УДК 616.34-008.87-052.3

И.Н. ЗАХАРОВА, Н.Г. СУГЯН, М.Д. АРДАТСКАЯ
Российская медицинская академия последипломного образования, г. Москва
Учебно-научный медицинский центр Управления делами Президента РФ

Метаболическая активность кишечной микрофлоры у детей с функциональными нарушениями органов пищеварения

Захарова Ирина Николаевна
доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой педиатрии
123480, г. Москва, ул. Героев Панфиловцев, д. 28, тел.(495) 496-52-38

Метаболиты кишечной микрофлоры оказывают локальное и системное влияние на физиологические функции макроорганизма. Содержание и спектр короткоцепочечных жирных кислот может служить биохимическим маркером функциональных нарушений пищеварения. Представлены данные динамического наблюдения наиболее частых клинических проявлений функциональных нарушений желудочно-кишечного тракта у детей раннего возраста на фоне коррекции жидким синбиотиком, в состав которого входят короткоцепочечные жирные кислоты.

Ключевые слова: *короткоцепочечные жирные кислоты, кишечные колики, синбиотик.*

I.N. ZAKHAROVA, N.G. SUGYAN, M.D. ARDATSKAYA
Russian Medical Academy of Postgraduate Medical Education, Moscow
Teaching and Research Medical Center Office of the President of the Russian Federation

Metabolic activity of intestinal microflora in children with functional impairment of the digestive system

The metabolites of the intestinal microflora have local and systemic effects on the physiological functions of the host. The content and range of short-chain fatty acids can serve as a biochemical marker of functional digestive disorders. The data follow-up the most frequent clinical manifestations of functional disorders of the gastrointestinal tract in infants in the background correction fluid synbiotics, which consists of short chain fatty acids.

Keywords: *short chain fatty acids, intestinal colic, synbiotics.*

Функциональные нарушения органов пищеварения широко распространены в детском возрасте. Новорожденных рассматривают, как группу повышенного риска по развитию функциональных нарушений ЖКТ при наличии таких факторов, как недоношенность, морфофункциональная незрелость, перенесенная гипоксия во время беременности и родов, длительный период полного парентерального питания, раннее искусственное вскармливание [1]. В период новорожденности осуществляется переход младенца на энтеральное питание, происходит становление микробиоценоза кишечника. Нарушения становления микробиоценоза кишечника у младенцев часто не зависят от характера вскармливания, а связаны с патологией женщин репродуктивного возраста, особенностями течения беременности и родов [2].

Нормальная микрофлора кишечника участвует в регуляции функционального состояния макроорганизма, в основном через дистанционные взаимодействия, где в роли «сигнальных молекул» выступают ее метаболиты. К продуктам метаболизма кишечной микрофлоры относятся: газы (H_2, CO_2, CH_4, NH_3, NO), аминокислоты (β-аланин, γ-аминомасляная, глутаминовая, ε-аминокапроновая), циклические нуклеотиды (цАМФ, цГМФ), короткоцепочечные жирные кислоты (уксусная, пропионовая, изомасляная, масляная, изовалериановая, валериановая, изокапроновая и капроновая кислоты), дикарбоновая (янтарная) и оксикислоты (молочная) [3,4,5,6]. Из них в количественном отношении лидируют короткоцепочечные жирные кислоты (КЖК) с длиной цепи C_2-C_6, что можно объяснить низким содержанием кислорода в толстой кишке и небольшой глубиной

окисления моносахаридов и других субстратов. Уксусная кислота является преобладающим во всех возрастных группах. У детей первых месяцев жизни, находящихся на естественном вскармливании, основную часть метаболитов микробной микрофлоры составляют уксусная и молочная кислоты. При искусственном вскармливании доля молочной кислоты уменьшается, а бутирата и пропионата увеличивается, что объясняется изменением состава микрофлоры. Синтез КЖК является важным фактором колонизационной резистентности, обеспечивающим стабильность состава кишечной микрофлоры посредством поддержания оптимальных значений pH в просвете толстой кишки. Продукты жизнедеятельности нормальной микрофлоры кишечника, закисляя его содержимое, стимулируют моторную функцию кишечника. Кроме того, метаболиты микрофлоры задействованы в энергообеспечении эпителиоцитов, регуляции нормальной пролиферации и дифференцировки клеток кишечника и мн. др. [7-13].

