

Характеристика метаболической активности кишечной микрофлоры и методы пробиотической коррекции при вирусных диареях у детей

Л.Н. Мазанкова, Л.В. Бегияшвили, Л.И. Шапошникова

Characteristics of metabolic activity of the enteric microflora and probiotic corrective methods in children with viral diarrhea

L.N. Mazankova, L.V. Begiashvili, L.I. Shaposhnikova

Российская медицинская академия последипломного образования Росздрава; ООО «Бифиликс», Москва

Рассматриваются изменения метаболической активности микрофлоры толстой кишки по показателям летучих жирных кислот при острых кишечных инфекциях у детей. Проведена оценка эффективности коррекции микроэкологических нарушений при вирусных диареях у детей биоконкомплексом «Нормофлорин-Д».

Ключевые слова: дети, острые кишечные инфекции, вирусные диареи, летучие жирные кислоты, пробиотики.

Changes in the metabolic activity in the colonic microflora are considered from the levels of volatile fatty acids in children with acute enteric infection. The efficiency of correction of microecological disorders with the biocomplex Normoflorin-D is evaluated in children with viral diarrhea.

Key words: children, acute enteric infections, viral diarrhea, volatile fatty acids, probiotics.

В связи с преобладанием в структуре острых кишечных инфекций у детей вирусных диарей (до 70—80%), особенно у детей раннего возраста, совершенствование тактики терапии острых кишечных инфекций является актуальной проблемой. До настоящего времени не разработан единый стандарт диагностики и лечения вирусных диарей и коррекции микробиоценоза. Одним из факторов, определяющих тяжесть заболевания, продолжительность и сроки санации от возбудителя, является состояние микробиоценоза кишечника. При острых кишечных инфекциях возникают реальные условия для микроэкологических нарушений. У детей в связи с несовершенством ферментных и барьерных систем желудочно-кишечного тракта метаболизация и усвоение продуктов жизнедеятельности нормальной микрофлоры нарушаются, что сопровождается колонизацией слизистых оболочек кишечника условно-патогенной флорой [1, 2].

Основная роль нормальной микрофлоры кишечника при острой кишечной инфекции заключается в поддержании механизмов естественной резистентности за счет конкуренции с патогенами за рецепторы слизистой оболочки кишечника на стадии их первичной адгезии и колонизации. Под влиянием эуфлоры происходит активация системы комплемента и фагоцитоза, усиление выработки IgM и секреторного IgA, что играет важную роль в санации организма от возбудителей острой кишечной инфекции [3].

В настоящее время продолжается изучение метаболической активности кишечной микрофлоры у детей при острых кишечных инфекциях, так как процессы образования, всасывания и утилизации летучих жирных кислот нарушаются и, следовательно, меняются общая концентрация и соотношение отдельных летучих жирных кислот в фекалиях. Хорошо изучены метаболические эффекты индигенной флоры, связанные с синтезом летучих жирных кислот, которые представляют собой монокарбоновые кислоты с длиной цепи до 8 атомов углерода, поэтому в англоязычной литературе их называют короткоцепочечными жирными кислотами. К ним относят уксусную (C2), пропионовую (C3), масляную (C4), изомасляную (iC4), вальериановую (C5), изовальериановую (iC5), капроновую (C6), изокапроновую (iC6) кислоты. Неразветвленные летучие жирные кислоты — уксусная, пропионовая и масляная, образуются при анаэробном брожении уг-

© Коллектив авторов, 2009

Ros Vestn Perinatol Pediat 2009; 4:44–48

Адрес для корреспонденции: Мазанкова Людмила Николаевна — д.м.н., проф., зав. кафедрой детских инфекционных болезней Российской медицинской академии последипломного образования Росздрава

Бегияшвили Лариса Васильевна — сотр. кафедры

123514 Москва, ул. Героев Панфиловцев, д. 28

Тел.: 949-17-22

Шапошникова Лариса Ивановна — генеральный директор ООО «Бифиликс»

леводов, тогда как метаболизация белков ведет к образованию разветвленных кислот — изомаляновой (из валина) и изовалериановой (из лейцина) [4, 5].

Основным углеводным субстратом, доступным микрофлоре, служат пищевые волокна. Источником других углеводов, потенциально способных метаболизироваться микрофлорой, служит слизь. Летучие жирные кислоты играют особую роль и выполняют многочисленные функции в организме, направленные как на регуляцию кишечного микробиоценоза, так и на поддержание гомеостаза физико-химических параметров и, в первую очередь, водно-электролитного баланса. Они участвуют в энергообеспечении кишечного эпителия, углеводном и липидном обмене, оказывают регулирующее воздействие на моторику желудочно-кишечного тракта, обладают противовирусным, антибактериальным и иммуномодулирующим свойствами [3, 6]. Установлено, что большую часть основных физиологических функций выполняют уксусная (C2), пропионовая (C3) и масляная (C4) кислоты.

