

ОСОБЕННОСТИ ПРОНИЦАЕМОСТИ КИШЕЧНОГО БАРЬЕРА У НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ ПРИ ПЕРИНАТАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ В ТЕСТЕ С ЛАКТУЛОЗОЙ

А.В.Дмитриев

Областная детская клиническая больница, Рязань

Для оценки состояния проницаемости кишечного барьера у 57 недоношенных новорожденных проведено исследование почечной экскреции лактулозы после пероральной нагрузки. Выявлена обратная зависимость величины экскреции лактулозы от гестационного и календарного возраста. Ранний переход на искусственное вскармливание ускоряет достижение “зрелого” уровня проницаемости. Генерализованные формы неонатальных инфекций сопровождаются состоянием повышенной проницаемости кишечного барьера.

Адекватное становление многообразных функций ЖКТ является залогом благополучной постнатальной адаптации к внеутробной жизни. У недоношенных детей в силу несовершенства ферментативных, иммунных, регуляторных механизмов барьерная функция кишки снижена [10, 17, 18]. Нарушения, возникающие в этот период развития, наиболее часто реализуются в виде бактериальных инфекций новорожденных, в том числе сепсиса и язвенно-некротического энтероколита, приводят к сенсибилизации и развитию пищевой аллергии и, в определенной степени, могут иметь значение для формирования вторичных нарушений переваривания и всасывания. Особенно уязвимы дети при осложненном течении внутриутробного развития и родов, малом сроке гестации, нарушении формирования кишечного биоценоза, составляющего важный компонент барьера кишки.

Одним из методов оценки состоятельности кишечного барьера являет-

ся тестирование проницаемости с помощью неметаболизируемых сахаров, в частности, лактулозы [11]. Для подобного типа трейсеров с молекулярным радиусом 0,5 нм постулируется механизм парацеллюлярного транспорта путем пассивной диффузии через относительно редкие каналы, ассоциированные с областью плотных контактов между энтероцитами. Увеличение проницаемости для лактулозы, отмечаемое при патологии ЖКТ может определяться ослаблением межклеточных контактов и/или увеличением зон экстракции кишечного эпителия. Цель работы состояла в исследовании экскреции с мочой лактулозы после нагрузки у недоношенных новорожденных и оценке влияния на нее степени зрелости, календарного возраста и некоторых патологических состояний.

Материалы и методы

Определение почечной экскреции лактулозы после пероральной нагрузки проведено у 57 детей первых 2-х ме-

сяцев жизни со сроком гестации 28-36 недель ($32,6 \pm 2,6$ нед.), массой 920-2787 г (1792 ± 492 г) в динамике. 1-ю группу составили 22 новорожденных с относительно благоприятным течением неонатального периода. В раннем неонатальном периоде у них отмечались легкие респираторные, транзиторные метаболические нарушения, синдром угнетения. Манифестных форм инфекционно-воспалительных заболеваний не было. 2-ю группу составили 19 новорожденных с локальными формами инфекционно-воспалительных заболеваний (ЛИВЗ), клиника которых развертывалась в раннем неонатальном периоде. Все они имели несколько очагов: пневмония - 100%, омфалит - 74%, васкулит пупочных сосудов 69%, конъюнктивит - 21%. 3-я группа (ГИВЗ) - представлена 16 детьми с сепсисом. Внутрижелудочковые кровоизлияния 1-3 степени диагностированы у 37% детей с ИВЗ.

После 3-часового перерыва в кормлении дети получали лактулозу в дозе 0,67 г/кг (препарат "Normase", Италия) в виде 6,7% водного раствора с расчетной осмолярностью 236 мОсоль/л. При проведении нагрузки лактулозой каких-либо нарушений со стороны ЖКТ не отмечалось. Мочу собирали в течение 9 часов. Порции мочи во время сбора консервировались азидом натрия. Для определения концентрации лактулозы в моче, проводили предварительное разделение сахаров с помощью тонкослойной хроматографии на силикагеле: пробы мочи объемом 30 мкл наносили на пластины SilufolT ("Kavalier", Чехия) и хроматографировали в системе н-бутанол:этилацетат:пропанол-2:уксусная кислота:вода в соотношении 35:100:60:35:30 [5]. Участки хроматограммы, соответствующие лактулозе, вырезали, дисахарид элюи-

