

ВОПРОСЫ ИЗУЧЕНИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МИКРОФЛОРЫ КИШЕЧНИКА У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА

Резюме: В последние годы разработан перспективный способ оценки состояния микрофлоры — метод газожидкостной хроматографии (ГЖХ), основанный на определении метаболитов индигенной флоры — летучих жирных кислот (ЛЖК) в фекалиях в кишечнике.

В литературе имеются единичные работы, посвященные клинической оценке метода ГЖХ при ОКИ вирусной этиологии у детей, в которых проведен анализ корреляции дисбиоза кишечника и содержания различных ЛЖК в копрофильtrate.

Однако, до настоящего времени нет единого мнения о диагностической и прогностической роли сдвигов метаболической активности анаэробной флоры при ОКИ у детей, не определены биохимические маркеры дисбиотических нарушений при диареях разной этиологии, не дана оценка эффективности метаболических подходов к коррекции дисбиоза кишечника при вирусных диареях.

Ключевые слова: функциональная активность микробиоценоза, короткоцепочечные жирные кислоты в кале, дети, кисломолочные продукты прикорма.

Husanova Hidoyat Asimovna

Fakultet pediatriya va neonatologiya kafedrası

Andijon davlat tibbiyot instituti

ЭРТА ЁШДАГИ БОЛАЛАРДА ИЧАК МИКРОФЛОРАСИНИНГ МЕТАБОЛИК АКТИВЛИГИНИ ЎРГАНИШ МАСАЛАЛАРИ

Rezyume: So'nggi yillarda mikroflora holatini baholashning istiqbolli usuli - mahalliy floraning metabolitlarini - yog kislotalarini xromatografiyasi (YOKX) ichakdagi najasni aniqlashga asoslangan gaz-suyuq xromatografiya usuli (GSX) ishlab chiqildi.

Adabiyotda bolalardagi virusli etiologiyaning YOKX uchun GSX usulini klinik baholashga bag'ishlangan alohida ajratilgan ishlar mavjud bo'lib, unda ichak disbiozi va koprofiltrat tarkibidagi turli xil YOKX larning tarkibi tahlil qilingan.

Ammo, shu paytgacha bolalardagi YOKX da anaerob floraning metabolik faolligidagi siljishlarning diagnostik va prognostik roli to'g'risida kelishuv mavjud emas, turli etiologiyali diareyadagi disbiotik buzilishlarning biokimyoviy markerlari aniqlanmagan va virusli diareyada ichak disbiozini tuzatishda metabolik yondashuvlarning samaradorligi baholanmagan.

Kalit so'zlar: tseliakiya, rehabilitasiya, bolalik va o'spirinlik, pediatriya.

Khusanova Hidoyat Asimovna

Department of Faculty Pediatrics and Neonatology

Andijan State Medical Institute

QUESTIONS OF STUDYING THE METABOLIC ACTIVITY OF THE INTESTINAL MICROFLORA IN YOUNG CHILDREN

Resume: In recent years, a promising method for assessing the state of microflora has been developed - the method of gas-liquid chromatography (GLC), based on the determination of metabolites of the indigenous flora - volatile fatty acids (VFA) in feces in the intestine.

In the literature, there are isolated works devoted to the clinical assessment of the GLC method for AEI of viral etiology in children, in which the correlation of intestinal dysbiosis and the content of various VFAs in coprofiltrate was analyzed.

However, to date, there is no consensus on the diagnostic and prognostic role of changes in the metabolic activity of the anaerobic flora in AEI in

children, biochemical markers of dysbiotic disorders in diarrhea of different etiology have not been determined, and the effectiveness of metabolic approaches to the correction of intestinal dysbiosis in viral diarrhea has not been evaluated.

Key words: functional activity of microbiocenosis, short-chain fatty acids

Актуальность. Кишечная микрофлора сегодня рассматривается как важнейший фактор, существенно влияющий на параметры здоровья человека [1,6]. На современном этапе уже получен ряд доказательств о связи микробиоценоза с развитием аллергических заболеваний, патологии желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудистой системы, в т. ч. атеросклероза, ожирением, сахарным диабетом, онкопатологией, аутоиммунными заболеваниями, и эти вопросы продолжают интенсивно изучаться [2,7]. Столь значимое влияние микробиоты на организм человека обусловлено ее огромным метаболическим потенциалом, реализуемым, в основном, за счет мукозальной флоры, колонизирующей пристеночную зону слизистой оболочки кишечника.

Последняя, по данным различных авторов, составляет значительно большую долю относительно просвет-ной флоры и непосредственно связана с формированием биопленки [1,3]. Адгезированные колонии микроорганизмов на кишечной стенке образуют микробно-тканевой комплекс, включающий микроколонии бактерий, продуцируемые ими метаболиты, муцин, гликокаликс, эпителиальные клетки и клетки стромы слизистой оболочки, в пределах которого происходит постоянный обмен генетическим материалом, сигнальными и регуляторными молекулами, метаболитами [1].