Установлено, что КЖК образуются при ферментации углеводов (невсасывающийся крахмал, олигосахариды, пищевые волокна) анаэробными бактериями и представителями условно-патогенной флоры [14]. При расщеплении углеводов образуются уксусная (ацетат), пропионовая (пропионат) и масляная (бутират) кислоты [6,15,16]. Изобутират, изовалериат и 2-метилбутират образуются из аминокислот (валина, лейцина и изолейцина соответственно), которые также являются значимым источником КЖК для человека. Около 30% белков в кишечнике преобразуются в изомеры КЖК [17]. Существенным источником исходных субстратов сахаролитического брожения и протеолиза являются гликопротеиды слизи, специфическая оболочка эпителия – гликокаликс, отмершие и отделившиеся от основного пласта клетки эпителия и «остаточные» белки [18].

Важно отметить, что каждая КЖК образуется при ферментации субстрата бактериями определенного вида, что позволяет судить о функциональной активности конкретных представителей кишечной микрофлоры [3,19,20]. Участие данных метаболитов в локальных и системных функциях макроорганизма позволяет их использовать в качестве биохимических маркеров происходящих в нем процессов, в частности в кишечнике.

Целью нашего исследования явилось изучение метаболической активности кишечной микрофлоры при функциональных нарушениях ЖКТ у детей раннего возраста с последующей коррекцией жидкими синбиотиками, содержащими КЖК.

Материалы и методы

В исследование включены 69 детей раннего возраста (средний возраст 9,15±0,90 недель) с минимальными пищеварительными дисфункциями, находящихся на грудном (40 детей) и искусственном (29 детей) вскармливании. Проанализировав выраженность минимальных пищевых дисфункций в зависимости от характера вскармливания, мы не нашли достоверных отличий.

Интенсивность синдрома кишечных колик была оценена по 3 бальной системе, где 1 балл — кишечные колики беспокоят только в вечернее время, 2 балла — кишечные колики возникают после каждого кормления и в ночное время, 3 балла — кишечные колики беспокоят в течение всего дня. Нами установлено, что интенсивность (средняя) в баллах кишечных колик у детей, находящихся на грудном и искусственном вскармливании, достоверно не отличалась друг от друга: ГВ 1,72±0,12 балла; ИВ 1,72±0,13 балла.

Консистенцию кала мы оценивали по Бристольской шкале форм кала [21]. В группе младенцев, находившихся на грудном вскармливании, средняя консистенция кала составила 6,75±0,09 балла, во второй группе (ИВ) — 6,81±0,07балла ($p>0,05$). Всем детям первых месяцев жизни с ФН ЖКТ проводилось копрологическое исследование.

В зависимости от типа нарушения пищеварения (стеаторея 1 и 2 типов) и наличия слизи в кале, мы проанализировали содержание и спектр КЖК методом ГЖХ – анализа (патент на изобретение РФ № 2145511 «Способ разделения смеси жирных кислот фракции С2-С7 методом газожидкостной хроматографии» от 09.04.1999/ авт. Иконников Н.С., Ардатская М.Д., Бабин В.Н., Минушкин О.Н. и др.).

Изучались следующие параметры: абсолютное содержание кислот, профили С2-С4 кислот (т.е. удельное содержание отдельной кислоты в общем пуле С2-С4 кислот рСн= Сн/ С2+С3+С4), значения АИ (АИ=С3+С4/С2), отражающего окислительно-восстановительный потенциал внутрипросветной среды, уровень изокислот и отношение содержания изокислот к кислотам с неразветвленной цепью (изоСн/Сн).

Результаты исследования и их обсуждение

При стеаторее 1 типа наблюдалось повышение содержания, в основном, масляной кислоты - при грудном вскармливании до 0,091±0,008 ед, при искусственном вскармливании – до 0,132±0,008 ед. Данные изменения, возможно, были связаны с недостаточностью липазы у детей с функциональными нарушениями пищеварения за счет относительной экзокринной недостаточности поджелудочной железы, так как масляная кислота является одним из конечных продуктов деградации длинноцепочечных жирных кислот, поступающих в толстую кишку.