ровали водой и после центрифугирования при 3000g, 10 мин в надсадке определяли его содержание в цветной реакции с тиобарбитуровой кислотой [2]. В связи с тем, что суммарная экскреция лактулозы колебалась в широких пределах (1,2-70,9 мг, медиана 15,8 мг), показатель экскреции лактулозы рассчитывалась как % от поглощенной дозы на кг массы тела, что учитывает различие в нагрузочном количестве дисахарида и массе тела ребенка. Параллельно в моче измерялась концентрация креатинина. Поскольку лактулоза и креатинин имеют сходные механизмы выведения, их концентрации в моче и суммарная экскреция без учета поглощенной дозы закономерно коррелировали (соответственно, $r=0,23$, $p=0,02$ и $r=0,3$, $p=0,001$). Однако связь эта была слабой, что свидетельствует о меньшем влиянии почечной фильтрации дисахарида на конечный результат теста, чем его всасывание. Тем не менее, при критическом снижении фильтрационной функции почек результаты теста могут не отражать реальную величину всасывания лактулозы.

Результаты представлены как $M \pm SD$. Математическая обработка результатов обследования проведена с помощью стандартной процедуры ANOVA и коэффициента ранговых корреляций по Спирмену пакета Statistica for Windows 4.3 (StatSoft Inc., 1993). Статистически значимыми различия принимали при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Динамика экскреции лактулозы у новорожденных с относительно благоприятным течением неонатального периода характеризуется резким снижением на первой неделе жизни (табл. 1). Подобный феномен отмечался в других исследованиях [6, 15, 19].

У недоношенных детей 27-32 недель гестации на 3-7-е сутки жизни проницаемость для лактулозы в 1,9 раза ($p=0,03$) превышала значение данного показателя, характерного для более зрелых новорожденных. Однако уже к середине второй недели жизни у детей разного гестационного возраста разрыв в уровнях экскреции лактулозы после пероральной нагрузки сокращается, исчезая полностью к началу второго месяца жизни. Коэффициент корреляции возраст-проницаемость для первых двух недель жизни составил 0,52 ($p=0,02$). В дальнейшем происходит медленное монотонное снижение проницаемости барьера кишки для лактулозы в среднем в 2,4 раза ($p=0,013$). Статистически значимые различия показателя в группах детей разного гестационного возраста исчезают на третьей неделе жизни. Такая динамика изменения парацеллюлярного транспорта в тесте с лактулозой на первом месяце жизни отражает запаздывание структурно-функциональной перестройки кишечного эпителия после рождения у недоношенных с малой массой тела.

Использование молочных смесей приводит к гораздо более быстрому снижению проницаемости для лактулозы на первом месяце жизни. Экскреция лактулозы у детей, получавших в предшествующие исследованию 10-14 дней молочную смесь, была в 2,1 раза ниже ($p=0,04$), чем у новорожденных, вскармливаемых грудным молоком (табл. 2). Этот эффект не зависел от гестационного возраста (критерий Фишера $F=0,9$, $p>0,05$) и четко проявлялся у детей без генерализованных ИВЗ. Полученные данные указывают на то, что продолжительное грудное вскармливание не является, по крайней мере, у детей первых 2-х месяцев жизни факто-

ром, однозначно способствующим понижению проницаемости кишечного барьера. Напротив, прослеживается тенденция к снижению проницаемости вслед за переходом детей к дефинитивному питанию, с использованием молочных смесей. По данным экспериментальных исследований [1, 3, 4] существенное влияние на проницаемость кишечного барьера может оказывать липидный компонент диеты, что связывается с изменениями в биофизическом состоянии мембран энтероцитов. Липиды неадаптированных молочных смесей представлены, как правило, жиром коровьего молока и растительными жирами со значительно сниженным, в сравнении с грудным молоком, содержанием эссенциальных полиненасыщенных жирных кислот семейства $n-3$, встраивание которых в фосфолипиды мембран приводит к увеличению их текучести.

Косвенным подтверждением вышеизложенного являются данные по содержанию общего холестерина и триглицеридов в сыворотке крови: у обследованных недоношенных новорожденных, вскармливаемых грудным молоком, параллельно повышенной проницаемости кишки отмечается в 1,3 раза более низкий уровень холестерина в сочетании с увеличенной в 1,7 раза концентрацией триглицеридов в сравнении с детьми, находящимися на искусственном вскармливании.

Учитывая отсутствие статистически значимых различий у новорожденных разной степени зрелости гестационного возраста в сроки, соответствующие разгару ИВЗ, при анализе изменений при осложненном течении неонатального периода группы по гестационному возрасту не выделялись.

