).

2. Исследование уровня КЖК значительно расширяет представления о процессах становления микробиоты кишечника у детей раннего возраста.

3. Выявленные особенности формирования микробиома определяют актуальность дальнейшего поиска естественных путей оптимизации процессов становления микробиоценоза в раннем детском возрасте, по-видимому, возможных благодаря рациональному вскармливанию и введению обогащенных пре- и пробиотическими субстанциями продуктов прикорма детям второго полугодия жизни.

Список литературы

- Desbonnet L, Garrett L, Clarke G, Bienenstock J, Dinan TG. The probiotic Bifidobacteria infantis: An assessment of potential antidepressant properties in the rat. // J Psychiatr Rec. 2008. Dec.; 43(2). P. 74–164.
- Allan Walker W. Initial intestinal colonization in the human infant and immune homeostasis. // Annals of Nutrition and Metabolism. 2013. Vol. 63 (2). P. 8–15.
- Шендеров Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. Пробиотики и функциональное питание. Т. 3. М.: Грантъ, 2001. 288 с.
- Конь И.Я., Сафронова А.И., Сорвачева Т.Н., Куркова В.И., Тоболева М.А., Калашикова Г.В. и др. Состояние микрофлоры кишечника у детей 1-го года жизни в зависимости от вида вскармливания. // Российский педиатрический журнал. 2002. № 1. С. 1–11.
- ОСТ 91500. 11. 0004–2003 «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника», утвержденный приказом № 231 Минздрава России от 09.06.2003.

6. Булатова Е.М., Нетребенко О.К., Волкова И.С., Лобанова-Дейн Е.А. Становление и динамика кишечной микробиоты в младенчестве: факторы влияния и риски нарушений // Педиатрия. 2011. № 3. С. 112–118.

7. Кондракова О.А., Брико Н.И., Дубинин А.В., Дмитриева Н.Ф., Бабин В.Н. Метаболический фактор в оценке микробиологических нарушений ЖКТ // Инфекционные болезни. 2012. № 1. С. 36–41.

8. Хавкин А.И. Микрофлора пищеварительного тракта. Фонд социальной педиатрии. Москва, 2006. С. 119–247.

9. Куваева И.Б., Ладодо К.С. Микробиологические и иммунные нарушения у детей. М.: Медицина, 1991. 39 с.

10. Способ разделения смеси жирных кислот, фракций C2–C7 методом газо-жидкостной хроматографии. Патент РФ №9910669/12. Приоритет от 4.04 1999 г.

11. Szylił O., Maurage C., Gasqui P., Popot F., Favre A., Gold F., et al. Fecal short-chain fatty acids predict digestive disorders in premature infants. // JPEN J Parenter Enteral Nutr. 1998. 22(3). P. 41–136.

12. Ардатская М.Д. Клиническое значение короткоцепочечных жирных кислот при патологии желудочно-кишечного тракта: автореф. дисс... докт. мед. наук. М.: 2003. 45 с.

13. Суяян Н. Г. Клиническое значение короткоцепочечных жирных кислот при функциональных нарушениях желудочно-кишечного тракта у детей раннего возраста: автореф. дисс... канд. мед. наук. М.: 2010. 25 с.

14. Готтшалк Г. Метаболизм бактерий. – Пер. с англ. М.: Мир, 1982. 290 с.

Сведения об авторах

Носкова Ольга Юрьевна – врач-диетолог Кировского детского городского клинического лечебно-диагностического центра. E-mail: olgan-82@mail.ru; (8332) 31-21-20.

Григорович Марина Сергеевна – д.м.н. доцент, заведующая кафедрой семейной медицины и поликлинической терапии Кировской ГМА. E-mail: kf25@kirovgma.ru; (8332) 64-07-37.

Ардатская Мария Дмитриевна – д.м.н. профессор, генеральный директор ООО «Уни-мед», Москва. E-mail: ma@uni-med.ru; 8 (495) 146-80-34.