Одними из наиболее значимых низкомолекулярных метаболитов являются корот-коцепочечные жирные кислоты (КЖК) (уксусная, пропионовая, масляная и др.), которые оказывают влияние на адгезию патогенной и условно-патогенной флоры, на параметры местного иммунитета, на

процессы пролиферации и дифференцировки колоноцитов, участвуют в регуляции ионного обмена, микроциркуляции, секреции слизи, восполняют энергетические потребности эпителия, отражают различные процессы, протекающие в толстом кишечнике [1, 3, 4].

Оценка спектра короткоцепочечных жирных кислот является интегральным показателем состояния микробиома кишечника, поскольку бактериологический посев кала дает представление в большей мере о просветной флоре толстого кишечника [1, 4, 5]. При совокупности влияния различных неблагоприятных факторов среды (экология, оперативное родоразрешение, раздельное пребывание с матерью, нерациональное использование антибиотиков широкого спектра действия у детей раннего возраста, а важнейшая роль принадлежит фактору питания) процесс первичной колонизации кишечника младенца характеризуется снижением видового разнообразия, нестабильной популяционной численностью, недостаточной функциональной активностью представителей микробиоты [6-8].

В данных условиях фактор питания у детей раннего возраста с целью оптимизации процессов колонизации мукозальной флоры и ее функциональной активности представляет огромный практический интерес. В этой связи становится актуальным исследование особенностей становления и метаболической активности микробиоты у детей первых лет жизни в зависимости от характера вводимого прикорма.

Микробиологическое исследование микрофлоры кишечника с конца XX в. рассматривается как недостаточно информативный метод диагностики, не отражающий ее метаболическую активность. Для изучения метаболитов микрофлоры используются хроматографические методы: газожидкостная (ГЖХ), ионная, высокоэффективная жидкостная хроматография, газохромато-масс-спектрометрия.

Исследование короткоцепочечных жирных кислот (КЖК) методом ГЖХ обладает высокой чувствительностью и специфичностью, простотой воспроизведения, возможностью быстрого получения результатов. В настоящее время в изученной нами доступной литературе не встретилось данных по нормативным значениям спектра КЖК у детей в возрасте от 0 до 6 мес, представлены лишь референсные значения у детей в возрасте от 6 до 12 мес.

Цель исследования. Оценка метаболической активности микробиоты кишечника у детей первого года жизни.

Материалы и методы исследования. Исследование проведено у 121 ребенка первого года жизни. Группу I составили дети от 2 до 30 дней жизни, группу II — дети 1–12 мес жизни.

Результаты исследования. При анализе первичных данных количественного и качественного содержания короткоцепочечных жирных кислот в кале у детей (n=103) зарегистрированы 2 типа метаболического профиля: анаэробный тип - 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 представителей облигатной микрофлоры, что согласуется с данными других авторов.

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, пропионобактерий, фузобактерий, эубактерий, и усилением роста клостридий, продуцентов пропионовой и масляной кислот. И, соответственно, при аэробном типе - активизацией аэробных микроорганизмов, представителей факультативной и остаточной микрофлоры, продуцирующих в основном уксусную кислоту.

Анаэробный индекс, рассчитываемый как отношение суммы концентраций всех кислот к концентрации уксусной кислоты, является важнейшим индикатором состояния внутрипрос-ветной среды кишечника и отражает соотношение анаэробных и аэробных, в т. ч. факультативно-анаэробных популяций микробиоты. 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 облигатной флоры в связи с угнетением ферредок-синсодержащих дыхательных ферментов, обеспечи-вающих их нормальную жизнедеятельность

Уровень уксусной кислоты (C2) в кале в целом у всех детей составил $0,794 \pm 0,01$ мг/г: в I группе — $0,839 \pm 0,034$ мг/г, во II группе — $0,779 \pm 0,012$ мг/г. Максимальное значение отмечалось в 3–6 мес — $0,823 \pm 0,028$ мг/г. Выявлены различия в содержании C2 в кале между новорожденными и детьми 6–12 мес ($p = 0,02$), между детьми 3–6 и 6–12 мес ($p = 0,04$).

Пропионовая (С3) и масляная (С4) кислоты у всех детей составили $0,126 \pm 0,01$ и $0,079 \pm 0,01$ мг/г соответственно.

Наибольший уровень С3 отмечен в 6–12 мес, наименьшие значения — у детей от 3 до 6 мес. Найдена положительная связь между уровнем С3 и возрастом ($r = 0,27$; $p < 0,05$). Содержание С4 в кале у новорожденных составило $0,046 \pm 0,023$ мг/г, у детей 1–12 мес — $0,091 \pm 0,01$ мг/г ($p = 0,02$); максимальное значение С4 — $0,114 \pm 0,02$ мг/г — отмечалось в 6–12 мес. Выявлена тенденция к увеличению уровня С4 в кале с возрастом. Суммарное содержание кислот в кале составило $6,908 \pm 0,67$ мг/г: в I группе $10,379 \pm 1,87$ мг/г, во II группе — $5,764 \pm 0,61$ мг/г ($p = 0,02$).