В фазу разгара локальных ИВЗ экскреция лактулозы не отличается от

Таблица 1

Динамика экскреции лактулозы у новорожденных различного гестационного возраста

Возраст (дн.)	5	10	15	25	35
ГВ 27-32 нед.	2,4±1,1	1,0±0,6	0,9±0,5	0,7±0,3	0,3±0,1
ГВ 33-37 нед.	1,2±0,58	0,7±0,4	0,6±0,3	0,5±0,3	0,3±0,1

Таблица 2

Проницаемость кишечного барьера для АЛА и содержание сывороточных липидов в зависимости от типа вскармливания

Вариант вскармливания	Возраст дн.	n	Экскреция лактулозы (% от дозы/кг)	Холестерин (ммоль/л)	Триглицериды (ммоль/л)
Грудное молоко	27±1	15	0,37±0,25	2,2±0,7	1,9±0,9
Смесь	29±1	10	0,18±0,14	2,9±0,8	1,1±0,5
p			0,04	0,03	0,02

Примечание: данные представлены как $M \pm SD$; p – вероятность различия средних.

Таблица 3

Почечная экскреция лактулозы при инфекционно-воспалительных заболеваниях недоношенных новорожденных

N	Группы	n	Экскреция в % от дозы/кг массы Возраст 11±3 дн.	Экскреция в % от дозы/кг массы Возраст 34±7 дн.	p
1	Контроль	22	0,73±0,59	0,31±0,30	0,005
2	ЛИВЗ	19	0,75±0,46	0,52±0,29	0,074
3	ГИВЗ	16	1,33±0,95	0,64±0,28	0,009
	p(1/2)		0,93	0,03	
	p(1/3)		0,02	0,002	
	p(2/3)		0,03	0,2	
			F=2,49, p=0,09	F=4,47, p=0,02	

Примечание: данные как $M \pm SD$; p (N1 vs N2) – вероятность различия средних, где N1 и N2 соответствует нумерации строк "N"; F-критерий Фишера.

контрольных значений. Лишь при генерализованных формах данный показатель повышается в 1,8 раза ($p=0,03$). В динамике в контроле и при ГИВЗ происходит снижение проницаемости кишки для лактулозы более чем вдвое ($p<0,05$). В группе ЛИВЗ снижение показателя значительно менее выражено. Однако, несмотря на такую динамику к исходу заболеваний величина парацеллюлярного транспорта в тесте с лактулозой превышает контрольный уровень, особенно, при сепсисе. Степень замедления процесса достижения "зрелого" уровня проницаемости для лактулозы определяется тяжестью заболевания, о чем свидетельствуют результаты дисперсионного анализа ($F=4,47$, $p=0,02$)

Значительный рост проницаемости при ГИВЗ обусловлен феноменом "leaky gut". Повреждение кишечного барьера происходит при сочетании нескольких факторов: избыточного роста бактерий с гиперпродукцией токсинов, повреждающих эпителий [7, 8, 16]; циркуляторных нарушений различного генеза, приводящих к вазоконстрикции мезентериальных сосудов и артериол ворсин и ишемии стенки кишки [12, 13, 14]; активацией иммунокомпетентных клеток в стенке кишки и вне ее, которые способны освобождать большое количество медиаторов, таких как эйкозаноиды, цитокины, участвующих в развитии системной воспалительной реакции [9]. В результате резко возрастает трансцеллюлярный перенос антигенов, включая микроорганизмы, в подслизистый слой и далее в экстраинтестинальные сайты, а также парацеллюлярный трансэпителиальный перенос водорастворимых макромолекул [7, 8, 16]. Все перечисленные факторы имеют место при тяжелых неонатальных инфекциях, вызывая су-

щественное и длительное повышение проницаемости, сохраняющееся в период клинического выздоровления и способного в дальнейшем стать основой для формирования хронической гастроинтестинальной патологии и аллергических заболеваний.

Выводы

1. У преждевременно родившихся детей в неонатальном периоде происходит снижение экскреции лактулозы после пероральной нагрузки, наиболее выраженное в первые 10 дней жизни. Ускорение процесса снижения проницаемости происходит в условиях искусственного вскармливания.

2. Исходный уровень проницаемости кишечного барьера для исследованного дисахарида находится в обратной зависимости от гестационного возраста новорожденных.

3. Тяжелые формы неонатальных инфекций сопровождаются снижением состоятельности барьера кишки в тесте с лактулозой, причем нормализация этого показателя не происходит и в фазу клинической реконвалесценции.