Важнейшая роль масляной кислоты (C4) как энергетического субстрата заключается в энергообеспечении кишечного эпителия. Помимо этого, бутират является важным фактором регуляции пролиферации и дифференцировки эпителия толстой кишки, обеспечивая антиканцерогенный эффект микрофлоры. Пропионовая кислота (C3) регулирует микроциркуляцию в слизистой оболочке и поддерживает в ней трофические процессы, участвует в глюконеогенезе и синтезе биогенных аминов, блокируя адгезию патогенов. Уксусная кислота (C2) участвует, главным образом, в липогенезе и регуляции местного иммунитета, а также регуляции уровня pH, моторной и секреторной активности кишечника [4, 6].

Однако доказано, что все эффекты нормальных и изоформ летучих жирных кислот концентрационно зависимы, и их гиперпродукция, также как и недостаток, способны играть патофизиологическую роль в организме [4].

Изучению роли летучих жирных кислот при различных физиологических и патофизиологических состояниях посвящены исследования многих отечественных и зарубежных ученых. Результаты этих исследований дают основание для использования определения летучих жирных кислот в качестве биохимических маркеров ряда заболеваний [2, 4, 6, 7].

В последнее время активно изучается роль пробиотиков в лечении острых кишечных инфекций как препаратов, обладающих противовоспалительными, иммуномодулирующими и ферментативными свойствами и являющихся стабилизаторами состояния микрофлоры кишечника. В проблеме диагностики дисбактериоза важную роль приобретает поиск альтернативных методов изучения характера микробиоценоза и свойств микрофлоры кишечника у больных острой кишечной инфекцией.

Пробиотики — жизнеспособные организмы и/или вещества микробного или иного происхождения, оказывающие при естественном способе введения благоприятное влияние на физиологические функции, биохимические и поведенческие реакции организма хозяина через оптимизацию его микробиологического статуса [6]. Антагонистические свойства пробиотических микроорганизмов, присутствующих в свежеприготовленной жидкой форме, более выражены, чем у тех же штаммов, находящихся в лиофилизированном состоянии. Это может быть связано с присутствием в жидких формах пробиотиков более высоких концентраций уксусной, молочной кислот, перекиси водорода, а возможно и других антагонистических или иных регуляторных субстанций — метаболитов [8].

В настоящее время изучена клинико-лабораторная эффективность таких пробиотиков, как полибактерин, хилак-форте, споробактерин и др., однако не исследовано влияние жидких пробиотиков с высокой метаболической активностью (в частности «Нормофлорин-Д») на характер изменения состава и метаболизма микрофлоры кишечника при острых кишечных инфекциях вирусной этиологии. Нет общего мнения о возможности применения монотерапии пробиотиками как альтернативы базисной терапии в соответствии со стандартами, принятыми в Российской Федерации [9].

Целью настоящего исследования было изучение клинического эффекта и биохимической активности микрофлоры кишечника по показателям летучих жирных кислот при острой кишечной инфекции вирусной этиологии у детей, получающих пробиотик «Нормофлорин-Д».

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Проведено изучение клинической эффективности биокомплекса «Нормофлорин-Д» в острый период инфекционных диарей у детей старше 3 лет. Исследование осуществлено на базе 4-го инфекционного отделения Тушинской детской городской больницы. Биокомплекс «Нормофлорин-Д» содержит лактобактерии (*L. casei*) не менее 1 млрд микробных клеток в 1 мл и бифидобактерии (*B. longum*, *B. bifidum*) не менее 100 млн микробных клеток в 1 мл, продукты метаболизма бактерий — органические кислоты, аминокислоты (в том числе незаменимые), микро- и макроэлементы, витамины, антимикробные вещества натурального происхождения, а также пребиотик лактит, стимулирующий рост защитной микрофлоры.

Под наблюдением находились 50 детей в возрасте от 3 до 15 лет (основная группа — 30 детей, группа сравнения — 20 детей) с острыми кишечными инфекциями вирусной этиологии. По топике поражения желудочно-кишечного тракта преобладали энтериты (40%) и гастроэнтериты (60%).