При стеаторее 2 типа значительно повышена доля пропионовой кислоты по сравнению с нормой и со значениями при стеаторее 1 типа: при ГВ — 0,170±0,010 ед; при ИВ — 0,216±0,010 ед. Известно, что пропионовая кислота является продуцентом строгих анаэробов, которые принимают участие в энтерогепатической циркуляции жирных кислот, а именно 7α-дегидроксилирования жирных кислот и ее увеличение, возможно, связано с нарушением желчеобразования и желчевыделения у детей с функциональными нарушениями ЖКТ

Достоверность полученных данных подтверждается при проведении линейного регрессионного анализа. Мы обнаружили высокую степень корреляции между стеатореей 1 типа и уровнем масляной кислоты (при ГВ r =0,877, при ИВ r =0,83), между уровнем пропионовой кислоты и стеатореей 2 типа (при ГВ r=0,82, при ИВ r=0,68).

По результатам копрологического исследования, у 37,7% детей с минимальными пищеварительными дисфункциями, выявлено значительное количество светлой, прозрачной слизи. Отношение изомеров кислот к кислотам с неразветвленной цепью у исследуемых детей со слизью в кале оказалось значительно сниженным ($p<0,05$) по сравнению нормой (при ГВ — 0,257±0,033 при норме 0,331±0,064, при ИВ - 0,189±0,003 ед при норме 0,285±0,005 ед). Данные изменения тесно связаны с синтезом и секрецией гликопротеидов и муцинообразованием: с ухудшением вязкости слизи, увеличением ее количества, повышением экскреции с калом, а также с активизацией некоторых видов анаэробов, обладающих крайне низкой способностью к протеолизу [22,23].

Таким образом, можно констатировать, что при наличии минимальной пищеварительной дисфункции у детей развивается нарушение микробиоценоза кишечника, фиксируемое по изменению уровня и состава метаболитов микрофлоры, в частности КЖК.

Для коррекции функциональных нарушений ЖКТ у детей раннего возраста мы применяли жидкие синбиотические биокомплексы Нормофлорин Л (в состав входят L.acidophilus не менее 10^{10} КОЕ/мл) и Б (состав входят B.bifidum, B.longum не

менее 10^{10} КОЕ/мл, ООО «Бифилюкс», Россия), которые приготовлены на основе гидролизата белка и не содержат лактозу. Высокая эффективность данного биокомплекса обусловлена не только высоким содержанием физиологически активных клеток бифидо- и лактобацилл, но и составом органических кислот: КЖК (уксусная, масляная, пропионовая), а также янтарная и молочная кислоты. Препарат применяли по схеме: Нормофлорин Л по 2,5-5,0 мл утром и Нормофлорин Б – по 2,5-5,0 мл вечером, перед едой в течение 1 месяца.

Биокомплексы

Нормофлорины обладают антимикробной активностью за счет содержания органических кислот, бактериоцинов, ингибирующих рост гнилостных, газообразующих и болезнетворных бактерий. Они участвуют в формировании биопленки, предотвращающей адгезию чужеродных микробов. Кроме того, органические кислоты снижают pH кишки до слабокислой, что создает губительную среду для жизнедеятельности условно-патогенной микрофлоры.

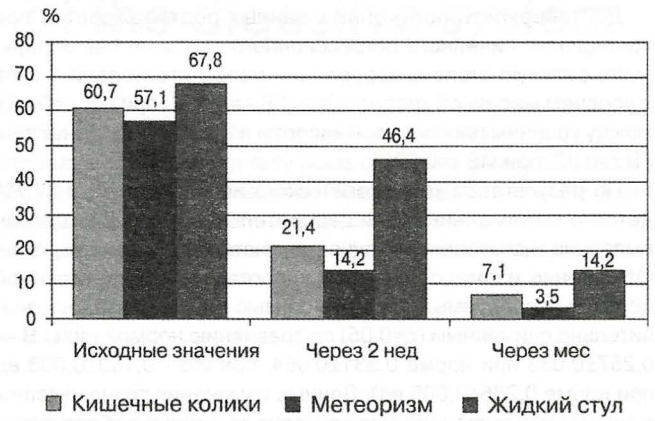
Эффективность проводимой коррекции мы оценили на основании данных клинической симптоматики и изучения метаболической активности кишечной микрофлоры через 2 недели от начала приема биокомплексов Нормофлоринов и после окончания курса коррекции.

Нами отмечена положительная динамика со стороны клинических проявлений функциональных нарушений ЖКТ (рис.1).