4. Данный тест, доказавший свою диагностическую эффективность при хронических заболеваниях ЖКТ и кишечных инфекциях у более старших детей и взрослых, уже в раннем возрасте позволяет выделить детей из группы риска для организации наблюдения и профилактики гастроинтестинальной патологии и пищевой непереносимости.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гмошинский И.В., Мазо В.К. Нарушенная проницаемость барьера желудочно-кишечного тракта для макромолекул и возможности ее диетической коррекции в эксперименте // Физиол. журн. им.

И.М.Сеченова. - 1993. - Т.79, №6.-С.115-127.

2. Городецкий В.К., Михайлов В.И. Определение кетосахаров в биологических жидкостях. // Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н.Ореховича. - М., 1977. - С.120-126.

3. Мазо В.К., Гмошинский И.В. О возможности алиментарной коррекции проницаемости защитного барьера желудочно-кишечного тракта для макромолекул // Вопр. питания. - 1993. - №5. - С.10-17.

4. Морозов И.А., Левачев М.М. Влияние липидных компонентов пищи на текучесть мембран энтероцитов и "отмена" пиноцитоза в постнатальном периоде // Тез. докл. XVI Всесоюз. конф. по физиологии пищеварения и всасывания. - Тернополь, 1986. - С.200.

5. Шаршунова М., Шварц В., Михалец Ч. Тонкослойная хроматография в фармазии и клинической биохимии: В 2 т. - М.: Мир. - 1980. - 600 с.

6. Beach R.C., Menzies I.S., Clayden G.S., Scopes J.W. Gastrointestinal permeability changes in the preterm neonate // Arch.Dis.Child. - 1982. - V.57, N2. - P.141-145.

7. Berg R.D. Bacterial translocation from the gastrointestinal tract // Adv.Exp.Med.Biol. - 1999. - V.473. - P.11-30.

8. Fink M.P. Effect of critical illness on microbial translocation and gastrointestinal mucosa permeability // Semin.Resper. Infect. - 1994. - V.9, N4. - P.256-260.

9. Haglund U. Sustemic mediators released from gut in critical illness // Crit.Care Med. - 1993. - V.21, N2 (Suppl). - P.15-18.

10. Insoft R.M., Sanderson I.R., Walker W.A. Development of immune function in the intestine and its role in neonatal diseases // Pediatr.Clin.North.Am. - 1996. - V.43, N2. - P.551-571.

11. Maxton D.B., Bjarnason I., Reynolds A.P., et al. Lactulose, ⁵¹Cr-EDTA, L-rhamnose and polyethylene glycol 400 as probe markers for in vivo assessment of human

intestinal permeability // Clin.Sci. - 1986. - V.71. - P.71-80.

12. Pastores S.M., Katz D.P., Kvetan V. Splanchnic ischemia and gut mucosal injury in sepsis and multiple organ dysfunction syndrom // Am.J.Gastroenterology. - 1996. - V.91, N9. - P.1697-1710.

13. Reilly P.M., Bulkley G.B. Vasoactive mediators and splanchnic perfusion // Crit.Care Med. - 1993. V.21, N2 (Suppl). - P.55-68.

14. Schmidt H., Secchi A., Wellmann R. et al. Effect of endotoxemia on intestinal villus microcirculation in rats // J.Surg.Res. - 1996. - V.61, N2. - P.521-526.

15. Shulman R.J., Schanler R.J., Lau C., Heitkemper M., Ou C.N., Smith E.O. Early feeding, antenatal glucocorticoids, and human milk decrease intestinal permeability in preterm infants // Pediatr.Res. - 1998. - V.44, N4. - P.519-523.

16. Swank G.M., Deitch E.A. Role of the gut in multiple organ failure: bacterial translocation and permeability change // World J. Surg. - 1996. - V.20, N4. - P.411-417.

17. Walker W.A. Antigen handling by small intestine // Clin.Gastroenterol. - 1986. - V.15, N1. - P.1-20.

18. Walker W.A. Uptake of antigens: role in gastrointestinal disease // Acta Pediatr. Jpn. - 1994. - V.36, N5. - P.597-610.

19. Weaver L.T., Laker M.F., Nelson R. Intestinal permeability in the newborn // Arch.Dis.Child. - 1984. - V.59, N3. - P.236-241.

THE INTESTINAL PERMEABILITY TO LACTULOSE IN PRETERM INFANTS

A.V.Dmitriev

Intestinal permeability to a disaccharide in preterm infants was investigated by urinary excretion of lactulose after oral administration of solution containing sugar. Urine samples were analysed for sugar content by quantitative thin-layer chromatography. The lactulose urinary excretion was negatively correlated with gestational age and decreased significantly during the first month of life. In preterm infants with sepsis the intestinal permeability was highest.