Наименьшее суммарное содержание кислот — у детей 3–6 мес ($2,285 \pm 0,05$ мг/г). К 1 году жизни суммарное содержание КЖК уменьшалось ($r = -0,365$; $p < 0,005$). Анаэробный индекс в целом составил $0,319 \pm 0,04$ мг/г, максимальное значение — у детей 6–12 мес, наименьшее — в 3–6 мес.

Особенности становления функциональной активности микробиоты у детей второго полугодия жизни характеризуются наличием двух типов метаболических профилей -анаэробным (70% пациентов) или аэробным (30%). Прием обогащенных бифидобактериями кисломолочных продуктов в сравнении с необогащенным продуктом сопровождается более значимым позитивным влиянием на процессы становления метаболической активности микробиоты кишечника у детей раннего возраста. Выявлено, что биопростокваша наиболее эффективна при анаэробном типе профиля метаболической активности, а биоряженка - при аэробном типе. Последнее может быть использовано для дифференцированного подхода к выбору продукта с целью коррекции различных типов нарушений функциональной активности микробиоты и расстройств кишечной моторики.

Вывод. Проведенное наблюдение позволяет предположить, что кисломолочные продукты прикорма с заданным составом и свойствами

могут способствовать процессам становления микробиоценоза и функциональной активности микробиоты у детей раннего возраста. Оценка типа метаболических нарушений облегчает подбор оптимального продукта прикорма с учетом выявленных метаболических особенностей. Эффективность и хорошая переносимость кисломолочных продуктов, полученных с использованием закваски на основе метаболически активных штаммов бифидобактерий, свидетельствует о возможности их широкого использования для оптимизации детского питания на региональном уровне с целью профилактики нарушений микробиоценоза.

Метаболическая активность микробиоты кишечника изменяется с возрастом ребенка. Маркер облигатной микрофлоры С2 имеет более высокие значения у новорожденных. Маркер «анаэробизации» — С3 — имеет тенденцию к нарастанию, уровень С4 — достоверное нарастание от периода новорожденности к 1 году жизни.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ткаченко Е.И., Суворов А.Н. Дисбиоз кишечника. Руководство по диагностике и лечению. СПб.: Спец Лит, 2007. 238 с.
Tkachenko E.I., Suvorov A.N. Disbioz kishechnika. Rukovodstvo po diagnostike i lecheniyu. SPb.: Spec Lit, 2007. 238 s.
2. Ordovas J.M., Mooser V. Metagenomics: the role of the microbiome in cardiovascular diseases. *Curr. Opin. Lipidol.* 2006. Vol. 17 (2). P. 157-161.
3. Шендеров БА Медицинская микробная экология и функциональное питание. Микрофлора человека и животных и ее функции. Т. 1. М.: Грантъ, 1998. 288 с.
Shenderov B.A. Medicinskaya mikrobnaya ehkologiya i funkcionaljnoe pitanie. Mikroflora cheloveka i zhivotnihkh i ee funkicii. T. 1. M.: Grantjh, 1998. 288 s.
4. Минушкин О.Н., Ардатская М[^]. (ред.). Диагностика состояния микрофлоры кишечника и дифференцированная коррекция ее нарушений. М. 2005. 48 с.

Minushkin O.N., Ardatskaya M.D. (red.). Diagnostika sostoyaniya mikroflorih kishechnika i differencirovannaya korrekciya ee narusheniy. M. 2005. 48 s.

5. Ардатская М. Клиническое значение короткоцепочечных жирных кислот при патологии желудочно-кишечного тракта: автореф. дис. ... д. м. н. Москва, 2003. 45 с.

Ardatskaya M.D. Klinicheskoe znachenie korotkocepochechnihk zhirnihk kislot pri patologii zheludochno-kishechnogo trakta: avtoref. dis. ... d. m. n. Moskva, 2003. 45 s.

6. Казюкова Т.В., Нетребенко О.К., Тулупова Е.В. Особенности питания детей старше года: нарушение пищеварения и функциональное питание. Вопросы практической педиатрии. 2011. Т. 6. № 5. С. 89-94.

Kazyukova T.V., Ntrebenko O.K., Tulupova E.V. Osobnostipitaniya deteyj starshe goda: narushenie pithevareniya i funkcionaljnoe pitanie. Voprosih prakticheskoyj pediatrii. 2011. Т. 6. № 5. S. 89-94.

7. 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.

8. Maldonado J., Canabate F., Sempere L. et al. A follow-on formula with the probiotic lactobacillus fermentum CECT5716 decreases the incidence of respiratory and gastrointestinal infections: A Randomized controlled trial. Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition. 2011. Vol. 52 (1). P. 63-64.