Все дети в острый период заболевания получа-

ли идентичную базисную терапию с применением сорбентов и ферментных препаратов в возрастных дозировках на фоне оральной или парентеральной регидратации, а также при необходимости симптоматическую терапию (антипиретики, спазмолитики, противорвотные препараты). Дети основной группы получали биокомплекс «Нормофлорин-Д» по 7,5 мл 2 раза в день в течение 3 нед. Из исследования были исключены дети, получавшие антибактериальную терапию и пробиотики до поступления в стационар.

Эффективность применения биокомплекса оценивали по данным клинических наблюдений: улучшение общего самочувствия, сроки исчезновения симптомов интоксикации, тошноты, рвоты, абдоминального синдрома, явлений метеоризма, купирование признаков эксикоза, сроки нормализации стула. У всех детей изучали микрофлору кишечника по уровню низкомолекулярных метаболитов индигенной микрофлоры (короткоцепочечных жирных кислот) в кале (метод газожидкостной хроматографии¹).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что у 24 из 30 детей основной группы заболевание протекало в среднетяжелой форме, у 6 больных — в легкой форме. Топика поражения желудочно-кишечного тракта у всех детей также была идентичной: заболевание протекало с вовлечением в патологический процесс верхних отделов желудочно-кишечного тракта и во всех случаях сопровождалось явлениями метеоризма.

Симптомы интоксикации до начала лечения отмечались у 18 из 30 детей в основном со среднетяжелыми формами инфекции. Продолжительность интоксикации в исследуемой группе колебалась от 1 до 3 дней и в среднем составила $1,9 \pm 0,46$ дня, против $2,03 \pm 0,51$ дня в группе сравнения. К концу 2-х суток пребывания в стационаре у всех детей отмечалось значительное улучшение в состоянии: они становились более активными, исчезали вялость и слабость, снижалась температура, появлялся аппетит. Статистически значимых межгрупповых различий в длительности и выраженности симптомов интоксикации выявлено не было.

Рвота в начале заболевания имела место у 18 детей основной группы, ее выраженность колебалась от 1 до 10 раз в сутки и в ряде случаев определяла развитие эксикоза. Средняя продолжительность симптома рвоты составила $1,7 \pm 0,47$ дня ($2,6 \pm 0,06$ дня в группе сравнения). У 21 ребенка этой группы заболевание сопровождалось абдоминальным синдромом. Боли в животе не имели четкой локализации и всегда сопровождались урчанием при пальпации по ходу ки-

шечника и явлениями метеоризма. Продолжительность абдоминального синдрома колебалась от 1 до 3 дней и в среднем составила $1,5 \pm 0,60$ дня.

Наиболее постоянным признаком, встречающимся у всех больных обеих групп, был кишечный синдром. Частота стула при среднетяжелых формах инфекции была наибольшей — от 7 до 12 раз в сутки (в среднем $8,2 \pm 1,88$ раза в сутки). При легкой форме кишечной инфекции частота стула не превышала 6 раз в сутки (в среднем $3,9 \pm 1,04$ раза в сутки). Во всех случаях независимо от этиологии и тяжести инфекции стул носил водянистый характер. Продолжительность диареи колебалась от 2 до 5 сут и в среднем составила $3,58 \pm 0,97$ дня в основной группе против $4,13 \pm 1,01$ дня в группе сравнения.

У 18 из 30 детей основной группы отмечались явления эксикоза I — II степени. На фоне лечения они сохранялись в среднем $1,8 \pm 0,72$ дня. У $1/2$ детей группы сравнения также отмечались явления эксикоза I — II степени. Средняя продолжительность эксикоза в этой группе была $2,2 \pm 0,79$ дня.

Продолжительность лечения и пребывания в стационаре детей, больных острыми кишечными инфекциями, колебалась от 3 до 6 дней; в среднем она составила $4,6 \pm 1,25$ дня в основной группе и $5,7 \pm 1,06$ дня в группе сравнения. Длительность госпитализации определялась тяжестью заболевания ($5,4 \pm 0,77$ дня при среднетяжелых формах, $3,6 \pm 0,92$ дня при легких формах).

Наблюдение детей в катамнезе проводилось в течение 3 нед. У всех детей основной группы отмечалась стойкая нормализация стула на фоне применения «Нормофлорина-Д» в течение 3 нед. Рецидивов заболевания и побочных эффектов не выявлено ни у одного ребенка.

Результаты изучения абсолютного содержания короткоцепочечных жирных кислот в кале у больных с острыми кишечными инфекциями демонстрируют исходное снижение их абсолютной концентрации по сравнению с нормой (см. таблицу). Это свидетельствует о нарушении утилизации данных кислот колонocyтами вследствие измененной моторно-эвакуаторной функции кишечника, а также может являться следствием измененной активности и численности различных популяций микроорганизмов индигенной микрофлоры толстой кишки. У пациентов, получавших метаболит-пробиотик «Нормофлорин-Д», после курса лечения отмечена тенденция к повышению абсолютного содержания короткоцепочечных жирных кислот, что указывает на повышение функциональной активности и численности микрофлоры толстой кишки.