До начала лечения кишечные колики беспокоили 60,7% новорожденных, через месяц колики наблюдались только у 7,1% детей. Метеоризм, вздутие живота наблюдались у 57,1% детей, а после окончания курса лечения отмечались у 3 детей. На фоне терапии отмечено значительное сокращение частоты жидкого стула в течение месяца (с 67,8 до 14,2%).

Рисунок 1.

Динамика клинических симптомов со стороны ЖКТ у обследованных детей на фоне терапии биокомплексами Нормофлоринами Л и Б

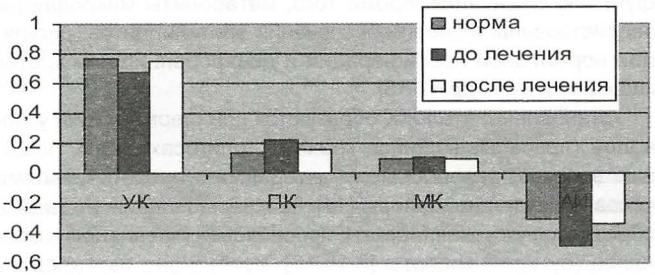


Мы проанализировали изменения спектра КЖК и значения АИ на фоне лечения Нормофлорином Л и Б (рис. 2). Исходно анализ профилей КЖК выявил резкое снижение доли уксусной кислоты, повышение долей пропионовой и масляной кислот, отклонение значений анаэробных индексов, отражающих окислительно–восстановительный потенциал внутрипросветной среды в область резко-отрицательных значений по сравнению с нормой.

Известно, что уксусная кислота является метаболитом облигатной микрофлоры и снижение ее доли свидетельствует о снижении активности и численности молочнокислых микроорганизмов (бифидо - и лактобактерий). Увеличение доли пропионовой и масляной кислот указывает на активацию условно-патогенной флоры и строгих анаэробов (бактероидов, эубактерий, фузобактерий, копрококков и др.). Результаты изучения значений АИ указывают на «анаэробизацию» среды, при которой происходит угнетение жизнедеятельности облигатных анаэробов за счет блокирования терминальных ферредоксинсодержащих ферментов и на этом фоне активизируются их факультативные и остаточные штаммы.

Рисунок 2.

Профили КЖК и значения анаэробного индекса до и после приема Нормофлорина Л и Б



При повторном исследовании после курса лечения Нормофлоринами Л и Б отмечалось формирование «нормопрофиля» С2-С4 кислот, с тенденцией к нормализации значений анаэробного индекса, что соотносится с клинической симптоматикой.

Результаты проведенного исследования показали, что применение Нормофлорина-Л и -Б у детей грудного возраста с функциональными нарушениями ЖКТ способствует быстрому купированию кишечных колик, нормализации стула и коррекции микрофлоры.

На фоне лечения Нормофлорином отмечены положительные сдвиги в экосистеме толстой кишки, заключающиеся в восстановлении метаболической активности толстокишечной микрофлоры, тенденции к восстановлению показателей, характеризующих качественный (родовой) состав микроорганизмов и соотношение аэробных/анаэробных популяций микрофлоры.

Таким образом, исследование метаболической активности микрофлоры позволяет оценить не только характер нарушения состава микрофлоры, но и пищеварения, и может служить «тонким» биохимическим маркером наблюдаемых изменений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Захарова И.Н., Еремеева А.В. Кишечные младенческие колики и их коррекция// Consilium medicum. Педиатрия — 2009. — №1. — С. 43-46.

2. Конь И. Я., Сафронова А. И., Сорвачева Т. Н. и др. Состояние микрофлоры кишечника у детей первого года жизни в зависимости от вида вскармливания// Российский педиатрический журнал. — 2002. — № 1. — С. 7-11.

3. Готтшалк Г. Метаболизм бактерий. — Пер. с англ. — М.:МИР. — 1982. — 445с.

4. Бабин В. Н., Домарадский И. В., Дубинин А. В. и др. Новые подходы к разработке лекарственных средств// Росс. хим. журн. (ЖРХО им. Менделеева). — 1996. — Т. 40. — № 2. — С.125-130.

5. Тамм А.О. Какому методу диагностики дисбиоза кишечника отдать предпочтение// Материалы конференции «Психолого-деонтологические аспекты и новые направления в гастроэнтерологии. Поиски. Решения».— М-С,1991. — С. 109-110.

Полный список литературы на сайтах www.mfvt.ru, www.pmarchive.ru