У наблюдавшихся детей исходно и на фоне приема «Нормофлорин-Д» были изучены профили C2 — C4 кислот, вносящих основной вклад в общий пул короткоцепочечных жирных кислот. Под профилем короткоцепочечных жирных кислот подразумевается присущий набор частот (удельных концентраций) отде-

¹ Патент РФ «Способ разделения смеси жирных кислот фракции C2 — C6 методом газожидкостной хроматографии» Ардатская М.Д., Иконников Н.С., Минушкин О.Н., № 2220755, дата выдачи 10.01.2004, приоритет от 23.07.2002

льных кислот, т.е. долевое участие отдельной кислоты:

$$pCn = \frac{Cn}{C2+C3+C4},$$

Профиль короткоцепочечных жирных кислот в норме не зависит ни от количества продуцирующих и утилизирующих метаболиты микроорганизмов, ни от числа клеток (эпителиоцитов) всасывающей поверхности.

Кроме того, определялись значения анаэробных индексов, характеризующих окислительно-восстановительный потенциал внутриполостной среды. Анаэробный индекс (АИ) представляет собой отношение суммы концентраций (С) более восстановленных кислот к менее восстановленным: $AI = \frac{(C_{\text{пропионовая}} + C_{\text{масляная}})}{C_{\text{уксусная}}}$ (И. Гунзалус, Р. Стайнер, 1963).

Из представленных в таблице данных видно, что у детей с острыми кишечными инфекциями исходно в профиле C2 — C4 кислот было выявлено повышение содержания пропионовой и масляной (в большей степени) кислот, что указывало на увеличение численности и резкую активизацию анаэробного звена микрофлоры, представленного в основном популяциями микроорганизмов родов *Bacteroides*, *Clostridium*, эубактерий, фузобактерий, копрококков и др., причем их факультативных и остаточных штаммов. После курса лечения отмечено формирование нормального профиля кислот, что демонстрирует восстановление

активности представителей молочнокислой флоры (бифидо- и лактобактерий) и баланса аэробно-анаэробных популяций микроорганизмов.

Результаты изучения значений анаэробных индексов также представлены в таблице, из которой следует, что исходно у больных наблюдалось смещение значений анаэробного индекса в область резко отрицательных значений по сравнению с нормой. При данных значениях окислительно-восстановительного потенциала происходит угнетение жизнедеятельности облигатных анаэробов за счет блокирования терминальных ферредоксинсодержащих дыхательных ферментов. На этом фоне активизируются их факультативные и остаточные штаммы, что подтверждает факт, описанный выше.

После курса лечения «Нормофлорином-Д» у пациентов произошло смещение анаэробного индекса в область нормальных значений (из резко отрицательной области в менее отрицательную). При этом Δ (дельта) анаэробного индекса составила 0,182 ед., что также обеспечивает условия для нормальной и эффективной жизнедеятельности облигатной микрофлоры и восстановления микробиоценоза толстой кишки.

Результаты изучения суммарного относительного содержания изокилот — $p(\text{изо}Cn)$ в кале детей с острыми кишечными инфекциями также представлены в таблице. У пациентов исходно отмечалось увеличение

НОРМОФЛОРИНЫ®

Жидкие синбиотические комплексы
для детей с рождения и взрослых



- Бифидобактерии
- Лактобактерии
- Микроэлементы
- Витамины
- Аминокислоты
- Органические кислоты
- Пребиотики

ООО «БИФИЛЮКС»
www.normoflorin.ru

суммарного относительного содержания изокислот, которые образуются в результате жизнедеятельности микроорганизмов, утилизирующих пептиды. Кишечные палочки, фекальные стрептококки и стафилококки, некоторые бациллы являются сильнейшими протеолитиками. Анаэробные микроорганизмы тоже обладают способностью к протеолизу, однако их активность значительно менее выражена.

Повышение уровня изомеров короткоцепочечных жирных кислот свидетельствует о снижении активности факультативных аэробных микроорганизмов с активизацией их остаточных видов и штаммов (жизнедеятельность которых не угнетается при данных резко отрицательных значениях окислительно-восстановительного потенциала внутрипросветной среды), повышении активности анаэробов (родов *Bacteroides*, *Clostridium* и т.д.). На фоне лечения «Нормофлорин-Д» значения данного параметра изменились в сторону нормальных величин, что указывает на восстановление нормальной активности условно-патогенных микроорганизмов.

Таким образом, использование метаболита-пробиотика «Нормофлорин-Д» у детей с острыми кишечными инфекциями приводит к положительным изменениям микробиоценоза толстой кишки, выражающимся в повышении численности и активности облигатной микрофлоры, снижении активности условно-патогенных штаммов микрофлоры, нормализации баланса аэробно-анаэробных популяций микроорганизмов.

У детей с острыми кишечными инфекциями на фоне лечения биоконкомплексом «Нормофлорин-Д» в острый период заболевания отмечалось достоверно ($p < 0,05$) более быстрое и стойкое купирование основных проявлений болезни (рвоты, эксикоза, кишечного и абдоминального синдромов), сокращение сроков пребывания в стационаре. Выявлена тенденция к нормализации окислительно-восстановительного потенциала внутриполостной среды кишечника, способствующей восстановлению индигенной микрофлоры, что позволяет рекомендовать «Нормофлорин-Д» для лечения вирусных диарей и коррекции дисбактериоза кишечника.

Таблица. Результаты изучения абсолютной концентрации короткоцепочечных жирных кислот (C2 — C6), профилей C2 — C4, значений анаэробных индексов (АИ), отношения изовалериановой кислоты к валериановой кислоте (iC5/C5), суммарного относительного содержания изокислот р(изоСп), в кале у детей с острыми кишечными инфекциями на фоне приема «Нормофлорина-Д» и у практически здоровых лиц ($M \pm m$)

Заболевание	Σ (C2 — C6), мг/г	Уксусная кислота, мг/г	Пропионовая кислота, мг/г	Масляная кислота, мг/г	АИ	iC5/C5	р(изоСп)
Норма	10,51±2,51	0,634±0,008	0,189±0,006	0,176±0,005	-0,576±0,012	До 2,1	0,059±0,005
Больные до лечения	4,77±1,17*	0,573±0,007*	0,204±0,007*	0,223±0,008*	-0,788±0,011*	2,01±0,31	0,073±0,004*
Больные после лечения «Нормофлорин-Д»	5,97±1,01*	0,630±0,009**	0,177±0,007**	0,193±0,006***	-0,606±0,012***	1,52±0,64	0,053±0,006**

Примечание. $p < 0,05$; * — по сравнению показателей с группой нормы; ** — по сравнению показателей исследуемой группы до и после лечения.

ЛИТЕРАТУРА

- Мазанкова Л.Н., Ильина Н.О., Кондракова О.А., Затевалов А.А. Оценка состояния кишечной микрофлоры при острых кишечных инфекциях у детей младшего возраста // Детские инфекции. 2005. Т. 4, № 3. С. 11—15.
- Ouwehand A., Isolauri E. The role of intestinal microflora for the development of the immune system of early childhood // Eur. J. Nutr. 2002. Suppl. 1. P. 32—37.
- Новокишинов А.А., Учайкин В.Ф., Соколова Н.В. Роль иммуномодулятора Гепон в комплексной терапии ОКИ у детей // Лечащий врач. 2003. № 6. С. 76—78.
- Кондракова О.А., Затевалов А.М., Бабин В.Н. и др. Определение метаболической активности анаэробной микрофлоры по содержанию летучих жирных кислот в кале и слюне для характеристики дисбиотических состояний кишечника и ротовой полости у детей (метод газожидкостной хроматографии) / Пособие для врачей. М., 2005. С. 55.
- Шендеров Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. Т. 1. Микрофлора человека и животных и ее функции. М.: ГРАНТЪ, 1998. С. 288.
- Бокковой А.Г. Роль условно-патогенных микроорганизмов при ОКИ и проблема дисбактериоза кишечника у детей. Автореф. дис. ... докт. мед. наук. М., 1991. С. 44.
- Кондракова О.А., Мазанкова Л.Н., Затевалов А.М. и др. Нарушения микробиоценоза кишечника у детей раннего возраста с вторичной лактазной недостаточностью // Рос. вестн. перинатол. и педиат. 2008. № 2. С. 74—81.
- Ардатская М.Д., Минушкин О.Н., Иконников Н.С. «Дисбактериоз кишечника»: понятие, диагностические подходы и пути коррекции. Возможности и преимущества биохимического исследования кала / Пособие для врачей. М., 2004. С. 35.
- Учайкин В.Ф. Диагностика и лечение острых кишечных инфекций у детей / Методические рекомендации. М., 2005. С. 36.

Поступила 15.04.09